



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Biologia Celular

DIVERSIDADE GENÉTICA, ANCESTRALIDADE INDIVIDUAL E  
MISCIGENAÇÃO NAS RAÇAS BOVINAS NO BRASIL COM BASE EM  
MICROSSATÉLITES E HAPLÓTIPOS DE DNA MITOCONDRIAL:  
SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO

Tese de Doutorado

ANDRÉA ALVES DO EGITO

Brasília – DF  
2007  
Universidade de Brasília

Departamento de Biologia Celular  
Curso de Pós-Graduação em Biologia Molecular

DIVERSIDADE GENÉTICA, ANCESTRALIDADE INDIVIDUAL E  
MISCIGENAÇÃO NAS RAÇAS BOVINAS NO BRASIL COM BASE EM  
MICROSSATÉLITES E HAPLÓTIPOS DE DNA MITOCONDRIAL:  
SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO

Andréa Alves do Egito

Orientador: Dr. Dário Grattapaglia

Tese apresentada ao Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia, da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas, Área de concentração: Biologia Molecular.

Brasília – DF, 2007

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
Instituto de Ciências Biológicas

DIVERSIDADE GENÉTICA, ANCESTRALIDADE INDIVIDUAL E  
MISCIGENAÇÃO NAS RAÇAS BOVINAS NO BRASIL COM BASE EM  
MICROSSATÉLITES E HAPLÓTIPOS DE DNA MITOCONDRIAL:  
SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO

ANDRÉA ALVES DO EGITO

TESE APRESENTADA AO DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR DO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA, DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE  
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: BIOLOGIA  
MOLECULAR

APROVADA POR:

---

DÁRIO GRATTAPAGLIA, PhD, (Universidade de Brasília)  
CPF: 286.974.301-78 (Orientador) e-mail: dario@cenargen.embrapa.br

---

MÁRCIO ELIAS FERREIRA, PhD (Universidade de Brasília)  
CPF: 317.541.981-04 (Membro Interno) e-mail: ferreira@cenargen.embrapa.br

---

ARTHUR DA SILVA MARIANTE, PhD (Universidade de Brasília)  
CPF: 123.483.929-20 (Membro Interno) e-mail: mariante@cenargen.embrapa.br

---

RINALDO WELLERSON PEREIRA, PhD (Universidade Católica de Brasília)  
CPF: 844.342.796-53 (Membro Externo) e-mail: rinaldo@pos.ucb.br

---

LUCIANA CORREIA DE ALMEIDA REGITANO, PhD (Embrapa Pecuária Sudeste)  
CPF: 664.302.599-00 (Membro Externo) e-mail: luciana@cppse.embrapa.br

“A GLÓRIA DA AMIZADE NÃO É A MÃO ESTENDIDA,  
NEM O SORRISO CARINHOSO, NEM MESMO A  
DELÍCIA DA COMPANHIA. É A INSPIRAÇÃO  
ESPIRITUAL, QUE VEM QUANDO VOCÊ DESCOBRE  
QUE ALGUÉM ACREDITA E CONFIA EM VOCÊ”  
(Ralph Waldo Emerson)

*A meus pais,  
que me moldaram o caráter através  
de seus ensinamentos e de uma base familiar  
repleta de amor, carinho, companheirismo  
e amizade que possibilitou meu desenvolvimento  
pessoal e profissional.  
Sem vocês eu nada seria.*

*A meu marido,  
que sempre esteve ao meu lado  
dando o apoio necessário para a realização  
de mais esta etapa de minha vida.  
Zinho, seu amor e paciência  
foram peças fundamentais  
nesta jornada.*

*A minha amada avó Maria,  
mulher de fibra e caráter como poucos,  
pelo exemplo de vida que deu  
a toda sua descendência.  
Devemos a senhora tudo o que somos,  
pela sua coragem e desprendimento,  
por ter sonhado e ter ido a luta por  
um mundo melhor para os seus.*

*Ao meu irmão Bonka,  
minha cunhada Gleibe,  
e meu lindo sobrinho João Pedro,  
inspiração e razão de bem  
querer, nesta e em outras vidas.*

*Àquele que ainda virá.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo e todos, pela sua sapiência, bondade e amor. Se hoje consegui concluir mais esta etapa de minha vida sei que devo a Ele. Que Ele me conceda a serenidade para aceitar as coisas que não posso mudar, coragem para mudar as coisas que posso, e sabedoria para discernir a diferença.

Aos meus mentores e amigos espirituais que me guiam e intuem a respeito do melhor caminho a seguir e como ser um ser humano melhor.

Ao meu orientador Dário Grattapaglia, pela força que me deu desde a época de meu mestrado, por ter acreditado e me dado a oportunidade de concluir este trabalho. Por sua dedicação, amizade, disposição e paciência.

À querida amiga Maria do Socorro Maués Albuquerque, segunda mãe e parceira de todas as horas, pelo exemplo de caráter, comprometimento e solidariedade com todos, pela força e apoio em mais esta etapa de minha vida.

Ao querido amigo Arthur Mariante, pela amizade e companheirismo, pelos ensinamentos e pela paixão transmitida pela conservação de recursos genéticos animais. Por ter acreditado que eu, saindo de um mestrado, seria capaz de iniciar a nova etapa da conservação em nossa equipe dando-me as ferramentas necessárias para equipar e implantar o Laboratório de Genética Animal.

Às amigas Arlene, Rosângela, e mais recente e, não menos queridas, Aldete, Therezinha e Patrícia; pela força e o ombro nos momentos difíceis.

Aos colegas, Samuel Rezende Paiva e sua esposa Danielle Faria, pelos alegres momentos passados juntos e pela troca de experiências que auxiliaram a execução deste trabalho.

À querida Eva Mamani, pelo apoio, paciência e ensinamentos que só ela é capaz de transmitir a todos sem distinção, sempre com um sorriso nos lábios e boa vontade em ajudar.

À colega Silvia Ribeiro Castro, companheira de longas datas, pelo apoio e amizade.

Ao filhote, Leonardo Daniel de Almeida, pela sua amizade e auxílio, por ter compartilhado os bons e me agüentado nos maus momentos, participando ativamente na execução deste trabalho.

Aos estagiários do Laboratório de Genética Animal, atuais e passados, Susana, Alejandra, Germana, Aline, Paloma, Luciana, Lígia, César, Gabriel, Bruna, Carla, Cícero, e tantos outros pela amizade e companheirismo. Sem vocês o laboratório não teria graça e nem seria o que é hoje.

Aos colegas e amigos do Núcleo de Recursos Genéticos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pelo carinho, amizade e apoio dados principalmente a Antonieta, Magaly, Ana Ciampi e Lucimar.

À Abadia, Fernanda e Walmira do Setor de Recursos Humanos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelo apoio e auxílio dados na parte administrativa.

À Dra. Concepta McManus, pela amizade e apoio dado durante a excussão deste trabalho.

À Dra. Clorinda Fioravanti, Dra. Sandra Santos, Dr. José Robson Sereno, Dr. Urbano Abreu e aos técnicos Manoel Avelino, Jussara Coelho e Normandes pelo apoio, amizade e auxílio na busca dos indivíduos e coleta de material necessário para a excussão deste trabalho.

A todos os criadores que permitiram a coleta do material amostrado em suas propriedades.

Ao Dr. Armando Primo por ter iniciado este trabalho belíssimo e apaixonante que é a conservação de recursos genéticos animais.

Ao Dr. Assis Roberto de Bem (in memoriam), por ter acreditado que eu poderia fazer parte deste grupo, pela oportunidade concedida a uma estudante de Medicina Veterinária que “caiu de paradas” em seu laboratório.

Ao Dr. Antônio Camargo (in memoriam), pela garra e entusiasmo transmitido na luta pela conservação da raça Crioulo Lageana, pela inspiração dada a todos que hoje trabalham com a conservação de recursos genéticos animais no Brasil.

À Embrapa, pela oportunidade do treinamento e pela concessão da bolsa de estudos;

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pela infra-estrutura de trabalho e pelo apoio recebido;

Ao Departamento de Biologia Celular da UnB, pela concessão desse treinamento e aos professores da UnB, pelos ensinamentos;

Aos colegas e funcionários do Departamento de Biologia Celular da UnB, em especial a Ana pelo apoio, incentivo e amizade demonstrados em todos os momentos de nosso convivência;

Ao PRODETAB e à EMBRAPA pelo suporte financeiro;

Ao Dr. Márcio Elias Ferreira e Dr. Rinaldo Wellerson Pereira pelas valiosas sugestões dadas durante o exame de qualificação;

À minha grande amiga Cândida, irmã que reencontrei depois de longos anos, quem sabe séculos, pela sua doçura, apoio e amizade. A todos do grupo Cruz e Souza, em especial ao seu Ernesto, Heloisa, Berilo, Joana, Eleonor pela amizade, companheirismo, trabalho e dedicação, a presença de vocês ilumina minha vida. E como não poderia deixar de ser a Cruz e Souza, pela luz e pelos ensinamentos;

Ao meu irmão de coração Darlan, que a vida me trouxe como primo, pela amizade, carinho e apoio incondicional que dá a mim e aos meus e,

Aos meus familiares e amigos que vibraram com o término deste trabalho.

## ÍNDICE

	Pág.
Lista de figuras	ix
Lista de tabelas	xii
Resumo	1
Abstract	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
1. Classificação e origem dos bovinos	8
2. Raças bovinas no Brasil	13
2.1. Raças bovinas naturalizadas ou crioulas	14
2.2. Raças bovinas taurinas especializadas	22
2.3. Raças bovinas zebuínas	26
3. Caracterização genética	33
3.1. Marcadores moleculares	37
3.2. Uso dos marcadores moleculares na espécie bovina	42
4. Referências Bibliográficas	47
OBJETIVOS GERAIS	58
CAPÍTULO I – Diversidade genética de 10 raças bovinas criadas no Brasil por meio de marcadores microsatélites	59
1. Introdução	59
2. Material e Métodos	63
2.1. Animais	63
2.2. Locus microsatélites tipados	64
2.3. Análises estatísticas	65
3. Resultados	69
3.1. Marcadores microsatélites	69
3.2. Diversidade genética dentro das raças	71
3.3. Variabilidade genética e relação entre raças	71
4. Discussão	80
4.1. Diversidade dos microsatélites e seu desempenho forense	80
4.2. Variação genética dentro e entre as raças	82
4.3. Relação genética entre as raças e conservação	85
5. Conclusões	89
6. Referências Bibliográficas	90
CAPÍTULO II – Classificação individual de animais para o Banco de Germoplasma Animal baseado em testes de alocação individual, diversidade genética e distância: o caso das raças bovinas crioulas brasileiras ameaçadas de extinção.	97
1. Introdução	97
2. Material e Métodos	102
2.1. Animais	102
2.2. Genotipagem dos locos microsatélites	102
2.3. Testes de alocação	103
2.4. Classificação de indivíduos para inclusão no Banco de Germoplasma Animal	104
3. Resultados	107

3.1.	Diferenciação Racial	107
3.2.	Testes de alocação racial	108
3.3.	Locos microssatélites na alocação racial	110
3.4.	Classificação individual para a conservação	112
4.	Discussão	140
4.1.	Desempenho dos métodos de alocação de racial	140
4.2.	Poder discriminatório dos microssatélites nos testes de alocação racial	143
4.3.	Classificação individual para a formação de Núcleos de Conservação	144
5.	Conclusões	149
6.	Referências Bibliográficas	151
CAPÍTULO III – Diversidade nucleotídica e ancestralidade materna de raças bovinas brasileiras baseadas na análise do DNA mitocondrial		157
1.	Introdução	157
2.	Material e Métodos	160
2.1.	Animais e raças analisadas	160
2.2.	Amplificação da região controle do mtDNA	160
2.3.	Análise estatística	164
3.	Resultados	166
3.1.	Diversidade da região controle do mtDNA nas raças bovinas brasileiras	166
3.2.	Filogenia das raças brasileiras	171
3.3.	Relação das raças brasileiras com as demais raças analisadas	174
4.	Discussão	183
5.	Conclusões	186
6.	Referências Bibliográficas	187
CONSIDERAÇÕES FINAIS		191
ANEXOS		
	Anexo 1. Populações amostradas por raça e propriedades.	193
	Anexo 2. Figuras e tabelas adicionais relacionadas aos 22 locos microssatélites analisados.	195
	Anexo 3. Dendrograma e <i>neighbornet</i> da relação existente entre as 10 raças estudadas com um <i>outgroup</i> formado por raças portuguesas.	226
	Anexo 4. Tabela de haplótipos de mtDNA observados em todas as 66 raças analisadas.	227
	Anexo 5. Egito <i>et al.</i> , 2007 – BMC Genetics	232

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
INTRODUÇÃO	
Figura 1. Filogenia dos ungulados enfatizando a ordem dos ruminantes, família Bovidae, subfamília Bovinae e as divisões principais dentro da tribo Bovini.	9
Figura 2. Dendrograma da tribo Bovini obtido a partir do sequenciamento de regiões do mtDNA.	11
Figura 3. Distribuição das três subespécies de auroques há 12.000 mil anos atrás. Os Euro-asiáticos estão em amarelo ( <i>B.p.primigenius</i> ); os do Sul asiático estão em vermelho ( <i>B.p.namamidicus</i> ) e os do Norte da África estão demonstrados em verde ( <i>B.p.ophisthonomus</i> ).	12
Figura 4. Raças bovinas naturalizadas. (a) Junqueira; (b) Patuá; (c) Curraleiro; (d) Pantaneiro; (e) Crioulo Lageano; (f) Caracu e (g) Mocho Nacional.	15
Figura 5. Raças taurinas especializadas. (a) Fêmea Holandesa; (b) Fêmea Jersey; (c) Macho Simental.	22
Figura 6. Touros zebuínos das raças (a) Nelore; (b) Guzerá; (c) Gir; (d) Tabapuã e (e) Kangayam.	28
CAPÍTULO I	
Figura 1. Dendrograma utilizando o método de UPGMA baseado nas distâncias genéticas $D_A$ (Nei <i>et al.</i> , 1983) a partir de 22 locos microssatélites.	77
Figura 2. Dendrograma individual da relação genética entre os 915 animais estudados.	78
Figura 3. Agrupamento individual dos 915 indivíduos das dez raças bovinas brasileiras inferidas pelo método estatístico bayesiano utilizando-se o programa STRUCTURE.	79
Figura 4. Magnitude de $\Delta K$ em função de K dada pela média das 3 corridas independentes com 500.000 interações cada e período de <i>burn-in</i> de 50.000.	79
CAPÍTULO III	
Figura 1. Haplótipos observados e contagens observadas nos 173 animais analisados pertencentes às 16 raças brasileiras analisadas.	168
Figura 2. Histogramas de distribuição pareada de diferenças haplotípicas ( <i>mismatch distribution</i> ) entre: (a) raças crioulas; (b) raças taurinas especializadas; (c) raças taurinas em geral; (d) raças zebuínas e (e) todas as 16 raças bovinas analisadas	172
Figura 3. Árvore filogenética das raças bovinas brasileiras inferida a partir da análise de uma seqüência do <i>d-loop</i> de 320bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de <i>Neighbor-joining</i>	173
Figura 4. <i>Network</i> formada pelo método de <i>median-joining</i> (Bandelt <i>et al.</i> , 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas para as 16 raças bovinas brasileiras.	174
Figura 5. Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência <i>d-loop</i> da região controle de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de <i>Neighbor-joining</i> para as raças bovinas brasileiras e crioulas da América Latina.	176
Figura 6. Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência do <i>d-loop</i> de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de <i>Neighbor-joining</i> para as raças bovinas brasileiras, crioulas da América	

	Latina e as raças de origem Ibérica.	177
Figura 7.	Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência do <i>d-loop</i> de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de <i>Neighbor-joining</i> demonstrando a relação existente entre as raças bovinas brasileiras e conjunto de 50 raças amostradas no <i>GenBank</i> .	178
Figura 8.	Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência do <i>d-loop</i> de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de <i>Neighbor-joining</i> para as raças zebuínas brasileiras, para as raças indianas e raças africanas de origem zebuína e taurina incluídas neste estudo.	179
Figura 9.	<i>Network</i> formada pelo método de <i>median-joining</i> (Bandelt <i>et al.</i> , 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas as raças bovinas brasileiras e as raças crioulas da América Latina.	180
Figura 10.	Rede ( <i>Network</i> ) contraída formada pelo método de <i>median-joining</i> (Bandelt <i>et al.</i> , 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas as raças bovinas brasileiras, as raças crioulas da América Latina e as raças da Península Ibérica.	181
Figura 11.	Rede ( <i>Network</i> ) contraída formada pelo método de <i>median-joining</i> (Bandelt <i>et al.</i> , 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas em 66 raças bovinas, sendo a proporção de haplótipos observada baseada na distribuição das raças dentro dos quatro continentes englobados neste estudo.	182

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
INTRODUÇÃO	
Tabela 1. Classificação do gado indiano segundo Joshi e Phillips (Fonte: Santiago, 1983; 1984b).	27
CAPÍTULO I	
Tabela 1. Números de rebanhos e de machos e fêmeas de cada uma das raças estudadas.	63
Tabela 2. Locus microssatélites analisados, sua localização cromossômica, o par de <i>primer</i> utilizado para sua amplificação e sua referência.	66
Tabela 3. Condições de amplificação e multiplexes formados a partir dos 25 locos microssatélites analisados.	67
Tabela 4. Estatísticas descritivas para os 22 locos microssatélites analisados para cada subespécie estudada e para o conjunto formado pelas 10 raças bovinas.	73
Tabela 5. Resumo estatístico dos parâmetros genéticos populacionais observados para as dez raças estudadas baseado na média obtida com os 22 locos microssatélites.	74
Tabela 6. Análise de variância molecular (AMOVA) em diferentes níveis de estruturação entre e dentro das 10 raças bovinas estudadas.	75
Tabela 7. Estimativa aos pares de diferenciação genética e distância genética entre todas as dez raças bovinas Brasileiras.	76
CAPÍTULO II	
Tabela 1. Estimativa aos pares de diferenciação genética e distância genética entre todas as dez raças bovinas Brasileiras.	107
Tabela 2. Porcentagem de indivíduos corretamente alocados à suas populações de origem utilizando quatro diferentes metodologias para alocação baseada na genotipagem de 22 locos microssatélites.	108
Tabela 3. Número (e porcentagem) de indivíduos corretamente alocados a suas raças específicas utilizando quatro diferentes metodologias de alocação racial baseadas em genótipos obtidos a partir de 22 microssatélites.	109
Tabela 4. Alocação individual estimada para as 10 raças bovinas brasileiras a partir das probabilidades de máxima verossimilhança obtidas pela análise Bayesiana implementada no programa STRUCTURE.	110
Tabela 5. Poder discriminatório relativo dos diferentes locos microssatélites para a alocação de indivíduos às suas raças de origem em diferentes grupos populacionais com níveis variáveis de Estringência (LOD scores), níveis mínimos de acurácia (95%, 99% e 99,9%) e duas metodologias de classificação dos locos.	113
Tabela 6. Classificação dos animais da raça Pantaneira pelo Índice de Prioridade para a Conservação ( <i>Conservation Priority Index - CPI</i> ) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS ( <i>breed assignment score - BAS</i> ), a heteroziguidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada.	117
Tabela 7. Classificação dos animais da raça Nelore pelo Índice de Prioridade para a	

	Conservação ( <i>Conservation Priority Index</i> - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS ( <i>breed assignment score</i> - BAS), a heterozigidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada.	119
Tabela 8.	Classificação dos animais da raça Jersey pelo Índice de Prioridade para a Conservação ( <i>Conservation Priority Index</i> - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS ( <i>breed assignment score</i> - BAS), a heterozigidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada.	121
Tabela 9.	Classificação dos animais da raça Pantaneira pelo Índice de Prioridade para a Conservação ( <i>Conservation Priority Index</i> - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA), a heterozigidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada.	123
Tabela 10.	Classificação dos animais da raça Nelore pelo Índice de Prioridade para a Conservação ( <i>Conservation Priority Index</i> - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA), a heterozigidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada.	125
Tabela 11.	Classificação dos animais da raça Jersey pelo Índice de Prioridade para a Conservação ( <i>Conservation Priority Index</i> - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA), a heterozigidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada.	127
Tabela 12.	Classificação dos animais da raça Pantaneira pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (BAS).	129
Tabela 13.	Classificação dos animais da raça Nelore pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (BAS).	131
Tabela 14.	Classificação dos animais da raça Jersey pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (BAS).	133
Tabela 15.	Classificação dos animais da raça Pantaneira em função da probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA).	134
Tabela 16.	Classificação dos animais da raça Pantaneira em função da probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA).	136
Tabela 17.	Classificação dos animais da raça Jersey em função da probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA).	138
Tabela 18.	Índices de diversidade genética nas raças Pantaneira, Nelore e Jersey estimados para os grupos formados com 50 % dos indivíduos considerados superiores utilizando as metodologias propostas para classificação de indivíduos baseada na alocação racial feita pelo programa GENECLASS (MT1 e MT2) ou o STRUCUTURE (MT3 e MT4) e para o conjunto formado com todas as amostras de cada uma das raças (Total).	139

### CAPÍTULO III

Tabela 1.	Raças estudadas de acordo com suas regiões de origem, número de animais amostrados em cada e número de acesso no <i>GenBank</i>	160
Tabela 2.	Haplótipos observados em cada uma das 16 raças bovinas analisadas e as respectivas contagens observadas de cada haplótipo e variante específico em cada raça bovina estudada.	169
Tabela 3.	Freqüências dos diferentes haplogrupos observados nos três grandes grupos das raças bovinas brasileiras	169
Tabela 4.	Diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e coeficiente de diferenciação observado nos diferentes grupos formados a partir do conjunto de 16 raças bovinas brasileiras, inferidos pelo programa Mega 3.	170
Tabela 5.	Partição da variância molecular (AMOVA) nos diferentes níveis hierárquicos entre e dentro das 16 raças bovinas estudadas, baseada na distância de Kimura 2P.	173

## RESUMO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e as raças criadas no País podem ser classificadas, de acordo com sua origem, em comerciais e exóticas. As raças exóticas, importadas nos últimos 100 anos, taurinas e zebuínas, compõem atualmente o conjunto populacional de maior influência e manejo intensivo. As raças localmente adaptadas, originadas do gado introduzido pelos colonizadores europeus derivam-se da seleção e dos eventos naturais ocorridos na formação de uma raça. Embora exista um conhecimento histórico a respeito das raças crioulas brasileiras muito pouco se sabe de sua composição genética. Como o progresso da pecuária está relacionado com a variabilidade genética, sua perda poderá restringir as opções, não previstas, para os trabalhos de melhoramento animal. Estudos sobre a diversidade e variabilidade genética da espécie bovina poderão auxiliar decisões a respeito de quais populações devem ser conservadas, quando os recursos são escassos, evitando a duplicação de esforços na manutenção de amostras. Podem ainda assegurar a manutenção da variabilidade genética, evitando que populações de uma mesma raça, que possuam características particulares, sejam descartadas durante o processo de conservação. O objetivo deste estudo foi de avaliar, através de marcadores microssatélites e DNA mitocondrial, os níveis da diversidade genética, a relação filogenética e os padrões de miscigenação existentes entre raças bovinas criadas no Brasil. Todos os microssatélites utilizados foram altamente polimórficos nas 10 raças analisadas. Existe uma redução significativa da heterozigosidade devido à endogamia dentro das populações e à diferenciação genética das subespécies taurina e zebuína. O número de locos que contribui para a diferenciação racial variou entre as duas subespécies, sendo observado um número muito maior para a subespécie taurina quando comparada com a zebuína. Foi observado um número de alelos similares em ambas as subespécies gerando um poder de exclusão para paternidade próximo e consistente. Quatro raças crioulas apresentaram uma maior diversidade genética seguida pelas raças zebuínas, duas raças taurinas especializadas e a raça naturalizada Caracu. A diferenciação genética aos pares foi altamente significativa indicando que todas as raças analisadas podem ser consideradas como entidades genéticas distintas. Um diagrama baseado na análise realizada pelo programa STRUCTURE demonstrou uma introgressão cruzada entre as raças taurinas e zebuínas, i.e. genes indianos nas raças locais e vice-versa. Neste estudo foi possível obter um panorama detalhado a respeito da estrutura genética e diversidade de raças bovinas do Brasil, elucidando várias questões relacionadas com a origem e estrutura das raças criadas no Brasil. Existe uma quantidade significativa de variabilidade genética nas populações analisadas. Dado o

custo para manter populações de grandes animais domésticos e o armazenamento de germoplasma criopreservado, este estudo foi além das análises populacionais para investigar a possibilidade de classificar indivíduos dentro de populações visando à conservação da máxima diversidade em números limitados de indivíduos, no sentido de auxiliar na manutenção e manejo nos Núcleos de Conservação, bem como na escolha de animais alvo para a criopreservação de germoplasma. Levando em conta este conceito, foi proposta uma metodologia de priorização de indivíduos dentro de raças, baseada em testes de alocação racial e índices de diversidade genética. Pela análise do DNA mitocondrial, verificou-se uma alta diversidade nucleotídica em 16 raças bovinas brasileiras confirmando os dados históricos de miscigenação e múltiplas introduções. Verificou-se uma alta influência de raças africanas no genoma local e a base taurina da população zebuína criada no Brasil, cuja linhagem materna tem origem nas raças taurinas criadas no País anteriores à sua introdução. Os dados genéticos demonstram que as raças bovinas crioulas constituem um reservatório vasto e importante de diversidade genética para a produção e conservação da espécie bovina. Todas as raças brasileiras naturalizadas estudadas são importantes e viáveis possuindo características únicas tanto fenotípicas, genotípicas, culturais e históricas que merecem que esforços sejam realizados para a sua conservação.

## ABSTRACT

Brazil holds the largest commercial cattle population worldwide. Local cattle breeds can be classified according to their origin, as exotic or creole. Exotic breeds, imported in the last 100 years, both *B.taurus* and *B.indicus*, currently make up the bulk of the intensively managed populations. Locally adapted creole breeds, originated from cattle introduced by the European conquerors derive from natural selection and events of breed mixture. While historical knowledge exists on the Brazilian creole breeds, very little is known on their genetic composition. Animal livestock progress is related with the genetic variability, and its loss can restrict unforeseen options for animal improvement. Studies about the diversity and genetic variability of the bovine species can aid in the decisions regarding which populations should be conserved, when financial resources are scarce, avoiding the duplication of efforts in the maintenance of samples. It can still assure the maintenance of genetic variability, avoiding the possibility of populations of the same breed, which possess specific traits, be discarded during the conservation process. The objective of this study was to assess, using microsatellite markers and mitochondrial DNA, the levels of genetic diversity, phylogenetic relationships and patterns of *B. taurus/B. indicus* admixture among cattle breeds raised in Brazil. Significant reduction of heterozygosity exists due to within-population inbreeding and to breed differentiation in both subspecies (taurine and zebuine). For the *B. taurus* breeds, the number of markers that contribute to breed differentiation is larger than for *B. indicus*. A consistently similar number of alleles were seen in both subspecies for all microsatellites, resulting in close estimates of power of paternity exclusion. Four creole breeds were the most genetically diverse followed by the *B. indicus* breeds, the two specialized *B. taurus* breeds and the creole Caracu. Pairwise genetic differentiation were all significant, indicating that all breeds can be considered as genetically independent entities. A STRUCTURE based diagram showed introgression in both directions, i.e. of *B. indicus* genes in the local creole breeds and vice-versa. In this study was possible to get a comprehensive overview of the genetic structure and diversity of cattle breeds in Brazil, elucidating several questions related with their origin and population structure. A significant amount of genetic variation is maintained in the local cattle populations. Given the costs for long term maintenance of large collections of live animals or cryopreserved samples, this study goes beyond the population level analysis for conservation priority to investigate the composition of Brazilian cattle breeds at the individual level to support the assembly of core collections. Taking into consideration this concept, a practical decision method to prioritize individual animals for conservation has been proposed. This method is based on a combination of the assignment probability to the rightful breed and on two measures of the

genetic diversity. Using DNA mitochondrial analysis it was possible to verify that high nucleotide diversity exist in 16 Brazilian bovine breeds validating, in these ways too, the historical data of miscegenation and multiple introductions. A high influence of African breeds was verified in the local genome and the *B. taurus* base of the Brazilian zebu cattle population, whose maternal lineage has origin in the *B. taurus* breeds that existed in Brazil previous to its introduction. The genetic data show that Brazilian creole breeds constitute an important and diverse reservoir of genetic diversity for bovine breeding and conservation. The genetic data was able to shed light on a number of issues related to the local breeds origin and structure. The Brazilian creole breeds are all important and viable targets for conservation for they display peculiar traits both phenotypic and of cultural and historical nature that deserve conservation efforts.

## INTRODUÇÃO GERAL

A população mundial dobrou desde 1950, e de acordo com previsões atuais, é de se esperar que dobre novamente pelo ano de 2025 estabilizando-se em um patamar mais alto pelo ano de 2100. Esta estabilização já está começando a ocorrer em países do primeiro mundo, de forma que o aumento da população deverá ocorrer principalmente nos países em desenvolvimento, que serão inevitavelmente obrigados a aumentar a produção de alimentos.

A evolução dos animais domésticos e sua expansão foram moldadas pelo homem ao longo das gerações, devido à rota migratória e o estabelecimento do ser humano nas mais diversas regiões. Assim sendo, quando a América foi colonizada, as raças Ibéricas, foram trazidas pelos portugueses e espanhóis. Estas evoluíram ao longo dos séculos, adaptando-se às condições sanitárias, de clima e manejo encontradas nos mais diferentes habitats, dando origem às raças naturalizadas brasileiras, também denominadas de “locais” ou, num termo mais genérico, “crioulas”.

No Brasil, a busca por raças mais produtivas visando atender a crescente demanda de produtos de origem animal fez com que, a partir do final do século XIX e início do século XX, houvessem importações de raças consideradas “exóticas”, que embora fossem consideradas altamente produtivas haviam sido selecionadas em regiões de clima temperado. Os programas de melhoramento tinham como base o uso intensivo de cruzamentos do germoplasma “local” com raças “exóticas”.

Embora muitos destes programas tenham falhado, uma vez que os animais oriundos destes cruzamentos eram menos produtivos que as raças “locais”, houve uma drástica redução no efetivo populacional das raças naturalizadas, as quais se encontram, excetuando-se a raça Caracu, em risco de extinção (Mariante, 1993). As raças “locais” embora apresentem níveis de produção mais baixos do que as raças exóticas distinguem-se por apresentarem uma enorme adaptação aos trópicos, onde foram submetidas a um longo processo de seleção natural o que proporcionou o aparecimento de características de adaptação, resistência a doenças e a parasitas.

Programas mundiais de conservação de Recursos Genéticos Animais (RGA) têm sido desenvolvidos baseados na preocupação da perda da diversidade genética devido à extinção de raças e populações. Estima-se que, a cada semana, uma a duas raças de animais domésticos estejam sendo perdidas (FAO, 2003). Este fato, pela sua magnitude, vem sendo comparado aos grandes processos de extinção em massa que ocorreram anteriores ao aparecimento do homem, ao longo da formação de nosso planeta (Frankham *et al.*, 2002).

Para que as raças locais brasileiras não fossem perdidas, em 1983, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) incluiu no seu Programa Nacional de Conservação de Recursos Genéticos, que até então contemplava apenas a conservação de plantas, a conservação dos recursos genéticos animais. Neste Programa, a conservação é realizada por diversos Centros de Pesquisa da EMBRAPA, Universidades, Empresas Estaduais de Pesquisa, assim como por criadores particulares, sendo esta rede coordenada pelo Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN).

A conservação vem sendo realizada através de Núcleos de Conservação, mantidos no habitat onde os animais se desenvolveram e foram submetidos à seleção natural (*in situ*) e mediante o armazenamento de sêmen e embriões (*ex situ*). Dentre as etapas envolvidas no processo podemos citar: (a) identificação das populações em risco de extinção ou diluição genética; (b) caracterização fenotípica e genética e (c) avaliação do potencial produtivo da população.

Embora a perda da variabilidade genética (alelos) dentro das raças ou populações seja um fator natural e esteja continuamente sendo contra-atacada pela introdução de novas variações devido à mutação, deve-se levar em conta que cruzamentos preferenciais com indivíduos considerados superiores e os trabalhos de seleção impostos pelo homem em determinadas espécies, têm ocasionado uma erosão genética em muitas populações sem que haja uma reposição dos alelos que estão sendo perdidos. Além disto, a variação genética representada como diferenças entre raças, linhagens ou populações não pode ser facilmente regenerada (Barker, 1994).

Nas últimas décadas do século XX foi constatado que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são inseparáveis (Barker, 1994). Houve uma conscientização da importância das raças domésticas na biodiversidade mundial devido aos genes e combinações gênicas que estes possuem e que podem ser úteis na agropecuária no futuro.

A domesticação animal iniciou-se há 12.000 anos e um grande conjunto de subpopulações evoluiu a partir da adaptação às diferentes condições ambientais a que foram submetidas devido à migração do homem durante os séculos. Estas subpopulações são normalmente denominadas de raças, ou seja, grupos de indivíduos que possuem aparência e características similares. Cada raça ou população é o produto de evoluções e adaptações através dos séculos, com diferentes pressões de seleção impostas pelo clima, parasitas endêmicos, doenças, alimentação viável e critérios impostos pelo homem (Mariante & Egito, 2002). A formação de uma raça, provavelmente, esteve associada à perda de diversidade gênica (alelos) nos estágios iniciais, bem como à concentração e, eventualmente, fixação de algumas

características específicas (Mariante & Egito, 2002). Se duas populações foram, por motivos geográficos ou por razões ecológicas, geneticamente isoladas, elas acumularão diferentes alelos como consequência de mutações no processo ao acaso da deriva genética (Hetzl & Drinkwater, 1992; Barker, 1994). O melhoramento genético realizado sob uma pressão de seleção unidirecional também pode envolver tanto o aumento da frequência de genes aditivos favoráveis, bem como, a quebra dos mecanismos homeostáticos regulatórios que foram estabelecidos durante o processo de seleção natural das populações (Notter, 1999).

Desta forma, cada raça possui, provavelmente, uma combinação única de genes, sendo a presença e a frequência das formas alélicas a base da variação genotípica. Assim, a diversidade genética dentro das espécies domésticas está refletida na variedade de tipos e raças que existem e na variação presente dentro de cada uma (Egito *et al.*, 1999).

A diversidade genética é fundamental para o melhoramento genético sustentável, facilitando assim, a rápida adaptação às mudanças necessárias e imprevistas para o desenvolvimento dos sistemas de produção, uma vez que não é possível prever com objetividade quais características poderão ser necessárias no futuro. Assim sendo, o elemento chave para estratégias de conservação deve ser a caracterização das raças e populações de modo a fornecer um quadro geral da diversidade genética existente.

A variabilidade genética atual compreende cerca de 6.300 raças ou populações de animais domésticos (FAO, 2004). Esta diversidade genética é fundamental para a melhoria genética sustentável, facilitando assim, a rápida adaptação às mudanças necessárias e imprevistas para o desenvolvimento dos sistemas de produção, não sendo possível prever com objetividade quais características podem ser necessárias no futuro (Mariante & Egito, 2002).

Nos últimos 10-15 anos, foi constatado que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são inseparáveis. Com o auxílio de várias organizações e de diversos países (entre os quais o Brasil), em 1991 a FAO iniciou um levantamento em nível mundial sobre a situação das principais espécies de animais domésticos. Desde então, programas mundiais de conservação têm sido desenvolvidos devido à preocupação com a perda da diversidade genética causada pela extinção de raças e populações. Hanotte & Jianlin (2005) comentam que a situação é particularmente preocupante nos países em desenvolvimento onde as mudanças nos sistemas de produção levaram à substituição ou absorção, por cruzamento, das raças nativas e, com isto, concluem que a documentação da diversidade dos recursos genéticos animais (RGA) é urgente, assim como, a adoção de estratégias para sua conservação sustentável.

A sugestão de aplicar a caracterização genética nos programas de conservação de RGA não é recente (Mariante & Trovo, 1989; Fitzhugh & Strauss, 1992; Barker, 1994; Egito *et al.*,

1999). Em 1992, Hetzel & Drinkwater já afirmavam que as técnicas moleculares, baseadas em polimorfismos de DNA para a análise da variabilidade genética eram essenciais para os programas de conservação e melhoramento racionais, uma vez que estes devem estar fundamentados na combinação dos dados fenotípicos e genéticos. Bjornstad *et al.* (2000) consideram a caracterização como o primeiro passo para a conservação de raças nativas.

Estudos populacionais que elucidem a relação existente entre as diferentes raças de uma dada espécie podem fornecer informações úteis para a conservação e manejo dos RGA como a evolução das raças, o desenvolvimento dos *pools* gênicos e a magnitude da diferenciação genética (MacHugh *et al.*, 1997; Bruford *et al.*, 2003). Pela análise genômica pode-se ter um maior conhecimento a respeito da identificação dos ancestrais selvagens que originaram as espécies domésticas atuais e a localização e o momento dos eventos de domesticação, assim como os processos – mutações, deriva genética, fluxo gênico e seleção natural – que influenciaram a variação entre os genomas e as populações (Bruford *et al.*, 2003; Luikart *et al.*, 2003).

Pelo padrão da variação de um determinado loco, dentro das populações, pode-se deduzir fatores demográficos importantes para a conservação da diversidade (Kantanen *et al.*, 1999). Raças com história evolucionária única podem possuir genes valiosos que podem ser utilizados em programas de melhoramento aproveitando-se o ganho obtido através da heterose.

O estabelecimento de ações prioritárias em programas nacionais de conservação de RGA pode ser obtido pela associação de dados fenotípicos, polimorfismos moleculares e metodologias estatísticas adequadas que reflitam a real condição de uma população. Este fato por si só justificaria o esforço empreendido na caracterização destas populações uma vez que o custo de projetos desta natureza é altamente elevado, e deve ser levado em conta, na tomada de decisões racionais evitando a duplicação de esforços na manutenção de amostras de raças que, essencialmente, podem ser as mesmas. Por outro lado, pode-se assegurar ainda, a manutenção da variabilidade genética evitando que características particulares, sejam descartadas durante o processo de conservação (Egito *et al.*, 1999; Hanotte & Jianlin, 2005).

## **1. CLASSIFICAÇÃO E ORIGEM DOS BOVINOS**

Os bovinos pertencem ao reino Animalia, filo Chordata, classe Mammalia, subclasse Ungulata e à ordem Artiodactyla. Dentro dessa se localizam na sub-ordem Ruminantia, família

Bovidae, sub-família Bovinae (Figura 1) composta por três tribos: Bovini, Boselaphini e Tragelaphini (Mason, 1984; Janecek *et al.*, 1996).

Segundo Lenstra & Bradley (1999) a domesticação da tribo Bovini, na qual estão situadas as espécies domésticas de grande porte mais importantes, foi o maior avanço da transição ocorrida no período neolítico. Utilizando a celulose como fonte de energia para seu sustento, os bovinos e seus “familiares” taxonômicos forneciam leite, carne e pele. Foi o modelo animal que sustentou a agricultura por milênios na Antigüidade, e nos dias atuais possui uma enorme importância econômica, cultural e até mesmo religiosa. Nesta tribo, situam-se as espécies selvagens e domésticas dos búfalos e dos bovinos e, segundo os mesmos autores, estas começaram a divergir há mais de quatro milhões de anos.

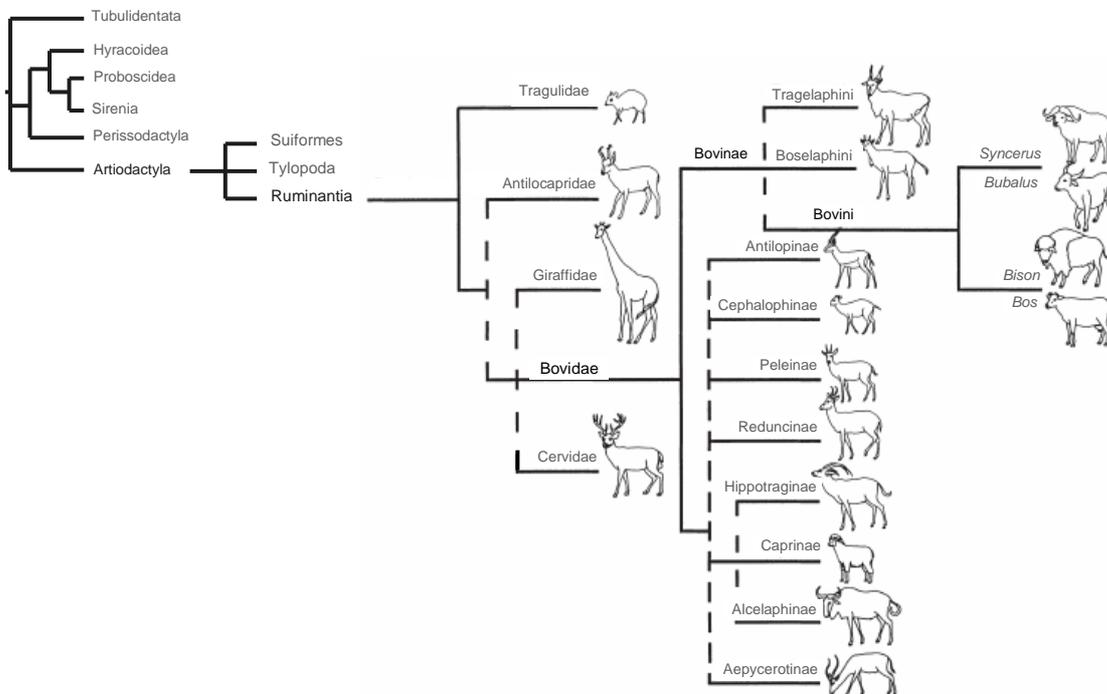


Figura 1. Filogenia dos ungulados enfatizando a ordem dos ruminantes, família Bovidae, subfamília Bovinae e as divisões principais dentro da tribo Bovini. (adaptada de Lenstra & Bradley, 1999).

Pode-se observar que embora seja amplamente estudada, tanto morfológica como por técnicas moleculares, a sistemática filogenética da família Bovinae e da tribo Bovini ainda é incerta (Lenstra & Bradley, 1999; Buntjer *et al.*, 2002). Os gêneros da tribo Bovini são descritos de diferentes formas, dependendo do autor e do estudo que este realizou. Basicamente, esta tribo é composta, segundo Santiago (1984b) pelos gêneros: *Bos* (onde está localizado o bovino – *Bos*

*taurus*), *Bison* (bisão americano - *B. bison* e bisão europeu - *B. bonassus*), *Bibos* (gauro - *B. gaurus*, o gaial - *B. frontalis* e o banteng - *B. javanicus*), *Syncerus* (búfalos africanos - *S. caffer* e *S. namus*), *Anoa* (anoa: *A. depressicornis*) e *Bubalus* (búfalos de rio: *B. bubalis bubalis* e búfalos de pântano - *B. bubalis kerebao*). Além destes, Mason (1984), cita o gênero *Phoepagus* onde está classificado o iaque (*P. grunniens*).

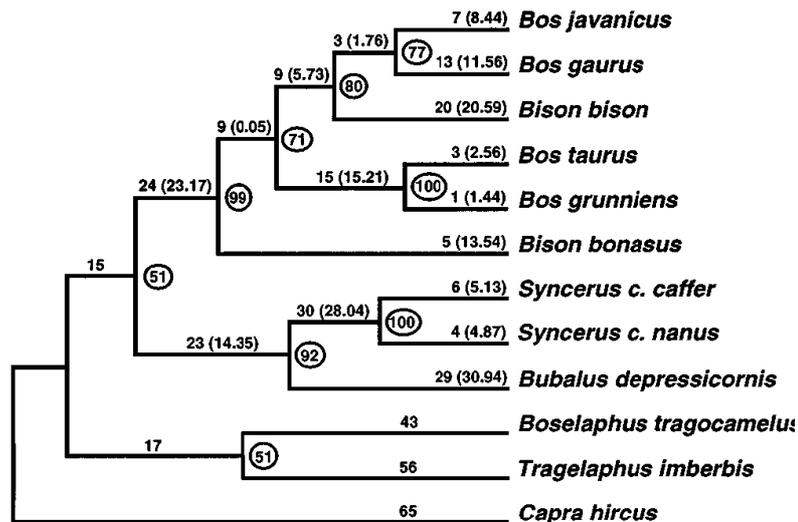
Diferentes estudos, utilizando marcadores moleculares, já foram realizados visando elucidar a filogenia da tribo Bovini. Pitra *et al.* (1997) ao seqüenciar dois genes distintos observam que o *Anoa* está mais próximo da tribo *Boselaphus* que da sua própria tribo. Miyamoto *et al.* (1989), Allard *et al.* (1992) e Janecek *et al.* (1996) estudaram o DNA mitocondrial (mtDNA) de diferentes indivíduos deste táxon (Figura 2). Ritz *et al.* (2000) analisaram a estrutura populacional da tribo bovini baseando-se em 20 locos microssatélites enquanto Buntjer *et al.* (2002) utilizaram marcadores do tipo AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).

Para alguns autores, os gêneros *Bison* e *Bos* deveriam ser reagrupados em um único gênero (Van Gelder, 1977; Miyamoto *et al.*, 1989) assim como os gêneros *Syncerus* e *Bubalus* (Janecek *et al.*, 1996). O gênero *Phoepagus* e o *Anoa* também são encontrados integrando, respectivamente, os gêneros *Bos* e *Bubalis* (Allard *et al.*, 1992; Janecek *et al.*, 1996; Lestra & Bradley, 1999).

O *Bos taurus primigenius*, denominado de Auroque, Uro, Reem ou Tur (Masson, 1988) é considerado o ancestral imediato de todo o gado doméstico (Epstein & Mason, 1984), entretanto MacHugh (1997) afirma que o mesmo é a forma primitiva apenas dos bovinos domésticos (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*; FAO, 2006). Os auroques possuíam uma grande distribuição geográfica, tendo sido encontrados fósseis em sítios distantes como a Inglaterra e a China, o que ocasionou a formação de subespécies e/ou raças geograficamente distintas (MacHugh *et al.*, 1997). Segundo Alderson (1992), a domesticação dos auroques em sítios tão diversos pode ter contribuído para a formação dos diferentes tipos de bovinos observados atualmente.

A formação da espécie bovina ocorreu na Ásia sendo a sua expansão realizada em tempos distintos. Num primeiro momento, houve irradiação dos animais em sua forma selvagem na medida em que ocorria o degelo glacial e, depois, já domesticados, no curso dos movimentos migratórios do Homem após o neolítico. O *Bos primigenius*, considerado o precursor da espécie, espalhou-se a partir da Ásia para o continente africano, originando o *Bos primigenius opisthonomus* e para a Europa, dando origem ao *Bos primigenius primigenius*. A forma que permaneceu na origem foi a *Bos primigenius nomadicus* (Figura 3).

Todas estas formas primitivas deram origem às raças atuais. Os bovinos europeus descendem de quatro formas primitivas, que seriam: o *Bos taurus primigenius*, o *Bos taurus brachyceros*, o *Bos taurus frontosus* e o *Bos taurus akeratos* (Santiago, 1984b; Lara, 1998).



(Fonte: Janecek *et al.*, 1996)

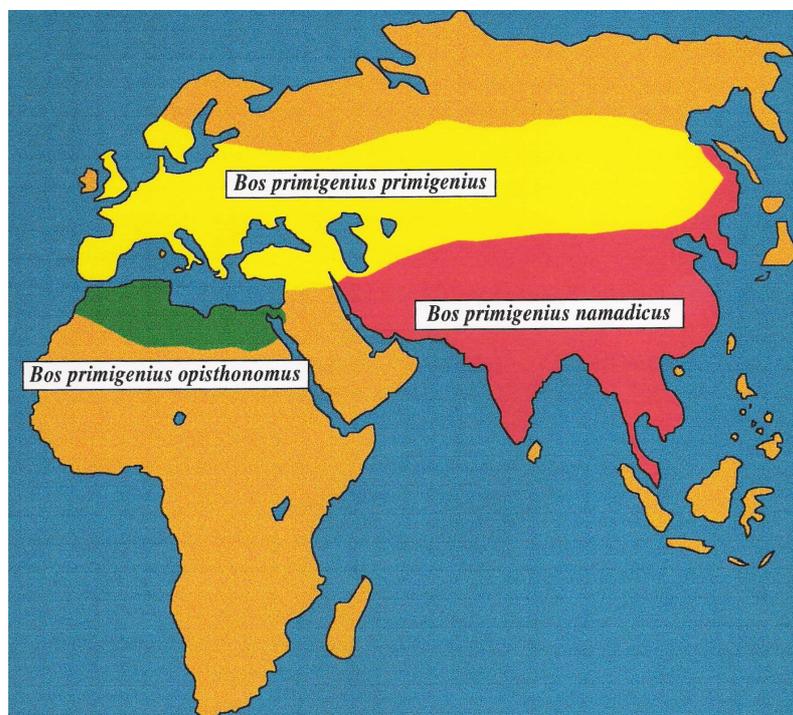
Figura 2. Dendrograma da tribo Bovini obtido a partir do seqüenciamento de regiões do mtDNA.

Do *Bos taurus primigenius* derivam as raças cinzentas existentes na Ucrânia, Hungria, Bulgária e em outros países, bem como, as raças italianas como a Marchigiana e a Romagnola (Masson, 1988). As raças situadas no norte da Europa e do Reino Unido como a Holandesa, a Hereford, a Shorthorn e algumas raças ibéricas (Jardim, 1988) também têm sua origem nesta espécie.

O *Bos taurus brachycerus* de estatura menor com chifres curtos e fronte comprida, segundo Athanassof (1957), é a forma mais antiga de domesticação. Incluem-se nas raças originadas desta subespécie as raças Jersey e Pardo-Suíça. Este tipo também predomina na costa norte da África, na Ásia Menor e na região onde se localiza a Palestina.

De estatura intermediária o *Bos taurus frontosus* é considerado por alguns um produto resultante do cruzamento entre os tipos anteriores (Lara, 1998). Neste grupo incluem-se as raças convexilíneas como a Simental, a Limosine e o Caracu.

O *Bos taurus akeratus* era de estrutura relativamente pequena, sem chifres e com o occipital proeminente, apresentando algumas semelhanças com o *Bos taurus brachycerus* o que faz supor que possa ter sido oriundo deste (Jardim, 1988). Neste grupo estão incluídos o Mocho Nacional e algumas raças Britânicas como o Red Polled e o Polled Angus, bem como raças mochas da Suíça e da Rússia.



(Fonte: MacHugh, 1996)

Figura 3: Distribuição das três subespécies de auroques há 12.000 mil anos atrás. Os Euroasiáticos estão em amarelo (*B.p.primigenius*); os do Sul asiático estão em vermelho (*B.p.namamidicus*) e os do Norte da África estão demonstrados em verde (*B.p.ophisthonomus*).

Atualmente as raças bovinas se distribuem em duas subespécies. A primeira, constituída pelo tipo setentrional ou Taurino (*B. taurus taurus*; FAO, 2006), compreende as raças bovinas européias, que se caracterizam por ter chifres geralmente curtos; pele clara, pêlos longos e não possuem cupim, estando disseminados pelas regiões de clima temperado. A segunda,

constituída pelo tipo Zebuino (*B. taurus indicus*; FAO, 2006), vive nas regiões tropicais, tendo por características mais importantes a pele pigmentada e bastante solta; a barbela ampla: os pêlos unidos, curtos e finos e apresentam cupim. É conhecido pela denominação de Zebu ou Cebu, nos países latinos, e genericamente como Brahman nos Estados Unidos (Santiago, 1984b; 1984a).

Existe um padrão de distribuição geográfica evidente entre as populações zebuínas, taurinas e seus mestiços. Os zebuínos e seus mestiços localizam-se predominantemente em regiões áridas como a Índia, o Oriente Médio e grande parte da África enquanto que os taurinos são nativos do Norte da África e de suas regiões úmidas e da Eurásia (Bradley *et al.*, 1998).

Devido ao não isolamento reprodutivo entre os dois grupos, alguns autores discordam da classificação original que os colocam como espécies distintas. Dados de polimorfismos protéicos sugerem um alto grau de divergência genética entre os dois grupos (Barker & Manwell, 1980). Da mesma forma, análises realizadas a partir de dados de seqüências de DNA mitocondrial ou locos microssatélites revelam que a divergência dos zebuínos e dos taurinos ocorreu há milhões de anos, em pelo menos dois eventos de domesticação independentes (Loftus *et al.*, 1994; MacHugh *et al.*, 1997).

O boi indiano – *Bos indicus* – não tem sua origem perfeitamente estabelecida. Cogita-se que o *Bos nomadicus* ou *Bos acutifrons*, um bovino selvagem do período Pleistoceno, conhecido apenas por fósseis, seria uma forma primitiva do zebu (Santiago, 1984b; Santos, 1993). Vários autores preconizam que o zebu pode ter se originado de descendentes de acasalamentos do gênero *Bibos* com algum ramo filogenético dos diversos Uros do período Pleistoceno (*Bos planifrons*) (Santos, 1993). O norte da Índia foi o centro de origem e distribuição do zebu, bem como, dos bois domésticos primitivos. Fósseis encontrados neste local indicam que a subespécie surgiu no início do quaternário (Jardim, 1988).

## 2. RAÇAS BOVINAS NO BRASIL

As raças bovinas atualmente criadas no Brasil podem ser classificadas de duas formas de acordo com sua origem: naturalizadas ou exóticas. O termo “naturalizada” também pode ser substituído por “nativa” ou “crioula”, embora o primeiro não seja apropriado uma vez que não existiam animais domésticos à época do descobrimento no continente Americano. O termo “exótica” é utilizado para denominar as raças comerciais que foram importadas a partir do século XX.

Devido a esta inexistência, os colonizadores sentiram a necessidade de trazer da Península Ibérica e, eventualmente, das ilhas Canárias e de Cabo Verde, o gado indispensável para a produção de leite, carne, bem como para o trabalho. Assim sendo, os primeiros bovinos introduzidos nas Américas foram oriundos da Espanha e de Portugal, os quais vieram a formar os rebanhos crioulos (Rouse, 1977; Primo, 1993); sendo que o Brasil foi o único país da América do Sul que recebeu bovinos de Portugal nesta época (Athanasoff, 1957).

A introdução de bovinos na América do Sul esteve diretamente associada ao avanço das frentes colonizadoras em direção ao interior do continente (Rouse, 1977; Primo, 1993).

Embora a produção de carne no Brasil Central esteja fundamentada nas raças zebuínas, nas explorações com finalidade leiteira o sangue taurino está sempre presente. A origem européia destes animais pode estar na forma de animais crioulos, mestiços (zebu x taurino) ou em rebanhos puros de origem ou puros por cruza (Santiago, 1984b). Em muitas regiões, os produtos de cruzamentos de europeus com indianos constituem a grande maioria dos rebanhos produtores de leite.

## **2.1. Raças bovinas naturalizadas ou crioulas**

Como citado anteriormente, os bovinos foram introduzidos nas Américas pelos colonizadores. Os primeiros bovinos chegaram em 1493 na ilha Espanhola, onde hoje estão localizados o Haiti e a República Dominicana (Mariante, 1993). Além de raças espanholas, primeiras a adentrarem o novo mundo, o Brasil foi o único país do continente americano que recebeu raças de origem portuguesa, sendo que a primeira introdução ocorreu 34 anos após o descobrimento do Brasil (Primo, 1993; Mazza *et al.*, 1994), através do porto de São Vicente no ano de 1534 (Lima *et al.*, 1990) seguido do desembarque de animais na costa de Pernambuco e na Bahia (Mariante & Cavalcante, 2006).

A história das raças naturalizadas confunde-se com o descobrimento do Brasil e com a expansão dos colonizadores no continente Americano. Pelos portos do Atlântico adentrou o gado português e pelos do rio da Prata o gado espanhol, que mais tarde, chegou ao Brasil pelas fronteiras com o Uruguai, Argentina e Paraguai (Rosa *et al.*, 1992).

Enquanto os bovinos desembarcados em São Vicente foram irradiados para os campos sulinos, Goiás e o Vale do São Francisco (Minas e Bahia) chegando também até o Piauí e o Ceará, os que desembarcaram em Pernambuco e na Bahia emigraram para os sertões nordestinos, norte de Minas, oeste da Bahia, onde encontraram os rebanhos originários de São Vicente (Primo, 1993).

Os três núcleos – São Vicente, ao sul; Salvador, ao centro; Recife, ao norte – se constituíram nas zonas importadoras de gado de origem portuguesa, que se reproduzia livremente, sem a interferência do homem (Mariante & Cavalcante, 2006). A seleção natural destes rebanhos em ambientes totalmente distintos e a miscigenação dos animais trazidos deu origem a diferentes raças. No Nordeste do país cresceu o gado Curraleiro ou Sertanejo, que migrou para Minas Gerais e Goiás. No sudeste desenvolveu-se o Junqueira e o Franqueiro além das raças Caracu e Mocho Nacional. No sul, formou-se o Crioulo Lageano e, no Pantanal, o gado Pantaneiro.

Existem controvérsias a respeito das raças trazidas pelos espanhóis, porém vários autores concordam que os primeiros animais que chegaram tinham origem na Andaluzia, sudoeste da Espanha. Segundo Rouse (1977) existe uma grande semelhança entre algumas raças nativas e raças andaluzas como a Retinta e a Berrenda. Das raças Portuguesas as que mais contribuíram para a formação das raças naturalizadas foram a Mertolenga, a Alentejana, a Arouquesa, a Barrosã, a Minhota e a Mirandesa (Primo, 2000).



Figura 4. Raças bovinas naturalizadas. (a) Junqueira; (b) Patuá; (c) Curraleiro; (d) Pantaneiro; (e) Crioulo Lageano; (f) Caracu e (g) Mocho Nacional.

Os bovinos ibéricos de raça pura, os quais originaram as raças nativas brasileiras, filiavam-se a três troncos diferentes: o batávio (*Bos taurus batavicus*), representados pelas raças Barrosã e Turina; o aquitânico (*Bos taurus aquitanicus*), representado pelas raças Galega,

Arouquesa, Alentejana, Mertolenga, Agarvia, Minhota; e o ibérico (*Bos taurus ibericus*) representado pelas raças Mirandesa e Brava (Mariante & Cavalcante, 2006).

Segundo Athanassof (1957), os animais nacionais que se filiam ao *Bos taurus ibericus* (Curraleiro, Crioulo Lageano e Pantaneiro) possuem porte pequeno à médio, os que se filiam ao *Bos taurus aquitanicus* (Caracu) possuem estatura acima da média e os que se filiam ao *Bos taurus batavicus* são animais mestiços com aptidão leiteira e estatura abaixo da média. Conforme Primo (1993), as raças Curraleiro, Crioulo Lageano e Pantaneiro, provavelmente possuem um ancestral comum, o *Bos taurus ibericus*, enquanto que as raças Caracu, Junqueira e Mocho Nacional têm, como provável ancestral, o *Bos taurus aquitanicus*. Na figura 4 pode-se visualizar exemplares de cada uma das raças naturalizadas incluídas neste trabalho.

### **A Raça Caracu**

Embora a raça Caracu filie-se ao tronco Aquitânico, segundo a Associação Brasileira de Criadores de Caracu várias raças, espanholas e portuguesas, pertencentes inclusive a outros troncos contribuíram para a sua formação.

Athanassof (1957) cita que o gado Caracu é oriundo das raças Minhota e Alentejana (tronco Aquitânico) enquanto Bicalho (1985) afirma que a raça Mertolenga também participou de sua formação embora não existam registros da entrada de animais desta raça no Brasil. Segundo Primo (2000) as raças Alentejana, Arouquesa, Barrosã, Minhota e Mirandesa foram responsáveis pela formação das raças Caracu e Curraleiro.

O bovino Caracu fixou-se inicialmente em Minas Gerais e, posteriormente, em São Paulo. No início do século XX, a raça tinha boa expressão na agropecuária brasileira. Em 1900 possuía o maior efetivo populacional dentre as raças naturalizadas, mas por estar abandonada, corria o risco de desaparecer (Lima *et al.*, 1990). No início do século XX realizou-se um programa de seleção voltado para corte nesta raça o qual, após 55 anos, foi considerado um fracasso (Trovo & Duarte, 1981). Existiam restrições à linhagem denominada “Caracu Caldeano” criado na zona de Poços de Caldas, pela família Carvalho Dias. Esta linhagem apresentava parentesco com bovinos pertencentes ao tronco Batavicus (Holandês antigo) e tinham boa aptidão leiteira (Lima *et al.*, 1990).

Em 1965, com o encerramento da associação de criadores, que havia sido criada em 1916, e com a paralisação dos estudos de melhoramento da raça em Nova Odessa, em 1970 (Dias, 1948; Trovo & Duarte, 1981; Bicalho, 1985) o Caracu quase chegou à extinção. Em 1976, o Instituto de Zootecnia da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo,

iniciou um programa de reconstituição e estudo desta população, o que resultou na criação de uma nova associação em 1980, que foi reconhecida oficialmente pelo Ministério da Agricultura em 1983 (Anon, 1989).

O Caracu é um gado de porte grande, apresenta perfil retilíneo ou ligeiramente convexo e orelhas de tamanho médio. A pelagem pode variar de baio, amarelo claro ou vermelho escuro, sem atingir o branco e o castanho nas extremidades. São animais de chifres e cascos alaranjados, sendo permitida a presença de estrias pretas, principalmente nos cascos. As mucosas devem ser claras, e na pelagem são indesejáveis manchas pretas ou brancas. A linha do dorso é plana, com pequena inclinação na garupa, o prepúcio é curto e a vassoura do rabo de cor amarela. Atualmente é considerada uma raça de dupla aptidão, ou seja, produz carne e leite (Lima *et al.*, 1990). Em regime exclusivo de pasto, o peso médio das vacas varia de 550 a 650 kg. Os touros pesam ao redor de 1.000 kg podendo chegar a 1.200 kg. A produção, em rebanhos de seleção leiteira, está em torno de 2.100 kg por lactação (inclui novilhas de primeira cria) em regime de pasto com pequena suplementação (Lima *et al.*, 1990). O leite tem alto teor de gordura, em torno de 5%, e um extrato seco também elevado (Anon, 1989).

Entre as raças nativas foi a mais estudada e não corre risco de ser extinta como as demais. Bicalho, em 1985 concluiu, baseada em polimorfismos protéicos e grupos sanguíneos, que a raça apresentava uma baixa variabilidade genética e estava subdividida em quatro populações geneticamente distintas sugerindo um intercâmbio entre criadores para evitar a diminuição da variabilidade devido à deriva genética.

A decisão do Instituto de Zootecnia de reconstituir a raça em 1976 foi extremamente acertada, pois atualmente esta vem sendo amplamente utilizada em cruzamentos, principalmente com vacas zebuínas, nas áreas de criações extensivas. Hoje o Caracu é encontrado praticamente em todo o território nacional e existiam, em 2001, mais de 75.000 animais registrados, sendo que, atualmente, existem mais de 160 criadores associados. A raça tem competido em igualdade com raças especializadas em qualidade e produtividade de seus mestiços, principalmente nas áreas onde o sistema é de cobertura a campo.

### **A Raça Mocho Nacional**

Acredita-se que a raça tenha surgido no estado de Goiás (Magnabosco *et al.*, 1993). No entanto esta raça também podia ser encontrada em São Paulo e Minas Gerais (Rosa *et al.*, 1992). Embora alguns sugiram que o caráter mocho tenha surgido em decorrência de mutações no Caracu, considera-se esta hipótese pouco provável, pois mutações semelhantes em bovídeos

são raras. Santiago (1985) acredita que este gado tenha surgido do cruzamento dos bovinos crioulos e reprodutores de raças inglesas, Red Polled e Red Lincoln, importados no início do século XX. Segundo o mesmo autor, o sangue exótico diluiu-se, mas o caráter mocho, por ser dominante na maioria dos casos, prevaleceu. Na verdade, é praticamente impossível determinar com exatidão as origens dos ancestrais do Mocho Nacional e mesmo reconstituir seu processo de formação (Yassu & Franco, 1996).

A raça teve seu valor econômico reconhecido em 1911 quando o Governo do Estado de São Paulo passou a criá-la na Fazenda de Seleção no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa e, após um período expansionista, em 1939 foi fundada a sua Associação de Criadores. Mas a partir da década de 50, com o avanço do gado zebuino, a raça entrou em franco declínio, culminando com o encerramento do serviço de registro genealógico por volta de 1965. A Fazenda de Nova Odessa paralisou os trabalhos de seleção em 1969, leiloando praticamente todo o plantel. O governo de São Paulo justificou a venda afirmando que tais bovinos exerciam pouca influência na bovinocultura paulista (Magnabosco *et al.*, 1993; Yassu & Franco, 1996).

A completa extinção dos bovinos Mocho Nacional só não ocorreu graças a alguns pecuaristas e sua inclusão, em 1983, nos projetos de conservação do Programa Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos da EMBRAPA (Magnabosco *et al.*, 1993). Segundo Santiago (1985) e Mariante & Cavalcante (2006) a raça Mocho Nacional exerceu influência direta na formação das raças zebuínas mochas (Gir, Nelore e Tabapuã).

Algumas das principais características do bovino Mocho Nacional são: cabeça leve, perfil retilíneo e subconvexo; focinho pequeno, pigmentação rósea embora ocorra pigmentação escura parcial em alguns animais; os chifres são ausentes, apesar de ocorrerem rudimentos (castanhas) em alguns indivíduos; pelagem varia do amarelo claro (inclusive o barroco) ao vermelho retinto; os pêlos são curtos, finos e sedosos; corpo cilíndrico e comprido; garupa relativamente comprida e larga, com tendência horizontal; umbigo reduzido; prepúcio recolhido; membros medianos e fortes; úbere de tamanho mediano a pequeno e tetas geralmente pequenas (Magnabosco *et al.*, 1993).

Segundo Rosa *et al.* (1992) os animais são rústicos, de pequeno porte, mas bem conformados. É considerado um grupamento genético bastante adaptado às condições de criação extensiva da região Centro-Oeste do país, apresentando inclusive maior rusticidade que o próprio Caracu (Torres, 1958).

Embora os animais da raça Mocho Nacional estejam sendo registrados na Associação Brasileira de Criadores de Caracu (ABCC), como “Caracu Variedade Mocha” (Mariante &

Cavalcante, 2006), trabalhos recentes como o de Serrano *et al.* (2004) e relatos que os descreviam como animais de pequeno porte demonstram que provavelmente ambas possuíam, inicialmente, origens distintas.

### **A raça Crioula Lageana**

A raça Crioula na América Latina tem sua origem possivelmente nos antigos bovinos Hamíticos, caracterizados por chifres longos, domesticados no Egito aproximadamente 4000 anos A.C., e introduzidos no Sul da Espanha procedentes da África do Norte. No Brasil, o gado Crioulo é descendente direto do gado introduzido pelos colonizadores portugueses e espanhóis, e se desenvolveu exclusivamente por seleção natural por quatro séculos na região que habita (Mariante & Cavalcante, 2006). Assemelha-se muito à raça Berrenda da Andaluzia (Primo, 2000).

Descendentes de animais remanescentes das Missões Jesuíticas foram, por longo tempo, o principal esteio da bovinocultura das regiões dos Campos da Serra no Rio Grande do Sul e do Planalto Catarinense (Spritze *et al.*, 1999). Estas regiões caracterizam-se por solos ácidos e pedregosos, de pequenas profundidades, com topografia em geral acidentada, várzeas, capões de mato e matas ciliares abundantes, invernos frios com grande incidência de geadas. A baixa temperatura no período de inverno é limitante para muitas raças bovinas (especialmente zebuínas) e a indisponibilidade de forragem verde, devido às geadas, limitante a outras (especialmente taurinas comerciais ou especializadas) afetando a adaptação e/ou produtividade destes animais na região. A estas condições adversas o bovino Crioulo Lageano está totalmente adaptado (Ribeiro, 1993).

Os bons resultados, obtidos com cruzamentos de animais desta raça com reprodutores de raças européias e zebuínas, a partir do final do século XIX, causaram quase o desaparecimento completo dos bovinos crioulos.

Estes animais são conhecidos por Crioulo Lageano, pois a maior parte do seu efetivo populacional se concentra na região de Lages - SC. Atualmente, a população desses bovinos encontra-se reduzida existindo um pouco mais de 500 animais (Mariante & Cavalcante, 2006). Trabalhos de pesquisa desenvolvidos pela EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia e pela Universidade Federal de Santa Catarina, em colaboração com alguns criadores particulares, na década de 80, evidenciaram vantagens na exploração do Crioulo Lageano em cruzamentos e também como raça pura nas condições de criação extensivas do Planalto Sul-brasileiro (Spritze *et al.*, 1999).

Os animais são rústicos, com maturidade sexual tardia, boa habilidade materna e alta prolificidade. A pelagem da raça admite uma grande variedade de cores. Os chifres são grandes e em forma de lira (Primo, 1993; Mariante & Cavalcante, 2006).

### **A raça Pantaneira**

A raça Pantaneira descende de bovinos de origem espanhola que vieram nas expedições que tinham como destino a Bacia do Prata. Fatos históricos têm sugerido, nesta região, introduções freqüentes de bovinos de origem espanhola durante cerca de três séculos (XVI a XVIII). A influência das raças portuguesas nesta raça deu-se de maneira indireta (final do século XVIII ao início do XIX) através de raças já adaptadas (naturalizadas) como o Franqueiro e o Curraleiro (Mazza *et al.*, 1994). Rosa *et al.* (1992) descrevem que o Pantaneiro originou-se da mestiçagem do gado crioulo com exemplares de raças britânicas vindas do Rio Grande do Sul e de países vizinhos. Athanassof (1957), comparando as características fenotípicas do Pantaneiro com as raças portuguesas, apontou certa semelhança com a Mirandesa e a Brava, afirmando que a raça Pantaneira se filia ao tronco *Bos taurus ibericus*.

O bovino Pantaneiro, também denominado “Tucura” ou “Cuiabano”, desempenhou até o início do século XX, papel preponderante na economia das regiões inundáveis do Pantanal. Através do longo processo de seleção natural, adquiriu características adaptativas e grande rusticidade que permitiram sua sobrevivência em condições adversas (Pellegrin *et al.*, 1997). No fim do século XIX um movimento para a melhoria do gado Pantaneiro, mediante o cruzamento com outras raças, principalmente com o gado zebuino, iniciou o processo de erosão da raça.

O bovino Pantaneiro é uma das raças que participa do programa de conservação de RGA da EMBRAPA e um dos principais pontos de estrangulamento na sua conservação é a falta de uma associação de criadores, que tenha interesse de garantir a conservação e a difusão da raça (Mazza *et al.*, 1994).

Os animais possuem porte pequeno a médio, com linha dorso-lombar geralmente reta; o perfil predominante é o subconvexo (79%), com alguns casos de retilíneo; o focinho é negro e em 73% dos animais ocorre um anel branco ao seu redor; os chifres possuem forma arredonda saindo lateralmente para cima e para frente; as orelhas são pequenas com presença de pêlos na parte interna; a pelagem é predominantemente da cor amarelo-avermelhada, com presença de tonalidades mais escuras nas extremidades e pêlos brancos na porção ventral. Possuem temperamento dócil e calmo, quando manejados constantemente, tornando-se bravios quando mantidos isolados, sem a intervenção humana (Mazza *et al.*, 1994).

## A raça Curraleira

O Curraleiro ou “Pé-Duro” é o gado típico dos sertões do Brasil, e provém da união das raças Alentejana com a Galega, raças portuguesas que os colonizadores trouxeram e mais o sangue espanhol introduzido por meio das colônias do Prata (raças pertencentes ao tronco *ibericus*) (Viana, 1927). Segundo Athanassof (1957) o Curraleiro é o descendente direto da raça Mirandesa e, mais particularmente, da variedade Beiroa, que se encontra na Espanha, na província de León.

O gado Curraleiro formou-se no norte do Brasil, especialmente na região Nordeste e no Vale do São Francisco, de onde migrou para os campos e cerrados de Minas Gerais e Goiás (Santiago, 1975). Segundo Viana (1927) o Curraleiro já habitou todo o território nacional e foi responsável pela formação da raça Caracu e outras raças nativas, entre essas a Junqueira e a Mocha Nacional.

O gado Pé-duro, além de seu valor econômico, possui também, valor histórico para o Piauí que, no passado, foi um grande exportador de carne para outras regiões, sendo na época a raça com maior número efetivo. Como as demais raças bovinas tropicalmente brasileiras, o gado Curraleiro também entrou em franco processo de extinção, com o domínio da pecuária nacional pelas raças zebuínas (Mariante, 1993).

Em 1997, apoiada pela EMBRAPA foi registrada no Ministério da Agricultura e Abastecimento a Associação Brasileira de Criadores de Curraleiro, que havia sido fundada em 1995, com sede em Mara Rosa, Goiás. Existem atualmente registrados na associação 22 criadores da raça localizados nos estados de Goiás, Tocantins, Pará, Bahia e Piauí; sendo um deles a EMBRAPA Meio-Norte, que possui em São João do Piauí, na zona semi-árida daquele Estado, um núcleo de conservação do gado Pé-duro (Boaventura, 2005).

O padrão da raça definido inclui: peso mínimo de 380 kg para os machos e 300 kg para as fêmeas, altura mínima de 1,38m para os machos e 1,24m para as fêmeas; pelagem de cor variada, sendo a mais comum a vermelha-clara, com extremidades escuras; tonalidades escuras no chanfro e em torno dos olhos; focinho preto; chifres curtos e com forma de coroa; orelhas pequenas; barbela reduzida; vassoura preta, membros delgados e bem proporcionados, apresentando, especialmente os anteriores, cor escura (Boaventura, 2005). O Curraleiro sendo um animal dócil, rústico e resistente às doenças e parasitas poderia ocupar milhares de hectares de áreas desfavoráveis às outras raças, mediante um baixo investimento, para o pequeno produtor.

As fêmeas são boas produtoras de leite e, embora os animais não sejam muito grandes, são utilizados com vantagem para o corte e para o trabalho, prestando no sertão inestimáveis serviços (Athanassof, 1957). Pela sua prolificidade e adaptabilidade talvez tenha uma melhor relação custo x benefício para a Região Nordeste do que outras raças comerciais. Viana (1927) comenta que o grau de marmoreio da carne do Curraleiro assemelha-se à carne das raças inglesas, o que conferiria uma maior palatabilidade desta em relação à das demais raças.

## 2.2. Raças taurinas especializadas

Além das raças taurinas naturalizadas, existem no Brasil diversas raças comerciais especializadas que foram introduzidas ao longo dos anos. Como não é interesse descrever todas, apenas far-se-á um breve relato das que foram incluídas neste trabalho (Figura 5).

### A raça Holandesa

Na região da Europa em que se situam os Países Baixos, encontravam-se bovinos domesticados há mais de dois mil anos. Estudos da história antiga revelam que a pecuária constituiu, desde o século XIII, uma importante atividade para o povo holandês. Apesar desta longa existência, somente a partir da segunda metade do século XIX foram efetuados trabalhos de formação de raças mais definidas, cujo potencial leiteiro veio permitir exportações volumosas para a Inglaterra, Europa Continental e Américas (Santiago, 1984b).

O que no Brasil é denominado de gado Holandês, ou raça Holandesa, é o Holstein Friesian (Estados Unidos) ou British Holstein ou British Friesian (Inglaterra), e que corresponde à variedade ou sub-raça Holandesa da Frísia (*Bos taurus batavicus* - tronco étnico de gado leiteiro) (Domingues, 1977).



Figura 5. Raças taurinas especializadas. (a) Fêmea Holandesa; (b) Fêmea Jersey; (c) Macho Simental.

No Brasil, o gado Holandês entrou nos tempos coloniais, sob a forma de Turino, que é a Frísia estabelecida e adaptada a Portugal. Estes animais tinham sua origem no gado Holandês, mas não tendo encontrado neste país as mesmas condições de criação, perderam seu desenvolvimento e diminuíram sua aptidão leiteira. Somente no século XX tivemos uma introdução de indivíduos puros da raça Holandesa, especialmente na região Centro-Sul (Santiago, 1984b; Domingues, 1977).

A raça Holandesa é universalmente conhecida como a maior produtora de leite, dentro da espécie bovina. Mas, segundo Santiago (1984b), ela não deve ser considerada exclusivamente para este fim, embora tenha esta função econômica desenvolvida ao extremo. Embora as recordistas mundiais na produção leiteira sejam sempre desta raça, a velocidade de crescimento, o desenvolvimento de esqueleto e das massas musculares e, sobretudo, a conversão alimentar, são fatores favoráveis a esta raça, que a destacam também na produção de carne.

Os animais desta raça apresentam pelagem branca e preta, com cores bem separadas em zonas demarcadas. A pigmentação da pele segue à do pêlo e, por este motivo, criadores nas regiões tropicais dão preferência a animais com pelagem predominantemente escura, evitando desta forma, doenças associadas à elevada incidência solar e as peles despigmentadas. A cabeça apresenta perfil subconcavilíneo, com frente côncava, olhos salientes. É comprida e estreita na fêmea e de tamanho médio no macho. Os chifres são finos saindo um pouco para trás, encurvando-se para frente, para baixo e para dentro. O pescoço é longo e fino, com o bordo superior côncavo; o macho tem pescoço bem musculoso, formando cangote acentuado.

O gado Holandês é notavelmente uniforme quanto à pelagem e conformação. São animais bem musculosos e apresentam um contorno harmonioso, com o corpo volumoso, tipicamente leiteiro, na forma clássica de cunha.

### **A raça Jersey**

Esta raça tem sua origem na Ilha de Jersey, localizada no Canal da Mancha, próxima à costa da França. Filia-se ao tronco étnico de Sanson, *Bos taurus hibernicus* (Domingues, 1977). Visando à pureza e a preservação da raça, existente desde os tempos remotos, em 1763, seus criadores obtiveram, por lei, a proibição da entrada de qualquer outra raça na ilha, a não ser para abate imediato. A seleção permanente do rebanho, quanto às características e aptidão econômica, proporcionou sua uniformidade pelo elevado índice de consangüinidade (Santiago, 1984b). Em vista deste isolamento secular, esta raça revela-se muito prepotente nos

cruzamentos, imprimindo suas características de conformação e transmitindo sua aptidão leiteira.

O gado Jersey tem se revelado resistente e adaptável a uma variedade de condições climáticas, mas exige atenção quanto ao manejo nutricional, para que atinja a plena manifestação do seu potencial genético para a produção de leite com alto teor de gordura (pertence ao grupo de raças manteigueiras). Segundo Domingues (1977), o único motivo para que o Jersey não tenha se espalhado pelo mundo é o fato do comércio leiteiro se basear na quantidade e não na qualidade do leite. Pelo seu pequeno porte, obviamente, a quantidade de leite, por lactação, é pequena quando comparada a de outras raças leiteiras.

Sua entrada no Brasil deve ter ocorrido no começo do século XX, quando os governos Federal e de São Paulo iniciaram a introdução de gado europeu melhorado, enquanto Minas Gerais se interessava pelas raças indianas (Domingues, 1977).

A raça é precoce e exige atenção desde as primeiras idades. O gado tem porte reduzido, sendo os menores bovinos, dentre as raças especializadas. As fêmeas apresentam um acentuado tipo leiteiro e se ajustam perfeitamente ao sistema de exploração intensiva e regime de granja (Domingues, 1977; Santiago, 1984b).

A pelagem predominante dos animais é amarela, mas pode variar do cinzento ao pardo-escuro, sendo que os machos podem apresentar pelagem quase negra. Em volta do focinho, a cor é, geralmente, mais clara, mas são comuns as manchas escuras na face e nas extremidades dos membros. A pele é amarela, sendo os pêlos curtos e brilhantes. A cabeça é pequena, curta e larga, com o perfil concavilíneo; os arcos orbitais são proeminentes. Os chifres são pequenos, finos, achatados, bem recurvados e dirigidos para frente; nos machos, os chifres são mais grossos e menos curvos. O corpo apresenta forma de cunha, típica das raças leiteiras especializadas. O úbere é bem desenvolvido, altamente irrigado, com veias mamárias salientes, e a ossatura é fina e forte.

Apesar de suas qualidades de produção de leite, a Jersey tem perdido terreno em muitos países, onde está havendo uma valorização da carne, sendo o leite um subproduto da criação de corte. Mesmo quando comparada com outras raças especializadas para produção leiteira, o Jersey fica em desvantagem. Seu peso reduzido e a falta de revestimento por massas musculares fazem com que o seu rendimento seja baixo, além disto, o tecido adiposo possui uma coloração amarelada que não agrada aos consumidores. Por ser uma raça de tamanho reduzido, possui poucas possibilidades nos cruzamentos, sendo que seus representantes, nos lotes de confinamento não alcançam os pesos médios de outras raças ou tipos de cruzas (Santiago, 1984b).

## A raça Simental

A raça Simental está incluída nas raças de aptidão mista. Tem sua origem no vale do Simmen na região de Berna, no noroeste da Suíça e derivou de variedades locais muito antigas. O gado vermelho e branco existia na região desde a Idade Média; no princípio do século XIX os bovinos conhecidos como raça Bernesa, possuíam todos os caracteres da raça primitiva, melhorados, mas com um padrão de pelagem heterogêneo. A partir de 1862, o governo implantou medidas de melhoramento que garantiram a pureza racial, dando início ao registro genealógico oficial (Santiago, 1984b).

A raça foi introduzida no Brasil, pela primeira vez em 1911 e, nas décadas seguintes, houve várias importações de animais para o Rio de Janeiro e Minas Gerais, principalmente. Devido ao baixo contingente introduzido no País não foram constituídos rebanhos de vulto. A partir de 1960, zootecnistas do Ministério da Agricultura, empenharam-se em sua preservação e efetuaram os registros genealógicos da raça. Em 1963 foi criada a Associação de Criadores e, atualmente, é uma raça que está em franco crescimento no País.

As pelagens do Simental Suíço e o da variedade alemã (também conhecida como Fleckvieh) são semelhantes, variando do amarelo-alaranjado ao vermelho sobre um fundo branco. A cabeça é branca com ou sem manchas amarelas ou vermelhas; a parte inferior do corpo, as extremidades dos membros e a cauda são igualmente brancas. Os pêlos são curtos, finos ou médios, unidos, e de comprimento maior na cabeça e pescoço, onde se apresentam ondulados.

A cabeça é de tamanho médio, com a fronte e o focinho largos; marrafa saliente, recoberta de pelos formando por vezes um topete. Os chifres são de coloração amarelada, com extremidades mais escuras, curtos, moderadamente grossos, dispostos horizontalmente. O pescoço é forte, bem musculoso, de comprimento médio, apresentando barbela moderada. O corpo é grande, atarracado, robusto e pesado.

A produção de leite coloca a raça em situação de destaque dentre as raças européias. A fertilidade do rebanho, dadas às condições de seleção e à pequena dimensão dos rebanhos, permitiu um rigoroso controle chegando a índices de 92% e, por conseguinte, o intervalo entre partos é baixo. A alta produção leiteira tornou esta raça preferida para os cruzamentos, uma vez que as fêmeas dão leite suficiente para a criação de bezerras precoces, além de deixarem uma margem para a comercialização (Santiago, 1984b).

### 2.3. Raças zebuínas

Como foi citado anteriormente, o gado zebuino é originário da Índia e do Oriente Próximo. Cerca de 30% do rebanho bovino do mundo é do tipo zebuino e está concentrado no sul da Ásia. As raças zebuínas são extremamente diversificadas na Índia, o que revela a sua longa existência naquela área e o alto grau de adaptação que atingiram. Naquele País, o zebu é um animal para carga, tração e leite, pois a religião e a tradição, da maior parte da população, não permitem o aproveitamento da carne para a alimentação.

Várias tentativas foram feitas para classificar o rebanho indiano. Santiago (1984b) cita que se pode distinguir na Índia, mais de 30 raças e/ou variedades, ou seja, grupamentos com características em comum. Olver (1938), baseado nos caracteres externos dos animais, definiu quatro ou cinco tipos básicos, sendo que a grande maioria das chamadas raças é resultante da mestiçagem de dois ou mais grupos (Santiago, 1984b). A classificação atual (Tabela 1), que vem sendo adotada por todos os estudiosos do gado indiano, foi criada em 1954 por dois técnicos da FAO (Santiago, 1984b). Estes técnicos comentam que qualquer sistemática deste rebanho envolve sérias dificuldades, pois existe uma diferença acentuada entre o gado das aldeias, mal definido, e os tipos melhorados encontrados em muitas regiões. Somado a este fato, algumas raças não são suficientemente definidas para justificar sua classificação, podendo variar consideravelmente, até de uma vila para outra, dentro de uma mesma região (Santiago, 1984b).

O Brasil, como pode ser visualizado na Tabela 1, possui rebanhos das mais importantes raças dos três primeiros grupos ou tipos básicos indianos. O Guzerá, que corresponde ao Kankrej, principal grupamento étnico do grupo I; o Ongole, conhecido no Brasil como Nelore, um dos melhores representantes do grupo II; e o Gir, que constitui a raça-tronco é a mais característica do grupo III. Além desta, encontra-se no Brasil a raça Sindi, de introdução mais recente, também pertencente ao grupo III, que parece, além do gado Afegão, ter sangue Gir em sua formação (Santiago, 1984b).

O gado do Misorí (grupo IV) também está representado em nosso País, sendo um dos primeiros a entrar no Brasil em contingentes apreciáveis no último decênio do século passado, tendo uma enorme influência, que pode ser observada atualmente, em certas "linhagens" da raça Nelore. Em 1962, verificou-se a importação de animais, de alta qualidade, da raça Kangayam (Santiago, 1984b).

O conceito de pureza racial deve ser considerado com cuidado, pois embora existam padrões coincidentes entre as populações indiana e brasileira, e uma origem comum, é preciso lembrar que no início da criação de zebuínos no Brasil, houve muitos cruzamentos entre

subespécies e raças completamente diferentes (Del Lama, 1992). Sabe-se, por exemplo, que vieram para o País espécimes das raças Hansi, Nagori, Hariana, Hissar, Malvi, Dangi, Deoni e outras. Na Figura 6 estão incluídos indivíduos das raças zebuínas utilizadas neste trabalho.

Tabela 1 - Classificação do gado indiano segundo Joshi e Phillips (Fonte: Santiago, 1983; 1984b).

<b>Tipos</b>	<b>Características</b>	<b>Raças</b>
Grupo I	Gado cinzento com chifres em forma de lira, fronte larga, arcadas orbitárias proeminentes, perfil plano ou côncavo	Kankrej (Guzerá) Kenwariya Malvi Kherigarh Tharparkar Hissar
Grupo II	Gado grande, branco ou cinza claro, apresenta chifres curtos e perfil ligeiramente convexo, com arcadas orbitárias não salientes.	Bachaur Bhagnari Gaolao Hariana Krishna Valley Nagori Mehwati Ongole (Nelore) Rath
Grupo III	Gado de testa proeminente, de chifres laterais, freqüentemente retorcidos, barbela muito desenvolvida. Pelagem branca, vermelha ou castanha, uniforme ou geralmente manchada.	Dangi Deoni Gir Nimari <i>Sindi</i> Sahiwal
Grupo IV	Gado de tamanho médio, compacto, de perfil convexo, com chifres longos, pontiagudos, nascendo bem próximo da cabeça. É conhecido como tipo Misori.	Amrit Mahal Alambadi Bargur Hallikar Kangayam Khillari
Grupo V	Abrange todo o gado pequeno, heterogêneo, de pelagem vermelha ou parda, muitas vezes malhado de branco. É encontrado em todo o País, sobretudo nas regiões montanhosas, no norte, no Beluchistão e no Himalaia.	Lohani Ponwar Siri
Grupo VI	O gado de Pundjab, pequeno, de pernas curtas; de pelagem branca, com pequenas manchas vermelhas, castanhas ou pretas, diferente da de todas as demais. Não pode ser classificado em nenhum dos tipos básicos precedentes, motivo pelo qual é agrupado à parte.	Dhanni

Outro ponto que deve ser lembrado é que uma raça, sob certos aspectos, resulta de uma convenção estabelecida pelos criadores, que a definem mediante suas expressões fenotípicas dentro de determinados padrões raciais, ou descrição de suas características, aptidões ou atributos de ordem econômica, exigidos pelas normas de registro. A variabilidade natural dos animais domésticos determina certa evolução no processo de formação das raças, que não apresentam a fixidez que se busca encontrar nelas. A raça está longe de ser uma coisa estática, pois é um estágio no processo de evolução de uma população animal (Domingues, 1968; 1977).

A entrada do Zebu no País deu-se, inicialmente, de modo não intencional, pela chegada de animais transportados por embarcações vindas do Oriente. Devido à degeneração, na Região Nordeste, das raças européias que haviam sido trazidas pelos portugueses, os criadores da região se interessaram por estes animais e passaram a utilizá-los em cruzamentos com os animais já existentes na região.

Falava-se, na época, na facilidade de aclimação, rusticidade, peso e fecundidade dos mestiços (Santiago, 1983; Del Lama, 1992) o que gerou um grande interesse na importação de animais por parte dos criadores. Na época das primeiras importações, não se distinguiam as raças indianas, usando-se a determinação zebu para qualquer animal que apresentasse as características do gado do Oriente.



Figura 6. Touros zebuínos das raças (a) Nelore; (b) Guzera; (c) Gir; (d) Tabapuã e (e) Kangayam.

O número de reprodutores zebuínos importados pelo Brasil nos séculos XIX e XX, atingiu 6.262 cabeças, entre machos e fêmeas, novos e adultos. Os milhões de zebuínos que o Brasil possui hoje resultam, em sua maior parte, de cruzamentos absorventes entre touros indianos e a vacada nacional. Pouquíssimos rebanhos são geneticamente puros, descendentes diretos de animais importados, imunes a qualquer infusão de sangue taurino (Santiago, 1985).

No Brasil existem plantéis puros de sete raças, a saber: Nelore, Gir, Guzerá, Indubrasil, Sindi, Kangayam e Tabapuã. As raças Tabapuã e Indubrasil são chamadas mistas por serem resultantes de cruzamentos entre as raças zebuínas consideradas puras (Santiago, 1984b). Mais recentemente, o Brasil passou a importar animais da raça Brahman, criada nos Estados Unidos.

Nesta revisão serão enfocadas apenas as raças que estão incluídas neste estudo, fazendo uma breve caracterização fenotípica das mesmas. Como os padrões raciais estabelecidos pela ABCZ são detalhistas e envolvem vários itens, dar-se-á ênfase ao tipo de pelagem e a características da cabeça, as quais permitem a distinção das diferentes raças zebuínas.

### **A raça Nelore**

A raça Nelore atualmente é a mais difundida em todo País, embora quase tenha sido extinta na época da formação da raça Indubrasil (Santos, 1993).

Apesar da raça Nelore ter sido formada a partir do Ongole, não mais corresponde inteiramente ao padrão indiano. Segundo Santiago (1983), o rebanho Nelore brasileiro foi constituído pelo gado Ongole, sobre base primitiva de Zebus de Misore, dos quais herdou a rusticidade e vivacidade. Houve, ainda, a participação de outras raças do tipo branco-cinza, caracterizadas pelas orelhas curtas. Além disto, os primeiros animais importados não poderiam ser considerados representantes puros, de uma determinada raça, uma vez que pouco se conhecia a respeito destas.

As principais características da raça são a pelagem branco-cinza ou branca e o formato da cabeça, com a cara estreita em forma de ataúde; arcadas orbitárias não salientes e perfil ligeiramente convexo. Os chifres são normalmente curtos e, por vezes, grossos, voltados para fora, para trás e para cima; distingue-se, também pelas orelhas curtas ou de tamanho médio, em forma de concha, com as faces internas voltadas para frente. É, de modo geral, um gado grande (Santiago, 1983; 1984b).

A raça Nelore é essencialmente utilizada para a produção de carne, sendo a que vem sofrendo mais intensa seleção. Segundo Santiago (1984b) tem a seu favor uma boa conformação, cabeça pequena e leve; ossatura fina e leve, e alcança um bom desenvolvimento.

Como todo zebu tem uma habilidade especial para o aproveitamento das forragens, mesmo grosseiras. É um gado vivo, ligeiro e manso, desde que convenientemente manejado.

Na raça Nelore existem grupamentos denominados de variedades da raça, estando alguns à margem do Serviço de Registro Genealógico. Dentre eles podemos citar o Nelore Mocho (reconhecido pela ABCZ desde 1969), o Nelore malhado de preto, o Nelore de pelagem vermelha e o Nelore de pele rosa (Santiago, 1983).

### **A raça Gir**

A raça Gir é oriunda da floresta de mesmo nome, na península de Kathiawar, na Índia; e compõe a variedade mais importante do grupo III das raças indianas. Segundo Santiago (1984a; 1984b) deve ter sido introduzida no País por volta de 1906.

Por algumas décadas foi o grupamento genético mais numeroso e valorizado dentro do rebanho zebuino brasileiro. Nas décadas de 30 e 40, teve sua situação comprometida pela mestiçagem e estava ameaçado de desaparecimento. Este fato levou criadores a se preocuparem com a seleção étnica visando à pureza racial o que comprometeu as funções econômicas da raça (Santiago, 1984b).

Alguns criadores, alertados para este fato, passaram a praticar a seleção funcional existindo, atualmente, rebanhos altamente qualificados para a produção leiteira. A raça Gir, é por natureza, uma raça de aptidão mista, mas não pode competir com outras raças zebuínas em precocidade e peso (Domingues, 1977). Santiago (1984b) cita que apesar do desenvolvimento do Gir ser lento quando comparado com as demais raças zebuínas, ele tende a produzir carne de boa qualidade. Infelizmente, o aspecto econômico não pode ser esquecido, onde precocidade significa um retorno financeiro maior.

Na Índia, embora a produção seja bastante variada, a raça é tida como boa produtora de leite. A raça Gir distingue-se pelo seu porte médio, temperamento linfático e grande mansidão, sendo especialmente indicada para as pequenas propriedades, conduzidas em sistema semi-intensivo (Santiago, 1984b).

A cabeça do Gir é característica, de frente larga, lisa e proeminente, com a marrafa bem jogada para trás. Tem largura e comprimentos médios, apresentando um perfil ultra-convexo. O chanfro é reto, médio e largo no macho, mais comprido e estreito nas fêmeas. Os chifres partem da base da marrafa, emergem para baixo, para trás e para cima. As orelhas são típicas, longas e pendentes; começam em forma de tubo como uma folha enrolada, abrindo-se na porção mediana, e estreitando-se de novo na ponta, com a extremidade dobrada e voltada para a face. O padrão racial do Gir aceita diversos tipos de pelagem e a variedade mocha também é aceita.

## **A raça Guzerá**

Supõe-se que o nome Guzerá tenha sido adotado pelos primeiros compradores ao adquirirem bovinos das diversas raças do Grupo I, na província de Gujarat, pois não existe na Índia nenhuma raça com esta denominação (Duvivier, 1956).

Segundo Santiago (1984a), dentro deste vasto rebanho denominado Guzerá, era possível identificar inúmeros representantes das raças afins, em especial a Malvi, Hissar e Tharparkar. Além destas, identificavam-se indivíduos cuja caracterização lembrava o Kenwariya e o Kherigarh, apesar de se situarem mais ao nordeste da Índia.

Atualmente, o rebanho Guzerá se mostra muito mais homogêneo, correspondendo à raça Kankrej indiana. Isto foi possível graças a um trabalho de seleção zootécnica árduo, onde os caracteres estranhos à raça fundadora foram eliminados, como resultado da ação do Registro Genealógico, do trabalho de criadores e da introdução em 1960 e 1962, de reprodutores indianos muito bem caracterizados.

Na Índia, o gado Kankrej é considerado um dos mais pesados e todas as publicações indianas o consideram uma das melhores raças e de mais antiga seleção, sendo uma raça mista, dando ótimos bois de trabalho e vacas de acentuada aptidão leiteira (Santiago, 1984b).

Também no Brasil existe uma tendência de considerá-la uma raça de aptidão mista (carne e leite) segundo Santiago (1984b). Apesar de desde o início ter sido selecionada para a produção de carne devido ao seu grande porte, bom desenvolvimento ponderal e precocidade, alguns criadores implantaram núcleos leiteiros desta raça.

Graças ao bom desempenho apresentado em condições inóspitas, o Guzerá se encontra bem difundido no nordeste brasileiro (Santiago, 1984a). Segundo este autor, o que mais impressiona, é a imponência apresentada pelos animais desta raça.

Os animais apresentam cabeça moderadamente larga e curta, especialmente nos machos, o que lhes confere uma aparência triangular. A fronte é larga e o perfil subcôncavo ou retilíneo. As orelhas são grandes, largas e pendentes, com as faces internas voltadas para frente. Os chifres são muito desenvolvidos, simétricos, de cor escura, saem na horizontal, recurvando-se para o alto, em forma de lira (Santiago, 1984a; 1984b).

A pelagem varia do cinza-claro ao cinza-escuro, sendo as regiões mais escuras localizadas na cabeça, cupim, pescoço, espáduas e ancas. Nas fêmeas, admite-se a pelagem branca, a qual é desclassificatória nos machos.

## **A raça Tabapuã**

A raça Tapabuã tem sua origem mais conhecida na fazenda Água Milagrosa, propriedade do Dr. Alberto Ortemblad (Ortemblad, 1980; Santiago, 1985), no estado de São Paulo. O animal fundador da raça foi presenteado, ainda bezerro, à família Ortemblad, sendo oriundo de um lote bastante heterogêneo de zebus mestiços, de filiação totalmente desconhecida. O fenótipo não se assemelhava a nenhuma das raças puras existentes na época (Azevedo, 1983).

Segundo Ortemblad (1980) o animal era um mestiço intermediário entre o Guzerá e o Nelore, e chamou a atenção por sua total ausência de chifres, além de ter outras características zootécnicas desejáveis. Santiago (1985) ao analisar o animal pessoalmente, afirma que seu padrão não correspondia ao Nelore possuindo traços da raça Guzerá.

O autor, em 1984, explica a presença do caráter mocho assumindo que o rebanho zebuino brasileiro é resultante de cruzamentos absorventes entre animais indianos e animais crioulos ou nacionais, de origem européia que existiam no País desde a época da colonização. O fato de não existirem raças mochas na Índia, aliado à presença desta característica em animais europeus, reforça esta idéia (Santiago, 1985).

Para a formação da raça, 100 matrizes de tipo semelhante, com características raciais desconhecidas, foram acasaladas com o reprodutor, que recebeu o nome de Tapabuã e marca T-0. Em um sistema de acasalamento em linha direta, este animal foi acasalado continuamente com suas netas e filhas, aumentando o número de animais mochos. A partir da segunda geração foram introduzidos no rebanho filhos-netos do T-0, devido ao elevado número de matrizes a serem cobertas.

Entre 1940 e 1960, vários criadores, não necessariamente ligados ao Dr. Alberto Ortemblad, selecionaram zebus mochos e de tipo semelhante (Azevedo, 1983), o que pode ter contribuído para a variabilidade no padrão racial observada no rebanho, onde alguns animais apresentam um fenótipo mais próximo do Nelore e outros do padrão Tapabuã propriamente dito (Del Lama, 1992).

Segundo Santiago (1983), este gado se assemelha muito com o zebu americano - Brahman. A cabeça tem largura e comprimento medianos, sendo o perfil subconvexo e retilíneo. Sua fronte é moderadamente larga, possui orelhas médias e largas, com a face interna voltada para frente. Todos os animais são mochos e a presença de batoques ou calos (chifres rudimentares) é desclassificante. Os olhos não são elípticos como nas demais raças zebuínas, apresentando uma forma arredondada. A pelagem pode ser branca ou cinza.

### 3. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA

Programas mundiais de conservação de Recursos Genéticos Animais (RGA) têm sido desenvolvidos baseados na preocupação pela perda da diversidade genética devido à extinção de raças e populações. A fim de conhecer a real situação dos RGA, a FAO desencadeou um processo de levantamento populacional de raças que, em uma primeira etapa, originou Relatórios Nacionais sobre a situação dos RGA e, em setembro de 2007 lançou o documento Situação Global dos Recursos Genéticos Animais (Mariante, comunicação pessoal). A versão preliminar deste documento (FAO, 2006), baseada em 169 Relatórios Nacionais, descreve o estado atual da diversidade pecuária, as tendências do setor e suas implicações para a conservação dos RGAs, a capacitação humana existente, as estratégias de melhoramento e conservação, a legislação e o uso das biotecnologias nos diferentes países que compõe o relatório. Além disto, estão também incluídos capítulos que descrevem o estado da arte da gerência dos RGAs baseado na literatura científica existente e, uma análise das necessidades e mudanças no manejo dos RGA baseada nos dados observados nos capítulos anteriores.

Na região composta pela América Latina e o Caribe foram reportadas 148 raças bovinas locais sendo que destas 19 já se extinguíram. Em uma análise global envolvendo as raças domésticas mamíferas observa-se a extinção de 643 populações/raças. Dados relativos ao ano de extinção foram relatados para 27% (188) destas raças. Foi possível observar que 15 raças se extinguíram antes de 1990; 111 entre 1990 e 1999 e, nos últimos 6 anos, foram perdidas mais 62 raças (FAO, 2006). Esta análise preliminar demonstra a importância dos esforços que vem sendo implementados na conservação da biodiversidade mundial.

A perda alélica dentro das raças ou populações é um fator natural e está continuamente sendo contra-atacada pela introdução de novas variações devido à mutação. Apesar deste fato, deve-se levar em conta que cruzamentos preferenciais com indivíduos considerados superiores e os trabalhos de seleção impostos pelo homem têm ocasionado uma erosão genética em muitas populações sem que haja uma reposição dos alelos que estão sendo perdidos. Além disto, a variação genética representada como diferenças entre raças, linhagens ou populações não pode ser facilmente regenerada (Barker, 1994).

Nas últimas décadas do século XX foi constatado que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são inseparáveis (Barker, 1994). Atualmente existe uma conscientização sobre a importância das raças domésticas na biodiversidade mundial devido aos genes e combinações gênicas que estes possuem e que poderão ser úteis na pecuária no futuro. Deste modo, a visão atual é a de manter a diversidade genética máxima de cada espécie

visando o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis, uma vez que não é possível prever com objetividade quais características podem ser necessárias no futuro (Barker, 1994; Hall & Bradley, 1995).

A unidade primária de um recurso genético animal é a raça, linhagem ou população geograficamente definida. A diversidade genética é fundamental para o melhoramento genético sustentável, facilitando assim, a rápida adaptação às mudanças necessárias e imprevistas para o desenvolvimento dos sistemas de produção, uma vez que não é possível prever com objetividade quais características poderão ser necessárias no futuro. Esta diversidade está refletida na variedade de tipos e raças que existem e na variação presente dentro de cada uma. Assim sendo, o elemento chave para estratégias de conservação deve ser a caracterização das raças e populações de modo a fornecer um quadro geral da diversidade genética existente.

A caracterização dos RGA, principalmente das raças naturalizadas, até as duas últimas décadas do século XX, baseava-se em descritores morfológicos e produtivos (fenotípicos), os quais muitas vezes são insuficientes para distinguir raças puras, sendo também altamente influenciados pelo meio ambiente. Pela associação de dados fenotípicos, polimorfismos moleculares e metodologias estatísticas adequadas, que reflitam a real condição de uma população, obtêm-se informações sobre a evolução das raças, o desenvolvimento de *pools* gênicos e a magnitude da diferenciação genética (MacHugh *et al.*, 1997; Bruford *et al.*, 2003). Ao contrário da caracterização fenotípica, a caracterização genética é livre de influências do meio ambiente, propiciando uma maior acurácia dos dados gerados, o que é importante nas decisões a serem tomadas em programas de conservação (Fitzhugh & Strauss, 1992).

Desta forma, técnicas capazes de detectar variações ao nível do DNA, desenvolvidas a partir das últimas décadas do século passado, têm sido utilizadas em diferentes estudos para desvendar, com maior acurácia, o estado atual de diferentes espécies, auxiliando decisões relativas à manutenção e ao manejo destas populações visando otimizar a variabilidade genética existente e sua utilização.

A genética molecular é dinâmica e, a cada dia, novas metodologias, mais acuradas e de alta resolução, surgem e podem ser aplicadas para responder a diferentes questionamentos a respeito das populações em estudo. Segundo Wan *et al.* (2004) a genética da conservação, como vem sendo denominada, origina-se da fusão de diferentes disciplinas como a evolução, a biologia molecular, a genética de populações, os modelos matemáticos e a sistemática evolutiva. Esta fusão objetiva compreender o efeito das várias forças que atuam nas mudanças genéticas ocorridas ao longo do tempo, verificando os efeitos da perda da diversidade e as alterações

produzidas na estrutura populacional de uma dada população. O resultado final é a preservação das espécies como entidades dinâmicas, capazes de responder às mudanças do meio-ambiente.

A análise genômica pode fornecer informações a respeito da identificação dos ancestrais selvagens que originaram as espécies domésticas atuais, a localização e o momento dos eventos de domesticação, bem como a respeito dos processos, como mutações, deriva genética, fluxo gênico e seleção natural, que influenciaram a variação entre os genomas e as populações (Bruford *et al.*, 2003; Luikart *et al.*, 2003). Pelo padrão da variação de um determinado *loco*, dentro das populações, pode-se deduzir fatores demográficos importantes para a conservação da diversidade (Kantanen *et al.*, 1999). Índices de diversidade genética, como a heterozigosidade média de uma população podem ser utilizados para se verificar o nível de endocruzamento do rebanho (Cepica *et al.*, 1995).

O objetivo a ser alcançado para a conservação de uma raça consiste na manutenção da maior diversidade possível dentro de suas populações. Entretanto, o tamanho da população a ser conservada nem sempre poderá compreender a um elevado número de animais, sob pena de inviabilizar o intento. Neste contexto, a caracterização genética de uma população constitui importante ferramenta no auxílio à identificação dos indivíduos geneticamente menos similares, portanto os mais indicados para compor um núcleo ou rebanho de conservação e/ou doação de germoplasma (Egito *et al.*, 1999; Fuck, 2002).

Acompanhando a proposta mundial, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia passou a contemplar em sua programação de pesquisa, desde 1981, projetos relacionados a conservação de raças de animais domésticos, de interesse agropecuário, em risco de extinção. As raças bovinas locais, naturalizadas ou crioulas, que se desenvolveram a partir de raças trazidas pelos colonizadores logo após o descobrimento do Brasil, e que possuem um alto valor adaptativo, encontram-se nesta situação, devido a cruzamentos absorventes com raças de importação mais recente.

Os ganhos na eficiência econômica, oriundos da utilização deste material genético, podem superar os custos requeridos na conservação destas raças. Muitas raças, que uma vez foram economicamente importantes, são atualmente raras, ainda que possuam características com potencial econômico (Hall & Bradley, 1995).

Em 1991, com o auxílio de várias organizações e de diversos países (entre os quais o Brasil) a FAO (Food and Agriculture Organization) iniciou um levantamento a nível mundial sobre a situação das sete principais espécies de animais domésticos. Em termos de pesquisa a FAO

preconiza que as prioridades devem ser dadas à caracterização e avaliação das populações nativas (Fitzhugh & Strauss, 1992).

A caracterização genética das raças bovinas ameaçadas de extinção é fundamental para os trabalhos de conservação que vêm sendo realizados pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O estudo aprofundado destas populações e/ou raças poderá auxiliar no desenvolvimento e acompanhamento racional de futuros programas de melhoramento animal, bem como na preservação e conservação do germoplasma. Poderá auxiliar nas decisões a respeito de quais populações devem ser conservadas, o que é de extrema importância quando os recursos são escassos. Desta forma evita-se a duplicação de esforços na manutenção de amostras que podem ser as mesmas. Por outro lado, pode-se ainda assegurar a manutenção da variabilidade genética evitando que populações de uma mesma raça, que possuam características particulares, sejam descartadas durante o processo de conservação.

O estudo em nível do DNA propicia um grande número de marcadores genéticos polimórficos que geram uma maior acurácia das distâncias genéticas e na diferenciação ou unicidade das populações, ainda mais quando a distância genética entre populações é pequena (Hetzl & Drinkwater, 1992). Vários tipos de marcadores foram descritos e diferentes técnicas foram desenvolvidas com o intuito de obter polimorfismos de DNA. Atualmente, a utilização de técnicas moleculares para a caracterização genética de diferentes espécies, cultivares e/ou populações é uma realidade. Além de oferecer uma elevada precisão, as técnicas moleculares permitem a geração de um grande número de descritores que não são influenciados pelo ambiente nem pelo estágio de desenvolvimento do indivíduo.

Técnicas que auxiliem a análise de parentescos e a identificação genética de um indivíduo podem ser utilizadas para a implementação bem sucedida e o monitoramento de programas de conservação *ex situ* (Hanotte & Jianlin, 2005). Com estas informações é possível promover o direcionamento dos acasalamentos visando favorecer a manutenção da variabilidade genética, escolher indivíduos menos similares genotipicamente para a formação de um novo núcleo de conservação ou analisar a eficiência do trabalho realizado, em prol da manutenção da variabilidade nos núcleos de conservação ao longo dos anos (Lara *et al.*, 1998; Egito *et al.*, 1999; Spritze *et al.*, 2003; Egito *et al.*, 2005b; Egito *et al.*, 2005c; Oliveira *et al.*, 2005)

O número médio de alelos, a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e observada ( $H_o$ ) são os parâmetros mais comumente calculados para verificar a diversidade dentro de uma raça (Hanotte & Jianlin, 2005). Índices de diversidade genética, como a heterozigosidade média de uma população podem ser utilizados para verificar o nível de endocruzamento do rebanho

enquanto que índices de similaridade genética entre indivíduos podem ser utilizados para direcionar os acasalamentos visando à manutenção da variabilidade genética em núcleos de conservação (Egito *et al.*, 1999).

Diferentes metodologias estatísticas podem ser empregadas para se medir a variabilidade genética das populações, as quais podem ser utilizadas para diferentes níveis hierárquicos. Estas metodologias baseiam-se na frequência e na variância dos alelos nas populações. Um dos parâmetros mais utilizados é o  $F_{ST}$ , de Wright (1951), o qual exprime a diversidade geral da população, segundo níveis hierárquicos de endogamia (Alfenas, 1998; Luikart *et al.*, 2003). Este coeficiente varia de 0 (alelos idênticos na população) a 1 (populações com diferentes alelos fixados), sendo que altos valores de  $F_{ST}$  indicam uma diferença grande na frequência alélica das populações estudadas.

A estimativa da unicidade genética de uma dada raça ou população é, geralmente, obtida mediante a mensuração da distância genética e a construção de uma árvore filogenética simples que expresse as relações entre as diferentes populações de uma maneira gráfica (Barker, 1994; Teale *et al.*, 1995), sendo esta um bom subsídio para decisões racionais e objetivas a respeito de quais populações devem ser melhor estudadas.

A precisão da estimativa da distância genética está em função do número de alelos independentes analisados. Resultados semelhantes são obtidos quando se utiliza poucos locos com muitos alelos ou vice-versa (Kalinowski, 2002). Além disto, outros fatores como a verdadeira distância entre as populações, a heterozigosidade para cada loco, o número de animais amostrado em cada população e o modelo estatístico utilizado também podem influenciar nesta precisão (Barker, 1994; Ferreira & Grattapaglia, 1995; Nagamine & Higuchi, 2001).

Os dois métodos de agrupamento mais utilizados para construção de árvores fenéticas ou fenogramas (baseada na similaridade das populações, não leva em conta as taxas diferenciais de evolução) ou cladísticas (filogenéticas - expressam a evolução das espécies) são o de *Neighbor-joining* (NJ) desenvolvido por Saitou & Nei (1987) ou o de UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*) desenvolvido por Sneath & Sokal (1973). O UPGMA é útil quando a taxa de evolução das populações analisadas é próxima enquanto que o NJ é aplicável para uma infinidade de situações (Takesaki & Nei, 1996).

### 3.1. Marcadores Moleculares

Os polimorfismos protéicos foram os primeiros marcadores a serem utilizados na caracterização genética de populações de animais domésticos. Embora a técnica tenha sido amplamente utilizada para a obtenção de estimativas da distância genética e identificação de raças e populações, detecta-se apenas o produto final de genes funcionais, o que pode subestimar a variabilidade genética destas populações, pois somente um número limitado de sistemas polimórficos (ao redor de 10-20%) é geralmente visualizado em cada espécie (Cunningham, 1990; Hetzel & Drinkwater, 1992; Arranz *et al.*, 1996). Atualmente a técnica ainda é utilizada sendo, na sua maioria, em conjunto com outras técnicas moleculares (p.e. Ibeagha-Awemu & Erhardt, 2005). Baumung *et al.* (2004) observaram que os polimorfismos protéicos ainda são utilizados em 29% dos trabalhos envolvendo a análise da diversidade genética de RGA.

Com o avanço da biologia molecular, técnicas baseadas em polimorfismos de DNA passíveis de serem utilizadas no estudo filogenéticos, na análise da diversidade populacional e na identificação de indivíduos foram desenvolvidas desde a década de 70, mas foram efetivamente aplicadas para estes estudos em espécies animais a partir do final da década de 80, intensificando-se nos anos 90 (Bruford *et al.*, 2003).

Muitos destes estudos foram simplificados devido ao desenvolvimento de uma técnica *in vitro* de amplificação enzimática de segmentos alvo-específicos do DNA. O método foi denominado de reação em cadeia da polimerase (PCR - do inglês "Polimerase Chain Reaction"; (Mullis & Faloona, 1987). A técnica caracteriza-se pela seletividade, sensibilidade e pela rapidez. Fragmentos específicos de um genoma complexo podem ser obtidos em horas, ao invés de semanas e meses requeridos pela clonagem tradicional (Arnheim & Erlich, 1992; Erlich & Arnheim, 1992).

Sunnucks (2000) cita que, além da PCR, a aplicação de conjuntos de *primers* para seqüências conservadas evolutivamente, o advento dos marcadores do tipo microssatélites e o sequenciamento rotineiro do DNA em diversos laboratórios aumentaram o impacto da genética de populações na área biológica.

Atualmente existem diversos marcadores baseados em polimorfismos de DNA, os quais possuem um vasto potencial de utilização: identificação de paternidade, mapeamento genético, taxonomia molecular, introgressão de genes, estudos evolucionários, diagnóstico genético precoce e seleção assistida por marcadores (Gibson & Smith, 1989). Hetzel & Drinkwater (1992) incluem ainda que as técnicas de biologia molecular podem ser utilizadas como ferramenta para a

conservação de RGA para o armazenamento do DNA e sua utilização futura, bem como para a identificação de regiões do DNA responsáveis pelas características de adaptação.

Dentre as vantagens de se utilizar os polimorfismos de DNA pode-se citar as seguintes: (i) são altamente polimórficos; (ii) a mesma técnica pode ser utilizada para qualquer segmento de DNA; (iii) a automatização é fácil e (iv) existem diferentes tipos de marcadores cada qual com seu mérito (Cavalli-Sforza 1998; Hanotte & Jianlin, 2005).

Marcadores moleculares com padrões de herança mendeliana distintos podem elucidar questões diferentes e importantes para a tomada de decisões na conservação de RGA. A diferença na transmissão e nos padrões de evolução fazem com que marcadores citoplasmáticos, como o mtDNA, e os genes e seqüências do DNA nuclear reflitam aspectos diferentes da biologia e da história de uma população (Sunnucks, 2000).

Marcadores autossômicos, com herança bi-parental, como os microssatélites, são comumente utilizados para a identificação genética de indivíduos e análises de parentesco (Paiva *et al.*, 2004; Egito *et al.*, 2005c; Lara *et al.*, 2005a), estimativa da diversidade populacional e endogamia do rebanho (Giovambattista *et al.*, 2001; Toro *et al.*, 2003), diferenciação de populações, cálculos de distância genética, para elucidar a relação entre diferentes raças e suas origens (MacHugh *et al.*, 1998; Brenneman *et al.*, 2001; Mateus *et al.*, 2004), e estimar possíveis misturas raciais (Freeman *et al.*, 2004; Freeman *et al.*, 2006).

Pelas suas características os microssatélites tornaram-se rapidamente o marcador preferido nos estudos envolvendo a análise de estruturas populacionais, principalmente em projetos de conservação de RGA. Existem em abundância no genoma e estão amplamente reportados, possuem um alto grau de polimorfismos, são facilmente automatizados e utilizados em sistemas multiplexes (vários locos sendo analisados de uma única vez). Além disto, são altamente sensíveis a eventos de *bottlenecks* e a seleção (Brufort *et al.*, 2003), possuem seleção neutra, sendo a diversidade observada consequência da deriva genética e da mutação (Cañon *et al.*, 2001).

Os microssatélites formaram a base da maioria dos mapas genéticos das diferentes espécies animais que existem atualmente (Hetzl, 1993; Barker, 1994; Brufort *et al.*, 2003). Somado a este fato, está comprovada a conservação destas seqüências entre espécies altamente relacionadas, o que significa que estes marcadores podem ser compartilhados entre espécies diferentes (ex. bovinos, ovinos, caprinos e bubalinos), mediante a utilização de *primers* heterólogos (Moore *et al.*, 1991; Hetzel, 1993).

Os microssatélites de DNA são sistemas polialélicos altamente variáveis compostos por DNA repetitivo *em tandem* em cada loco. As repetições *em tandem* são, usualmente, simples dinucleotídeos - como (CA)<sub>n</sub> - mas podem ter até seis nucleotídeos de comprimento, estando

distribuídos por todo o genoma (Litt & Luty, 1989; Moore *et al.*, 1991; Hetzel & Drinkwater, 1992). Os polimorfismos são gerados pelo número de vezes em que a seqüência se repete, sendo o comprimento do alelo determinado por PCR utilizando-se *primers* que flanqueiam a seqüência repetitiva. As diferenças no número de seqüências repetitivas podem ser facilmente distinguíveis, sendo que suas variações são herdadas como alelos de um loco genético simples (Barker, 1994).

Sendo essencialmente haplóides e transmitidos uniparentalmente, o mtDNA e o cromossomo Y abriram uma nova perspectiva no estudo da genética de populações. Não existe recombinação em ambos compartimentos genômicos e, além disto, a informação que os mesmos fornecem é complementar. Enquanto o mtDNA informa sobre a contribuição materna na evolução da população em análise, o cromossomo Y fornece informações sobre a contribuição paterna.

O mtDNA é o marcador molecular mais utilizado em estudos de domesticação (Bruford *et al.*, 2003). Mais especificamente, o mtDNA é utilizado para identificar os prováveis ancestrais selvagens, o número de linhagens maternas na população em estudo e sua origem geográfica (Hanotte & Jianlin, 2005). Com estes dados pode-se traçar um padrão geográfico da diversidade e evolução de uma espécie, a dispersão e o fluxo gênico, verificar as expansões demográficas, a deriva genética e a miscigenação (Bruford *et al.*, 2003).

O mtDNA é formado por uma fita simples de DNA circular – assemelha-se a um plasmídeo - possui menos que 20kb na maioria dos mamíferos, está localizado no citoplasma celular, dentro da mitocôndria (organela celular responsável pela produção de energia). Possui três características fundamentais para este tipo de estudo: (i) conservado evolutivamente o suficiente para permitir à identificação da população ancestral que deu origem a população em estudo; (ii) variável e estruturado geograficamente de forma a permitir a localização aproximada do ponto de domesticação e (iii) sua evolução é rápida e em uma taxa constante o que permite a datação da origem de determinado polimorfismo (Bruford *et al.*, 2003).

Embora seja extremamente informativo em estudos evolutivos o mtDNA possui suas limitações. Por se portar como um único loco (haplótipo) e ser um marcador extranuclear com uma dinâmica própria, não é um bom indicador para inferir a respeito da diversidade genética total. Além disto, devido à sua herança materna não se detecta o fluxo gênico mediado pelo macho, o qual tem fundamental importância na evolução dos animais domésticos e na dinâmica dos rebanhos na atualidade (Bruford *et al.*, 2003).

Analisando treze raças bovinas (Loftus *et al.*, 1994) detectaram a existência de 16 diferentes tipos mitocondriais (haplótipos) que se separavam em duas grandes linhagens (haplogrupos): a Afro-européia e a Asiática. A falta de diferenciação racial seria consequência da

natureza da linhagem do mtDNA e não de dados insuficientes da seqüência, refletindo a origem recente das raças como entidades discretas (Hall & Bradley, 1995).

Segundo Hanotte & Jianlin (2005) foi possível verificar, pelo estudo do mtDNA, que existem pelo menos cinco maiores centros de domesticação dos animais domésticos: norte dos Andes (camelídeos do Novo Mundo), região nordeste da África (asininos e bovinos taurinos), Oriente Médio (bovino taurino, ovinos, caprinos e suínos), sul da Ásia (bubalinos, bovinos indianos e galináceos) e o leste da Ásia (suínos, galináceos, eqüinos e bufalinos). A estas cinco regiões ao qual pode-se adicionar ainda região do Himalaia (iaque) e a região Centro-Norte da Ásia (eqüinos).

O cromossomo Y, excetuando-se a região pseudo-autossômica, age como uma unidade simples não-recombinante, a qual é macho-específica e haplóide. Pela análise de marcadores polimórficos do cromossomo Y como os microssatélites e os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), caracterizado pela mudança de uma única base na seqüência do DNA com uma freqüência na população superior a 1% (Vignal *et al.*, 2002), é possível detectar e quantificar a miscigenação, em uma população, mediada pelos machos (p.e. Giovambatista *et al.*, 2000).

Edwards *et al.* (2000) citam que microssatélites do cromossomo Y foram utilizados em humanos para discriminação de populações relacionadas e para determinar a relação entre estas populações. Levando-se em consideração o sistema de acasalamento e seleção animal utilizado atualmente pode-se verificar a importância da análise deste marcador.

Como é possível verificar, existem diversos tipos de marcadores moleculares disponíveis atualmente. Com a intenção de uniformizar os dados gerados pelos diferentes laboratórios ao redor do mundo, visando à comparação entre laboratórios e a obtenção de um panorama geral da diversidade mundial, a FAO, juntamente com a International Society of Animal Genetics (ISAG), em 1995 formou um grupo de consultores que elaboraram diretrizes e recomendações técnicas para a mensuração da diversidade genética em diversas espécies. O projeto, denominado MoDAD (*Measurement of Domestic Animal Diversity*; FAO, 1998), traçou uma estratégia para a estimação da diversidade genética global das espécies bovina, ovina, galinácea e suína, a partir da recomendação de conjuntos de marcadores microssatélites, para cada espécie, tornando possível a comparação entre os diversos laboratórios. Em 2004, foram incluídas novas espécies, sendo também adicionados novos marcadores microssatélites às listas recomendadas anteriormente (<http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/marker.pdf>).

Baumung *et al.* (2004) analisaram, a partir de questionários e artigos publicados, a aceitação destas listas por parte da comunidade científica. Esta revisão crítica pode verificar que a maior aceitação foi obtida com a espécie bovina e a menor com galináceos. Além disto, os

autores comentam que muitos trabalhos ainda estão sendo desenvolvidos e os dados relacionados a estes não foram computados ([http://dad.fao.org/em/refer/library/reports2/itwg/CGRFA\\_WG\\_An GR\\_3\\_04\\_Inf3.pdf](http://dad.fao.org/em/refer/library/reports2/itwg/CGRFA_WG_An GR_3_04_Inf3.pdf)).

Embora a ISAG organize anualmente exercícios comparativos de tipagem de microssatélites envolvendo diversos laboratórios e, em bovinos, recomende um conjunto de marcadores microssatélites em função de sua robustez e conteúdo informativo, até o momento, não existem bancos de dados que incluam as raças em estudo neste trabalho. Apesar de Heyen *et al.* (1997) e Peelman *et al.* (1998) demonstrarem o poder de resolução destes marcadores e de outros adicionais, estes trabalhos indicam a necessidade de avaliação criteriosa quanto à reprodutibilidade de locos microssatélites, bem como o conteúdo informativo em diferentes raças bovinas.

### 3.2. Uso dos marcadores moleculares na espécie bovina

Os primeiros trabalhos envolvendo a caracterização genética de bovinos foram desenvolvidos tendo como base os marcadores bioquímicos (isoenzimáticos e grupos sanguíneos). Desta forma, muito dos resultados observados na caracterização genética das raças naturalizadas ainda são derivados de estudos baseados em polimorfismos protéicos. Vários locos protéicos são considerados subespécie-específicos como o loco da anidrase carbônica, pois enquanto o alelo  $CA^Z$  só ocorre em animais zebuínos, o  $CA^F$  aparece apenas em animais de origem taurina. O alelo  $CA^S$  é comum a ambos (Del Lama, 1992; Lara, 1998). O loco da peptidase-B possui uma alta especificidade em relação à composição racial de um indivíduo. O alelo  $Pep-B^1$  ocorre em raças zebuínas e seus cruzamentos (Del Lama, 1992), enquanto que o  $Pep-B^2$  mostra-se fixado em raças européias especializadas, podendo também ocorrer nas zebuínas, mas em freqüências relativamente baixas. O alelo  $Pep-B^3$ , descrito por Lara & Contel (1997), parece funcionar como marcador para raças ibéricas (Lara, 2000). Estes alelos específicos constituem-se numa ferramenta adicional para a investigação da introgressão de genes zebuínos nas raças bovinas naturalizadas.

A variabilidade genética do gado Pantaneiro vem sendo acompanhada por esta metodologia e foi possível observar a participação de genes zebuínos no genoma Pantaneiro (Lara & Contel, 1997; Lara *et al.*, 2005a), pela ocorrência dos alelos  $Ca^Z$ ,  $Pep-B^1$  e  $Alb^C$ , considerados marcadores raciais do gado zebu. Com base ainda nas comparações realizadas a partir de freqüências alélicas da Hb, CA, Pep-B, Am-I, Alb e Tf, estimadas para indivíduos

adultos e progênes, constatou-se que o programa de conservação do bovino Pantaneiro, desenvolvido na Embrapa Pantanal, tem atingido o seu objetivo, pois os animais jovens apresentam valores superiores de diversidade em relação aos indivíduos adultos (Lara *et al.*, 1998). Entretanto, observou-se, para alguns locos, o excesso de indivíduos homocigotos, possivelmente decorrente de acasalamentos entre parentais, o que justificaria também os níveis elevados de consangüinidade em vários indivíduos para os locos investigados (Lara, 1998).

A grande variabilidade observada nas raças naturalizadas para os locos da hemoglobina, peptidase-B e albumina contrastam com a fixação de determinados alelos em muitas raças bovinas européias especializadas, o que mais uma vez vem demonstrar o grande potencial existente nas raças naturalizadas, ainda pouco selecionadas para características de importância econômica.

Em um estudo realizado com cinco sistemas protéicos (hemoglobina, peptidase-B, anidrase carbônica, amilase-I, albumina e transferrina) foi possível verificar que as raças naturalizadas Caracu, Pantaneiro, Junqueira, Mocho Nacional, Curraleira, Mantiqueira e Patuá, apresentam maior semelhança com as raças européias do que com raças zebuínas, como era esperado, embora as raças Pantaneira e Junqueira apresentem uma maior proximidade, em relação às demais, com as raças zebuínas (Lara *et al.*, 2005).

Tambasco *et al.* (1985) analisando metáfase de linfócitos de animais do tipo crioulo, observou que o Y acrocêntrico era mais freqüente nos bovinos Caracu, Curraleiro e Mocho Nacional, do que nos bovinos Crioulo Lageano. A ocorrência do cromossomo Y acrocêntrico indica a participação de zebuínos (*Bos indicus*) na formação do grupamento genético, já que nos bovinos de origem européia (*Bos taurus*), esse cromossomo é submetacêntrico.

Nos últimos anos, diversos trabalhos envolvendo a análise da diversidade genética e da relação entre diferentes raças bovinas de diversos países, baseados em polimorfismos de DNA, foram publicados. Observam-se estudos com raças européias em geral (MacHugh *et al.*, 1994; MacHugh *et al.*, 1998; Kantanen *et al.*, 2000), do Nordeste da Ásia (Kim *et al.*, 2002) da Península Ibérica (Martin-Burriel *et al.*, 1999; Canon *et al.*, 2001; Beja-Pereira *et al.*, 2003; Mateus *et al.*, 2004), africanas (Freeman *et al.*, 2004; Ibeagha-Awemu & Erhardt, 2005), canadenses (Hansen *et al.*, 2002), italianas (Ciampolini *et al.*, 1995; Moiola *et al.*, 2004), francesas (Maudet *et al.*, 2002) e mexicanas (Russell *et al.*, 2000). Em sua maioria, foram utilizados marcadores microssatélites e em vários deles observa-se a preocupação e o envolvimento com a conservação dos RGAs.

Na América Latina também foram iniciados diversos trabalhos envolvendo a caracterização das raças consideradas crioulas. Giovambattista *et al.* (2000) verificaram a introgressão de genes zebuínos nas raças crioulas da Argentina e da Bolívia, utilizando um microssatélite do cromossomo Y. A raça Crioula Argentina também foi analisada com diferentes marcadores gene-específicos relacionados com a produção de leite (locos da caseína e prolactina) e com o loco *BoLA-DRB3*, do complexo maior de histocompatibilidade (Giovambattista *et al.*, 2001; Lirón *et al.*, 2002). O bovino Crioulo Uruguaio foi estudado a partir de marcadores RAPD, locos microssatélites e genes específicos como os citados anteriormente (Rincón *et al.*, 2000; Postiglioni *et al.*, 2002). Brenneman *et al.* (2001) analisou a diversidade da raça colombiana Romossinuano com marcadores microssatélites enquanto que Carvajal-Carmona *et al.* (2003) e Barrera *et al.* (2004) estudaram a diversidade de raças crioulas colombianas pela análise da região controle do mtDNA.

No Brasil, assim como ocorria anteriormente com marcadores protéicos, os trabalhos de análise da diversidade genética na espécie bovina, utilizando marcadores baseados em polimorfismos de DNA, envolvem a caracterização de raças bovinas consideradas comerciais, como as raças zebuínas Nelore e Gir e as taurinas de corte ou leite, como a Simental e a Holandesa (Tambasco *et al.*, 2000; Curi & Lopes, 2002; Machado *et al.*, 2003).

A introgressão de genes zebuínos em algumas raças naturalizadas observadas por polimorfismos protéicos e por citogenética (Tambasco *et al.*, 1985; Lara *et al.*, 1998; Lara, 2000) também pode ser verificada utilizando-se marcadores polimórficos de DNA do tipo RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Serrano *et al.*, 2004).

Athanassof (1957) e Bicalho (1985) afirmavam, baseados em dados históricos que o gado Caracu era derivado das raças Alentejana e Minhota ou Mertolenga (tronco Aquitânico), embora não exista registro da entrada desta última no Brasil. Em um estudo recente realizado para diferenciação genética de 10 raças nativas Portuguesas com 30 marcadores microssatélites utilizou-se a raça Caracu como *outgroup* (Mateus *et al.*, 2004). Os dados obtidos demonstram que a raça Caracu apresenta um índice menor de diferenciação genética, na comparação aos pares, com as raças Mertolenga (8,5%) e Arouquesa (9,2%), e uma maior diferenciação em relação à raça Mirandesa (17,10%), proveniente do tronco ibérico. As raças Alentejana e Minhota, quando comparadas com a raça Caracu, apresentaram 12,41% e 10,68% de diferenciação, respectivamente.

A raça Caracu quando comparada às raças bovinas Aberdeen Angus, Canchim, Nelore e Simental apresentou índices de diversidade genética maiores, como heterozigosidade e

diversidade gênica, o que sugere o sucesso nos esforços realizados para sua conservação. Pela distância genética de Nei, baseada em dados de cinco marcadores moleculares, a raça estaria mais próxima geneticamente da raça taurina Aberdeen Angus (0,051) e curiosamente, mais distante da raça Simental (0,164 - taurina) que da raça Nelore (0,12 - zebuína), embora ela se agrupe com raças de origem taurina (Garcia *et al.*, 2000).

O trabalho realizado com as raças naturalizadas por Serrano *et al.* (2004), utilizando marcadores do tipo RAPD, demonstrou que entre as raças nativas, a Caracu foi a que apresentou uma menor diversidade gênica (0,1904). Isto pode ter ocorrido porque a raça Caracu possui livro de registro, desde 1983, definindo melhor um padrão genético em relação às demais raças nativas. Estes resultados concordam com os obtidos por Poli (1985) que, utilizando a tipificação de fenogramas de fatores sanguíneos, também observou esta menor diversidade gênica na raça Caracu, quando comparada com as demais raças nativas. Estes resultados podem ser explicados pela seleção que vem sendo praticada pelos criadores desta raça, que até 2006, era a única dentre as raças nativas que possuía uma associação de criadores.

As raças menos divergentes em relação ao Nelore foram a Crioula Lageana (0,2571 e 0,2536) e a Pantaneira (0,2590 e 0,2550) (Serrano *et al.*, 2004). Este fato pode ser explicado pelos dados históricos obtidos dos rebanhos em estudo, onde houve a utilização de animais da raça Nelore ou de seus mestiços. A menor divergência foi observada entre as raças Crioula Lageana e Curraleira. Apesar das duas raças não possuírem fenótipos semelhantes e habitarem regiões distintas, foram as que apresentaram a menor distância e variabilidade genética. A menor distância entre as raças, encontrada por Poli (1985) foi entre as raças Pantaneiro e Crioulo Lageano. A diferença entre estes resultados pode ser devida ao tipo de técnica empregada por Poli (1985) que estimou a relação entre as populações baseando-se na frequência de três sistemas de grupos sanguíneos e pelo número médio de fatores sanguíneos por animal dentro de cada grupo, enquanto que no trabalho de Serrano *et al.* (2004) foram utilizados dados obtidos a partir de 122 marcadores polimórficos de DNA.

Visando integrar as raças naturalizadas ao mercado econômico, tem-se buscado através de estudos em genes candidatos descritos na literatura, relacionados à produção de leite e carne, marcadores que possam ser utilizados precocemente ou que demonstrem o potencial existentes nestas populações, fornecendo assim, subsídios para o desenvolvimento e a conservação sustentável destas populações. Pelos estudos realizados até o momento, pode-se observar uma grande variabilidade genética envolvendo as raças naturalizadas brasileiras, demonstrando o seu potencial. Por exemplo, o alelo 3 do gene da tireoglobulina, relacionado ao

maior teor de marmoreio, apresenta uma frequência superior a 43% nas raças naturalizadas quando comparada com a raça Nelore, principal raça de corte no Brasil, o que evidencia o potencial que as raças naturalizadas possuem em relação à indústria de carne quando se fala em produtos com maior qualidade e valor comercial agregado (Egito *et al.*, 2005a). Da mesma forma, pode-se observar a presença do alelo CPAN2<sup>A</sup> da calpaína, relacionado à maciez da carne (Smith *et al.*, 2000), em frequência superior a 43% nas raças naturalizadas, enquanto que as raças zebuínas de corte apresentam uma frequência ao redor de 10% (Lara *et al.*, 2005b).

#### 1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alderson, L. The categorization of types and breeds of cattle in Europe. **Arch. Zootec.**, v.41, p. 325-333. 1992.
- Alfenas, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins. Fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos.** Viçosa: UFV. 1998. 574 p.
- Allard, M. W.; Miyamoto, M. M.; Jarecki, L.; Kraus, F.; Tennant, M. R. DNA systematic and evolution of the artiodactyls family Bovidae. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.89, p. 3972-3976. 1992.
- Anon, A. Caracu: resistente e boa opção de cruzamento. **Balde Branco**, p. 28-31. 1989.
- Arnheim, N.; Erlich, H. Polymerase Chain Reaction Strategy. **Annu. Rev. Genet.**, v.61, p. 131-156. 1992.
- Arranz, J. J.; Bayon, Y.; San Primitivo, F. Comparison of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle populations. **Anim. Genet.**, v.27, n.6, p. 415-419. 1996.
- Athanassof, N. **Manual do criador de bovinos:** Ed. Melhoramentos. 1957. 818 p.
- Azevedo, P. C. N. **Efeitos genéticos e ambientes em características ponderais de bovinos do rebanho mocho da raça Tabapuã (Fazenda Água Milagrosa).** Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte - MG, 1983. 188 p. (Dissertação de Mestrado).
- Barker, A. C. M.; Manwell, C. Chemical classification of cattle. 2. Phylogenetic tree and specific status of the Zebu. **Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.**, v.11, p. 151-180. 1980.
- Barker, J. S. F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5, 1994, Guelph. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5. **Proceedings.** Guelph, Canadá, 1994. p. 501-508.
- Barrera, G. P.; Martinez, R. A.; Ariza, M. F. Relaciones filogeneticas entre ganado criollo colombiano y cebu brahman mediante secuenciacion de dna mitocondrial. In: Simpósio Iberoamericano de Conservación y Utilización de Recursos Genéticos, 5, 2004, Puno. Simpósio Iberoamericano de Conservación y Utilización de Recursos Genéticos, 5, **Memorias.** Puno, 2004. p. 57-59.
- Baumung, R.; Simianer, H.; Hoffmann, I. Genetic diversity studies in farm animals - a survey. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.121, p. 361-373. 2004.
- Beja-Pereira, A.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferrand, N.; Jordana, J.; Laloe, D.; Moazami-Goudarzi, K.; Sanchez, A.; Canon, J. Genetic characterization of southwestern European bovine breeds: a historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. **J.Hered.**, v.94, n.3, p. 243-250. 2003.

- Bicalho, H. M. S. **Grupos sanguíneos e polimorfismos de proteínas do sangue da raça Caracu (*Bos taurus taurus*)**. UFMG, Belo Horizonte - MG, 1985. 259 p. (Dissertação de Mestrado).
- Bjornstad, G.; Gumby, E.; Roed, K. H. Genetic structure of Norwegian horse breeds. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.117, p. 307-317. 2000.
- Boaventura, M. V. **Gado Curraleiro: relação de criadores e aspectos gerais da raça. ACCCurraleiro/Sebrae/UFG. Goiânia, 80p. 2005.**
- Bradley, D. G.; Loftus, R. T.; Cunningham, C.; MacHugh, D. E. Genetics and Domestic Cattle Origins. **Evolutionary Anthropology News and Reviews**, v.6, p. 79-86. 1998.
- Bruford, M. W.; Bradley, D. G.; Luikart, G. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. **Nat. Rev. Genet.**, v.4, n.11, p. 900-910. 2003.
- Buntjer, J. B.; Otsen, M.; Nijman, I. J.; Kuiper, M. T.; Lenstra, J. A. Phylogeny of bovine species based on AFLP fingerprinting. **Heredity**, v.88, n.1, p. 46-51. 2002.
- Canon, J.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carleos, C.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferran, N.; Garcia, D.; Jordana, J.; Laloe, D.; Pereira, A.; Sanchez, A.; Moazami-Goudarzi, K. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. **Genet. Sel. Evol.**, v.33, n.3, p. 311-332. 2001.
- Carvajal-Carmona, L. G.; Bermudez, N.; Olivera-Angel, M.; Estrada, L.; Ossa, J.; Bedoya, G.; Ruiz-Linares, A. Abundant mtDNA diversity and ancestral admixture in Colombian criollo cattle (*Bos taurus*). **Genetics**, v.165, n.3, p. 1457-1463. 2003.
- Cavalli-Sforza, L. The DNA revolution in population genetics. **TIG**, v.14, n.2, p. 60-65. 1998.
- Cepica, S.; Wolf, J.; Hojny, J.; Vackova, I.; Schroffel, J., Jr. Relations between genetic distance of parental pig breeds and heterozygosity of their F1 crosses measured by genetic markers. **Anim. Genet.**, v.26, p. 135-140. 1995.
- Ciampolini, R.; Moazami-Goudarzi, K.; Vaiman, D.; Dillmann, C.; Mazzanti, E.; Foulley, J. L.; Leveziel, H.; Cianci, D. Individual multilocus genotypes using microsatellite polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. **J. Anim. Sci.**, v.73, n.11, p. 3259-3268. 1995.
- Cunningham, E. P. Quantitative approaches to animal improvement. In: World Congress Genetic Applied Livestock Production, 4, 1990, Edinburgh. World Congress Genetic Applied Livestock Production, 4. **Proceedings**. Edinburgh, p. 4-14. 1990.
- Curi, R. A.; Lopes, C. R. Evaluation of nine microsatellite loci and misidentification paternity frequency in a population of Gyr breed bovines. **Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.39, n.3, p. 129-135. 2002.
- Del Lama, S. N. **Caracterização genética das raças zebuínas criadas no Brasil através de polimorfismos protéicos e grupos sanguíneos**. Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto, 1992. 207 p. (Tese de doutorado).

- Dias, E. C. O gado Caracu sob o sistema de retiros. **Revista Ceres**. junho - setembro, p. 383 - 402. 1948.
- Domingues, O. **Introdução à Zootecnia**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola - Ministério da Agricultura. 1968. 386 p.
- Domingues, O. **Gado leiteiro para o Brasil : gado europeu, gado indiano, gado bubalino**. São Paulo: Nobel. 1977. 112 p.
- Duvivier, E. A raça Guzerá. In: A. Weiss (Ed.). **Os grandes reprodutores indianos no Brasil**. Uberaba: Rev. Zebu, A raça Guzerá, p. 26-32. 1956
- Edwards, C. J.; Gaillard, C.; Bradley, D. G.; MacHugh, D. E. Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. **Anim. Genet.**, v.31, n.2, p. 127-130. 2000.
- Egito, A. A.; Albuquerque, M. S. M.; Mariante, A. S. Situação atual da caracterização genética animal na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. In: Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe - SIRGEALC, 2, 1999, Brasília. Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe - SIRGEALC, 2. **Proceedings**. Brasília - DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 6p. 1999.
- Egito, A. A.; Albuquerque, M. S. M.; Pappas, M. C. R.; Paiva, S. R.; Grattapaglia, D.; McManus, C.; Castro, S. R.; Almeida, L. D.; Cunha, P. A.; Mariante, A. S. **Polimorfismo Lisina-232/Alanina no Gene DGAT1 em Raças Bovinas Criadas no Brasil**. Embrapa. Brasília, 8p. 2005a.
- Egito, A. A.; Fuck, B. H.; Spritze, A. L.; Oliveira, R. R.; McManus, C.; Mariante, A. S.; Ribeiro, M. N.; Albuquerque, M. S. M.; Paiva, S. R.; Castro, S. R.; Santos, S. A. RAPD markers utilization on the formation or maintenance of conservation nuclei of livestock species. **Arch. Zootec.**, v.54, p. 277-281. 2005b.
- Egito, A. A.; Paiva, S. R.; Albuquerque, M. S. M.; Abreu, U. P. G.; McManus, C.; Castro, S. R.; Mariante, A. S.; Grattapaglia, D. Desempenho de marcadores de DNA para determinação de parentesco na raça bovina Pantaneira. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42, 2005, Goiânia. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42. **Proceedings**. Goiânia: SBZ, 2005c. p. 4.
- Epstein, H.; Mason, I. Cattle. In: L. Mason (Ed.). **Evolution of domesticated animals**. London: Longman, Cattle, p. 6-27. 1984
- Erich, H. A.; Arnheim, A. Genetic analysis using the Polymerase Chain Reaction. **Annu. Rev. Genet.**, v.26, p. 479- 506. 1992.
- FAO. **World Watch List for Domestic Animal Diversity**. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations. 2003. 726 p.
- FAO. Secondary guidelines for development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers: FAO. 2004, 50p. 2004.

- FAO. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture - first draft. Rome. 2006. 449p.
- Ferreira, M. E. F.; Grattapaglia, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa - Cenargen. 1995. 220 p.
- Fitzhugh, H. A.; Strauss, M. S. Management of global animal genetic resources organizational and institutional structure. In: J. Hodges (Ed.). **The management of global animal genetic resources. Proceedings of an FAO Expert Consultation**. Rome: FAO, Management of global animal genetic resources organizational and institutional structure, p. 309. 1992
- Frankham, R.; Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. **Introduction to Conservation Genetics**. Cambridge: Cambridge University Press. 2002. 617 p.
- Freeman, A. R.; Hoggart, C. J.; Hanotte, O.; Bradley, D. G. Assessing the relative ages of admixture in the bovine hybrid zones of Africa and the Near East using X chromosome haplotype mosaicism. **Genetics**, v.173, n.3, p. 1503-1510. 2006.
- Freeman, A. R.; Meghen, C. M.; MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Achukwi, M. D.; Bado, A.; Sauveroche, B.; Bradley, D. G. Admixture and diversity in West African cattle populations. **Mol. Ecol.**, v.13, n.11, p. 3477-3487. 2004.
- Fuck, B. H. F. **Caracterização genética de cavalo Pantaneiro: uma contribuição para a conservação da raça**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília. 2002.105 p. (Dissertação de Mestrado).
- Garcia, M. C. C. ; Regitano, L. C. de A. ; Etchegaray, M. A. ; Coelho, A. S. G. ; Bortolozzi, J. ; Coutinho, L. L . Genetic diversity study of seven bovine breeds by the use of SSR markers. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5, 2000, Brasília. Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5. **Proceedings**. Brasília, DF. : Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. 4 p.
- Gibson, J. P.; Smith, C. The incorporation of biotechnologies into animal breeding strategies. In: M. Moo-Young;L. A. Babink;J. P. Phillips (Ed.). **Animal Biotechnology: Comprehensive Biotechnology**, The incorporation of biotechnologies into animal breeding strategies, p. 204-231. 1989.
- Giovambattista, G.; Ripoli, M. V.; Peral-Garcia, P.; Bouzat, J. L. Indigenous domestic breeds as reservoirs of genetic diversity: the Argentinean Creole cattle. **Anim. Genet.**, v.32, n.5, p. 240-247. 2001.
- Hall, S. J. G.; Bradley, D. G. Conserving livestock breed biodiversity. **TREE**, v.10, n.7, p. 267-270. 1995.
- Hanotte, O.; Jianlin, H. **Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making**. The Role of Biotechnology for the Characterization of Crop, Forestry Animal and Fishery Genetic Resources. Turim, 2005. p. 131-136.

- Hansen, C.; Shrestha, J. N.; Parker, R. J.; Crow, G. H.; Mcalpine, P. J.; Derr, J. N. Genetic diversity among Canadianne, Brown Swiss, Holstein, and Jersey cattle of Canada based on 15 bovine microsatellite markers. **Genome**, v.45, n.5, p. 897-904. 2002.
- Hetzel, D. J. S.; Drinkwater, R. D. The use of DNA technologies for the conservation and improvement of animal genetic resources. In: J. Hodges (Ed.). **The management of global animal genetic resources. Proceedings of an FAO Expert Consultation**. Rome: FAO, The use of DNA technologies for the conservation and improvement of animal genetic resources, p. 309. 1992
- Hetzel, J. Livestock genome research on the march. **Nat. Genet.**, v.4, n.4, p. 327-328. 1993.
- Heyen, D. W.; Beever, J. E.; Da, Y.; Evert, R. E.; Green, C.; Bates, S. R.; Ziegler, J. S.; Lewin, H. A. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing. **Anim. Genet.**, v.28, n.1, p. 21-27. 1997.
- Ibeagha-Awemu, E. M.; Erhardt, G. Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.122, n.1, p. 12-20. 2005.
- Janecek, L. L.; Honeycutt, R. L.; Adkins, R. M.; Davis, S. K. Mitochondrial gene sequences and the molecular systematics of the artiodactyl subfamily bovinæ. **Mol. Phylogenet. Evol.**, v.6, n.1, p. 107-119. 1996.
- Jardim, V. **Bovinocultura**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 1988. 525 p.
- Kalinowski, S. T. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? **Heredity**, v.88, n.1, p. 62-65. 2002.
- Kantanen, J.; Olsaker, I.; Adalsteinsson, S.; Sandberg, K.; Eythorsdottir, E.; Pirhonen, K.; Holm, L. E. Temporal changes in genetic variation of north European cattle breeds. **Anim. Genet.**, v.30, n.1, p. 16-27. 1999.
- Kantanen, J.; Olsaker, I.; Holm, L. E.; Lien, S.; Vilkki, J.; Brusgaard, K.; Eythorsdottir, E.; Danell, B.; Adalsteinsson, S. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. **J. Hered.**, v.91, n.6, p. 446-457. 2000.
- Kim, K. S.; Yeo, J. S.; Choi, C. B. Genetic diversity of north-east Asian cattle based on microsatellite data. **Anim. Genet.**, v.33, n.3, p. 201-204. 2002.
- Lara, M. A. C. **Variabilidade Genética em bovinos e bubalinos através de polimorfismos protéicos: análise populacional e suas implicações no melhoramento**. Departamento de Genética, USP, Ribeirão Preto, 1998. 215 p. (Tese de Doutorado).
- Lara, M. A. C. Genetic variability in bovine breeds through the use of molecular markers. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5, 2000, Brasília. Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5. **Proceedings**. Brasília, DF. : Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. 4 p.

- Lara, M. A. C.; Contel, E. P. B. A new allele of peptidase-B in cattle. **Brazil. J. Genet.**, v.20, p. 9-12. 1997.
- Lara, M. A. C.; Contel, E. P. B.; Sereno, J. R. Caracterización genética de poblaciones cebuínas a través de marcadores moleculares. **Arch. Zootec.**, v.206-207, p. 295-303. 2005a.
- Lara, M. A. C.; Nardon, R. F.; Bufarah, G.; Demarchi, J. J. A. A.; Sereno, J. R.; Santos, S. A.; Abreu, U. G. P. Polimorfismo del gen Calpaina em razas vacunas por técnica PCR-RFLP. **Arch. Zootec.**, v.54, p. 305-310. 2005b.
- Lara, M. A. C.; Sereno, J. R. B.; Abreu, U. G. P.; Mariante, A. S. **Genetic diversity in Pantanal cattle determined by protein polymorphisms**. In: Global Conference on Conservation of Domestic Animal Genetic Resources, 4, 1998, Kathmandu. Global Conference on Conservation of Domestic Animal Genetic Resources, 4. **Proceedings**. Kathmandu, Nepal: RBI, 1998. p. 9-10.
- Lestra, J. A.; Bradley, D. G. Systematics and phylogeny of cattle. In: R. Fries;A. Ruvinsky (Ed.). **The genetics of the cattle**: CAB International, Systematics and phylogeny of cattle, p. 1-14. 1999
- Lima, M. L. P.; Neto, L. M. B.; Razook, A. G. O gado Caracu. **Revista dos Criadores**. outubro, p. 28-30. 1990.
- Litt, M.; Luty, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **Am. J. Hum. Genet.**, v.44, n.3, p. 397-401. 1989.
- Loftus, R. T.; MacHugh, D. E.; Bradley, D. G.; Sharp, P. M.; Cunningham, P. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.91, n.7, p. 2757-2761. 1994.
- Luikart, G.; England, P. R.; Tallmon, D.; Jordan, S.; Taberlet, P. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. **Nat. Rev. Genet.**, v.4, n.12, p. 981-994. 2003.
- Machado, M. A.; Schuster, I.; Martinez, M. L.; Campos, A. L. Genetic diversity of four cattle breeds using microsatellite markers. **Rev. Bras. Zootec.**, v.32, p. 93-98. 2003.
- MacHugh, D. E. **Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle**. University of Dublin, Dublin, 274 p., 1996. (Tese de doutorado).
- MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Bradley, D. G.; Sharp, P. M.; Cunningham, P. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. **Proc. Biol. Sci.**, v.256, n.1345, p. 25-31. 1994.
- MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Bradley, D. G. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. **Anim. Genet.**, v.29, n.5, p. 333-340. 1998.

- MacHugh, D. E.; Shriver, M. D.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Bradley, D. G. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). **Genetics**, v.146, n.3, p. 1071-1086. 1997.
- Magnabosco, C. U.; Trovo, J. B. F.; Scarpati, M. T. V.; Faraco, L. Conservação do material genético e avaliação preliminar do desempenho de animais da raça Mocho Nacional. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30, 1993, Rio de Janeiro. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais**. Rio de Janeiro - RJ: SBZ, 1993. p. 227-244.
- Mariante, A. S. Conservação de recursos genéticos animais: uma questão de bom senso. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30, 1993, Rio de Janeiro. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais**. Rio de Janeiro - RJ: SBZ, 1993. p. 175-182.
- Mariante, A. S.; Cavalcante, N. **Animais do Descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2006. 232 p.
- Mariante, A. S.; Egito, A. A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v.57, n.1, p. 223-235. 2002.
- Mariante, A. S.; Trovo, J. B. F. The Brazilian genetic resources conservation programme. **Brazil. J. Genetics**, v.12, n.3-Supplement, p. 241-256. 1989.
- Martin-Burriel, I.; Garcia-Muro, E.; Zaragoza, P. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.30, n.3, p. 177-182. 1999.
- Mason, I. F. **Evolution of domesticated animals**. London: Longman Inc. 1984. 452 p.
- Masson, I. L. **A World dictionary of livestock breeds types and varieties**: Wallingford: Commonwealth Agriculture Bureaux International. 1988. 348 p.
- Mateus, J. C.; Penedo, M. C.; Alves, V. C.; Ramos, M.; Rangel-Figueiredo, T. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.35, n.2, p. 106-113. 2004.
- Maudet, C.; Luikart, G.; Taberlet, P. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. **J. Anim. Sci.**, v.80, n.4, p. 942-950. 2002.
- Mazza, M. C. M.; Mazza, C. A. S.; Sereno, J. R. B.; Santos, S. A.; Pellegrin, A. O. **Etnobiologia e Conservação do Bovino Pantaneiro**. Corumbá: Embrapa CPAP. 1994. 61 p.
- Miyamoto, M. M.; Tanhauser, S. M.; Laipis, P. J. Systematic relationship in the artiodactyl tribe Bovini (family Bovidae), as determined from mitochondrial DNA sequences. **Syst. Zool.**, v.38, n.4, p. 342-349. 1989.
- Moioli, B.; Napolitano, F.; Catillo, G. Genetic diversity between Piedmontese, Maremmana, and Podolica cattle breeds. **J. Hered.**, v.95, n.3, p. 250-256. 2004.

- Moore, S. S.; Sargeant, L. L.; King, T. J.; Mattick, J. S.; Georges, M.; Hetzel, D. J. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. **Genomics**, v.10, n.3, p. 654-660. 1991.
- Mullis, K. B.; Faloona, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzymol.**, v.155, p. 335-350. 1987.
- Nagamine, Y.; Higuchi, M. Genetic distances and classification of domestic animals using genetic markers. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.118, p. 101-109. 2001.
- Nei, M.; Tajima, F.; Tatenno, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **J. Mol. Evol.**, v.19, n.2, p. 153-170. 1983.
- Notter, D. R. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. **J. Anim. Sci.**, v.77, n.1, p. 61-69. 1999.
- Oliveira, R. R.; Egito, A. A.; Ribeiro, M. N.; Paiva, S. R.; Albuquerque, M. S. M.; Castro, S. R.; Mariante, A. S.; Adrião, M. Genetic characterization of the Moxotó goat breed using RAPD markers. **Revista Agropecuária Brasileira**, v.40, p. 233-239. 2005.
- Ortemblad, A. **O mocho Tabapuã da Fazenda Água Milagrosa**. São Paulo: Fazenda Água Milagrosa. 1980. 89 p.
- Paiva, S. R.; Faria, D. A.; Silvério, V. C.; Albuquerque, M. S. M.; Egito, A. A.; McManus, C.; Mariante, A. S. Viabilidade de loci de microssatélites para exclusão de paternidade em raças de ovinos. In: Simpósio Nacional da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 5, 2004, Pirassununga. Simpósio Nacional da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 5. **Anais**. Pirassununga, SP: SBMA, 2004. p. 3.
- Peelman, L. J.; Mortiaux, F.; Van Zeveren, A.; Dansercoer, A.; Mommens, G.; Coopman, F.; Bouquet, Y.; Burny, A.; Renaville, R.; Portetelle, D. Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. **Anim. Genet.**, v.29, n.3, p. 161-167. 1998.
- Pellegrin, A. O.; Sereno, J. R. B.; Mazza, M. C. M.; Leite, R. C. **Doenças da reprodução e conservação genética: levantamento no núcleo de conservação do bovino Pantaneiro**. Comunicado Técnico - EMBRAPA. Brasília, 1997. p. 4
- Pitra, C.; Furbass, R.; Seyfert, H.-M. Molecular phylogeny of the tribe Bovini (Mammalia: Artiodactyla): alternative placement of the Anoa. **J. Evol. Biol.**, v.10, p. 589-600. 1997.
- Poli, M. A. **Polimorfismo imunogenéticos, su empleo en conservacion de germoplasma animal**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília: 08/10-15/12, p. 501985.
- Postiglioni, A.; Rincón, G.; Kelly, L.; Llambi, S.; Fernández, G.; D'Angelo, M.; Gagliardi, G.; Trujillo, J.; Bethencourt, M.; Guevara, K.; Castellano, A.; Arruga, M. V. Biodiversidad genética en ovinos criollos del Uruguay. Análisis con marcadores moleculares. **Arch. Zootec.**, v.51, p. 195-202. 2002.

- Primo, A. T. Os bovinos ibéricos nas Américas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30, 1993, Rio de Janeiro. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais**. Rio de Janeiro - RJ: SBZ, 1993. p. 116-122.
- Primo, A. T. The discovery of Brazil and the introduction of domestic animals. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5, 2000, Brasília. Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5. **Proceedings**. Brasília, DF. : Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. 4 p.
- Ribeiro, J. A. R. Gado Crioulo Lageano, uma alternativa de uso sustentado para as pastagens naturais do planalto sulbrasileiro? In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30, 1993, Rio de Janeiro. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais**. Rio de Janeiro - RJ: SBZ, 1993. p. 145-155.
- Rincón, G.; D'Angelo, M.; Gagliardi, G.; Kelly, L.; Llambi, S.; Postiglioni, A. Genomic polymorphism in Uruguayan Creole cattle using RAPD and microsatellite markers. **Res. Vet. Sci.**, v.69, p. 171-174. 2000.
- Ritz, L. R.; Glowatzki-Mullis, M. L.; MacHugh, D. E.; Gaillard, C. Phylogenetic analysis of the tribe Bovini using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.31, n.3, p. 178-185. 2000.
- Rosa, A. N.; Silva, L. O. C.; Porto, J. C. A. **Raças mochas: história e genética**. Embrapa CNPGL. Campo Grande. 1992. 64 p.
- Rouse, J. E. **The Criollo: Spanish cattle in the Americas**. Oklahoma: University of Oklahoma Press. 1977
- Russell, N. D.; Rios, J.; Erosa, G.; Remmenga, M. D.; Hawkins, D. E. Genetic differentiation among geographically isolated populations of Criollo cattle and their divergence from other *Bos taurus* breeds. **J. Anim. Sci.**, v.78, n.9, p. 2314-2322. 2000.
- Santiago, A. A. **Os cruzamentos na pecuária bovina**. São Paulo: Instituto de Zootecnia. 1975. 549 p.
- Santiago, A. A. **O Nelore**. São Paulo: Ed. dos Criadores. 1983. 583 p.
- Santiago, A. A. **O Guzerá**. Recife: Ed. Tropical. 1984a. 450 p.
- Santiago, A. A. **Os cruzamentos na pecuária bovina**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 1984b. 549 p.
- Santiago, A. A. **O Zebu na Índia, no Brasil e no Mundo**. Campinas: Instituto Campineiro Agrícola. 1985. 744 p.
- Santos, R. **Nelore. A vitória brasileira**. Uberaba - M.G.: Ed. Agropecuária Tropical Ltda. 1993. 328 p.
- Smith, T. P.; Casas, E.; Rexroad, C. E.; Kappes, S. M.; Keele, J. W. Bovine *CAPN1* maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. **J. Anim. Sci.**, v.78, n.10, p. 2589-2594. 2000.

- Sneath, P. H. A.; Sokal, R. R. **Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W. H. Freeman and Company. 1973. 573 p.
- Spritze, A. L.; Egito, A. A.; Mariante, A. S.; McManus, C. Caracterização genética da raça bovina Crioulo Lageano por marcadores moleculares RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.10, p. 1157-1164. 2003.
- Spritze, A. L.; Serrano, G. M. S.; McManus, C.; Mariante, A. S. Consangüinidade e intervalo entre partos da raça Crioulo Lageano. In: Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe - SIRGEALC, 2, 1999, Brasília. Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe - SIRGEALC, 2. **Proceedings**. Brasília - DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 1999. 3p.
- Sunnucks, P. Efficient genetic markers for population biology. **TREE**, n.15, p. 199-203. 2000.
- Takesaki, N.; Nei, M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. **Genetics**, v.144, p. 389-390. 1996.
- Tambasco, A. J.; Trovo, J. B. F.; Barbosa, P. F. Estudo cromossômico em raças naturalizadas de bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 22, 1985, Balneário Camboriú. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 22. **Anais**. Balneário Camboriú - SC: SBZ. 1985. p. 122.
- Tambasco, D. D.; Alencar, M. M.; Coutinho, L. I.; Tambasco, A. J.; Tambasco, M. D.; Regitano, L. C. A. Caracterização molecular de animais da raça Nelore utilizando microssatélites e genes candidatos. **Rev. Bras. Zootec.**, v.29, p. 1044-1049. 2000.
- Teale, A. J.; Wambugu, J.; Gwakisa, P. S.; Stranzinger, G.; Bradley, D.; Kemp, S. J. A polymorphism in randomly amplified DNA that differentiates the Y chromosomes of *Bos indicus* and *Bos taurus*. **Anim. Genet.**, v.26, n.4, p. 243-248. 1995.
- Toro, M. A.; Barragan, C.; Ovilo, C. Estimation of genetic variability of the founder population in a conservation scheme using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.34, n.3, p. 226-228. 2003.
- Torres, A. P. **Animais da Fazenda Brasileira**. São Paulo, SP, Brasil: Editora Melhoramentos. 1958
- Trovo, J. B. F.; Duarte, F. A. M. Levantamento de núcleos de criação da raça Caracu no Brasil. **Zootecnia**, v.19, n.4, p. 245-263. 1981.
- Van Gelder, R. G. Mammalian hybrids and genetic limits. **Am. Mus. Novitates**, v.2635, p. 1-25. 1977.
- Viana, U. Sobre o gado Curraleiro, notas históricas e apontamentos sobre os bovinos no Brasil. **Jornal do Brasil**. Rio de Janeiro- RJ, p. 41. 1927.
- Vignal, A.; Milan, D.; Sancristobal, M.; Eggen, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genet. Sel. Evol.**, v.34, n.3, p. 275-305. 2002.

Wan, Q. H.; Wu, H.; Fujihara, T.; Fang, S. G. Which genetic marker for which conservation genetics issue? **Electrophoresis**, v.25, p. 2165-2176. 2004.

Yassu, F.; Franco, M. Mocho Nacional volta a ter vez com o Caracu. **DBO Rural**. maio, p. 68-72. 1996.

## OBJETIVOS

### Objetivos gerais

- Análise da variabilidade genética das raças naturalizadas (Pantaneira, Curraleira, Crioula Lageana, Mocha Nacional, e Caracu) e das raças européias especializadas (Holandesa e Jersey) e zebuínas (Nelore, Gir e Guzerá), comumente encontradas no Brasil, com o intuito de fornecer subsídios para programas de conservação e uso da diversidade genética da espécie;
- Desenvolvimento de informações e abordagens analíticas úteis para auxiliar na caracterização genética e monitoramento dos rebanhos dos núcleos de conservação de recursos genéticos animais da EMBRAPA.

### Objetivos Específicos

- Otimização de sistemas de co-amplificação de marcadores microssatélites com detecção por fluorescência e semi-automatizada para a obtenção de perfis genotípicos informativos e discriminatórios em nível de raça e indivíduo para a espécie bovina;
- Construção de um banco de dados de perfis genotípicos multiloco e frequências alélicas para as principais raças bovinas criadas no Brasil a ser utilizado para a proteção, monitoramento, certificação e rastreamento de bovinos e seus produtos;
- Caracterização dos níveis e distribuição da variabilidade genética, relacionamentos filogenéticos e padrões de introgressão e miscigenação taurina/ zebuína em dez raças bovinas criadas no Brasil;
- Comparação de diferentes abordagens analíticas para a alocação individual de animais às suas raças de origem e avaliação da acurácia e do número de marcadores necessários para realizar estas alocações particularmente em raças geneticamente mais próximas e com padrões recentes de introgressão;
- Proposição de um método de priorização individual de animais para a montagem de coleções nucleares de tamanho limitado de raças bovinas levando em consideração: (a) aspectos de representatividade racial; (b) medidas de diversidade genética individual e (c) coancestria molecular entre o animal e os demais animais da mesma raça, candidatos a compor estas coleções. Este método seria utilizado como ferramenta auxiliar de manejo do Banco Brasileiro de Germoplasma Animal de forma a manter representantes fidedignos das raças que contenham a máxima diversidade genética e mínima coancestria e,
- Investigação da variabilidade haplotípica na região controle do mtDNA de raças bovinas brasileiras e reconstrução das possíveis conexões entre as raças taurinas ibéricas e as africanas bem como padrões de introgressão zebuína nas raças brasileiras naturalizadas com o objetivo de contribuir para a elucidação da origem mais provável de algumas raças brasileiras naturalizadas (Pantaneira, Curraleira, Crioula Lageano, Mocha Nacional e Caracu).

## CAPITULO I – DIVERSIDADE GENÉTICA DE 10 RAÇAS BOVINAS CRIADAS NO BRASIL POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior população comercial de bovinos do mundo com mais de 190 milhões de animais criados tanto para produção de carne como de leite (IBGE, 2003). As raças bovinas criadas atualmente no Brasil podem ser classificadas em dois grupos de acordo com sua origem: exóticas e crioulas.

O grupo das raças exóticas inclui as que foram importadas nos últimos 50 a 100 anos (zebuínas e taurinas), e compõe a maior parte da população bovina existente e que sofre um manejo intensivo. Uma seleção direcional intensa vem ocorrendo nestas populações principalmente pelo uso, através de práticas como a inseminação artificial e a transferência de embriões de um número limitado de animais considerados “elite”. Apesar do número elevado de animais, algumas das raças mais proeminentes como a Nelore, Gir e seus mestiços taurinos, estão com seu tamanho populacional efetivo sendo drasticamente reduzido, embora não existam ainda estimativas confiáveis a este respeito. Há alguns anos atrás, Georges & Andersson (1996) estimaram que o tamanho efetivo da população da raça Holandesa nos Estados Unidos era próxima de 1.000 em uma população de 10 milhões de cabeças. Logo, é coerente se pensar que com o aumento da acessibilidade a práticas de reprodução assistidas, um quadro semelhante está sendo produzido para todas as raças brasileiras que sofrem um manejo intensivo.

Assim como na maioria dos países europeus e nos Estados Unidos, o rápido crescimento de raças comercialmente proeminentes ocorreu à custa de um segundo grupo de raças locais adaptadas e geneticamente heterogêneas. A população de raças crioulas, também denominadas nativas, locais ou naturalizadas, inclui as populações derivadas dos primeiros bovinos introduzidos pelos colonizadores europeus por volta de 1500. O termo “nativa”, embora seja comumente utilizado, não é legítimo, uma vez que não existem evidências da ocorrência da espécie bovina, efetivamente nativa, na América do Sul. A história da introdução das raças bovinas nas Américas está relacionada com o descobrimento e o avanço dos colonizadores europeus em nosso continente (Mariante & Cavalcante, 2000).

Evidências antropológicas e paleontológicas indicam que o primeiro bovino foi introduzido nas Américas pelos espanhóis em 1493, tendo sido trazido para a Ilha Espanhola,

onde atualmente localizam-se o Haiti e a República Dominicana (Primo, 1992; Mariante *et al.*, 1999).

Enquanto todos os outros países da América do Sul receberam apenas animais oriundos da Espanha, devido à sua colonização peculiar, o Brasil foi o único a receber animais de raças Portuguesas (Mazza *et al.*, 1994). No Brasil, os primeiros bovinos desembarcaram na região Sudeste pelo Porto de São Vicente, em 1534 (Lima *et al.*, 1990) seguido por outras entradas na região Nordeste, nos Estados hoje denominados de Pernambuco e Bahia, em 1550 (Primo, 1992; Mariante & Cavalcante, 2000). Os animais que chegaram a São Vicente, provavelmente do Arquipélago de Cabo Verde (Primo, 1992), irradiaram-se para o Sul, o Centro-Oeste e para a região Nordeste (Ceará e Piauí). Os que chegaram a Pernambuco e na Bahia se espalharam pelo Nordeste e para a região central do País e, eventualmente, indivíduos de ambas populações podem ter se encontrado.

Três núcleos distintos podem ser então identificados – São Vicente, ao Sul; Salvador, ao Centro e Recife, ao Norte – responsáveis pela importação de bovinos de origem portuguesa que se reproduziam livremente sem nenhuma pressão seletiva significativa imposta pelo homem (Mariante & Cavalcanti, 2000). A ação da seleção natural nos diferentes habitats do Brasil, juntamente com efeitos recorrentes de miscigenação racial, levou ao desenvolvimento das raças crioulas adaptadas em uma variedade de nichos ecológicos com níveis relevantes de variabilidade fenotípica e condicionamento às condições locais.

Na região Nordeste, surgiu o Curraleiro que se espalhou também para os Estados centrais de Minas Gerais e Goiás. Na região Sudeste, o Junqueira e o Franqueiro se desenvolveram junto com o Caracu e o Mocho Nacional, enquanto na região Sul apareceu o Crioulo Lageano e, no Pantanal desenvolveu-se a raça Pantaneira.

No contexto do plano de Desenvolvimento Nacional para os Recursos Genéticos Animais de Fazenda (Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resource Plans – <http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/marker.pdf>), a FAO propôs um programa integrado para a manutenção global dos recursos genéticos bovinos utilizando um conjunto de marcadores microssatélites como referência. Estudos das relações genéticas entre raças bovinas, utilizando uma ferramenta comum, não apenas forneceriam uma informação útil e comparável a respeito da evolução das raças até o presente momento, mas também dados para o desenvolvimento de planos de conservação assistidos por marcadores cientificamente embasados (Barker, 1994; Consortium, 2006).

Nos últimos anos, a caracterização de raças bovinas do mundo têm sido objeto de diversos estudos (MacHugh *et al.*, 1994; MacHugh, 1996; Moazami-Goudarzi *et al.*, 1997;

MacHugh *et al.*, 1998; Loftus *et al.*, 1999; Hanotte *et al.*, 2000; Kantanen *et al.*, 2000; Canon *et al.*, 2001; Beja-Pereira *et al.*, 2003; Freeman *et al.*, 2004; Mateus *et al.*, 2004a; Rendo *et al.*, 2004; Wiener *et al.*, 2004; Liron *et al.*, 2006). Estes trabalhos, de maneira geral, utilizam cada vez mais um conjunto comum de microssatélites visando à realização de estudos comparativos da diversidade e da relação genética entre as diferentes raças existentes no mundo para a consolidação de uma base de dados ampla com aplicações para a conservação, entendimento da evolução e uso em programas de seleção (Consortium, 2006; Freeman *et al.*, 2006).

Recentemente, as raças bovinas crioulas tem sido alvo de interesse crescente uma vez que representam um repositório valioso de complexos gênicos localmente adaptados que se desenvolveu através da combinação da seleção natural a estresses bióticos e abióticos extremos e variáveis, com moderada, se alguma, pressão seletiva direcional, deriva genética e padrões locais de fluxo gênico entre as raças (Notter, 1999; Mariante & Egito, 2002). De acordo com as estimativas da FAO (2000), 30% das raças de animais domésticos, estão em risco de extinção. Este fenômeno é ampliado pela pressão seletiva exercida em raças intensivamente melhoradas, comercialmente viáveis em curto espaço de tempo (raças precoces), que tende a homogeneizar as populações trabalhadas. Como foi citado em outros estudos com raças crioulas da América do Sul (Brenneman *et al.*, 2001; Giovambattista *et al.*, 2001; Liron *et al.*, 2006) várias destas raças localmente adaptadas estão em sério risco de extinção ou até mesmo extintas.

A conservação efetiva destas raças depende muito do conhecimento a respeito dos aspectos históricos e da relação genética existente entre as mesmas, assim como dos fatores econômicos e culturais que modelam o seu uso atual e potencial. Embora o conhecimento a respeito da história das raças naturalizadas brasileiras esteja bem documentado (Torres, 1958; Domingues, 1968; Santiago, 1975; 1985; Primo, 1992; Mariante & Cavalcante, 2000) muito pouco se sabe a respeito de sua composição genética. Alguns estudos realizados nas regiões hipervariáveis do DNA mitocondrial (mtDNA) demonstraram, como esperado, que haplótipos africanos e europeus estão presentes nas raças locais Americanas, fato este consistente com os relatos históricos (Cymbron *et al.*, 1999; Miretti *et al.*, 2002). Alguns poucos trabalhos descrevem estudos baseados em polimorfismos utilizando marcadores do tipo RAPD, os quais não permitem a análise comparativa entre pesquisas independentes (Spritze *et al.*, 2003; Serrano *et al.*, 2004). Um estudo mais sistemático, baseado na “linguagem comum” dos microssatélites, é necessário para o entendimento da diversidade genética das raças bovinas brasileiras, com sua origem histórica peculiar e o presente estado de perigo.

O objetivo deste estudo foi acessar os níveis de diversidade genética, a relação filogenética, os padrões de introgressão taurina/zebuína e a miscigenação entre dez raças

criadas no Brasil. A diversidade foi mensurada a partir de um conjunto de 22 microssatélites internacionalmente recomendados, pela FAO e pelo ISAG. Foram utilizados neste estudo 915 animais pertencentes a cinco raças crioulas (Pantaneiro, Curraleiro, Crioulo Lageano, Mocho Nacional e Caracu), duas raças taurinas européias especializadas (Holandês e Jersey) e as três raças zebuínas de maior efetivo populacional no Brasil (Nelore, Gir e Guzerá).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Animais

Foram analisados 915 indivíduos pertencentes a 10 raças bovinas criadas no Brasil as quais podem ser distribuídas em três grupos: (a) raças taurinas naturalizadas ou crioulas (Caracu; Crioulo Lageano; Curraleiro; Mocho Nacional e Pantaneiro); (b) raças taurinas especializadas (Holandês e Jersey) e (c) raças zebuínas (Gir; Guzerá e Nelore) (Tabela 1).

As raças taurinas naturalizadas, excetuando-se a raça Caracu, fazem parte da programação de pesquisa de Recursos Genéticos Animais (RGA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e se encontram ameaçadas de extinção. A raça Caracu, por ser a única raça crioula que foi objeto de programas de seleção direcionais, possui um livro de registros mais antigo, o qual recentemente passou a incluir a raça Mocha Nacional, registrando seus animais como Caracu variedade mocha. Para as raças que possuíam informação de pedigree viável, foram selecionados indivíduos não aparentados por pelo menos três gerações.

Tabela 1. Números de rebanhos e de machos e fêmeas de cada uma das raças estudadas.

Raça	Subspecie	Código	Número de rebanhos	Número de machos	Número de fêmeas	Total
Caracu	<i>Bos taurus</i>	CAR	8	28	49	77
Crioulo Lageano	<i>Bos taurus</i>	CRL	1	17	83	100
Curraleiro	<i>Bos taurus</i>	CUR	7	43	56	99
Mocho Nacional	<i>Bos taurus</i>	MON	4	27	70	97
Pantaneiro	<i>Bos taurus</i>	PAN	2	32	64	96
Holandês	<i>Bos taurus</i>	HOL	5	25	75	100
Jersey	<i>Bos taurus</i>	JER	7	12	42	54
Gir	<i>Bos indicus</i>	GYR	6	22	76	98
Guzerá	<i>Bos indicus</i>	GUZ	5	24	76	100
Nelore	<i>Bos indicus</i>	NEL	7	42	52	94

Com o intuito de se obter uma amostra representativa de cada raça, de acordo com a sua ocorrência, foram utilizados animais provenientes de diferentes rebanhos e regiões. Além disto, nas raças comerciais, foram incluídas amostras de sêmen adquiridas em centrais de inseminação artificial. As informações referentes ao número de rebanhos amostrados por raça, número de indivíduos por rebanho e raça e também a procedência das populações investigadas encontram-se nos anexos.

O DNA genômico total foi extraído utilizando um procedimento inorgânico com altas concentrações salinas (Miller *et al.*, 1988).

## 2.1. Locos microssatélites tipados

Vinte e dois microssatélites foram amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em cinco sistemas multiplexes diferentes onde o *primer forward* de cada microssatélite foi marcado com os fluorocromos 6-FAM, HEX ou NED de acordo com o tamanho esperado dos alelos. A maioria dos locos microssatélites está sendo comumente utilizada por outros grupos ao redor do mundo tornando possíveis as futuras comparações ou a consolidação de bancos de dados. Os sistemas multiplex utilizados foram: (a) 7-plex compostos pelos marcadores INRA35, INRA57, HEL9, HEL5, INRA63, ILSTS5, ETH152 (temperatura de anelamento  $T_a = 56^\circ \text{C}$ ); (b) 2-plex com os marcadores CSSM9, CSSM33 ( $T_a = 72^\circ \text{C} - 60^\circ \text{C}$ , programa *touchdown*); (c) 2-plex com os marcadores HEL1, INRA5 ( $T_a = 56^\circ \text{C}$ ); (d) 5-plex com os locos BM2113, ETH10, SPS115, TGLA122, ETH225 ( $T_a = 61^\circ \text{C}$ ) e (e) 5-plex com os locos TGLA227, TGLA53, INRA23, ETH3, BM1824 ( $T_a = 61^\circ \text{C}$ ). O microssatélite CSSM66 foi amplificado sozinho ( $T_a = 61^\circ \text{C}$ ) e o produto da PCR foi misturado com os produtos obtidos para os locos HEL1 e INRA5 antes da eletroforese. Somente os locos CSSM9 (Kappes *et al.*, 1997) e CSSM33 (Moore *et al.*, 1994) não estão incluídos na lista recomendada pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) e/ou ISAG (*International Society of Animal Genetics*) para o estudo de diversidade da espécie bovina no programa MoDAD. As referências e as seqüências dos primers dos microssatélites utilizados encontram-se na tabela 2.

A amplificação dos fragmentos foi realizada em um volume final de 20 $\mu\text{l}$  contendo de 1,0 a 1,5mM de  $\text{MgCl}_2$ , 200 $\mu\text{M}$  de cada dNTP, 10-25ng de DNA e 1UI de Taq DNA polimerase. A quantidade dos dois *primers* utilizados (marcado com fluorescência e não marcado) variou de acordo com o loco analisado (tabela 3). Os produtos amplificados foram eletroinjetados em um seqüenciador automático de DNA (ABI PRISM 3100, Applied Biosystems) e o filtro virtual D foi utilizado para a leitura das fluorescências. Um padrão interno marcado com Rox (Brondani &

Grattapaglia, 2001) foi utilizado para prever o tamanho dos alelos. Os programas GeneScan 2.0 e Genotyper 2.1 (Applied Biosystems) foram utilizados para a genotipagem dos alelos observados.

Genótipos de oito locos recomendados pelo ISAG (BM2113, ETH10, SPS115, TGLA122, ETH225, TGLA227, INRA23, BM1824) foram calibrados utilizando amostras referência genotipadas no teste de comparação do ISAG de 2005-2006 (D. Grattapaglia, comunicação pessoal). O programa AlleloBin foi utilizado para classificar o tamanho dos microssatélites observados em alelos discretos representativos utilizando o algoritmo de minimização de quadrados mínimos de Idury & Cardon (1997). Além disto, diversas amostras foram genotipadas em corridas eletroforéticas distintas, sendo utilizadas como controle visando minimizar, desta forma, os erros de genotipagem.

### 2.3. Análises estatísticas

A frequência alélica foi estimada por contagem direta. Parâmetros de diversidade dos locos e desempenho forense em testes de paternidade foram estimados para todos os microssatélites em todas as raças utilizando o programa CERVUS (Marshall *et al.*, 1998) incluindo: heterozigidade esperada ( $H_e$ ) e observada ( $H_o$ ), o conteúdo de informação polimórfica (PIC) e a probabilidade de exclusão média (na ausência – PE1 – ou na presença – PE2 – de informações genéticas do segundo parental). As estatísticas  $F$  de Wright para cada loco foram calculadas utilizando a metodologia de Weir & Cockerman (1984) utilizando o programa FSTAT (Goudet, 2002). Um teste de significância para as estimativas obtidas de  $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$  e  $F_{ST}$ , para cada microssatélite, foi obtido pela construção de intervalos de confiança de 95% e 99% baseados nos desvios padrões estimados pela metodologia de *jackknife* entre as populações utilizando o FSTAT. Esta análise foi realizada para o conjunto de todas as raças, assim como para os subgrupos taurinos e zebuínos.

Utilizando o programa GENEPOP foi realizado um teste exato (Rousset & Raymond, 1995) para determinar os desvios no Equilíbrio de Hardy–Weinberg (EHW) e a deficiência de heterozigotos. O método de cadeia de Markov (Guo & Thompson, 1992) foi utilizado para obter uma estimativa não enviesada pelo teste exato de P.

Tabela 2. Locos microssatélites analisados, sua localização cromossômica, o par de *primers* utilizado para sua amplificação e sua referência.

loco	CROM.	PRIMER (5' - 3')	Referência
INRA 035 (D16S11)	16	ATC CTT TGC AGC CTC CAC ATT G TTG TGC TTT ATG ACA CTA TCC G	Vaiman <i>et al.</i> , 1992
INRA 037 (D10S)	10	GAT CCT GCT TAT ATT TAA CCA C AAA ATT CCA TGG AGA GAG AAA C	Vaiman <i>et al.</i> , 1994
HEL 9 (D8S4)	8	CCC ATT CAG TCT TCA GAG GT CAC ATC CAT GTT CTC ACC AC	Kaukinen & Varvio, 1993
HEL 5 (D21S15)	21	GCA GGA TCA CTT GTT AGG GA AGA CGT TAG TGT ACA TTA AC	Kaukinen & Varvio, 1993
INRA 063 (D18S5)	18	ATT TGC ACA AGC TAA ATC TAA CC AAA CCA CAG AAA TGC TTG GAA G	Vaiman <i>et al.</i> , 1994
ILSTS 05 (D10S25)	10	GGA AGC AAT GAA ATC TAT AGC C TGT TCT GTG AGT TTG TAA GC	Brezinsky <i>et al.</i> , 1993
ETH 152 (D5S1)	5	TAC TCG TAG GGC AGG CTG CCT G GAG ACC TCA GGG TTG GTG ATC AG	Steffen <i>et al.</i> , 1993
HEL 1 (D15S10)	15	CAA CAG CTA TTT AAC AAG GA AGG CTA CAG TCC ATG GGA TT	Kaukinen & Varvio, 1993
INRA 005 (D12S4)	12	CAA TCT GCA TGA AGT ATA AAT AT CTT CAG GCA TAC CCT ACA CC	Vaiman <i>et al.</i> , 1992
CSSM 66 (D14S31)	14	ACA CAA ATC CTT TCT GCC AGC TGA ATT TTA ATG CAC TGA GGA GCT TGG	Barendse <i>et al.</i> , 1994
CSSM09 (D2S22)	2	TTG GCA AGT CCA GAA TCT TTA GGG GGC TAC CTG AGT GAA GCA ACT TAG	Kappes <i>et al.</i> , 1997
CSSM033 (D17S3)	17	CAC TGT GAA TGC ATG TGT GTG AGC CCC ATG ATA AGA GTG CAG ATG ACT	Moore <i>et al.</i> , 1994
BM2113 (D2S26)	2	GCT GCC TTC TAC CAA ATA CCC CTT CCT GAG AGA AGC AAC ACC	Bishop <i>et al.</i> , 1994
ETH10 (D5S3)	5	GTT CAG GAC TGG CCC TGC TAA CA CCT CCA GCC CAC TTT CTC TTC TC	Toldo <i>et al.</i> , 1993
SPS115 (MNCAM1)	15	AAA GTG ACA CAA CAG CTT CTC CAG AAC GAG TGT CCT AGT TTG GCT GTG	Moore <i>et al.</i> , 1994
TGLA122 (D21S6)	21	CCC TCC TCC AGG TAA ATC AGC AAT CAC ATG GCA AAT AAG TAC ATA C	Georges & Massey, 1992
ETH225 (D9S1)	9	GAT CAC CTT GCC ACT ATT TCC T ACA TGA CAG CCA GCT GCT ACT	Steffen <i>et al.</i> , 1993
TGLA227 (D18S1)	18	CGA ATT CCA AAT CTG TTA ATT TGC T ACA GAC AGA AAC TCA ATG AAA GCA	Georges & Massey, 1992
TGLA53 (D16S3)	16	GCT TTC AGA AAT AGT TTG CAT TCA ATC TTC ACA TGA TAT TAC AGC AGA	Georges & Massey, 1992
INRA023 (D3S10)	3	GAG TAG AGC TAC AAG ATA AAC TTC TAA CTA CAG GGT GTT AGA TGA ACT C	Vaiman <i>et al.</i> , 1994
ETH3 (D1S34)	1	GAA CCT GCC TCT CCT GCA TTG G ACT CTG CCT GTG GCC AAG TAG G	Toldo <i>et al.</i> , 1993
BM1824 (D20S1)	20	GAG CAA GGT GTT TTT CCA ATC CAT TCT CCA ACT GCT TCC TTG	Bishop <i>et al.</i> , 1994

Tabela 3. Condições de amplificação e multiplexes formados a partir dos 25 locos microssatélites analisados.

Loco	Fluorescência	Multiplex	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Anelamento (°C)	[ ] primer por reação (µM)
INRA 035	FAM	A	1,5	56	0,25
INRA 037	HEX	A	1,5	56	0,25
HEL 9	FAM	A	1,5	56	0,25
HEL 5	NED	A	1,5	56	0,25
INRA 063	FAM	A	1,5	56	0,25
ILSTS 05	HEX	A	1,5	56	0,25
ETH 152	NED	A	1,5	56	0,25
HEL 1	NED	B	1,0	56	0,40
INRA 005	HEX	B	1,0	56	0,25
CSSM 66*	FAM	B	1,5	60	0,25
CSSM09	FAM	C	1,5	TD**	0,25
CSSM33	FAM	C	1,5	TD**	0,25
BM2113	FAM	D	1,5	61	0,15
ETH10	FAM	D	1,5	61	0,10
SPS115	FAM	D	1,5	61	0,15
TGLA122	HEX	D	1,5	61	0,15
ETH225	NED	D	1,5	61	0,15
TGLA227	FAM	E	1,5	61	0,25
TGLA53	FAM	E	1,5	61	0,30
INRA023	HEX	E	1,5	61	0,25
ETH3	NED	E	1,5	61	0,20
BM1824	NED	E	1,5	61	0,25

\*o primer CSSM66 era amplificado sozinho e aplicado no seqüenciador junto com o multiplex B

\*\* TD – programa *touchdown*, com 13 ciclos de 72° C descendo 1° C por ciclo até 60° C.

Estimativas de variabilidade genética para cada raça (He, Ho com seus desvios padrões) foram calculadas utilizando a ferramenta Microsatellite do Excel (Park, 2001). O programa FSTAT foi utilizado para calcular a riqueza alélica (AR) padronizada para variações no tamanho amostral. A diferenciação racial foi estimada pelas estatísticas F de Wright ( $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$  e  $F_{ST}$ ) e o valor P indicativo foi ajustado pelo procedimento de Bonferroni utilizando o mesmo pacote estatístico. Utilizando as informações raciais, diferentes grupos foram formados tendo por base sua subespécie (taurina ou zebuína) e a sua origem (raça crioula ou especializada). Com estas definições, uma análise hierárquica de variância foi realizada pelo método de análise da variância molecular (AMOVA) implementado no pacote ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2000).

A distância genética entre as raças foi estimada pela distância de Cavalli-Sforza modificada ( $D_A$  de Nei *et al.*, 1983) utilizando o programa DISPAN (Ota, 1993). Este estimador é recomendado para análise de populações altamente relacionadas onde se espera que a deriva genética seja a causa primária da diferenciação genética. A distância de Reynold's ( $F_{ST}$ ) foi

calculada utilizando-se o FSTAT. A probabilidade log da estatística G (Goudet, 2002) foi usada para estimar os valores P e uma significância aos pares foi estabelecida após a correção padrão de Bonferroni (Goudet, 2002). O  $R_{ST}$ , uma estimativa para a diferenciação gênica que leva em conta a variância nos tamanhos alélicos e estabelecida para marcadores genéticos, como os microssatélites, que estão sob o processo recorrente de mutação (*step-wise mutation model*), também foi estimada pelo programa MICROSAT (Minch *et al.*, 1998). A correlação produto-momento ( $r$ ) e os testes estatísticos de Mantel foram realizados para a comparação aos pares das matrizes de distância. Os dendrogramas foram gerados a partir da distância genética  $D_A$  pelos algoritmos de agrupamento *Neighbor-Joining* (NJ) e UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) sendo construídos utilizando-se o programa DISPAN (Ota, 1993). Adicionalmente, um gráfico baseado no método de aglomeração *Neighbor-Net* (Bryant & Moulton, 2004) foi construído baseado na distância  $D_A$  com o programa SplitsTree4 (<http://www-ab.informatik.uniuebingen.de/software/splitstree4/welcome.html>).

As distâncias genéticas aos pares entre todos os indivíduos foram estimadas pelo logaritmo de proporção de compartilhamento dos alelos (Dps) (Bowcock *et al.*, 1994) utilizando o programa MICROSAT (Minch *et al.*, 1998). O método de agrupamento de NJ (Saitou & Nei, 1987) foi utilizado para construir uma árvore baseada na matriz de distância genética utilizando o pacote computacional PHYLLIP (Felsenstein, 1993-2002), sendo o resultado gráfico obtido pelo programa TreeExplorer ([http://evolgen.-biol.metro-u.ac.jp/TE/TE\\_man.html](http://evolgen.-biol.metro-u.ac.jp/TE/TE_man.html)).

Baseado nos genótipos dos 22 locos microssatélites, os indivíduos foram agrupados em um determinado número de populações e assinalados probabilisticamente a grupos inferidos pela metodologia Bayesiana implementada no programa STRUCUTRE (Pritchard *et al.*, 2000). Os testes foram realizados com base no modelo de miscigenação (*admixture model*) onde as frequências alélicas foram correlacionadas. Para escolher o número apropriado de populações inferidas, foram realizadas várias análises com  $k$  (número de populações inferidas) variando de 2 a 15 e 500.000 interações (período "*burn-in*" de 50.000), com 3 repetições independentes para cada uma das análises. Os valores reais de  $K$  foram obtidos a partir da magnitude de  $\Delta K$  dada em função de  $K$  seguindo o proposto por Evanno *et al.* (2005). Os resultados gráficos foram obtidos pelo programa DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Marcadores microssatélites

Um total de 915 animais representando dez raças brasileiras foi analisado (Tabela 1). Todos os locos genotipados foram altamente polimórficos para todas as raças. Observou-se um total de 278 alelos para todos os locos analisados. Nos anexos encontram-se as tabelas com, as estimativas de frequência observadas para cada microssatélite dentro de cada raça. Os dados serão submetidos à Cattle Diversity Database (<http://www.databases.roslin.ac.uk/cadbase>).

O número médio de alelos por loco foi de 13,2 (variando de 8 para o INRA63 a 23 para o TGLA122). A tabela 4 resume as estatísticas descritivas específicas para cada loco e os parâmetros de exclusão de paternidade para os 22 microssatélites estudados. Os dados apresentados levam em conta a população como um todo (10 raças estudadas) e grupos formados apenas com as raças zebuínas e com as taurinas.

As heterozigosidades esperadas para cada loco, em ambas as subespécies e para as dez raças em conjunto, foram nominalmente maiores que as heterozigosidades observadas, exceto para o loco ETH3 no grupo zebuino, mas o excesso de heterozigotos não foi estatisticamente significativo.

Apenas os locos INRA63 e HEL1 estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) nas raças taurinas enquanto que nas raças zebuínas os locos INRA35, INRA37, CSSM66, SPS115, TGLA227, INRA23, ETH3 e BM1824 estavam em equilíbrio. Todos os outros locos apresentaram desvios no EHW. Quando todas as raças foram analisadas em conjunto todos os locos apresentaram desvios no EHW.

O coeficiente médio de consangüinidade demonstrou que ambas as subespécies e o grupo consolidado apresentam uma redução significativa de heterozigosidade, devido à endogamia intrapopulacional ( $F_{IS}$ ) e à diferenciação racial, estimada pelo modelo infinitesimal ( $F_{ST}$ ) e pelo modelo de "step-wise mutation" ( $R_{ST}$ ). A maior estimativa de endogamia observada foi dentro da subespécie zebuína (0,113) quando comparada com a taurina (0,074), embora o número amostral maior no grupo taurino possa ter ocasionado, em parte, esta diferença. Entretanto, quando uma análise foi realizada com um número amostral de igual tamanho (292 animais por subespécie) os resultados foram semelhantes.

A contribuição de cada marcador microssatélite para a diferenciação racial foi estimada pela significância dos valores estatísticos de  $F_{ST}$ . O número de locos que contribuiu para a diferenciação entre as raças variou entre as duas subespécies sendo o número de marcadores para grupo taurino superior quando comparado com o zebuino. Entre as raças taurinas apenas os locos ILSTS5 e HEL5

não contribuíram para a diferenciação racial. Todos os demais locos apresentaram valores de  $F_{ST}$  altamente significativos, com os locos INRA63, INRA5, CSSM33, ETH10 E TGLA227 sendo os cinco que apresentaram os maiores valores nominais, sendo o INRA5 o de maior valor (0,102) (Tabela 4). No grupo zebuíno, por outro lado, somente oito marcadores contribuíram para a diferenciação racial com valores de  $F_{ST}$  significativos. Estes foram INRA35, INRA37, ILSTS5, INRA5, CSSM66, CSSM33, CSSM9 E ETH152, sendo o INRA5 o de maior valor (0,054). Embora o  $F_{ST}$  de maior valor para esta subespécie tenha sido estimado para o loco ETH10, surpreendentemente, este não foi estatisticamente significativo pela reamostragem realizada pelo método de *Jackknife*.

Valores estimados de diferenciação racial devido à deriva genética sob o modelo de “*step-wise mutation*” ( $R_{ST}$ ) foram em geral mais elevados que os valores absolutos observados para as estimativas de  $F_{ST}$ . Os valores médios de  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  foram similares nos grupos taurino e zebuíno, entretanto o  $R_{ST}$  foi muito maior que o  $F_{ST}$  quando as raças foram analisadas em conjunto. O déficit global de heterozigosidade para todas as raças foi de 0,107 e a diferenciação global das raças foi estimada em 0,098 para o  $F_{ST}$  e 0,1861 para o  $R_{ST}$ . A maior parte desta diferenciação é provavelmente devida à diferença existente entre as duas subespécies, mesmo assim a variação genética entre raças dentro de cada subespécie também foi significativa.

Níveis variáveis de conteúdo de informação polimórfica (PIC) e, as probabilidades de exclusão de paternidade resultantes, variaram amplamente entre locos. Observou-se uma tendência geral esperada de um poder mais alto de exclusão de paternidade refletindo àqueles que apresentaram um número maior de alelos, embora esta relação não seja linear. Um número de alelos, consistente e similar, foi observado dentro de cada subespécie para todos os microssatélites, resultando em estimativas muito próximas de poder de exclusão de paternidade destes marcadores. Isto sugere que, embora existam diferenças de frequência alélicas em alguns locos, entre as duas subespécies estas não são grandes o suficiente para causar diferenças maiores na resolução destes marcadores com o propósito de investigação de paternidade. Algumas exceções, porém, puderam ser observadas: o marcador ETH152 apresentou um PE2 de 61,6% nas raças taurinas e de 23,6% nas raças zebuínas; o ETH225 teve um PE2 de 70,9% em taurino e 47,7% em zebuínos e o TGLA227 com PE2 de 74,0% nos taurinos e 24,1% nos zebuínos. Estes dois últimos marcadores pertencem conjunto recomendado pelo ISAG para testes rotineiros de paternidade em bovinos. Reciprocamente, só dois locos, o INRA35 e o ILSTS05, exibiram um PE notadamente maior nas raças zebuínas do que nas raças taurinas. Estas diferenças no poder de exclusão, nas duas subespécies, poderiam ser em parte devidas aos tamanhos amostrais diferentes entre ambas. Para contornar este efeito, um subconjunto de 292 amostras taurinas composto de todas as raças deste grupo foi analisado e o poder de exclusão de paternidade

recalculado. Embora os valores calculados tenham variado ligeiramente, não foi observada nenhuma diferença significativa em relação às estimativas iniciais (Tabela 4).

### 3.2. Diversidade genética dentro das raças

Os índices de diversidade estimados para cada raça demonstraram um número médio de alelos extraordinariamente semelhante flutuando ao redor de 8,5 (Tabela 5). As raças crioulas CRL e PAN apresentaram uma maior diversidade com as maiores médias de riqueza alélica (acima de 9,0). A raça CAR teve um pouco menos de 8 alelos por locos sendo a raça que apresentou a menor riqueza alélica. Entre as raças zebuínas (NEL, GYR, GUZ) o número de alelos médio foi bastante similar, ao redor 8,7; enquanto as duas raças taurinas especializadas apresentaram uma menor diversidade com um número médio de alelos menor, ligeiramente acima de 8,0. Embora a raça JER tivesse um tamanho amostral menor que as outras raças, esta diferença não gerou uma redução importante no número de alelos médio quando uma reamostragem equalizada de 50 animais por raça foi analisada.

A heterozigosidade média observada e esperada variou, respectivamente, de 0,6316 a 0,7409 e de 0,7151 a 0,7839. Em todas as raças os valores de heterozigosidade observada foram nominalmente menores que os da heterozigosidade esperada. Quarenta e três dos 220 marcadores testados por raça no teste do EHW foram significativos, bem acima dos 5% esperados. Em todas as raças pelo menos um marcador microssatélite desviou das expectativas do EHW. A MON foi a raça onde as heterozigosidades observada e esperada foram mais próximas e onde o único desvio observado é menor que o número esperado ao acaso (5% de  $22 = 1,1$ ). Em todas as outras raças, o número de locos que apresentaram desvios no EHW não pode ser considerado como uma ocorrência do acaso. Nas três raças zebuínas vários locos estavam em desequilíbrio de Hardy-Weinberg. No grupo taurino, ambas as raças comerciais, HOL e JER, mas também as raças crioulas PAN e CUR exibiram um número similar de locos que desviaram significativamente do EHW. Valores mais altos de  $F_{IS}$  foram observados para a raça JER seguida de perto pelas três raças zebuínas GYR, GUZ e NEL e a raça naturalizada CUR. As proporções médias de alelos compartilhados entre animais dentro de raças foram semelhantes para todas, embora as raças PAN, MON e CRL apresentassem valores mais baixos, consistente com os valores obtidos de heterozigosidade observada para as mesmas.

### 3.3. Variabilidade genética e relação entre raças

A divisão da estrutura populacional em diferentes níveis hierárquicos, para verificar o quanto da variação genética era devida a diferenças entre as raças ou dentro destas, demonstrou que embora

pequena a diferença observada entre as raças, em todas as estruturas testadas, é significativa ( $p < 0,001$ ) (Tabela 6). O valor mais baixo observado foi entre as cinco raças locais (4,43%) próximo ao observado quando as raças zebuínas foram analisadas separadamente (4,96%). Como esperado, a proporção da variação foi mais alta, quase 17%, quando apenas as duas raças taurinas especializadas (HOL e JER) foram comparadas com as três raças zebuínas. Quando todas as raças foram analisadas juntas observou-se quase 12% de variação entre raças.

As estimativas de diferenciação genética aos pares baseadas no modelo infinitésimo ( $F_{ST}$ ) foram todas significativas após as correções de Bonferroni ( $p < 0,01$ ), indicando que todas as raças podem ser consideradas entidades geneticamente independentes.

Como esperado, as distâncias genéticas mais altas foram observadas entre as raças taurinas e zebuínas, como entre JER e NEL (0,3820) (Tabela 7). As menores distâncias foram observadas entre as três raças de zebuínas. Entre as raças naturalizadas as menores distâncias foram observadas entre PAN e CUR (0,0841). A raça CAR é geneticamente mais próxima da MON (0,099) que por sua vez está mais próxima da CRL (0,0861). Quando comparada às demais raças locais, as raças CRL e PAN foram as mais próximas da raça zebuína NEL, o que sugere uma introgressão de genes zebuínos mais alta nestas duas raças (0,2101 e 0,2320 respectivamente).

A reconstrução filogenética pelo método de agrupamento UPGMA baseado na matriz de distância genética  $D_A$  produziu um dendrograma com valores de *bootstrap* superiores e mais consistente com a informação histórica e morfológica das raças do que a gerada pelo método de *Neighbor Joining* (Figura 1a). A topologia da árvore foi confirmada pelos valores de *bootstrap* relativamente altos. As raças taurinas e zebuínas, como esperado, agruparam-se em *clusters* distintos. Dentro do agrupamento taurino, as naturalizadas formaram um *cluster* separado das raças especializadas, quatro raças crioulas, CRL, CUR, PAN e MON, formaram um agrupamento de maior proximidade enquanto a raça CAR distanciou-se das demais. No *cluster* das raças zebuínas houve a formação de um agrupamento das raças GYR e GUZ enquanto a raça NEL ficou separada das demais. A análise realizada pela metodologia de *Neighbor-Net* confirmou os resultados observados, fornecendo uma melhor visualização da posição intermediária das raças crioulas entre as raças taurinas especializadas e as zebuínas, demonstrando a maior proximidade das raças PAN e CRL com o grupo zebuínio quando comparadas com as demais raças crioulas (Figura 1b). Nos anexos encontra-se uma figura semelhante à figura 1, onde um grupo composto por 12 animais de três raças portuguesas foi incluído como *outgroup*.

Tabela 4 . Estatísticas descritivas para os 22 locos microssatélites analisados para cada subespécie estudada e para o conjunto formado pelas 10 raças bovinas: número de alelos (N), heterozigidade observada (Ho), heterozigidade esperada (He), Conteúdo de informação polimórfica (PIC), PE1 (Poder de exclusão com apenas um parental conhecido), PE2 (Poder de exclusão com dois parentais conhecidos), estatísticas de Wright ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ) e diferenciação gênica sob o modelo de “*step-wise mutation*” ( $R_{ST}$ ); PEC – probabilidade de exclusão média (\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ).

Loco	Raças taurinas (n = 623)										Raças zebrúinas (n = 292)										Conjunto das 10 raças bovinas (n = 915)										
	N	Ho	He	PIC	PE1	PE2	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$R_{ST}$	N	Ho	He	PIC	PE1	PE2	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$R_{ST}$	N	Ho	He	PIC	PE1	PE2	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$R_{ST}$	
INRA35	11	0,463	0,597	0,561	0,206	0,380	0,224**	0,233**	0,077**	0,102	12	0,788	0,830	0,806	0,489	0,660	0,050	0,065	0,047**	0,028	12	0,569	0,705	0,673	0,314	0,498	0,193**	0,202**	0,106**	0,119	
HEL9	13	0,790	0,888	0,877	0,629	0,773	0,110**	0,115**	0,038**	0,075	13	0,756	0,897	0,886	0,648	0,787	0,157**	0,163**	0,021	0,035	13	0,779	0,903	0,894	0,668	0,802	0,137**	0,141**	0,044**	0,056	
INRA63	8	0,643	0,680	0,622	0,259	0,422	0,055	0,066	0,083*	0,109	7	0,513	0,582	0,541	0,188	0,357	0,119*	0,126**	0,023	-0,002	8	0,602	0,732	0,683	0,315	0,486	0,177**	0,192**	0,177**	0,397	
INRA37	17	0,771	0,833	0,811	0,499	0,669	0,074**	0,084**	0,067*	0,097	14	0,781	0,822	0,797	0,476	0,649	0,049	0,056*	0,022**	0,066	17	0,774	0,843	0,825	0,524	0,690	0,082**	0,089**	0,067**	0,154	
ILSTS05	9	0,442	0,601	0,565	0,211	0,386	0,265**	0,277**	0,111	0,124	9	0,701	0,823	0,802	0,485	0,658	0,149**	0,156**	0,025**	0,019	9	0,523	0,730	0,703	0,349	0,535	0,284**	0,295**	0,156**	0,142	
HEL5	13	0,652	0,895	0,885	0,645	0,785	0,272**	0,277**	0,045	0,081	13	0,250	0,871	0,856	0,586	0,740	0,713**	0,714**	0,010	0,052	13	0,536	0,898	0,889	0,654	0,792	0,403**	0,406**	0,044**	0,136	
ETH152	10	0,739	0,796	0,771	0,437	0,616	0,071*	0,078**	0,057*	0,070	10	0,299	0,389	0,377	0,085	0,236	0,233**	0,238	0,021**	-0,002	10	0,601	0,772	0,742	0,398	0,577	0,222**	0,236**	0,187**	0,267	
INRA5	11	0,548	0,719	0,674	0,316	0,489	0,238**	0,250**	0,102**	0,173	11	0,732	0,836	0,813	0,499	0,669	0,125**	0,142**	0,054**	0,073	11	0,601	0,774	0,742	0,396	0,574	0,225**	0,233**	0,108**	0,137	
HEL1	10	0,738	0,759	0,723	0,372	0,549	0,028	0,029	0,012*	0,009	10	0,675	0,778	0,747	0,403	0,581	0,133**	0,139**	0,022	0,082	10	0,718	0,819	0,795	0,468	0,642	0,124**	0,132**	0,086**	0,045	
CSSM66	15	0,794	0,877	0,864	0,602	0,752	0,094**	0,098**	0,032**	0,028	14	0,798	0,826	0,804	0,492	0,663	0,034	0,041*	0,021**	0,048	15	0,795	0,884	0,873	0,618	0,765	0,101**	0,106**	0,055**	0,090	
CSSM33	15	0,686	0,822	0,798	0,477	0,650	0,166**	0,177**	0,089**	0,057	15	0,754	0,875	0,862	0,599	0,750	0,139**	0,151**	0,043**	0,006	15	0,707	0,864	0,849	0,572	0,729	0,181**	0,190**	0,097**	0,251	
CSSM9	20	0,782	0,858	0,844	0,564	0,723	0,088**	0,096**	0,059*	0,018	20	0,774	0,874	0,862	0,605	0,755	0,114**	0,126**	0,042**	0,131	22	0,780	0,900	0,892	0,666	0,800	0,134**	0,142**	0,092**	0,289	
BM2113	11	0,793	0,855	0,841	0,557	0,718	0,072**	0,080**	0,054**	0,068	10	0,734	0,841	0,819	0,509	0,678	0,128**	0,140*	0,044	0,022	11	0,774	0,865	0,852	0,580	0,736	0,105**	0,111**	0,063**	0,120	
ETH10	9	0,695	0,768	0,734	0,383	0,561	0,094**	0,105**	0,080**	0,123	6	0,607	0,697	0,638	0,267	0,432	0,129**	0,196	0,230	0,054	9	0,667	0,83	0,808	0,489	0,661	0,197**	0,214**	0,208**	0,547	
SPS115	9	0,550	0,609	0,580	0,222	0,404	0,096**	0,104**	0,059*	0,107	7	0,638	0,700	0,653	0,287	0,461	0,089	0,112	0,077	0,027	9	0,578	0,663	0,639	0,277	0,467	0,128**	0,136**	0,096**	0,102	
TGLA122	23	0,817	0,927	0,921	0,740	0,851	0,119**	0,123**	0,033**	0,032	19	0,815	0,886	0,875	0,630	0,773	0,080**	0,085*	0,016	-0,002	23	0,816	0,925	0,920	0,736	0,848	0,118**	0,121**	0,038**	0,122	
ETH225	12	0,779	0,855	0,837	0,546	0,709	0,089**	0,096*	0,051*	0,015	12	0,529	0,664	0,643	0,285	0,477	0,203**	0,208**	0,020	0,015	12	0,699	0,863	0,848	0,569	0,727	0,190**	0,200**	0,124**	0,346	
TGLA227	14	0,755	0,870	0,857	0,586	0,740	0,133**	0,145**	0,090**	0,187	13	0,384	0,400	0,385	0,089	0,241	0,042	0,045	0,009	0,044	14	0,635	0,794	0,778	0,457	0,636	0,201**	0,215**	0,169**	0,370	
TGLA53	20	0,724	0,870	0,860	0,604	0,754	0,168**	0,175**	0,053*	0,044	21	0,646	0,787	0,775	0,461	0,641	0,180**	0,188**	0,027	0,003	21	0,700	0,850	0,840	0,569	0,727	0,177**	0,181**	0,048**	0,034	
INRA23	13	0,739	0,785	0,761	0,427	0,606	0,059*	0,068**	0,066**	0,027	12	0,738	0,781	0,762	0,431	0,613	0,056	0,064	0,025	-0,000	13	0,738	0,794	0,776	0,451	0,630	0,071**	0,077**	0,063**	0,018	
ETH3	11	0,705	0,787	0,765	0,432	0,612	0,105**	0,114**	0,073**	0,058	9	0,602	0,593	0,536	0,193	0,346	-0,015	0,002	0,051	0,045	11	0,672	0,770	0,739	0,395	0,573	0,127**	0,138**	0,122**	0,085	
BM1824	12	0,696	0,790	0,759	0,414	0,592	0,119**	0,125**	0,040**	0,047	12	0,693	0,710	0,664	0,305	0,479	0,024	0,031	0,021	0,015	12	0,695	0,781	0,749	0,404	0,582	0,109**	0,114**	0,052**	0,044	
Mean	13	0,6955	0,793	0,769			0,123**	0,131**	0,061**	0,0606	12,23	0,6458	0,748	0,723			0,137**	0,149**	0,040**	0,0549	13,18	0,680	0,816	0,796			0,167**	0,176**	0,098**	0,1861	
PEC				0,9999	1									0,9999	1									1	1						

Tabela 5. Resumo estatístico dos parâmetros genéticos populacionais observados para as dez raças estudadas baseado na média obtida com os 22 locos microssatélites (N – número de indivíduos; AR – riqueza alélica, i.e. média do número de alelos por locos levando-se em conta o número amostral; Ho – heterozigosidade observada; He - heterozigosidade esperada; EHW – número de locos que apresentaram desvios no equilíbrio de Hardy-Weinberg; APSA – proporção média de alelos compartilhados entre os indivíduos dentro da raça; DP - desvio padrão; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

Raça	N	AR	Ho (SD)	He (SD)	F <sub>IS</sub>	EHW***	APSA (DP)
<b>Caracu</b>	77	7,822	0,6802 (0,0115)	0,7151 (0,0310)	0,0491*	3	0,3839 (0,0780)
<b>Crioulo Lageano</b>	100	9,067	0,7102 (0,0098)	0,7625 (0,0292)	0,0682**	3	0,3244 (0,0784)
<b>Curraleiro</b>	99	8,838	0,6702 (0,0103)	0,7435 (0,0275)	0,0948**	5	0,3437 (0,0831)
<b>Mocho Nacional</b>	97	8,773	0,7409 (0,0097)	0,7763 (0,0225)	0,0454*	1	0,3213 (0,0791)
<b>Pantaneiro</b>	96	9,003	0,7229 (0,0100)	0,7839 (0,0184)	0,0775**	4	0,3051 (0,0822)
<b>Holandês</b>	100	8,175	0,6847 (0,0103)	0,7406 (0,0232)	0,0755**	6	0,3574 (0,0793)
<b>Jersey</b>	54	8,061	0,6316 (0,0146)	0,7142 (0,0314)	0,1210**	4	0,3686 (0,0918)
<b>Nelore</b>	94	8,375	0,6454 (0,0109)	0,7220 (0,0318)	0,0957**	6	0,3711 (0,0771)
<b>Gir</b>	98	8,633	0,6357 (0,0108)	0,7235 (0,0326)	0,1196**	5	0,3638 (0,0786)
<b>Guzerá</b>	100	8,751	0,6542 (0,0104)	0,7384 (0,0330)	0,1132**	6	0,3469 (0,0763)

Tabela 6. Análise de variância molecular (AMOVA) em diferentes níveis de estruturação entre e dentro das 10 raças bovinas estudadas; GL – graus de liberdade; \* $p < 0,001$ .

<b>Estrutura</b>	<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>Varição (%)</b>	<b>Índice de fixação</b>
Raças locais (crioulas)	Entre populações	4	4,43	$F_{ST} = 0,04429^*$
	Dentro das populações	933	95,57	
Todas as raças taurinas	Entre populações	6	6,20	$F_{ST} = 0,06202^*$
	Dentro das populações	1239	93,80	
Taurinas especializadas	Entre populações	1	8,31	$F_{ST} = 0,08309^*$
	Dentro das populações	306	91,69	
Raças zebuínas	Entre populações	2	4,96	$F_{ST} = 0,04959^*$
	Dentro das populações	581	95,04	
Raças zebuínas e taurinas especializadas	Entre populações	4	16,88	$F_{ST} = 0,16878^*$
	Dentro das populações	887	83,12	
Entre as dez raças	Entre populações	9	11,88	$F_{ST} = 0,11875^*$
	Dentro das populações	1820	88,12	

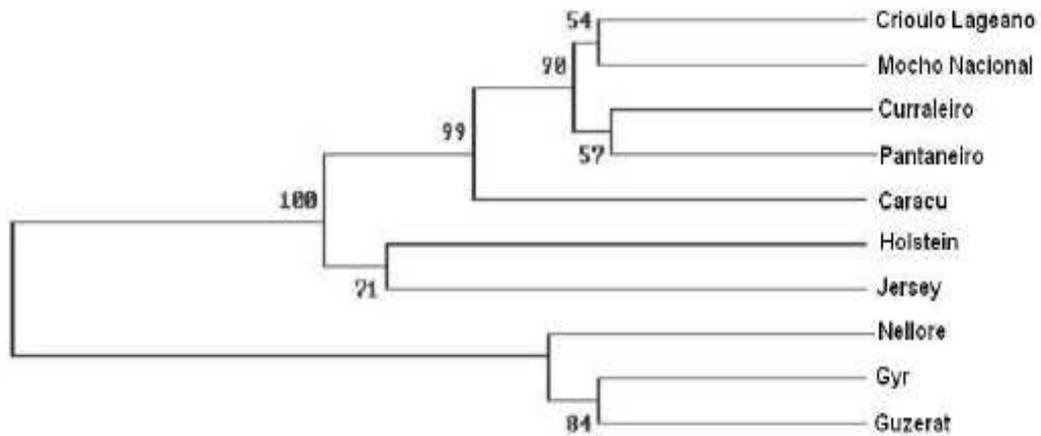
Um dendrograma individual baseado no método de *Neighbor Joining* foi construído baseado nas estimativas de distância em função do compartilhamento alélico (“*allele shared distances*”) entre todos os 915 animais estudados. O dendrograma mostrou que a maioria dos animais agrupa-se dentro de sua raça embora algumas exceções tenham sido observadas (Figura 2). As raças taurinas e zebuínas formaram claramente dois grupos distintos. Porém enquanto as raças taurinas HOL, CAR e JER formaram subgrupos quase compactos, com poucos indivíduos destas raças perdidas em outros agrupamentos, verificou-se uma alta frequência de animais das demais populações taurinas agrupando-se em outras populações que não as suas. Nas raças zebuínas este fato foi principalmente observado nas raças GIR e GUZ.

Tabela 7. Estimativa aos pares de diferenciação genética e distância genética entre todas as dez raças bovinas Brasileiras. As estimativas de  $F_{ST}$  estão acima na diagonal e abaixo encontra-se a distância genética de Nei ( $D_A$ ). Todas as estimativas de  $F_{ST}$  foram significativas ( $p < 0,01$ ).

	CAR	CRL	CUR	GIR	GUZ	HOL	JER	MON	NEL	PAN
CAR		0,084	0,068	0,178	0,193	0,105	0,118	0,047	0,185	0,062
CRL	0,153		0,045	0,103	0,117	0,075	0,103	0,034	0,120	0,042
CUR	0,124	0,099		0,141	0,157	0,079	0,095	0,041	0,157	0,036
GIR	0,326	0,180	0,220		0,033	0,190	0,210	0,125	0,051	0,106
GUZ	0,330	0,185	0,232	0,086		0,197	0,216	0,137	0,048	0,122
HOL	0,185	0,153	0,175	0,343	0,345		0,083	0,059	0,197	0,077
JER	0,209	0,191	0,194	0,368	0,377	0,156		0,076	0,215	0,081
MON	0,100	0,086	0,105	0,238	0,254	0,147	0,168		0,138	0,036
NEL	0,346	0,210	0,263	0,108	0,103	0,376	0,382	0,275		0,125
PAN	0,133	0,088	0,084	0,194	0,199	0,179	0,175	0,088	0,232	

A estrutura genética das raças estudadas foi analisada utilizando a estatística Bayesiana implementada pelo programa STRUCTURE com números crescentes de populações inferidas pelo programa. O agrupamento com  $k=2$  apresentou uma alta probabilidade e discriminou as subespécies taurina (vermelho) e zebuína (verde) indicando introgressões gênicas em ambas as direções; com  $K = 3$ , as raças taurinas crioulas de origem ibérica (azul) diferenciam-se das raças taurinas especializadas (vermelho) e zebuínas (verde) (Figura 3a). É possível notar, neste gráfico, acasalamentos direcionais das raças exóticas no genoma local. Baseado no gráfico da figura 4 é possível observar o número real de  $k$  (populações existentes no conjunto) dado em função da magnitude de  $\Delta K$ . Três possibilidades foram observadas, populações formadas pelas duas subespécies ( $k=2$ ), pelos três grandes grupos formados de acordo com suas origens (raças de origem ibérica, raças taurinas especializadas e raças zebuínas,  $k=3$ ) e finalmente  $k=10$ , correspondendo às 10 raças analisadas podendo ser visualizados padrões de miscigenação complexos em todas as raças (Figura 3a). O diagrama mostra claramente a introgressão em ambas as direções, i.e. de genes de zebuínos nas raças de crioulas locais e vice-versa. Também pode ser observado um elevado grau de miscigenação entre as raças crioulas locais que confirmam as indicações prévias do dendrograma individual.

(a)



(b)

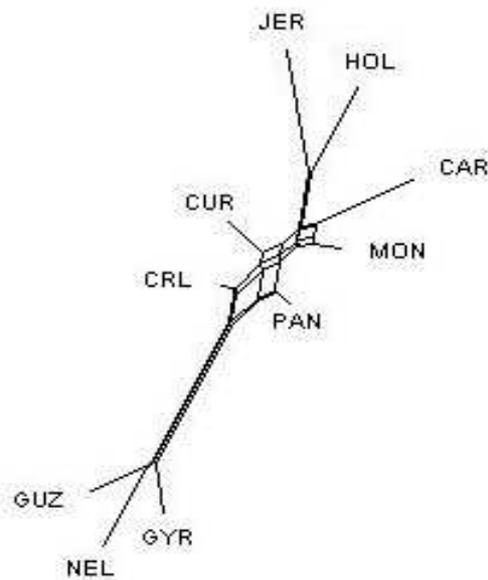


Figura 1. Relação genética entre as 10 raças bovinas brasileiras. (a) Dendrograma utilizando o método de UPGMA e (b) gráfico *Neighbor-Net* baseados nas distâncias genéticas  $D_A$  (Nei *et al.*, 1983) a partir de 22 locos microssatélites. Os números entre os nós representam os valores obtidos de *bootstrap* com 10,000 replicações.

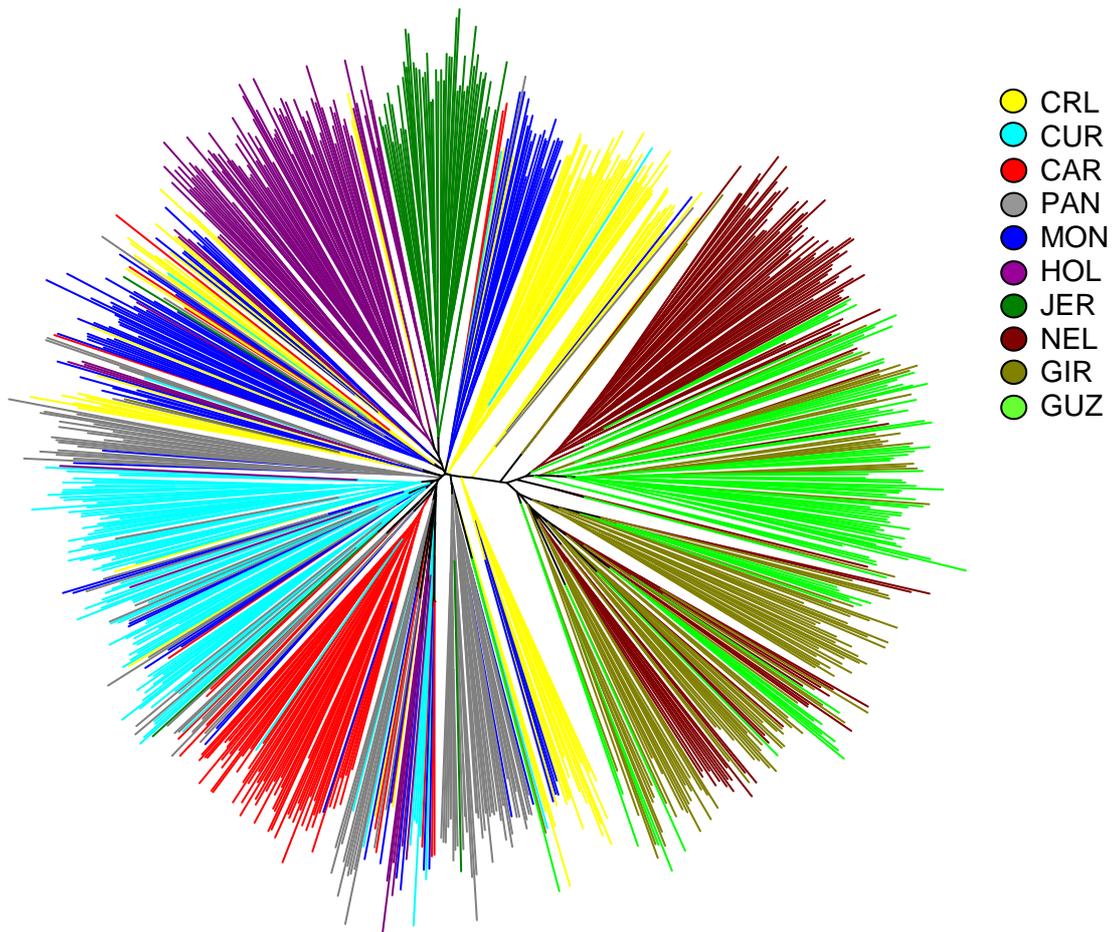


Figura 2. Dendrograma individual da relação genética entre os 915 animais estudados. O agrupamento foi realizado pelo método de *Neighbor-joining* baseado nas distâncias genéticas aos pares entre todos os indivíduos, estimadas pelo logaritmo da proporção de alelos compartilhados. Cada linha representa um único animal.

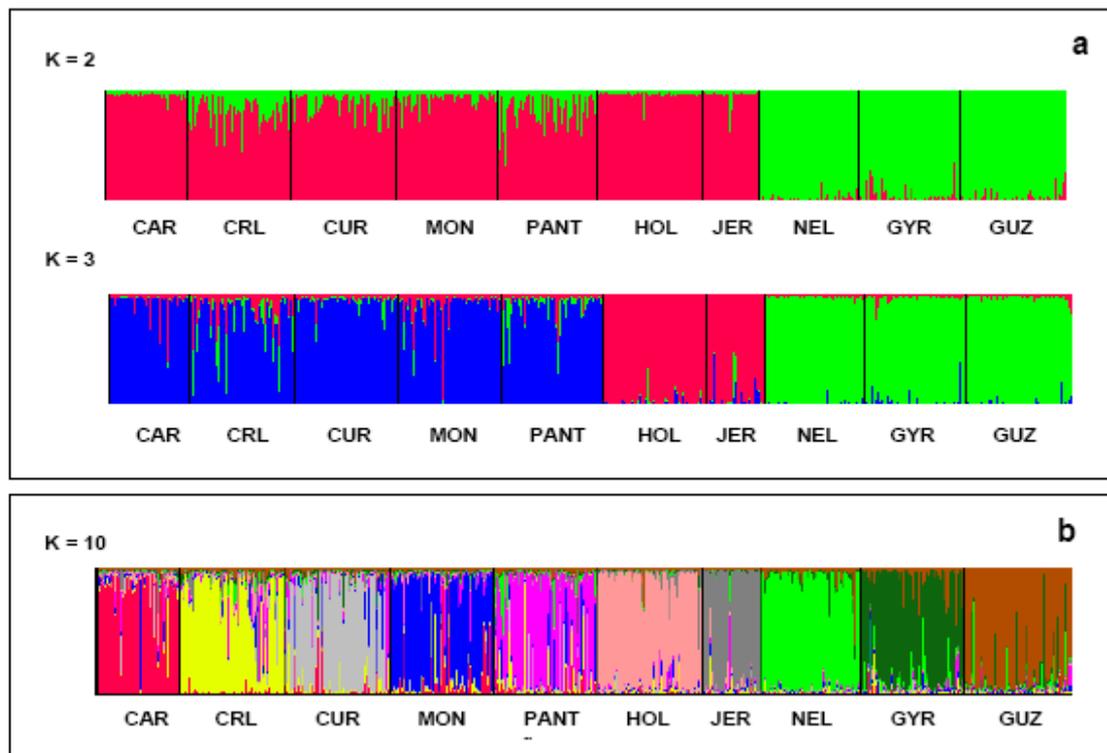


Figura 3. Agrupamento individual dos 915 indivíduos das dez raças bovinas brasileiras inferido pelo método estatístico Bayesiano utilizando-se o programa STRUCTURE. Cada um dos 915 animais é representado por uma linha vertical dividida em segmentos classificados de acordo com a cor e tamanho corresponde à proporção relativa do genoma do animal correspondendo a um agrupamento particular. As diferentes raças estão separadas pelas linhas pretas.

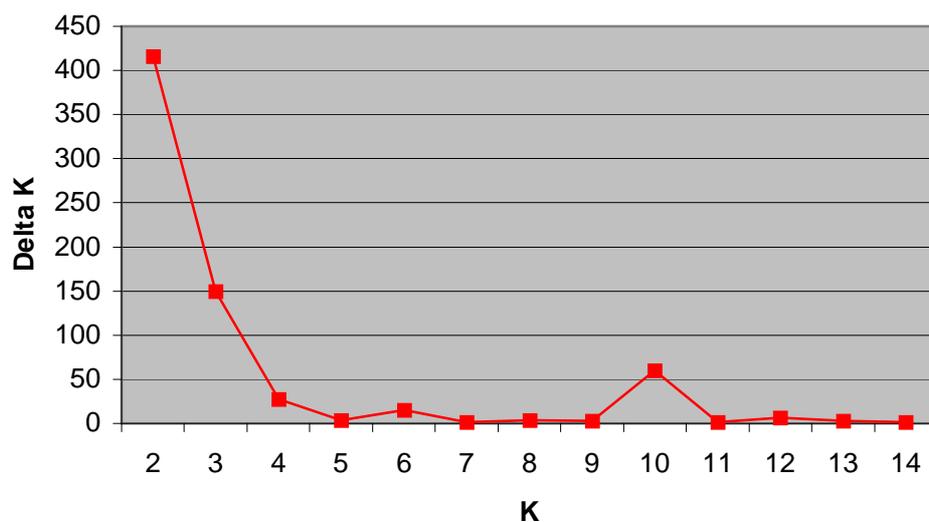


Figura 4. Magnitude de  $\Delta K$  em função de  $K$  dada pela média das 3 corridas independentes com 500.000 interações cada e período de *burn-in* de 50.000. O valor que sobressai representa o valor real de  $K$  (populações).

## 4. DISCUSSÃO

Acredita-se que este seja o relato mais vasto da estrutura genética e da diversidade das raças de gado bovino no Brasil, o País que possui a maior população de rebanhos comerciais de bovinos no mundo, e que tem uma composição peculiar entre as raças zebuínas, taurinas e seus híbridos. Os dados genotípicos obtidos demonstram que, baseado na heteroziguidade observada e na riqueza alélica, existe uma quantidade significativa de variabilidade genética nas populações de bovinos criados no Brasil tanto dentro das raças taurinas especializadas, quanto das zebuínas e das raças localmente adaptadas. As raças crioulas CRL, CUR, MON e PAN possuem uma riqueza alélica distintamente mais alta que as raças especializadas e ainda nominalmente mais alta do que as raças zebuínas (Tabela 5). Embora a introdução de bovinos nas Américas tenha sido provavelmente a mais recente da história e o tamanho efetivo da população tenha sido reduzido, a moderada pressão seletiva ao longo dos anos, somada à miscigenação ocorrida no início das criações, que permitiu a introgressão de genes taurinos e zebuínos em ambas as direções, pode explicar os altos níveis de diversidade observados. Exceção a esta tendência é o comportamento da raça CAR, a única com uma riqueza alélica menor e baixa heteroziguidade observada, consistente com sua história de melhoramento genético intensivo entre as cinco raças crioulas estudadas. Os resultados encontrados são consistentes com os observados por Liron *et al.* (2006) em um grupo composto por dez raças na Argentina e Bolívia que incluíam raças crioulas taurinas e raças zebuínas. Estes resultados em conjunto sugerem que as raças naturalizadas da América do Sul constituem um reservatório importante de diversidade genética para o melhoramento bovino e sua conservação.

### 4.1. Diversidade dos microssatélites e seu desempenho forense

O número total médio de alelos observado para todos os locos, consolidado para todas as dez raças, está acima das estimativas observadas em outros estudos (Kantanen *et al.*, 1999; Russell *et al.*, 2000; Maudet *et al.*, 2002; Beja-Pereira *et al.*, 2003; Mateus *et al.*, 2004b; Ibeagha-Awemu & Erhardt, 2005). Este número superior pode ser explicado, não só pelo fato de raças taurinas e zebuínas terem sido estudadas, mas também pelo grande tamanho amostral utilizado com quase cem animais por raça, com exceção da raça Jersey. Na maioria dos trabalhos, utiliza-se comumente de 30 a 50 animais/raça. Dado o tamanho amostral superior, alelos raros, com freqüências abaixo de 5% foram observados em todas as raças para quase todos os locos

(tabela de freqüências alélicas que se encontra nos anexos). As estimativas de tais freqüências deveriam ser vistas com precaução pela “*rule-of-thumb*” que sugere um limiar forense de  $5/2n$  (onde  $n$  = número de indivíduos) (Budowle *et al.*, 2005) que corresponde  $\sim 5/200 = 2,5\%$  para a maioria das raças. Para aplicações forenses estes valores poderiam ser abaixados para este valor mais baixo de 2,5%.

Vários marcadores exibiram um déficit significativo de heterozigotos devido a endogamia dentro das populações ( $F_{IS}$ ), em ambas as subespécies e na análise das 10 raças em conjunto. Este resultado também foi observado em outros trabalhos realizados com raças bovinas em outros países (MacHugh *et al.*, 1994; Hansen *et al.*, 2002; Maudet *et al.*, 2002; Beja-Pereira *et al.*, 2003; Liron *et al.*, 2006). A ocorrência de alelos nulos e erros de genotipagem também poderiam conduzir a deficiência de heterozigotos. Entretanto, considerando que as estimativas de  $F_{IS}$ , para o mesmo loco, variaram entre as subespécies e que o conjunto de microssatélites utilizado foi cuidadosamente recomendado, sendo amplamente utilizado em pesquisas mundiais com a mesma finalidade (Martin-Burriel *et al.*, 1999), esta explicação é improvável.

Uma avaliação do desempenho forense do conjunto de 22 microssatélites utilizados demonstrou que, para a maioria dos locos, pode-se obter um padrão consistente de poder de exclusão de paternidade em ambas as subespécies. Este estudo foi representativo, pois incluiu as três raças zebuínas principais do Brasil, assim como, duas das raças taurinas amplamente criadas no País. Baseado no poder de exclusão de paternidade para ambos os pais (PE2), nove marcadores foram mais informativos em zebuínos quando comparados com os taurinos e 13 foram mais informativos dentro das raças taurinas (Tabela 4). Os marcadores recomendados pelo ISAG para testes de paternidade tiveram um desempenho forense esperado e consistente, em ambas as subespécies, que confirma a escolha adequada destes para este propósito. Alguns marcadores que exibiram diferença distinta em PE2 e diferenças maiores na freqüência alélica entre zebuínos e taurinos (por exemplo, ETH152, ETH225, TGLA227, INRA35, ILSTS05) não seriam aceitáveis em provas forenses entre as subespécies. Dois destes marcadores, o ETH225 e o TGLA227 pertencem ao conjunto de nove marcadores recomendados pelo ISAG para testes de paternidade em bovinos. Por exemplo, o alelo de 77bp para o marcador TGLA227 é quase fixo (freqüência acima de 70%) em todas as três raças zebuínas (anexos – tabela de freqüência), e assim, muito pouco informativo para qualquer aplicação nesta subespécie. Por outro lado, alguns marcadores que não são usados habitualmente em testes de paternidade mostraram um desempenho muito bom em PE2, acima de 70% em ambas as subespécies, como o HEL9, o HEL5 e o CSSM9. Evidentemente, antes de recomendar tais marcadores para prova de rotina ou

conjuntos complementares, é imperativo verificar a sua robustez, a frequência de alelos nulos e a possibilidade de seu uso na forma de multiplex (Heyen *et al.*, 1997; Budowle *et al.*, 2005).

#### 4.2. Variação genética dentro e entre as raças

O déficit global de heterozigotos ( $F_{IT}$ ) na amostra estudada de 915 animais foi relativamente alto, superior a estimativas observadas em outros estudos com raças locais de origem taurina e zebuína (Jordana *et al.*, 2003; Ibeagha-Awemu & Erhardt, 2005; Liron *et al.*, 2006). Porém é importante notar que, neste estudo, as raças crioulas foram analisadas juntamente com raças taurinas especializadas e zebuínas, promovendo um aumento no valor de  $F_{ST}$ . A redução global na heterozigosidade observada é devida, em proporções quase equivalentes, à consangüinidade dentro da população ( $F_{IS} = 0,086$ ) e a deriva genética entre todas as dez raças ( $F_{ST} = 0,098$ ). Todas as raças exibiram uma redução significativa na heterozigosidade devido a acasalamentos que não ocorreram ao acaso dentro das populações (Tabela 5). As três raças zebuínas, junto com as raças JER e CUR, foram as que exibiram os coeficientes de endogamia intrapopulacionais mais altos e significativos ( $F_{IS}$ ). Este resultado reflete provavelmente o manejo reprodutivo mais intenso, visando o melhoramento animal, que as raças zebuínas e a raça JER foram submetidas, com o uso de um número relativamente pequeno de touros de alto valor genético, sendo utilizados como doadores de sêmen em práticas de reprodução assistida. Além disso, houve uma redução drástica no tamanho efetivo populacional de animais puros, das raças zebuínas, nas primeiras décadas do último século passado devido à formação da raça de Indubrasil derivada do cruzamento das várias raças zebuínas introduzidas no País.

Duas raças crioulas, a CAR e a MON apresentaram os menores coeficientes de endogamia entre as dez raças analisadas. Esforços no sentido de conservar estas duas raças foram intensos. A raça MON foi recuperada a partir de um número muito pequeno de animais através de acasalamentos dirigidos associados a procedimentos de transferência de embrião (Mariante & Trovo, 1989). Além disso, a raça CAR é fenotipicamente muito similar à raça MON, sendo a única diferença a presença de chifres na raça CAR. A remoção dos chifres nos animais da raça CAR e acasalamentos com a raça MON têm levado a um cruzamento absorvente, nem sempre intencional, da raça MON pela raça CAR. Como o tamanho efetivo da população MON ainda é muito pequeno, compreende-se que esta absorção seja praticamente irreversível, o que resultará em uma uniformização das duas raças, sendo no fim das contas positivo do ponto de

vista prático, levando-se em conta que alelos potencialmente úteis serão conservados na população numericamente maior da raça CAR. Este fato não é necessariamente indesejável quando constituir uma parte integrante da evolução de uma raça (Consortium, 2006). Além disto, deve-se ressaltar que alguns criadores ainda mantêm planteis sem a infusão de sangue CAR na raça MON (considerados não miscigenados).

Entre as cinco raças crioulas a raça CUR foi a que apresentou índices de consanguinidade mais elevados. Isto era esperado, uma vez que o número de touros disponíveis é muito limitado nesta raça. Ações de conservação envolvendo a raça CUR devem incluir a troca de touros entre as propriedades que criam estes animais, como também, a expansão da coleta de germoplasma e sua criopreservação (Mariante & Egito, 2002).

Valores significativos de diferenciação genética, calculados por  $F_{ST}$  (0,098) e  $R_{ST}$  (0,1861), foram observados entre todas as dez raças (Tabela 4). Valores de  $F_{ST}$  semelhantes foram calculados entre raças taurinas e zebuínas africanas ( $F_{ST} = 0,06$ ) (Ibeagha-Awemu & Erhardt, 2005); 0,112 entre sete raças européias taurinas (MacHugh *et al.*, 1998); 0,035 entre raças belgas taurinas (Mommens *et al.*, 1999); 0,107 em um grupo de raças européias do norte (Kantanen *et al.*, 2000); ao redor 0,07 entre raças ibéricas e francesas (Beja-Pereira *et al.*, 2003; Jordana *et al.*, 2003) e 0,089 entre raças locais portuguesas (Mateus *et al.*, 2004b). Em um estudo semelhante ao nosso, índices de diferenciação de  $F_{ST} = 0,088$  e  $R_{ST} = 0,144$  foram observados em raças crioulas taurinas e raças zebuínas criadas na Argentina e na Bolívia (Liron *et al.*, 2006). Os valores mais altos de diferenciação estimados pelo  $R_{ST}$ , quando comparado com o  $F_{ST}$ , sugerem que as diferenças entre as raças não só envolvam as frequências alélicas, mas também as diferenças no tamanho dos alelos devido ao comportamento mutacional dos microssatélites.

A significância e os valores das estimativas globais de  $F_{ST}$ , entre todas as dez raças para os 22 locos microssatélites, demonstram que estes marcadores poderiam ser utilizados como ferramentas poderosas para diferenciação das raças. Diferenciar os indivíduos que pertençam às subespécies diferentes, taurina ou zebuína, é uma tarefa relativamente trivial, pois os marcadores que apresentaram um  $F_{ST}$  significativo poderiam diagnosticar facilmente a provável raça a que pertencem, como também, suas proporções genômicas (zebuína e taurina). Porém dentro de cada subespécie isto poderia ser mais difícil. Em taurinos, por exemplo, dos vinte marcadores que contribuíram significativamente para as diferenças inter-raciais, os marcadores INRA63, INRA5, CSSM33, ETH10 e TGLA227, os primeiros cinco com valores mais altos de  $F_{ST}$ , poderiam ser testados com este propósito. Em zebuínos, só oito marcadores mostraram um  $F_{ST}$  significativo, e todos com valores muito baixos, de forma que a diferenciação

racial nesta subespécie demandaria outros tipos de marcadores como os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*).

As estimativas de  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  dentro das raças taurinas e zebuínas, analisadas separadamente, demonstraram uma menor diferenciação entre as três raças zebuínas quando comparadas ao grupo taurino. Uma possível explicação reside no modo como estes dois grupos foram introduzidos e são melhorados atualmente no Brasil. A chegada de animais zebuínos começou principalmente de modo não intencional com os navios que vinham do Leste no final do século de XIX (Santiago, 1985; Mariante *et al.*, 1999). Como as raças taurinas européias criadas no Nordeste do Brasil estavam experimentando uma degeneração contínua devido à baixa adaptabilidade ao clima tropical, os fazendeiros utilizaram animais zebuínos em acasalamentos e obtiveram um excelente resultado tanto em termos de crescimento, como fecundidade e resistência ao estresse. O crescente interesse pelas raças zebuínas levou a importação de números maiores de animais desta subespécie sem, contudo, haver alguma diferenciação racial no início, sendo todos os animais oriundos da Índia denominados de Zebu (Santiago, 1983). Além disso, embora mais que 80% da população bovina atual esteja composta de animais zebuínos e seus híbridos com raças taurinas especializadas (por exemplo, a raça Girolanda), o número de animais zebuínos importados no Brasil nos últimos duzentos anos foi, no total, um pouco superior a 6.200 cabeças sendo a vasta maioria composta por touros (Santiago, 1985). Esta base genética relativamente estreita e miscigenada pode ter também contribuído para a redução da diferenciação das raças zebuínas. Os vários milhões de animais zebuínos foram originados, em sua maioria, do cruzamento absorvente de touros indianos com fêmeas taurinas locais. A existência de rebanhos puros, descendentes de animais importados de ambos os sexos e totalmente imune a infusão de sangue, pode ser considerada rara, se não nula (Mariante *et al.*, 1999). Somente em 1938 foram descritos e implementados os padrões raciais para as raças zebuínas. Até então, todas as raças eram registradas em um único Livro de Registros (*Herd Book*) da raça Zebu (Josahkian, 2000).

Quatro das cinco raças crioulas CRL, CUR, MON e PAN exibiram uma riqueza alélica superior a todas as outras raças analisadas. O mesmo padrão comparativo de variação genética foi observado por Liron *et al.* (2006). A introdução de animais taurinos no continente americano foi um dos últimos movimentos de dispersão bovina no mundo. A população fundadora das raças crioulas atuais origina-se de um grupo pequeno de animais ibéricos que enfrentaram uma pressão seletiva significativa devido ao clima tropical e estresses bióticos, além da quase extinção devido à introdução de raças mais produtivas (Mariante & Cavalcante, 2000). Porém uma força evolutiva contrária foi a miscigenação de raças de origens geográficas diversas

(Primo, 1992). A dispersão destas populações para regiões distintas, 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. Além disso, mais recentemente, ocorreu também a introgressão das raças zebuínas. Somente a raça CAR contrasta com este quadro demonstrando uma heterozigosidade observada reduzida e menor riqueza de alélica (Tabela 5). Ela é a única raça crioula que tem uma história de seleção artificial e sofreu um declínio drástico nos anos 60 e 70 do século passado que também poderia ter contribuído para esta redução na variabilidade genética.

### 4.3. Relação genética entre as raças e conservação

A análise da variação molecular revelou que a maior parte da variação genética observada nas populações analisadas foi devida a diferenças existentes entre indivíduos dentro das raças, independente das diferentes estruturas testadas (Tabela 6).

Valores máximos de diferenciação foram encontrados ao comparar raças zebuínas e raças taurinas especializadas. Padrões semelhantes foram observados em vários outros estudos com raças bovinas (Lima *et al.*, 1990; Mateus *et al.*, 2004b; Liron *et al.*, 2006) onde 90% ou mais da variação está contido dentro das raças. Liron *et al.* (2006) entretanto, observaram apenas 1% de variação devida a diferenças entre as raças crioulas Argentinas e Bolivianas, menor que os 4% encontrados neste estudo para a variação existente entre as raças crioulas brasileiras. Embora nenhum teste comparativo formal significativo possa ser feito com estas estimativas, o valor nominal superior observado para as raças naturalizadas brasileiras poderia ser resultado de dois fatores distintos. Primeiro, o Brasil foi o único país da América do Sul que recebeu raças taurinas portuguesas (Primo, 1992) que, conforme relatos científicos, possuem linhagens evolutivas européias e africanas representadas pelos grupos *Brown Concave* e *Red Convex* (Mateus *et al.*, 2004b). Segundo, como será comentado posteriormente, algumas destas raças locais brasileiras experimentaram um introgressão acentuada de genes zebuínos. Seria interessante realizar uma análise extensa em conjunto com as raças locais dos vários países da América do Sul e com as raças ibéricas, portuguesas e espanholas, visando reconstruir um quadro regional dos padrões de introdução, migração, introgressão e miscigenação que moldaram as populações bovinas crioulas atuais do continente sul-americano. Um estudo semelhante ao sugerido envolveu a análise de um conjunto de três bancos de dados

representando 103 raças/populações uma área geográfica ampla que cobre o sul da Ásia, o Oriente Médio, a Europa e a África, dando origem a uma visão global da distribuição atual da diversidade genética destas raças bovinas (Freeman *et al.*, 2006). Dado o uso de microssatélites comuns, em nossos estudos, uma análise comparativa incluindo estes três conjuntos de dados seria interessante.

Uma comparação realizada com microssatélites autossômicos, haplogrupos de mtDNA e haplótipos de microssatélites do cromossomo Y demonstrou que ocorreu uma introgressão significativa, mediada pelo macho, nas raças crioulas bolivianas e argentinas (Giovambattista *et al.*, 2000; Liron *et al.*, 2006). O padrão esperado para o Brasil poderia ser de uma maior proporção de genoma ancestral zebuino nas regiões mais quentes e úmidas do País, como o Pantanal, consistente com a introdução e o uso de animais indianos para melhorar a adaptação ao clima tropical. Esta tendência foi detectada em nosso estudo para todas as raças de crioulas analisadas, particularmente para o CRL e o PAN que apresentaram uma distância genética menor em relação às três raças de zebuína (Tabela 7), e pela análise de STRUCTURE, melhor observada com  $k=3$  (Figura 3a). Vários animais das raças CRL e PAN exibiram uma quantidade distinguível de genoma zebuino. Dados históricos obtidos nas propriedades onde estes animais foram amostrados, relatam a presença de machos da raça Nelore ou seus híbridos nestes rebanhos. Nas raças CUR e MON a introgressão zebuína foi menos pronunciada, não havendo quase nenhuma introgressão nos animais da raça CAR, consistente com a história sistemática de manejo e melhoramento genético na mesma.

Na reconstrução filogenética realizada, baseado no índice de distância genética de Nei 1983 ( $D_A$ ), verificou-se o agrupamento de quatro das cinco raças crioulas brasileiras. A raça CAR foi a mais distante geneticamente. De forma interessante, Mateus *et al.* (2004b) ao analisar várias raças portuguesas incluiu a raça CAR como um *outgroup* com propósitos comparativos. Eles observaram que embora o CAR descenda das populações ibéricas introduzidas por colonizadores portugueses na descoberta do Brasil, não existem relacionamentos estreitos entre esta e as raças analisadas, provavelmente devido ao isolamento geográfico e a introgressão com outras raças nos últimos 400 anos. Nossos resultados sugerem que as outras quatro raças crioulas brasileiras também devam possuir uma relação semelhante, ou até mesmo mais distinta, em relação a estas raças locais européias.

Pela árvore filogenética obtida, verifica-se que a raça MON deve compartilhar uma origem comum mais provável com as raças PAN, CRL e CUR e não com a raça CAR. A prática comum de descorna em animais da raça CAR e a semelhança fenotípica existente pode ter contribuído para um aumento do confundimento em relação à origem racial dos animais destas

raças. De acordo com Athanassof (1957), animais originados dos *Bos taurus ibericus* possuíam tamanhos que variavam de pequenos a médios enquanto que os animais do tronco aquitânico seriam animais maiores. Enquanto Primo (1993), baseado em dados morfológicos, declarou que o antepassado provável das raças CUR, CRL e PAN era o *Bos taurus ibericus*, enquanto que o *Bos taurus aquitanicus* teria originado as raças CAR e MON; Rosa *et al.* (1992) e Jardim (1988) descreveram a raça MON como um animal de tamanho pequeno, não a incluindo no grupo de raças as quais o CAR pertence. Nossos resultados, baseados em uma vasta pesquisa do genoma destes indivíduos indicam claramente que as raças MON e CAR são na realidade entidades genéticas distintas, consistente com a hipótese de ascendências separadas de *Bos taurus ibericus* e *Bos taurus aquitanicus*. Dados semelhantes já haviam sido observados utilizando marcadores protéicos (Lara, 2000) e RAPD (Serrano *et al.*, 2004).

Finalmente, dentro do grupamento zebuino, observado no dendrograma da figura 1a, as raças GYR e GUZ demonstram uma maior proximidade sendo que na árvore individual animais destas duas raças se misturam. Além do fato relatado anteriormente a respeito da introdução zebuina no Brasil, esta observação também é consistente com a proximidade geográfica do centro de origem destas raças na Índia. Pela análise do STRUCTURE é possível diferenciar estas duas raças, porém vários animais mostraram possuir ascendências misturadas. Ibeagha-Awemu *et al.* (2005) ao analisar um conjunto maior de raças de zebuínas africanas demonstraram, na realidade, que o modelo baseado na metodologia de agrupamento implementado pelo STRUCTURE não pode efetivamente discriminar indivíduos com genótipos muito parecidos, ou com níveis muito baixos de diferenciação, à suas raças de origem sem que exista uma informação populacional anterior. Dado esta proximidade entre animais das raças GYR e GUZ, a certificação racial correta de indivíduos anônimos destas duas populações, ou a estimação de proporção racial de um indivíduo, de animais das raças GYR e GUZ seria, pelo menos, uma tarefa desafiadora com este conjunto de microssatélites.

Existem muitas controvérsias a respeito dos possíveis métodos existentes para determinar as prioridades com propósito de conservação tendo como base marcadores moleculares. De acordo com a metodologia frequentemente utilizada de Weitzman, as contribuições de cada raça à diversidade genética total são derivadas diretamente das distâncias genéticas existentes entre as populações. Este método foi utilizado, por exemplo, para classificar e determinar prioridades para conservação em raças bovinas européias (Canon *et al.*, 2001; Rendo *et al.*, 2004). Embora simples, este método tem recebido muitas críticas sendo a principal o fato que ignora a diversidade intra-populacional e não leva em conta o tamanho das populações (p.e. Caballero & Toro, 2002). Novas metodologias que incorporam as informações

inter e intra populacionais à metodologia de Weitzman tem sido relatadas (Garcia *et al.*, 2005; Ollivier & Foulley, 2005), assim como, medidas alternativas baseadas no coeficiente de parentesco existente dentro e entre as populações (Eding & Meuwissen, 2001). Este último método foi utilizado para otimizar a diversidade dentro e entre populações minimizando os parentescos calculados por marcadores e propondo prioridades para a conservação em raças bovinas européias (Consortium, 2006).

Não foi feito, neste estudo, nenhuma tentativa para definir prioridades para a conservação entre as cinco raças crioulas baseado nos resultados obtidos com os marcadores microsatélites. Duas razões justificam esta decisão. Primeiro, dada a recente introdução de bovinos na América do Sul, muito poucas raças crioulas existem na verdade quando comparadas ao grande número de raças locais encontradas na Europa, África ou Ásia. Desta forma, não acreditamos que existam raças bovinas prioritárias para as ações de conservação. Todas as raças crioulas brasileiras foram consideradas alvos prioritários e importantes para conservação (Mariante *et al.*, 1999). Segundo, neste trabalho foi possível demonstrar que, baseado em diferentes análises estatísticas, todas as cinco raças são geneticamente únicas quando comparadas entre si ou em relação às raças especializadas taurinas e as raças zebuínas. Fenotipicamente, todas elas exibem características peculiares que merecem esforços de conservação. Por exemplo, animais da raça CUR possuem baixo peso, são pequenos e altamente adaptados às condições do semi-árido brasileiro, sobrevivem em condições muito severas com pouca comida e água além de possuírem uma resistência conhecida a vários parasitas e apresentarem alta fertilidade. Os animais da raça CRL, por sua vez, estão extremamente adaptados às temperaturas mais frias do país, limitantes para muitas raças bovinas, principalmente as zebuínas. Possuem uma enorme rusticidade, apresentando pesos superiores a muitas outras raças de corte submetidas a estas condições climatológicas, além disto, possuem também uma boa aptidão leiteira, o que faz que as fêmeas apresentem uma excelente habilidade materna.

## 5. CONCLUSÕES

Este trabalho apresenta um estudo compreensivo da estrutura genética e da diversidade de dez raças bovinas criadas no Brasil. Pelos resultados observados e a análise genética realizada foi possível concluir que:

- Todas as 10 raças bovinas estudadas podem ser consideradas entidades genéticas distintas;
- Existe uma quantidade significativa de variação genética nas populações de bovinos locais;
- Quatro das cinco raças crioulas brasileiras exibiram uma riqueza alélica notavelmente mais alta do que as demais raças, provavelmente devido à combinação de diferentes fatores como a seleção natural em condições ambientais diversas, a pressão seletiva artificial moderada e a miscigenações raciais recorrentes, inclusive pela introgressão de raças zebuínas;
- Os dados genéticos confirmam os registros históricos que indicam que padrões variáveis de miscigenação racial ocorreram desde os tempos coloniais dando origem ao atual estado genético das raças criadas no Brasil e,
- As raças crioulas brasileiras constituem um importante e único reservatório de diversidade genética para o melhoramento genético animal e são alvos viáveis para a conservação genética por exibirem características fenotípicas únicas associadas à natureza cultural regional.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Athanassof, N. **Manual do criador de bovinos**: Ed. Melhoramentos. 1957. 818 p.
- Barendse, W.; Armitage, S. M.; Kossarek, L. M.; Shalom, A.; Kirkpatrick, B. W.; Ryan, A. M.; Clayton, D.; Li, L.; Neibergs, H. L.; Zhang, N.; Et Al. A genetic linkage map of the bovine genome. **Nat. Genet.**, v.6, n.3, p. 227-235. 1994.
- Barker, J. S. F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5, 1994, Guelph. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5. **Proceedings**. Guelph, Canadá, 1994. p. 501-508.
- Beja-Pereira, A.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferrand, N.; Jordana, J.; Laloe, D.; Moazami-Goudarzi, K.; Sanchez, A.; Canon, J. Genetic characterization of southwestern European bovine breeds: a historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. **J.Hered.**, v.94, n.3, p. 243-250. 2003.
- Bishop, M. D.; Kappes, S. M.; Keele, J. W.; Stone, R. T.; Sunden, S. L.; Hawkins, G. A.; Toldo, S. S.; Fries, R.; Grosz, M. D.; Yoo, J.; Et Al. A genetic linkage map for cattle. **Genetics**, v.136, n.2, p. 619-639. 1994.
- Bowcock, A. M.; Ruiz-Linares, A.; Tomfohrde, J.; Minch, E.; Kidd, J. R.; Cavalli-Sforza, L. L. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. **Nature**, v.368, n.6470, p. 455-457. 1994.
- Brenneman, R. A.; Chase Jr., C. C.; Coleman, S. W. Detection of origin between two bloodlines of Romosinuano cattle using microsatellite screening. **Trop. Agric.**, v.78, p. 255-262. 2001.
- Brezinsky, L.; Kemp, S. J.; Teale, A. J. ILSTS005: a polymorphic bovine microsatellite. **Anim. Genet.**, v.24, n.1, p. 73. 1993.
- Brondani, R. P.; Grattapaglia, D. Cost-effective method to synthesize a fluorescent internal DNA standard for automated fragment sizing. **Biotechniques**, v.31, n.4, p. 793-795. 2001.
- Bryant, D.; Moulton, V. Neighbor-net: an agglomerative method for the construction of phylogenetic networks. **Mol. Biol. Evol.**, v.21, n.2, p. 255-265. 2004.
- Budowle, B.; Garofano, P.; Hellman, A.; Ketchum, M.; Kanthaswamy, S.; Parson, W.; Van Haeringen, W.; Fain, S.; Broad, T. Recommendations for animal DNA forensic and identity testing. **Int. J. Legal Med.**, v.119, n.5, p. 295-302. 2005.
- Caballero, A.; Toro, M. A. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. **Conservation Genetics**, v.3, p. 289-299. 2002.
- Canon, J.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carleos, C.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferran, N.; Garcia, D.; Jordana, J.; Laloe, D.; Pereira, A.; Sanchez, A.; Moazami-Goudarzi, K. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. **Genet. Sel. Evol.**, v.33, n.3, p. 311-332. 2001.

- Casellas, J.; Jiménez, N.; Fina, M.; Tarrés, J.; Sánchez, A.; Piedrafita, J. Genetic diversity measures of the bovine *Alberes* breed using microsatellites: variability among herds and types of coat colour. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.121, p. 101-110. 2004.
- Consortium, E. C. G. D. Marker-assisted conservation of European cattle breeds: An evaluation. **Anim. Genet.**, v.37, n.5, p. 475-481. 2006.
- Cymbron, T.; Loftus, R. T.; Malheiro, M. I.; Bradley, D. G. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. **Proc. Biol. Sci.**, v.266, n.1419, Mar 22, p. 597-603. 1999.
- Domingues, O. **Introdução à Zootecnia**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola - Ministério da Agricultura. 1968. 386 p.
- Eding, H.; Meuwissen, T. H. E. Marker-based estimates of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.118, n.3, p. 141-159. 2001.
- 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.
- F.A.O. **World Watch List for domestic animal diversity**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000. 726 p.
- Felsenstein, J. **PHYLIP: Phylogeny Inference Package**. Seattle, WA: University of Washington, p. 1993-2002.
- Freeman, A. R.; Bradley, D. G.; Nagda, S.; Gibson, J. P.; Hanotte, O. Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. **Anim. Genet.**, v.37, n.1, p. 1-9. 2006.
- Freeman, A. R.; Meghen, C. M.; MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Achukwi, M. D.; Bado, A.; Sauveroche, B.; Bradley, D. G. Admixture and diversity in West African cattle populations. **Mol. Ecol.**, v.13, n.11, p. 3477-3487. 2004.
- Gandini, G. C.; Villa, E. Analysis of the cultural value of local livestock breeds: a methodology. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.120, p. 1-11. 2003.
- Garcia, D.; Corral, N.; Canon, J. Combining inter- and intrapopulation information with the Weitzman approach to diversity conservation. **J. Hered.**, v.96, n.6, p. 704-712. 2005.
- Georges, M.; Andersson, L. Livestock genomics comes of age. **Genome Res.**, v.6, n.10, p. 907-921. 1996.
- Georges, M.; Massey, J. M. Polymorphic DNA markers in Bovidae. Patent WO 92/13102. 1992.
- Giovambattista, G.; Ripoli, M. V.; De Luca, J. C.; Mirol, P. M.; Liron, J. P.; Dulout, F. N. Male-mediated introgression of *Bos indicus* genes into Argentine and Bolivian Creole cattle breeds. **Anim. Genet.**, v.31, n.5, p. 302-305. 2000.

- Giovambattista, G.; Ripoli, M. V.; Peral-Garcia, P.; Bouzat, J. L. Indigenous domestic breeds as reservoirs of genetic diversity: the Argentinean Creole cattle. **Anim. Genet.**, v.32, n.5, p. 240-247. 2001.
- Goudet, J. FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Version 2.9.3.2). p. 2002.
- Guo, S. W.; Thompson, E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, v.48, n.2, p. 361-372. 1992.
- Hanotte, O.; Tawah, C. L.; Bradley, D. G.; Okomo, M.; Verjee, Y.; Ochieng, J.; Rege, J. E. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-saharan African cattle breeds. **Mol. Ecol.**, v.9, n.4, p. 387-396. 2000.
- Hansen, C.; Shrestha, J. N.; Parker, R. J.; Crow, G. H.; Mcalpine, P. J.; Derr, J. N. Genetic diversity among Canadienne, Brown Swiss, Holstein, and Jersey cattle of Canada based on 15 bovine microsatellite markers. **Genome**, v.45, n.5, p. 897-904. 2002.
- Heyen, D. W.; Beever, J. E.; Da, Y.; Evert, R. E.; Green, C.; Bates, S. R.; Ziegler, J. S.; Lewin, H. A. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing. **Anim. Genet.**, v.28, n.1, p. 21-27. 1997.
- Ibeagha-Awemu, E. M.; Erhardt, G. Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.122, n.1, p. 12-20. 2005.
- Ibge. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, Brasil: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, v.31. 2003. 31 p.
- Idury, R. M.; Cardon, L. R. A simple method for automated allele binning in microsatellite markers. **Genome Res.**, v.7, n.11, p. 1104-1109. 1997.
- Jardim, V. **Bovinocultura**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 1988. 525 p.
- Jordana, J.; Alexandrino, P.; Beja-Pereira, A.; Bessa, I.; Cañon, J.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Laloe, D.; Moazami-Goudarzi, K.; Sanchez, A.; Ferrand, N. Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.120, p. 73-87. 2003.
- Josahkian, L. A. Programa de melhoramento genético das raças zebuínas. In: Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 3, 2000. Belo Horizonte. Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 3. **Anais**. Belo Horizonte - MG: SBMA, 2000. 6 p.
- Kantanen, J.; Olsaker, I.; Adalsteinsson, S.; Sandberg, K.; Eythorsdottir, E.; Pirhonen, K.; Holm, L. E. Temporal changes in genetic variation of north European cattle breeds. **Anim. Genet.**, v.30, n.1, p. 16-27. 1999.

- Kantanen, J.; Olsaker, I.; Holm, L. E.; Lien, S.; Vilkki, J.; Brusgaard, K.; Eythorsdottir, E.; Danell, B.; Adalsteinsson, S. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. **J. Hered.**, v.91, n.6, p. 446-457. 2000.
- Kappes, S. M.; Keele, J. W.; Stone, R. T.; McGraw, R. A.; Sonstegard, T. S.; Smith, T. P.; Lopez-Corrales, N. L.; Beattie, C. W. A second-generation linkage map of the bovine genome. **Genome Res.**, v.7, n.3, p. 235-249. 1997.
- Kaukinen, J.; Varvio, S. L. Eight polymorphic bovine microsatellites. **Anim. Genet.**, v.24, n.2, p. 148. 1993.
- Lara, M. A. C. Genetic variability in bovine breeds through the use of molecular markers. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5, 2000, Brasília. Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5. **Proceedings**. Brasília, DF. : Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. 4 p.
- Lima, M. L. P.; Neto, L. M. B.; Razook, A. G. O gado Caracu. **Revista dos Criadores**. outubro, p. 28-30. 1990.
- Liron, J. P.; Peral-Garcia, P.; Giovambattista, G. Genetic characterization of Argentine and Bolivian Creole cattle breeds assessed through microsatellites. **J. Hered.**, v.97, n.4, p. 331-339. 2006.
- Loftus, R. T.; Ertugrul, O.; Harba, A. H.; El-Barody, M. A.; MacHugh, D. E.; Park, S. D.; Bradley, D. G. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. **Mol. Ecol.**, v.8, n.12, p. 2015-2022. 1999.
- MacHugh, D. E. **Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle**. University of Dublin, Dublin, 274 p., 1996. (Tese de doutorado).
- MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Bradley, D. G.; Sharp, P. M.; Cunningham, P. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. **Proc. Biol. Sci.**, v.256, n.1345, p. 25-31. 1994.
- MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Bradley, D. G. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. **Anim. Genet.**, v.29, n.5, p. 333-340. 1998.
- Mariante, A. S.; Albuquerque, M. S. M.; Egito, A. A.; McManus, C. Advances in the Brazilian animal genetic resources. **Animal Genetic Resources Information**, v.25, p. 107-121. 1999.
- Mariante, A. S.; Cavalcante, N. **Animais do Descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2000. 232 p.
- Mariante, A. S.; Egito, A. A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v.57, n.1, p. 223-235. 2002.
- Mariante, A. S.; Trovo, J. B. F. The Brazilian genetic resources conservation programme. **Brazil. J. Genetics**, v.12, n.3-Supplement, p. 241-256. 1989.

- Marshall, T. C.; Slate, J.; Kruuk, L. E.; Pemberton, J. M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Mol. Ecol.**, v.7, n.5, p. 639-655. 1998.
- Martin-Burriel, I.; Garcia-Muro, E.; Zaragoza, P. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.30, n.3, p. 177-182. 1999.
- Mateus, J. C.; Eding, H.; Penedo, M. C.; Rangel-Figueiredo, M. T. Contributions of Portuguese cattle breeds to genetic diversity using marker-estimated kinships. **Anim. Genet.**, v.35, n.4, p. 305-313. 2004a.
- Mateus, J. C.; Penedo, M. C.; Alves, V. C.; Ramos, M.; Rangel-Figueiredo, T. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.35, n.2, p. 106-113. 2004b.
- Maudet, C.; Luikart, G.; Taberlet, P. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. **J. Anim. Sci.**, v.80, n.4, p. 942-950. 2002.
- Mazza, M. C. M.; Mazza, C. A. S.; Sereno, J. R. B.; Santos, S. A.; Pellegrin, A. O. **Etnobiologia e Conservação do Bovino Pantaneiro**. Corumbá: Embrapa CPAP. 1994. 61 p.
- Mendelsohn, R. The challenge of conserving indigenous domesticated animals. **Ecological Economics**, v.45, p. 501-510. 2003.
- Miller, S. A.; Dykes, D. D.; Polesky, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res.**, v.16, n.3, p. 1215. 1988.
- Minch, E.; Ruiz-Linares, A.; Goldstein, D. B.; Feldman, M. W.; Cavalli-Sforza, L. L. **Microsat2: A computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data**. Stanford, CA: Department of Genetics, Stanford University, 1998.
- Miretti, M. M.; Pereira, H. A., Jr.; Poli, M. A.; Contel, E. P.; Ferro, J. A. African-derived mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage. **J. Hered.**, v.93, n.5, p. 323-330. 2002.
- Moazami-Goudarzi, K.; Laloe, D.; Furet, J. P.; Grosclaude, F. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. **Anim. Genet.**, v.28, n.5, p. 338-345. 1997.
- Mommens, G.; Peelman, L. J.; Van Zeveren, A.; D'leteren, G.; Wissocq, N. Microsatellite variation between an African and five European taurine breeds results in a geographical phylogenetic tree with a bison outgroup. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.116, p. 325-330. 1999.
- Moore, S. S.; Byrne, K.; Berger, K. T.; Barendse, W.; McCarthy, F.; Womack, J. E.; Hetzel, D. J. Characterization of 65 bovine microsatellites. **Mamm. Genome**, v.5, n.2, p. 84-90. 1994.
- Nei, M.; Tajima, F.; Tateno, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **J. Mol. Evol.**, v.19, n.2, p. 153-170. 1983.
- Notter, D. R. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. **J. Anim. Sci.**, v.77, n.1, p. 61-69. 1999.

- Ollivier, L.; Foulley, J. L. Aggregate diversity: new approach combining within and between breed genetic diversity. **Livestock Production Science**, v.95, n.3, p. 247-254. 2005.
- Ota, T. **DISPAN: genetic distance and phylogenetic analysis**. Pennsylvania State University Park, PA., 1993.
- Park, S. D. E. **Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetics Effects of Selection**. University of Dublin, Dublin, Ireland, p., 2001. (PhD thesis).
- Primo, A. T. The discovery of Brazil and the introduction of domestic animals. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5, 2000, Brasília. Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5. **Proceedings**. Brasília, DF. : Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. 4 p.
- Primo, A. T. El ganado bovino Iberico en las Americas: 500 años después. **Arch. Zootec.**, v.41, p. 421-432. 1992.
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, n.2, p. 945-959. 2000.
- Rendo, F.; Iriondo, M.; Jugo, B. M.; Aguirre, A.; Mazon, L. I.; Vicario, A.; Gomez, M.; Estonba, A. Analysis of the genetic structure of endangered bovine breeds from the Western Pyrenees using DNA microsatellite markers. **Biochem. Genet.**, v.42, n.3-4, p. 99-108. 2004.
- Rosa, A. N.; Silva, L. O. C.; Porto, J. C. A. **Raças mochas: história e genética**. Embrapa CNPGL. Campo Grande, 1992. 64p.
- Rosenberg, N. A. DISTRUCT: a program for the graphical display of structure results. **Molecular Ecology Notes**, v.4, p. 137-138. 2004.
- Rousset, F.; Raymond, M. Testing heterozygote excess and deficiency. **Genetics**, v.140, n.4, p. 1413-1419. 1995.
- Russell, N. D.; Rios, J.; Erosa, G.; Remmenga, M. D.; Hawkins, D. E. Genetic differentiation among geographically isolated populations of Criollo cattle and their divergence from other *Bos taurus* breeds. **J. Anim. Sci.**, v.78, n.9, p. 2314-2322. 2000.
- Saitou, N.; Nei, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Mol. Biol. Evol.**, v.4, n.4, p. 406-425. 1987.
- Santiago, A. A. **Os cruzamentos na pecuária bovina**. São Paulo: Instituto de Zootecnia. 1975. 549 p.
- Santiago, A. A. **O Nelore**. São Paulo: Ed. dos Criadores. 1983. 583 p.
- Santiago, A. A. **O Zebu na Índia, no Brasil e no Mundo**. Campinas: Instituto Campineiro Agrícola. 1985. 744 p.

- Schneider, S.; Roessli, D.; Excoffier, L. **Arlequin version 2000: a software for population genetics data analysis**. Geneva, Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 2000.
- Serrano, G. M. S.; Egito, A. A.; McManus, C.; Mariante, A. S. Genetic diversity and population structure of Brazilian native bovine breeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.6, p. 543-549. 2004.
- Spritze, A. L.; Egito, A. A.; Mariante, A. S.; McManus, C. Caracterização genética da raça bovina Crioulo Lageano por marcadores moleculares RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.10, p. 1157-1164. 2003.
- Steffen, P.; Eggen, A.; Dietz, A. B.; Womack, J. E.; Stranzinger, G.; Fries, R. Isolation and mapping of polymorphic microsatellites in cattle. **Anim. Genet.**, v.24, n.2, p. 121-124. 1993.
- Toldo, S. S.; Fries, R.; Steffen, P.; Neibergs, H. L.; Barendse, W.; Womack, J. E.; Hetzel, D. J.; Stranzinger, G. Physically mapped, cosmid-derived microsatellite markers as anchor loci on bovine chromosomes. **Mamm. Genome**, v.4, n.12, p. 720-727. 1993.
- Torres, A. P. **Animais da Fazenda Brasileira**. São Paulo, SP, Brasil: Editora Melhoramentos. 1958
- Vaiman, D.; Mercier, D.; Moazami-Goudarzi, K.; Eggen, A.; Ciampolini, R.; Lepingle, A.; Velmala, R.; Kaukinen, J.; Varvio, S. L.; Martin, P.; Et Al. A set of 99 cattle microsatellites: characterization, syntenic mapping, and polymorphism. **Mamm. Genome**, v.5, n.5, p. 288-297. 1994.
- Vaiman, D.; Osta, R.; Mercier, D.; Grohs, C.; Leveziel, H. Characterization of five new bovine dinucleotide repeats. **Anim. Genet.**, v.23, n.6, p. 537-541. 1992.
- Weir, B. S.; Cockerham, C. C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v.38, p. 1358-1370. 1984.
- Wiener, P.; Burton, D.; Williams, J. L. Breed relationships and definition in British cattle: a genetic analysis. **Heredity**, v.93, n.6, p. 597-602. 2004.

## **CAPÍTULO II – Classificação individual de animais para o Banco de Germoplasma Animal baseado em testes de alocação individual, diversidade genética e coancestralidade molecular: o caso das raças bovinas crioulas brasileiras ameaçadas de extinção.**

### **1. INTRODUÇÃO**

A conservação genética das espécies animais se baseia na manutenção da máxima variabilidade dentro de suas populações e diversidade entre populações, frequentemente identificadas como raças. Espera-se que tais raças sejam compostas por um grupo de indivíduos fenotipicamente homogêneo (Hall & Bradley, 1995). Supõe-se, desta forma, que estes animais representem uma amostra fiel dos complexos gênicos co-adaptados, que evoluíram para constituir este reservatório único de recursos genéticos potencialmente úteis para a melhoria contínua das populações produtivas. Vários estudos demonstraram que a composição genética das atuais raças bovinas é resultante da migração, do acasalamento e da miscigenação que ocorreu durante a domesticação, promovendo a produtividade ou a adaptabilidade a estresses bióticos ou abióticos, satisfazendo, assim, as preferências humanas (Loftus *et al.*, 1999; Troy *et al.*, 2001; Hanotte *et al.*, 2002; Kumar *et al.*, 2003; Freeman *et al.*, 2006).

A miscigenação, seguida da deriva e da seleção, tem sido um processo fundamental no desenvolvimento de raças bovinas localmente adaptadas em todo o mundo, particularmente pela introgressão bidirecional, em maior ou menor grau, entre *Bos taurus* e *Bos indicus*. Na África, por exemplo, mais de 150 raças diferentes constituem a população de bovinos africana, formada por animais taurinos, zebuínos e por grupos de intermediários adaptados ao ambiente local, representando um pool excepcional de recursos genéticos animais (RGA) (Rege & Bester, 1998). Nos últimos cem anos, porém, a integridade genética destas raças localmente adaptadas foi, progressivamente, ameaçada pelo rápido crescimento das raças comercialmente proeminentes e pela prática dos cruzamentos absorventes. De forma semelhante, este fato ocorreu também com as raças locais brasileiras que quase foram extintas pela introdução de raças zebuínas no início do século XX (Mariante & Egitto, 2002).

Vários estudos realizados para verificar a distância genética e a relação existente entre diferentes raças bovinas, utilizando o DNA mitocondrial (mtDNA) e marcadores moleculares microssatélites localizados no cromossomo Y e nos cromossomos autossômicos, demonstraram que a maioria das raças pode ser distinguida devido à diferenças significativas nos seus haplótipos ou na distribuição de suas frequência alélicas. As análises filogenéticas, baseadas em estimativas de distâncias genéticas entre as populações, demonstraram que as relações genéticas das raças atuais são geralmente consistentes com suas origens históricas (MacHugh *et al.*, 1998; Kantanen *et al.*, 2000; Mateus *et al.*, 2004; Ibeagha-Awemu & Erhardt, 2005).

Os marcadores de DNA forneceram um método robusto para detectar a introgressão e eventos de mestiçagem entre as subespécies taurina e zebuína, que possuem padrões de diferenciação distintos (Bicalho, 1985; Bradley *et al.*, 1994; MacHugh *et al.*, 1997; Egito *et al.*, 2007). Além de responder questões ao nível de raças/populações, a existência de uma grande bateria de locos microssatélites possibilitou a análise genética ao nível individual para determinar sua origem mais provável (Waser & Strobeck, 1998; Davies *et al.*, 1999). Vários estudos, nos últimos anos, têm demonstrado que as análises individuais permitem a alocação de um único animal à sua mais provável população/raça de origem ou a estimação de sua composição ancestral mais provável, principalmente quando a diferenciação fenotípica é difícil e os pedigrees são indisponíveis ou ambíguos (Primmer *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2002; Maudet *et al.*, 2002; Koskinen, 2003; Kumar *et al.*, 2003; Baumung *et al.*, 2004; Negrini *et al.*, 2007).

Testes de designação/alocação racial têm sido propostos para determinar a fonte dos produtos de origem animal assim como a rastreabilidade de um determinado indivíduo e a sua certificação racial tem se tornado extremamente importante no comércio global como forma de assegurar a qualidade dos alimentos e sua autenticidade (McKean, 2001; Ciampolini *et al.*, 2006).

Diversas metodologias estatísticas e programas computacionais foram desenvolvidos com o foco voltado para a designação de indivíduos a populações (Paetkau *et al.*, 1995; Rannala & Mountain, 1997; Cornuet *et al.*, 1999; Pritchard *et al.*, 2000). Todos os métodos utilizam à vasta quantidade de informações disponíveis de dados de genotipagem de vários marcadores para cada indivíduo, estimando a probabilidade do conjunto de dados de um indivíduo pertencer a uma das possíveis populações ancestrais. Desta forma, cada indivíduo é alocado à população à qual o seu genótipo mais provavelmente pertence (Hansen *et al.*, 2001). Da mesma forma, também se obtém uma proporção relativa de cada população ou raça ancestral que participou mais provavelmente na composição do indivíduo.

O poder dos testes de alocação pode ser afetado por vários fatores como a diferenciação genética entre as populações, o número de populações amostradas, a classe do marcador genético, o grau de polimorfismo e o número dos locos estudados e o tamanho amostral (Hansen *et al.*, 2001; Bjornstad & Roed, 2002). Vários estudos relatam à influência destes fatores na designação racial individual (Estoup *et al.*, 1998; Blott *et al.*, 1999; Cornuet *et al.*, 1999; Bernatchez & Duchesne, 2000; Bjornstad & Roed, 2002). Estes estudos demonstraram, de uma maneira geral, que os fatores mais críticos foram a diferenciação racial e o número de marcadores utilizados, enquanto que o tamanho populacional e a variabilidade de locos foram menos relevantes quando a amostra analisada contem mais de 20 indivíduos e os marcadores utilizados possuem um número de alelos variando de intermediário a alto (Bjornstad and Roed, 2002).

Nos últimos anos várias metodologias foram propostas para avaliar as prioridades para a conservação dos recursos genéticos animais baseadas em marcadores moleculares. Vários trabalhos descrevem a escolha prioritária de raças para a conservação baseadas nas estimativas das distâncias genéticas entre as populações, sendo estas calculadas em função das freqüências alélicas (Laval *et al.*, 2000; Canon *et al.*, 2001; Reist-Marti *et al.*, 2003; Garcia *et al.*, 2005). As raças tem sido classificadas como prioritárias de acordo com suas contribuições para o total da diversidade observada utilizando o algoritmo de Weitzman (1993; 1998). Esta metodologia, entretanto, não é diretamente aplicável para classificar indivíduos dentro de raças com o propósito de conservação, nem leva em conta a variabilidade genética dentro das raças e o efeito da consangüinidade na distância genética. Garcia *et al.* (2005) desenvolveram um método para apoiar as decisões de conservação que associa as informações intra e interpopulacionais com a metodologia de Weitzman. O método foi testado em um conjunto de raças européias da Espanha e da França apresentando resultados satisfatórios para identificar as raças com as maiores contribuições à diversidade total (Canon *et al.*, 2001).

Recentemente diferentes estudos tem proposto métodos para calcular coeficientes de coancestralidade baseados em dados moleculares (Eding & Meuwissen, 2001; Caballero & Toro, 2002) aplicando a definição de parentesco para marcadores gênicos de Malecot (1948), associado ao conceito de identidade por estado (*identity-by-state*) ao invés da identidade por descendência (*identity-by-descent*) (Caballero & Toro, 2002). Entre outras características, esta metodologia permite a análise individual pela estimativa de um índice médio de parentesco molecular (*Mean Molecular Kinship*) que corresponde à média molecular da coancestralidade entre o indivíduo e todos os demais indivíduos da população a qual o indivíduo pertence. Por causa da sua relação direta com a coancestralidade genealógica, este parâmetro tem

propriedades atraentes que podem ser úteis para a conservação (Eding *et al.*, 2002; Toro *et al.*, 2002; Toro *et al.*, 2003). Esta metodologia foi recentemente utilizada para inferir prioridades ao nível de raças em uma pesquisa desenvolvida em larga escala nas raças bovinas europeias (Consortium, 2006). Entretanto nenhuma tentativa específica foi feita com o intuito de medir a diversidade individual para decidir a respeito da priorização de animais para a conservação dentro de uma raça.

O conhecimento a respeito da composição genética das raças localmente adaptadas no Brasil é pequeno. Estudos no mtDNA evidenciaram a existência de haplótipos taurinos africanos e europeus nas raças crioulas americanas, fato este consistente com os registros históricos (Meirelles *et al.*, 1999; Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona *et al.*, 2003; Mirol *et al.*, 2003; Liron *et al.*, 2006). Recentemente foi realizado um estudo em larga escala sobre os níveis de diversidade genética e as relações filogenéticas de dez raças bovinas criadas no Brasil. Observou-se que existe uma quantidade significativa de variação genética nas populações bovinas locais, que fazem com que estas raças representem um reservatório importante e distinto de diversidade genética para a conservação e o melhoramento genético bovino (Egito *et al.*, 2007, no prelo).

No contexto dos programas de conservação de recursos genéticos animais, testes de designação racial forneceriam uma ferramenta poderosa, embasada cientificamente, para a correta inclusão de animais representativos em determinadas populações ou raças, ao mesmo tempo em que discriminariam os animais puros daqueles que são híbridos. A probabilidade de pertencer a uma população particular ou raça, associada a uma estimativa individual de heterozigosidade observada e o índice médio de parentesco molecular com todos os animais candidatos à conservação, permitiria sugerir uma lista de classificação dos indivíduos que, simultaneamente, satisfizessem à manutenção da máxima de diversidade e a integridade da ascendência racial.

Dado os custos envolvidos na manutenção a longo prazo de rebanhos de animais de grande porte (Núcleos de Conservação *in situ*) ou germoplasma criopreservado, o conceito de estabelecer Bancos de Germoplasma limitados (*core collections*), contendo o máximo da diversidade genética das raças de animais domésticos, é muito atraente, embora ainda seja um campo amplamente inexplorado na genética animal. Na área vegetal, as *Core Collections* são estabelecidas escolhendo acessos, indivíduos ou variedades, com uma mínima semelhança entre si de modo a representar a diversidade genética de uma grande coleção. Este conceito, originalmente proposto por Frankel & Brown (1984), foi amplamente utilizado na conservação recursos genéticos vegetais de várias espécies (Huaman *et al.*, 1999; Malosetti & Abadie, 2001;

Li *et al.*, 2002; Upadhyaya *et al.*, 2002; Balfourier *et al.*, 2007) e foi aceito como uma ferramenta eficiente para a melhoria da conservação e uso de coleções. No caso dos recursos genéticos animais, além da conservação da máxima diversidade genética, é imprescindível a certificação racial dos animais selecionados para compor um Núcleo de Conservação.

Indo além da análise ao nível populacional com finalidade conservacionista para, especificamente, investigar a composição de tais raças locais ao nível individual, e fornecer subsídios para a formação de Núcleos de Conservação, os objetivos deste estudo foram: (a) comparar diferentes metodologias existentes para a alocação de indivíduos em suas populações de origem; (b) avaliar a acurácia, os níveis de confiança e o número de marcadores necessários para realizar estas alocações raciais e (c) propor um método para priorizar indivíduos para a conservação baseado em uma combinação de sua probabilidade de alocação em sua raça de origem, e duas medidas de diversidade genética, a sua heterozigosidade observada e seu índice médio de coancestria molecular em relação a todos os outros animais de sua raça. O método poderia ser utilizado como uma ferramenta complementar para classificar os animais a serem incluídos ou mantidos nos Núcleos de Conservação ou no Banco de Germoplasma Animal, a exemplo das *core collections* existentes para determinadas espécies vegetais, de modo a favorecer a manutenção dos animais mais representativos e com maior diversidade, otimizando a alocação dos recursos (Mariante & Egito, 2002).

Com esta finalidade, foi utilizada uma bateria de 22 locos microssatélites, internacionalmente recomendados pela FAO e pela ISAG (International Society of Animal Genetics), para genotipar um total de 915 animais e realizar os testes de alocação com quatro diferentes metodologias. Os resultados indicam que os métodos baseados na metodologia Bayesiana são geralmente superiores àqueles baseados na frequência alélica, alocando indivíduos as suas prováveis populações com uma alta confiança e acurácia. Além disto, foi possível demonstrar que estes testes, juntamente com as medidas de diversidade genética, podem fornecer um índice de prioridade para a conservação, útil e eficaz para a triagem e a identificação de animais a serem incluídos, excluídos ou mantidos nos programas de conservação quando os recursos são escassos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Animais

Um total de 915 indivíduos representando 10 raças bovinas Brasileiras foi analisado. As raças estudadas podem ser classificadas em três grupos: (a) raças taurinas naturalizadas ou crioulas (Caracu – CAR; Crioulo Lageano – CRL; Curraleiro – CUR; Mocho Nacional – MON e Pantaneiro – PAN); (b) raças taurinas especializadas (Holandês - HOL e Jersey – JER) e (c) raças zebuínas (Gir – GIR; Guzerá - GUZ e Nelore - NEL). A raça Caracu é a única raça crioula que foi objeto de programas de seleção direcionais e possui um livro de registros mais antigo, o qual inclui a raça Mocho Nacional como uma variedade mocha da raça. Para as raças que possuíam informação de pedigree viável, foram selecionados indivíduos não aparentados por pelo menos três gerações. O DNA genômico total foi extraído a partir de amostras sanguíneas utilizando um protocolo não orgânico (Miller *et al.*, 1988).

### 2.2. Genotipagem dos locos microssatélites

Vinte e dois microssatélites foram amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em cinco sistemas multiplexes diferentes onde o *primer forward* de cada microssatélite foi marcado com os fluorocromos 6-FAM, HEX ou NED de acordo com o tamanho esperado dos alelos. A maioria dos locos é utilizada comumente por outros grupos ao redor do mundo tornando possível futuras comparações ou a consolidação de bancos de dados. Detalhes a respeito dos Marcadores utilizados, os sistemas multiplexes e as condições de eletroforese em um seqüenciador automático de DNA, modelo ABI3100, foram publicadas anteriormente (Egito *et al.*, no prelo). Genótipos de oito locos recomendados pelo ISAG (BM2113, ETH10, SPS115, TGLA122, ETH225, TGLA227, INRA23, BM1824) foram calibrados utilizando amostras referência genotipadas no teste de comparação do ISAG de 2005-2006 (D. Grattapaglia, comunicação pessoal). O programa AlleloBin foi utilizado para classificar o tamanho dos microssatélites observados em alelos discretos representativos utilizando o algoritmo de minimização de quadrados mínimos de Idury & Cardon (1997).

### 2.3. Testes de alocação (*Assignment tests*)

As estimativas de diferenciação racial foram calculadas pelas estatísticas F de Wright ( $F_{ST}$ ) utilizando a metodologia de Weir & Cockerman (1984), sendo o valor-P ajustado pelo procedimento de Bonferroni, utilizando o programa FSTAT (Goudet, 2002). Os testes de alocação racial são baseados na probabilidade de que o genótipo multilocos do indivíduo a ser assinalado ocorre em duas ou mais populações candidatas. As probabilidades computacionais estão baseadas na suposição de que todos os locos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e existe equilíbrio de ligação.

Foram utilizadas quatro metodologias para a alocação racial dos indivíduos. A performance dos testes foi comparada pelo resultado observado na análise de indivíduos pertencentes as 10 raças bovinas utilizando-se os dados de frequência alélica observado para cada população e os genótipos multilocos individuais. As quatro metodologias testadas foram: (a) o método baseado na frequência alélica (Paetkau *et al.*, 1995) incorporado ao teste de significância de simulação por exclusão de Cornuet *et al.* (1999); (b) o teste Bayesiano de Rannala & Mountain (1997) também incorporado ao teste de Cornuet *et al.* (1999); (c) o teste de Banks & Eichert (2000) baseado na probabilidade de máxima verossimilhança utilizando a metodologia de *Jackknife* para prover meios empíricos para avaliar os dados iniciais e as chances de correta alocação e (d) o método de agrupamento descrito por Pritchard *et al.* (2000), o qual é totalmente Bayesiano.

As duas primeiras metodologias foram empregadas utilizando-se o programa GENECLASS (Piry *et al.*, 2004). Em ambos os testes utilizou-se o método de simulação por exclusão para se obter a significância e um nível de certeza (valor P) para cada designação individual utilizando a metodologia de *leave one out*. As repetições amostram os indivíduos na base de dados, um por vez, recalculando as frequências alélicas na ausência do genótipo que será assinalado no momento antes de determinar a população mais provável para aquele indivíduo ter se originado. A probabilidade de o indivíduo pertencer a uma população foi calculada pela simulação de 10.000 genótipos (usando a metodologia de reamostragem de Monte Carlo) e computando a frequência observada do genótipo do indivíduo testado na população candidata. O limiar do valor P foi fixado em 0,05.

O terceiro método foi implementado pelo programa WHICHRUN (Banks & Eichert, 2000). O quarto método, de agrupamento, foi realizado pelo programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Os indivíduos foram agrupados em um determinado número de populações e assinalados probabilisticamente a grupos inferidos por metodologia Bayesiana. Os testes foram realizados

com base no modelo de miscigenação (*admixture model*) onde as frequências de alélica foram correlacionadas. Para escolher o número apropriado de populações inferidas, foram realizadas várias análises com k (número de populações inferidas) variando de 2 a 15 e 500.000 interações (período de *burn-in* de 50.000), com 3 repetições independentes cada uma delas. O gráfico de  $\Delta K$  em função de K, indicando o número de populações mais prováveis de comporem a amostra de 915 indivíduos está na figura 4 do capítulo anterior.

Para cada uma das metodologias utilizadas, os testes de alocação racial foram conduzidos de maneira global (com as 10 raças analisadas, i.e. 915 indivíduos) ou mediante o agrupamento das populações em grupos pré-determinados de acordo com sua origem: (a) um grupo formado pelas cinco raças de crioulas de origem taurinas; (b) um grupo formado apenas com as duas raças taurinas especializadas; (c) com todas as sete raças taurinas e (d) apenas com as raças de zebuína.

Uma análise foi realizada para determinar o poder discriminatório relativo entre os locos microssatélites utilizando-se o programa WHICHLOCI (Banks *et al.*, 2003). Esta análise também permite verificar o número necessário de locos para alocar um individual em sua população, testando também a metodologia de designação racial de Banks & Eichert (2000). Foram testadas as combinações entre os locos que forneciam 95%, 99% e 99,9% de acurácia para a discriminação individual nas diferentes populações utilizando os procedimentos de alocação racial por reamostragem empregados no programa WHICHRUN (Banks & Eichert, 2000). A confiança de cada alocação foi realizada com base na estatística do LOD score (*“Log of the odds”*), que consiste em utilizar a estatística da razão de verossimilhança convertida para o logaritmo na base 10, para as duas mais prováveis populações de origem. Um aumento na estringência na alocação foi obtido variando o LOD score de LOD=0 a LOD=3.

#### **2.4. Classificação de indivíduos para inclusão no Banco de Germoplasma Animal**

Para todos os animais de três raças, JER, NEL e PAN, representantes das raças taurina especializada, zebuína e crioula respectivamente, um teste de alocação foi realizado utilizando-se o método Bayesiano implementado no GENECLASS (Piry *et al.*, 2004) para quantificar a probabilidade de cada animal pertencer a sua raça de origem. A distribuição do critério de alocação (probabilidade genotípica) para os indivíduos de uma dada população foi utilizada para definir a probabilidade do indivíduo pertencer à população. Utilizando esta definição, foi possível excluir todas as populações como sendo da original do indivíduo e considerar a possibilidade da

população fonte não ter sido amostrada (Cornuet *et al.*, 1999). Com fins comparativos, a probabilidade de alocação racial dos indivíduos também foi obtida pelo método Bayesiano implementado no programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Nos testes de alocação foram incluídas especificamente as raças relevantes ao teste. Para a raça PAN foram incluídas as raças crioulas CAR, CUR, CRL e MON; para a raça NEL incluiu-se as raças GIR e GUZ, enquanto que na raça JER foi incluída a raça HOL.

Para a probabilidade gerada pelo programa GENECLASS, a nota final de alocação racial (BAS - *Breed Assignment Score*) foi calculada pela subtração da soma de todas as probabilidades diferentes de zero de todas as demais prováveis raças testadas ( $\sum NML$ , onde NML = *Next Most Likely*) da probabilidade da raça de origem (FML de *First Most Likely*) (BAS = FML -  $\sum NML$ ). Desta forma, aqueles animais que apresentam alguma probabilidade maior que zero de pertencer à outra raça, indicativa de recente introgressão ou de origem híbrida, são penalizados e obtêm uma classificação inferior na lista de prioridades para a conservação. No programa STRUCTURE, é estimada a probabilidade do animal pertencer à raça de origem denominada de probabilidade de alocação (PA).

Em seguida foi estimada a heterozigosidade observada total de cada indivíduo (Ind.  $H_{obs}$ ) pela contagem direta da proporção de locos que foram heterozigotos para os 22 locos microssatélites analisados. Um Índice Médio de Parentesco Molecular (MMK), i.e. a coancestralidade molecular média entre cada indivíduo e os demais de sua população (Caballero & Toro, 2002) foi estimada para cada animal utilizando o programa MolKin (Gutiérrez, 2005). Os animais com baixo valor de MMK representam aqueles que possuem um genótipo incomum na população, sendo, desta forma, os mais interessantes para a conservação e a reprodução (maior variabilidade). Para minimizar o MMK, o seu recíproco, ou seja (1-MMK), foi calculado para ser utilizado posteriormente na classificação de prioridades para a conservação.

Finalmente os animais foram classificados por prioridade de conservação pelo cálculo do Índice de Prioridade para a Conservação (CPI *Conservation Priority Index*) que corresponde à combinação das estimativas de integridade racial, a heterozigosidade máxima dentro do indivíduo e a média mínima de coancestralidade molecular em relação a todos os candidatos viáveis para a conservação em sua raça. O CPI foi estimado como sendo  $CPI = BAS + Ind.H_{obs} + (1-MMK)$ .

Visando avaliar a extensão da captura de variabilidade e pureza racial do índice CPI proposto com, foram estimados índices de diversidade genética ( $H_e$ ,  $H_o$ ,  $F_{IS}$  e riqueza alélica) para subgrupos simulados formados assumindo uma seleção dos 50% melhor classificados da população disponível em cada um dos quatro métodos testados (MT):

- MT1 – Classificação dos indivíduos em função da CPI calculada utilizando de forma combinada e simultânea as estimativas de BAS,  $H_{obs}$  e MMK pela fórmula  $CPI = BAS + Ind.H_{obs} + (1-MMK)$ , utilizando na estimativa de BAS o método de alocação racial implementado no GENECLASS;
- MT2 – Classificação em tandem (duas etapas) sendo a primeira baseada na seleção de 50% dos animais melhor classificados exclusivamente com base na estimativa de BAS em uma segunda etapa onde então foram aplicadas as estimativas de diversidade  $Ind.H_{obs}$  e MMK, e o CPI finalmente estimado;
- MT3 – Semelhante a abordagem “MT1” mas com a alocação racial realizada com a metodologia implementada no STRUCTURE (PA) e
- MT4 – Semelhante a abordagem “MT2” mas com a alocação racial realizada com a metodologia implementada no STRUCTURE (PA).

Os quatro métodos foram comparados quanto à captura de variabilidade seja entre si e seja em relação à seleção da população total com base nos valores obtidos das estimativas de diversidade genética obtidas pela ferramenta Microssatélites do Excel (Park, 2001) e pelo programa FSTAT (Goudet, 2002).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Diferenciação Racial

Um total de 278 alelos foi detectado em todos os locos nos 915 animais analisados. A média de alelos por loco foi de 13,2 (variando de 8, para o loco INRA63 a 23, para o TGLA122) (dados não mostrados). As estimativas aos pares de diferenciação genética baseada no modelo infinitésimo ( $F_{ST}$ ) foram todas significativas após as correções de Bonferroni ( $p < 0,01$ ), indicando que todas as raças podem ser consideradas entidades geneticamente independentes (Tabela 1). O  $F_{ST}$  médio para todas as raças comparadas aos pares foi de 0,109 variando de 0,033 a 0,216. Como esperado, os valores maiores foram observados entre as raças zebuínas e taurinas especializadas (ex. JER e GUZ,  $F_{ST} = 0,216$ ) enquanto os menores valores foram vistos entre as raças zebuínas (ex. GUZ e GYR,  $F_{ST} = 0,033$ ) ou quando foram comparadas as raças crioulas taurinas (ex. MON e CRL,  $F_{ST} = 0,034$ ).

Tabela 1. Estimativa aos pares de diferenciação genética e distância genética entre todas as dez raças bovinas Brasileiras. As estimativas de  $F_{ST}$  estão acima na diagonal e abaixo encontra-se a distância genética de Nei ( $D_A$ ). Todas as estimativas de  $F_{ST}$  foram significativas ( $p < 0,01$ ).

	CAR	CRL	CUR	GIR	GUZ	HOL	JER	MON	NEL	PAN
CAR		0,084	0,068	0,178	0,193	0,105	0,118	0,047	0,185	0,062
CRL	0,153		0,045	0,103	0,117	0,075	0,103	0,034	0,120	0,042
CUR	0,124	0,099		0,141	0,157	0,079	0,095	0,041	0,157	0,036
GIR	0,326	0,180	0,220		0,033	0,190	0,210	0,125	0,051	0,106
GUZ	0,330	0,185	0,232	0,086		0,197	0,216	0,137	0,048	0,122
HOL	0,185	0,153	0,175	0,343	0,345		0,083	0,059	0,197	0,077
JER	0,209	0,191	0,194	0,368	0,377	0,156		0,076	0,215	0,081
MON	0,100	0,086	0,105	0,238	0,254	0,147	0,168		0,138	0,036
NEL	0,346	0,210	0,263	0,108	0,103	0,376	0,382	0,275		0,125
PAN	0,133	0,088	0,084	0,194	0,199	0,179	0,175	0,088	0,232	

### 3.1. Testes de alocação racial

Todos os 22 marcadores microssatélite foram utilizados nos testes de alocação racial. As porcentagens de indivíduos assinalados às suas raças de origem foram geralmente altas, acima de 87% para todos os métodos e todos os grupos analisados, a única exceção foi observada para o método baseado na frequência, implementado pelo software de GENECLASS, que teve o desempenho mais pobre. Os três métodos Bayesianos foram similarmente eficientes, com um desempenho de alocação ligeiramente superior obtido com o método implementado pelo software de WHICHRUN nos grupos onde as raças crioulas estavam inseridas, i.e. raças com menor diferenciação genética (Tabela 2). Quando todas as dez raças foram consideradas em conjunto, o método implementado pelo WHICHRUN foi melhor, tendo alocado 91,79% dos animais às suas respectivas raças. Quando o conjunto de raças taurinas ou só as raças crioulas foram consideradas o desempenho caiu para aproximadamente 90%, provavelmente devido aos níveis reduzidos de diferenciação das raças dentro destes grupos e a presença de animais híbridos. Quando foram consideradas apenas as raças taurinas especializadas (HOL e JER), o desempenho da alocação racial foi superior a 98,7% para todos os três métodos Bayesianos. Finalmente quando só as três raças de zebuína foram analisadas, aproximadamente 95% dos animais foram alocados às designações raciais originais utilizando o método do STRUCTURE embora o GENECLASS e métodos de WHICHRUN tenham sido quase igualmente eficientes.

Tabela 2. Porcentagem de indivíduos alocados às suas populações de origem utilizando quatro diferentes metodologias para alocação baseada na genotipagem de 22 locos microssatélites. Foram estudadas dez raças bovinas brasileiras e os testes de alocação foram realizados com diferentes agrupamentos raciais.

Grupos	GENECLASS		WHICHRUN	STRUCTURE
	Frequência	Bayesiano		
Entre as 10 raças (n = 915)	86,40	90,10	91,79	89,40
Raças crioulas (n = 469)	83,40	87,20	88,9	85,93
Raças taurinas (n = 623)	85,10	87,60	90,73	88,60
Raças taurinas especializadas (n = 154)	100,00	100,00	98,7	98,70
Raças zebuínas (n = 292)	93,20	94,20	94,26	95,55

Quando todos os 915 animais foram alocados às suas respectivas raças de origem as maiores proporções de animais alocados à designação racial original foram observadas nas raças taurinas especializadas e na raça Nelore (Tabela 3). O desempenho dos três métodos de Bayesianos na alocação de animais às suas raças respectivas foi novamente bem parecido, com uma ligeira vantagem dos métodos implementados no GENECLASS e no WHICHRUN, especificamente no caso das raças crioulas CRL, CUR, MON e PAN onde, geralmente, foram observadas as menores proporções de alocações corretas.

Tabela 3. Número (e porcentagem) de indivíduos alocados às suas raças originais utilizando quatro diferentes metodologias de alocação racial baseadas em genótipos obtidos a partir de 22 microssatélites.

Raça	N total/raça	GENECLASS		WHICHRUN	STRUCTURE
		Frequência	Bayesiano		
CAR	77	66 (85,71)	71 (92,21)	72 (93,51)	71 (92,21)
CRL	100	96 (96,00)	95 (95,00)	93 (93,00)	91 (91,00)
CUR	99	74 (77,75)	86 (86,87)	81 (81,82)	81 (81,82)
MON	97	83 (85,57)	85 (87,63)	83 (85,57)	78 (80,41)
PAN	96	81 (84,37)	84 (87,50)	87 (90,63)	81 (84,37)
HOL	100	91 (91,00)	87 (87,00)	98 (98,00)	98 (98,00)
JER	54	49 (90,74)	49 (90,74)	50 (92,59)	52 (96,30)
NEL	94	86 (91,49)	86 (91,49)	86 (91,49)	92 (97,87)
GIR	98	93 (94,90)	91 (92,86)	91 (92,86)	90 (91,84)
GUZ	100	92 (92,00)	90 (90,00)	93 (93,00)	94 (94,00)

As corridas efetuadas com a inferência de duas a quinze populações com três corridas independentes cada, implementadas pelo programa STRUCTURE, demonstraram que com  $k=10$ , i.e. dez populações, o número de agrupamentos observados para o conjunto de 915 indivíduos foi o mais adequado (Figura 4 do capítulo anterior). As probabilidades de agrupamento calculadas para as dez raças bovinas correspondem às dez populações geneticamente diferentes inferidas pelo método Bayesiano (Tabela 4). As maiores probabilidades de agrupamento, acima de 85%, foram observadas nas duas raças taurinas especializadas assim como na raça zebuína NEL, consistente com a história manejo genético e provavelmente de maior homogeneidade racial. Por outro lado, os valores mais baixos, ao redor de 70 a 75% foram obtidos para as raças crioulas, que possuem uma composição racial mais miscigenada. As raças GUZ, GIR e CAR apresentaram uma posição intermediária.

Tabela 4. Alocação individual estimada para as 10 raças bovinas brasileiras a partir das probabilidades de máxima verossimilhança obtidas pela análise Bayesiana implementada no programa STRUCTURE.

Raça	Populações Inferidas ( $k=10$ )									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CAR	<b>0,832</b>	0,024	0,020	0,038	0,026	0,027	0,018	0,005	0,005	0,005
PAN	0,035	<b>0,647</b>	0,059	0,076	0,057	0,015	0,024	0,038	0,027	0,021
CRL	0,017	0,055	<b>0,734</b>	0,043	0,030	0,033	0,020	0,026	0,021	0,022
MON	0,095	0,055	0,059	<b>0,683</b>	0,028	0,034	0,020	0,009	0,009	0,007
CUR	0,051	0,064	0,051	0,059	<b>0,700</b>	0,012	0,013	0,014	0,023	0,012
HOL	0,011	0,018	0,017	0,017	0,016	<b>0,865</b>	0,031	0,005	0,009	0,011
JER	0,011	0,031	0,021	0,015	0,015	0,026	<b>0,859</b>	0,009	0,007	0,007
NEL	0,006	0,008	0,009	0,007	0,006	0,005	0,006	<b>0,878</b>	0,040	0,036
GIR	0,009	0,013	0,015	0,017	0,009	0,006	0,006	0,072	<b>0,795</b>	0,059
GUZ	0,008	0,011	0,008	0,008	0,006	0,008	0,007	0,045	0,077	<b>0,821</b>

### 3.3. Locos microssatélites na alocação racial

Utilizando o programa WHICHLOCI foi possível estimar o número mínimo de locos microssatélites necessários para a alocação racial em diferentes grupos pré-estabelecidos de acordo com sua origem. Por este programa a escolha e classificação dos microssatélites que

melhor inferem a respeito da alocação dos indivíduos às suas populações podem ser obtidas por duas metodologias: pelo método Bayesiano do WHICHRUN (WRN) ou pelo método de frequência alélica diferencial (AFD). Não foi observada nenhuma diferença na proporção de animais alocados às suas populações de origem quando estas duas metodologias foram comparadas. De uma maneira geral, uma ligeira diminuição no número de marcadores necessários para a correta alocação dos indivíduos foi observada quando o LOD score foi reduzido de 3,0 para 1,0 quando a análise foi realizada com uma acurácia mínima de 95%. Para acurácias superiores a 99% são necessários todos os 22 marcadores, a menos que a alocação seja efetuada dentro do grupo de raças taurinas especializadas. Dentro deste grupo, a redução do número de marcadores necessários foi considerável, de 14 para 8 quando a precisão da estimativa foi reduzida de 99% para 95%, porém uma proporção ligeiramente menor de indivíduos foi alocada às suas raças originais, de 99,2% para 95,2%. Além disso, quando uma alocação menos acurada foi testada com o mesmo número de marcadores observou-se um aumento quase irrelevante na proporção de animais corretamente assinalados (Tabela 5).

Se todos os 22 marcadores microssatélite forem utilizados, mais de 94% dos animais podem ser alocados às suas respectivas raças de origem quando a metodologia de alocação individual implementada foi a de escolha da população mais provável, sem indicação prévia da população original. Para esta alocação o nível de confiança foi fixado em um LOD = 2, i.e., os dados genéticos observados são 100 vezes mais prováveis, condicional a hipótese do animal pertencer à raça em que foi alocado (Tabela 5). Elevando o nível de estringência a um LOD =3, (i.e. os dados genéticos 1000 vezes mais prováveis e mantendo a precisão em 99,9%), a proporção de animais alocados às suas populações originais cai, mas ainda permanece acima dos 85% quando todas as dez raças foram consideradas em conjunto. Quando apenas as raças crioulas foram consideradas na análise, com o mesmo grau de estringência anterior, este valor cai para um patamar um pouco superior a 79%, demonstrando a dificuldade de alocação racial em populações com um grau de diferenciação genética menor e com uma possível composição híbrida.

Ainda com um LOD 3, dentro do grupo zebuino a alocação correta alcançou 88% quando as três raças foram analisadas em conjunto ou quando esta análise foi realizada apenas com duas raças (GIR x GUZ ou GIR x NEL). Quando somente as duas raças taurinas especializadas foram levadas em consideração foi possível observar uma correta alocação individual com um LOD 3 = 100%, confirmando a pureza racial destas populações e sua diferenciação genética, resultado de práticas de manejo extremamente controladas. Com um acurácia de 95%, para o conjunto de dados formado pelas dez raças bovinas ou quando foram

consideradas apenas as raças crioulas, não foi observada nenhuma diferença no número de locos necessários e na proporção de indivíduos alocados às suas populações originais com LODs escores de 2 e 3. Todos os 22 marcadores são necessários para alcançar este patamar. Porém, com LOD=1, i.e. os dados genéticos só 10 vezes mais prováveis, o número marcadores necessários para a alocação racial cai de 22 para 17 (Tabela 5).

Se um nível de confiança muito relaxado (como um LOD = 0, i.e. a probabilidade do animal pertencer a qualquer uma das raças é a mesma) for aceitável, mais de 95% dos animais poderiam ser alocados às suas raças de origem utilizando-se menos de 12 microssatélite com uma acurácia de 95%. Especificamente no caso de animais das duas raças taurinas especializadas o número necessário de locos cai apenas para dois, enquanto que para as três raças zebuínas apenas cinco locos seriam necessários e para o conjunto formado com as dez raças apenas nove locos seriam suficientes. Ainda a LOD=0 seriam necessários doze locos para assinalar os animais dentro do grupo de raças crioulas (dados não mostrados). Com um LOD = 1 são necessários seis marcadores para alocar um indivíduo a quaisquer das duas raças taurinas especializadas, 12 locos para alocar um indivíduo dentro do grupo das três raças zebuínas e 19 locos dentro do grupo das cinco raças crioulas (Tabela 5).

### 3.4. Classificação individual para a conservação

Uma classificação baseada no Índice de Prioridade para a Conservação (CPI), baseada nas probabilidades de alocação racial implementadas em dois programas distintos (GENECLASS e STRUCUTURE), foi construída para três das dez raças estudadas (JER, NEL e PAN) para avaliar a viabilidade da metodologia na seleção de indivíduos para compor um Núcleo de Conservação (Tabelas 6 a 11). Nos testes de alocação da raça PAN foram incluídas as raças crioulas CAR, CUR, CRL e MON; para a raça NEL incluiu-se as raças GIR e GUZ, enquanto que na raça JER foi incluída a raça HOL.

A média da heterozigosidade individual observada dentro de cada raça variou ligeiramente sendo que a raça PAN apresentou um valor superior de  $H_{obs}$  de 0,72; NEL de 0,65 e JER de 0,63. A variação dos  $H_{obs}$  foi de 0,4290 a 0,955 para PAN, 0,4211 a 0,9 para NEL e 0,333 a 0,9048 para JER.

Os valores de probabilidades de alocação racial individual pelo método Bayesiano implementado no GENECLASS (Rannala & Mountain, 1997, associado ao teste de significância por exclusão de Cornuet *et al.*, 1999) foram semelhantes para as três raças, entre 0,000 e 0,982 para animais da raça PAN, entre 0,001 e 0,9520 para a NEL e 0,000 e 0,9316 para a JER. Em

Tabela 5. Poder discriminatório relativo dos diferentes locos microssatélites para a alocação de indivíduos às suas raças de origem em diferentes grupos populacionais com níveis variáveis de Estringência (LOD escores), níveis mínimos de acurácia (95%, 99% e 99,9%) e duas metodologias de classificação dos locos (LRM): WRA = alocação Bayesiana implementada no WhichRun e AFD = Frequência alélica diferencial; N – Número de locos necessários; CA (%) – porcentagem de animais corretamente alocados; NCA (%) - porcentagem de animais não alocados corretamente devido à estringência.

		95%									99%									99,9%								
		Estringência da Alocação																										
Grupos	LRM	LOD 1			LOD 2			LOD 3			LOD 1			LOD 2			LOD 3			LOD 1			LOD 2			LOD 3		
		N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)	N	CA (%)	NCA (%)
Raças locais (n=5)	WRA	19	96,4	2,8	22	91,0	8,2	22	79,6	19,2	22	97,2	2,6	22	91,0	8,2	22	79,6	19,2	22	96,5	2,2	22	91,8	7,0	22	79,6	19,2
	AFD	19	95,4	3,6	22	90,9	7,9	22	79,6	19,2	22	97,2	2,6	22	90,9	7,9	22	79,6	19,2	22	96,5	2,2	22	91,8	7,0	22	79,6	19,2
Raças taurinas (n=7)	WRA	17	96,0	2,7	22	93,3	6,1	22	85,2	14,2	22	98,0	1,6	22	93,3	6,1	22	85,2	14,2	22	99,1	0,3	22	94,6	4,7	22	85,6	13,7
	AFD	18	96,0	3,4	22	93,3	6,1	22	85,2	14,2	22	98,0	1,6	22	93,3	6,1	22	85,2	14,2	22	99,1	0,3	22	94,6	4,7	22	85,6	13,7
Raças taurinas especializadas (n=2)	WRA	6	95,5	3,5	8	95,2	4,7	16	96,3	3,7	8	99,0	0,5	14	99,2	0,7	22	98,6	1,9	11	100,0	0,0	17	100,0	0,0	22	99,0	1,0
	AFD	7	96,5	3,0	9	95,7	4,1	12	95,8	4,1	9	99,0	0,5	14	99,4	0,6	19	99,2	0,8	14	100,0	0,0	16	100,0	0,0	19	100,0	0,0
Raças zebuínas (n=3)	WRA	12	95,7	2,7	22	93,8	5,5	22	85,7	13,7	22	97,3	1,3	22	93,8	5,5	22	85,7	13,7	22	98,4	0,9	22	95,3	4,7	22	88,7	11,3
	AFD	13	95,0	3,7	22	93,8	5,5	22	85,7	13,7	22	97,3	1,3	22	93,8	5,5	22	85,7	13,7	22	98,4	0,9	22	95,3	4,7	22	88,7	11,3
Entre as raças GIR x GUZ (n=2)	WRA	13	95,0	3,5	22	93,5	6,0	22	87,2	12,0	22	98,5	1,0	22	95,6	3,9	22	89,8	9,7	22	98,0	1,5	22	94,5	5,0	22	88,0	11,5
	AFD	11	95,5	3,5	22	93,5	6,0	22	87,2	12,0	22	98,5	1,0	22	95,6	3,9	22	89,8	9,7	22	98,0	1,5	22	94,5	5,0	22	88,0	11,5
Entre as raças GIR x NEL (n=2)	WRA	10	95,5	3,5	18	95,0	4,5	22	93,5	6,5	20	99,0	1,0	22	96,0	4,0	22	93,5	6,5	22	98,5	0,5	22	96,0	3,0	22	90,5	8,5
	AFD	9	95,5	3,0	17	95,5	4,0	22	93,5	6,5	19	99,0	1,0	22	96,0	4,0	22	93,5	6,5	22	98,5	0,5	22	96,0	3,0	22	90,5	8,5
Todas as raças (n=10)	WRA	17	95,1	3,4	22	94,5	4,7	22	85,7	4,7	22	97,3	2,0	22	94,5	4,7	22	85,7	13,5	22	99,0	0,0	22	94,2	5,1	22	85,2	14,1
	AFD	17	95,5	2,8	22	94,5	4,7	22	85,7	4,7	22	97,3	2,0	22	94,5	4,7	22	85,7	13,5	22	99,4	0,1	22	94,2	5,1	22	85,2	14,1

todas as três raças ocorreram animais que embora pertencessem as suas raças de origem esperadas possuíam uma probabilidade muito baixa (p.ex., NEL35) ou não puderam ser alocados em nenhuma das raças amostradas (probabilidade igual a 0,00; p.ex., PAN10, JER30) (Tabelas 12 e 14). As notas de alocação racial (BAS) também variaram por raça devido à existência de animais que demonstraram uma probabilidade quase igual de serem derivados de uma segunda raça quando comparados à probabilidade de serem derivados de suas raças de origem, p.ex. NEL92 (0,5380 vs 0,6320) (Tabela 13). Valores negativos de BAS foram obtidos nos indivíduos que possuíam uma maior proporção de pertencerem a outras populações que não às suas de origem (Tabelas 12 e 13).

Os valores de alocação racial (PA) observados no programa STRUCTURE variaram de 0,013 a 0,975; de 0,335 a 0,987 e de 0,036 a 0,985 nas raças PAN, NEL e JER, respectivamente (Tabelas 15 a 17). Quando foi realizada uma comparação entre as duas metodologias de alocação racial verificou-se uma diferença entre os indivíduos alocados no primeiro quartil por esta metodologia quando comparada com a alocação implementada pelo GENECLASS em todas as raças analisadas. Na raça PAN, quatro indivíduos classificados no primeiro quartil na análise pelo STRUCTURE (Tabela 15) estavam localizados no terceiro e quarto quartis no teste implementado pelo GENECLASS (PAN103, PAN159, PAN146 e PAN017; Tabela 12). Da mesma forma, na raça NEL, 6 indivíduos estavam localizados na metade inferior da classificação pelo BAS (Tabela 13 x Tabela 16), enquanto que na raça JER, dois dos animais que apareceram com PAs superiores (1º. quartil, Tabela 17) estavam localizados no último quartil na classificação pelo BAS (Tabela 14). Estes indivíduos foram os que possuíam valores nulos ou muito inferiores em sua alocação racial a uma das populações amostradas na designação racial efetuada pelo GENECLASS. Ao contrário das análises realizadas no STRUCTURE, as análises implementadas pelo programa GENECLASS têm a capacidade de não alocar um indivíduo a uma possível raça quando a sua provável raça de origem não foi amostrada ou não faz parte do “pool” utilizado nas análises.

O índice médio de parentesco molecular (MMK) variou em níveis similares para as três raças, entre 0,723 e 0,850 para o PAN, de 0,648 a 0,794 para o NEL e de 0,647 a 0,802 para o JER. Consistente com a heterozigosidade observada mais baixa, as raças JER e NEL, mais intensivamente manejadas, apresentaram os MMKs superiores a raça PAN.

O CPI foi estimado para ambas metodologias de alocação demonstrando uma ampla variação. Com a técnica implementada no GENECLASS variou de 0,764 a 2,376 com uma média de 1,798 para o PAN; 1,166 a 2,239 com uma média de 1,628 para o NEL e 1,201 a 2,102 e média de 1,672 para o JER enquanto que com o STRUCTURE os CPIs variaram de 1,24 a

2,67 com uma média de 2,223 para o PAN; 1,735 a 2,61 com uma média de 2,279 para o NEL e 1,539 a 2,484 e média de 2,189 para o JER (Tabelas 6 a 11). Esta variação no CPI baseada na alocação implementada pelo GENECLASS foi devida, principalmente, aos animais que não se qualificaram em suas raças de origem no teste de alocação, como o animal PAN063 que apresentou uma probabilidade mais alta de pertencer à raça CRL do que a raça PAN (Tabela 6). Enquanto na raça PAN alguns animais apresentaram uma alta probabilidade de pertencer a uma outra raça que não a sua (e.g. PAN019, PAN138, PAN90, PAN133), na raça NEL apenas um animal apresentou esta possibilidade (NEL092), e na raça JER não foi observado nenhum caso semelhante. Os valores de CPI mais altos na segunda metodologia foram em função dos valores da probabilidade de alocação que no STRUCTURE é dada em porcentagem em relação a todas as raças incluídas na análise, cuja somatória equivale a 100%.

A avaliação das quatro metodologias de definição de seleção de animais para priorização de conservação revelou inicialmente que, embora os valores absolutos das estimativas de CPI observados para as três raças analisadas sejam diferentes, provavelmente em função das respectivas constituições raciais, o padrão observado foi similar (Tabela 18). Os subgrupos selecionados de 50% formados a partir da alocação racial realizada com base no PA pelo programa STRUCTURE apresentam uma riqueza alélica superior quando comparada com o aqueles formados com a alocação racial realizada com a abordagem Bayesiana do GENECLASS. Entretanto estes valores refletem a inclusão de alelos que não são originais das raças analisadas pela inclusão de animais pela metodologia implementada no STRUCTURE que comparativamente obtiveram valores baixos de alocação racial em sua própria raça pela abordagem mais rigorosa implementada pelo GENECLASS. Da mesma forma a riqueza alélica superior da população total também é devida à presença de alelos que provavelmente pertençam a outras populações que não as dos indivíduos originais. Este resultado deriva do fato que a metodologia de alocação racial implementada pelo programa STRUCTURE é incapaz de deixar de alocar um animal cuja raça não é incluída no teste, gerando assim valores elevados de alocação mesmo para animais cuja pureza racial é altamente questionável. Sendo assim a alocação racial pelo STRUCTURE deve ser considerada com cautela.

Os valores de redução de heterozigidade devido ao efeito de cruzamentos aparentados dentro de populações ( $F_{IS}$ ) obtidos com as metodologias que utilizam valores de CPI estimado pela consolidação simultânea das notas de alocação e diversidade (MT1 e MT3) foram marcadamente inferiores aos valores estimados para a população como um todo e também inferiores áqueles estimados pelas metodologias MT2 e MT4 implementadas com a alocação pelo software STRUCTURE (Tabela 18). Para a raça PAN as estimativas de  $F_{IS}$  foram

respectivamente de 0,015 , 0,037 e 0,076 para os métodos MT1, MT3 e população total. Para a raça NEL 0,048, 0,044 e 0,096 , e para a JER de 0,039; 0,051 e 0,121. Os valores de heterozigosidade total observada utilizando a metodologia 1 (MT1) foram superiores àqueles estimados para o conjunto formado por todos os animais de cada raça (Tabela 18). Estes resultados indicam que os métodos baseados na alocação racial pelo GENECLASS e que realizam a estimativa do CPI consolidando simultaneamente as notas de alocação e os índices de diversidade ( $H_{obs}$  e MMK) são superiores aos métodos de seleção em tandem ao se objetivar a seleção de grupos de animais que simultaneamente satisfaçam requisitos de pureza racial e máxima variabilidade.

Tabela 6. Classificação dos animais da raça Pantaneira pelo Índice de Prioridade para a Conservação (*Conservation Priority Index - CPI*) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (*breed assignment score - BAS*), a heterozigosidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada. A CPI foi estimada pela formula  $CPI = BAS + Ind.H_{obs} + (1-MMK)$ .

Animal ID	Probabilidade de alocação					BAS	Ind.H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
	CAR	CRL	CUR	MON	PAN				
PAN156	0,000	0,036	0,015	0,000	0,807	0,756	0,850	0,770	2,376
PAN073	0,000	0,024	0,005	0,000	0,766	0,737	0,864	0,775	2,375
PAN128	0,000	0,007	0,001	0,000	0,628	0,620	0,955	0,781	2,356
PAN064	0,002	0,001	0,005	0,004	0,886	0,874	0,727	0,754	2,355
PAN056	0,000	0,002	0,003	0,000	0,901	0,896	0,682	0,742	2,320
PAN006	0,000	0,001	0,000	0,000	0,859	0,858	0,700	0,737	2,295
PAN062	0,001	0,002	0,003	0,014	0,738	0,718	0,800	0,748	2,266
PAN112	0,000	0,001	0,000	0,000	0,835	0,834	0,682	0,748	2,264
PAN089	0,000	0,020	0,003	0,000	0,939	0,916	0,591	0,731	2,237
PAN153	0,000	0,000	0,003	0,000	0,852	0,849	0,636	0,735	2,220
PAN015	0,000	0,000	0,000	0,004	0,608	0,604	0,818	0,776	2,198
PAN162	0,000	0,001	0,004	0,000	0,812	0,807	0,636	0,750	2,193
PAN046	0,000	0,001	0,003	0,004	0,770	0,762	0,636	0,764	2,163
PAN093	0,000	0,001	0,003	0,000	0,782	0,778	0,636	0,738	2,152
PAN076	0,000	0,001	0,000	0,000	0,448	0,447	0,909	0,789	2,145
PAN102	0,000	0,055	0,005	0,012	0,671	0,599	0,762	0,764	2,125
PAN100	0,002	0,136	0,048	0,023	0,898	0,689	0,682	0,748	2,119
PAN069	0,000	0,055	0,028	0,009	0,725	0,633	0,727	0,756	2,116
PAN045	0,000	0,016	0,113	0,080	0,758	0,549	0,818	0,748	2,115
PAN042	0,000	0,023	0,001	0,004	0,788	0,760	0,591	0,758	2,109
PAN160	0,000	0,039	0,111	0,002	0,777	0,625	0,714	0,741	2,080
PAN084	0,000	0,103	0,126	0,021	0,806	0,556	0,727	0,758	2,041
PAN091	0,000	0,025	0,019	0,013	0,711	0,654	0,636	0,750	2,040
PAN065	0,000	0,015	0,003	0,005	0,555	0,532	0,727	0,777	2,037
PAN060	0,000	0,000	0,004	0,008	0,695	0,683	0,600	0,743	2,026
PAN131	0,000	0,263	0,022	0,009	0,910	0,616	0,636	0,740	1,992
PAN040	0,000	0,001	0,004	0,076	0,629	0,548	0,706	0,728	1,981
PAN157	0,000	0,037	0,026	0,000	0,447	0,384	0,773	0,768	1,925
PAN109	0,000	0,076	0,019	0,096	0,625	0,434	0,727	0,756	1,917
PAN118	0,000	0,000	0,056	0,000	0,261	0,205	0,909	0,796	1,910
PAN154	0,000	0,001	0,000	0,000	0,376	0,375	0,727	0,788	1,891
PAN083	0,000	0,136	0,001	0,000	0,650	0,513	0,632	0,742	1,886
PAN068	0,000	0,005	0,001	0,000	0,497	0,491	0,636	0,755	1,882
PAN163	0,000	0,007	0,003	0,004	0,402	0,388	0,727	0,764	1,880
PAN119	0,000	0,018	0,003	0,045	0,381	0,315	0,773	0,786	1,873
PAN143	0,000	0,001	0,027	0,004	0,246	0,214	0,864	0,785	1,862
PAN005	0,000	0,001	0,009	0,000	0,352	0,342	0,727	0,786	1,856
PAN079	0,000	0,000	0,000	0,000	0,459	0,459	0,636	0,753	1,849
PAN074	0,000	0,053	0,038	0,017	0,505	0,397	0,667	0,774	1,837
PAN067	0,000	0,005	0,059	0,000	0,302	0,238	0,810	0,778	1,825
PAN087	0,000	0,000	0,000	0,000	0,268	0,268	0,773	0,783	1,824
PAN054	0,000	0,000	0,001	0,000	0,326	0,325	0,714	0,780	1,819
PAN123	0,000	0,010	0,005	0,033	0,309	0,261	0,773	0,783	1,817
PAN142	0,000	0,001	0,003	0,008	0,209	0,197	0,818	0,798	1,813

PAN103	0,000	0,000	0,000	0,000	0,184	0,184	0,810	0,811	1,804
PAN080	0,081	0,015	0,043	0,558	0,876	0,179	0,857	0,759	1,795
PAN072	0,000	0,000	0,002	0,000	0,105	0,103	0,857	0,819	1,779
PAN106	0,000	0,000	0,001	0,000	0,279	0,278	0,737	0,757	1,772
PAN101	0,017	0,036	0,420	0,127	0,982	0,382	0,667	0,723	1,772
PAN041	0,000	0,000	0,000	0,000	0,207	0,207	0,773	0,786	1,766
PAN159	0,000	0,000	0,000	0,000	0,192	0,192	0,762	0,805	1,759
PAN161	0,000	0,001	0,006	0,000	0,370	0,363	0,636	0,757	1,757
PAN140	0,000	0,000	0,000	0,000	0,112	0,112	0,818	0,801	1,731
PAN085	0,000	0,000	0,001	0,000	0,174	0,173	0,762	0,794	1,729
PAN146	0,000	0,000	0,000	0,000	0,213	0,213	0,714	0,791	1,719
PAN019	0,000	0,152	0,029	0,045	0,260	0,034	0,895	0,784	1,713
PAN144	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,032	0,864	0,815	1,710
PAN078	0,000	0,000	0,000	0,000	0,057	0,057	0,818	0,819	1,694
PAN124	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,022	0,857	0,802	1,681
PAN137	0,000	0,001	0,000	0,000	0,069	0,068	0,810	0,802	1,680
PAN081	0,000	0,001	0,000	0,000	0,326	0,325	0,591	0,764	1,680
PAN097	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,003	0,833	0,829	1,665
PAN088	0,000	0,004	0,000	0,000	0,271	0,267	0,619	0,773	1,659
PAN057	0,000	0,000	0,000	0,000	0,219	0,219	0,647	0,787	1,653
PAN138	0,000	0,559	0,072	0,002	0,738	0,105	0,778	0,766	1,649
PAN004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,773	0,850	1,624
PAN075	0,000	0,000	0,000	0,000	0,306	0,306	0,546	0,770	1,621
PAN002	0,000	0,024	0,001	0,000	0,024	-0,001	0,818	0,803	1,620
PAN149	0,000	0,034	0,003	0,005	0,203	0,161	0,682	0,772	1,615
PAN001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,006	0,773	0,832	1,611
PAN096	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,009	0,800	0,801	1,610
PAN095	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,005	0,773	0,830	1,607
PAN051	0,000	0,000	0,001	0,001	0,063	0,061	0,762	0,782	1,605
PAN150	0,000	0,000	0,003	0,000	0,062	0,059	0,750	0,791	1,600
PAN059	0,000	0,002	0,000	0,000	0,066	0,064	0,750	0,784	1,598
PAN008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,003	0,773	0,808	1,584
PAN139	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,008	0,722	0,834	1,564
PAN003	0,000	0,011	0,000	0,000	0,011	0,000	0,773	0,790	1,563
PAN147	0,000	0,000	0,000	0,011	0,041	0,030	0,714	0,816	1,560
PAN121	0,000	0,000	0,000	0,008	0,080	0,072	0,682	0,779	1,533
PAN010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,700	0,829	1,529
PAN014	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,010	0,714	0,796	1,520
PAN017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,667	0,835	1,503
PAN016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,020	0,682	0,790	1,492
PAN007	0,000	0,032	0,001	0,000	0,108	0,075	0,636	0,777	1,489
PAN009	0,000	0,006	0,000	0,000	0,071	0,065	0,619	0,802	1,486
PAN108	0,000	0,000	0,052	0,000	0,153	0,101	0,591	0,785	1,477
PAN133	0,001	0,062	0,069	0,161	0,288	-0,005	0,700	0,774	1,469
PAN164	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,004	0,636	0,823	1,464
PAN044	0,000	0,001	0,000	0,000	0,013	0,012	0,619	0,806	1,437
PAN013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,043	0,043	0,600	0,784	1,427
PAN032	0,000	0,000	0,000	0,001	0,064	0,063	0,500	0,798	1,361
PAN090	0,001	0,388	0,025	0,254	0,595	-0,073	0,650	0,759	1,336
PAN141	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,500	0,828	1,328
PAN092	0,000	0,091	0,003	0,507	0,207	-0,394	0,682	0,770	1,058
PAN063	0,000	0,484	0,002	0,012	0,031	-0,467	0,429	0,802	0,764

Tabela 7. Classificação dos animais da raça Nelore pelo Índice de Prioridade para a Conservação (*Conservation Priority Index* - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (*breed assignment score* - BAS), a heterozigosidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada. A CPI foi estimada pela formula  $CPI = BAS + Ind.H_{obs} + (1-MMK)$ .

Animal ID	Probabilidade de alocação			BAS	Ind, H <sub>obs</sub>	1 - MMK	CPI
	GYR	GUZ	NEL				
NEL102	0,000	0,023	0,855	0,832	0,727	0,680	2,239
NEL027	0,001	0,193	0,881	0,687	0,773	0,691	2,150
NEL104	0,014	0,085	0,952	0,853	0,619	0,648	2,120
NEL109	0,018	0,067	0,805	0,720	0,714	0,682	2,116
NEL049	0,009	0,014	0,828	0,805	0,591	0,673	2,069
NEL057	0,006	0,044	0,771	0,721	0,571	0,669	1,961
NEL100	0,046	0,002	0,708	0,660	0,600	0,699	1,959
NEL050	0,018	0,013	0,563	0,532	0,737	0,686	1,955
NEL054	0,011	0,071	0,722	0,640	0,632	0,682	1,954
NEL074	0,001	0,010	0,551	0,540	0,682	0,698	1,920
NEL072	0,002	0,000	0,614	0,612	0,600	0,705	1,917
NEL653	0,002	0,026	0,702	0,674	0,550	0,689	1,913
NEL070	0,000	0,005	0,374	0,369	0,818	0,710	1,897
NEL081	0,024	0,232	0,849	0,593	0,619	0,677	1,889
NEL123	0,108	0,056	0,533	0,369	0,765	0,742	1,876
NEL097	0,000	0,023	0,551	0,528	0,636	0,699	1,864
NEL082	0,000	0,002	0,492	0,490	0,682	0,690	1,862
NEL013	0,000	0,114	0,498	0,384	0,773	0,694	1,850
NEL029	0,001	0,067	0,590	0,522	0,636	0,682	1,840
NEL003	0,000	0,004	0,445	0,441	0,706	0,668	1,815
NEL080	0,000	0,005	0,306	0,301	0,773	0,721	1,794
NEL090	0,174	0,018	0,516	0,324	0,750	0,706	1,780
NEL084	0,001	0,002	0,502	0,499	0,591	0,685	1,775
NEL069	0,000	0,057	0,503	0,446	0,636	0,692	1,774
NEL062	0,024	0,063	0,526	0,439	0,650	0,685	1,774
NEL093	0,002	0,011	0,488	0,475	0,591	0,685	1,751
NEL060	0,003	0,430	0,909	0,476	0,619	0,655	1,750
NEL110	0,000	0,000	0,072	0,072	0,900	0,756	1,728
NEL107	0,010	0,015	0,464	0,439	0,571	0,699	1,709
NEL125	0,001	0,015	0,367	0,351	0,636	0,721	1,708
NEL105	0,000	0,002	0,358	0,356	0,636	0,715	1,708
NEL131	0,006	0,020	0,320	0,294	0,684	0,719	1,697
NEL063	0,000	0,000	0,196	0,196	0,750	0,732	1,678
NEL086	0,002	0,000	0,392	0,390	0,571	0,689	1,651
NEL079	0,005	0,015	0,370	0,350	0,591	0,700	1,641
NEL661	0,157	0,057	0,556	0,342	0,619	0,678	1,639
NEL117	0,000	0,004	0,030	0,026	0,857	0,749	1,632
NEL122	0,020	0,015	0,262	0,227	0,682	0,719	1,628
NEL103	0,000	0,006	0,261	0,255	0,667	0,705	1,626
NEL108	0,096	0,083	0,619	0,440	0,500	0,678	1,618
NEL659	0,005	0,029	0,411	0,377	0,571	0,663	1,612
NEL033	0,004	0,152	0,439	0,283	0,611	0,715	1,609
NEL118	0,000	0,000	0,005	0,005	0,818	0,775	1,598

NEL660	0,000	0,000	0,001	0,001	0,810	0,783	1,594
NEL112	0,000	0,000	0,149	0,149	0,714	0,726	1,590
NEL663	0,008	0,076	0,376	0,292	0,591	0,704	1,587
NEL130	0,000	0,000	0,220	0,220	0,667	0,697	1,584
NEL111	0,005	0,022	0,335	0,308	0,563	0,712	1,582
NEL010	0,000	0,043	0,470	0,427	0,476	0,675	1,578
NEL061	0,001	0,008	0,132	0,123	0,727	0,727	1,578
NEL115	0,000	0,000	0,192	0,192	0,682	0,703	1,577
NEL116	0,000	0,000	0,161	0,161	0,700	0,711	1,572
NEL096	0,000	0,042	0,422	0,380	0,500	0,688	1,568
NEL146	0,001	0,002	0,049	0,046	0,773	0,749	1,567
NEL119	0,000	0,002	0,162	0,160	0,667	0,729	1,555
NEL089	0,000	0,095	0,439	0,344	0,524	0,685	1,553
NEL656	0,000	0,000	0,057	0,057	0,762	0,730	1,549
NEL091	0,033	0,011	0,207	0,163	0,667	0,716	1,546
NEL051	0,000	0,003	0,096	0,093	0,722	0,730	1,545
NEL035	0,000	0,000	0,001	0,001	0,750	0,794	1,545
NEL053	0,000	0,001	0,095	0,094	0,714	0,731	1,539
NEL059	0,000	0,002	0,300	0,298	0,546	0,690	1,534
NEL124	0,002	0,003	0,011	0,006	0,765	0,758	1,529
NEL106	0,000	0,002	0,179	0,177	0,636	0,714	1,528
NEL065	0,000	0,000	0,145	0,145	0,636	0,736	1,517
NEL126	0,000	0,000	0,018	0,018	0,714	0,773	1,506
NEL113	0,000	0,000	0,001	0,001	0,737	0,766	1,504
NEL121	0,000	0,000	0,239	0,239	0,571	0,688	1,498
NEL140	0,000	0,000	0,045	0,045	0,714	0,738	1,497
NEL149	0,000	0,002	0,018	0,016	0,727	0,737	1,480
NEL120	0,000	0,000	0,243	0,243	0,546	0,684	1,473
NEL006	0,001	0,002	0,128	0,125	0,632	0,713	1,470
NEL662	0,000	0,020	0,071	0,051	0,714	0,704	1,469
NEL142	0,020	0,123	0,320	0,177	0,600	0,692	1,469
NEL143	0,000	0,000	0,001	0,001	0,667	0,791	1,459
NEL667	0,013	0,001	0,263	0,249	0,526	0,674	1,449
NEL071	0,000	0,000	0,018	0,018	0,682	0,748	1,448
NEL655	0,000	0,002	0,138	0,136	0,591	0,709	1,436
NEL145	0,000	0,000	0,091	0,091	0,591	0,742	1,424
NEL028	0,000	0,000	0,002	0,002	0,650	0,770	1,422
NEL055	0,013	0,000	0,033	0,020	0,650	0,751	1,421
NEL073	0,000	0,000	0,045	0,045	0,619	0,754	1,418
NEL077	0,000	0,001	0,103	0,102	0,591	0,723	1,416
NEL144	0,000	0,001	0,051	0,050	0,636	0,709	1,395
NEL058	0,000	0,000	0,012	0,012	0,636	0,743	1,392
NEL670	0,000	0,000	0,033	0,033	0,611	0,735	1,379
NEL046	0,000	0,011	0,072	0,061	0,579	0,728	1,368
NEL147	0,000	0,000	0,006	0,006	0,619	0,738	1,363
NEL654	0,000	0,000	0,037	0,037	0,600	0,718	1,355
NEL665	0,000	0,000	0,046	0,046	0,571	0,730	1,348
NEL664	0,000	0,003	0,008	0,005	0,500	0,724	1,229
NEL652	0,000	0,000	0,102	0,102	0,421	0,692	1,215
NEL148	0,000	0,000	0,014	0,014	0,471	0,728	1,213
NEL092	0,245	0,538	0,632	-0,151	0,636	0,681	1,166

Tabela 8. Classificação dos animais da raça Jersey pelo Índice de Prioridade para a Conservação (*Conservation Priority Index - CPI*) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (*breed assignment score - BAS*), a heterozigosidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada. A CPI foi estimada pela formula  $CPI = BAS + Ind.H_{obs} + (1-MMK)$ .

Animal ID	Probabilidade de alocação		BAS	Ind, H <sub>obs</sub>	1 - MMK	CPI
	HOL	JER				
JER011	0,002	0,779	0,777	0,650	0,675	2,102
JER041	0,014	0,831	0,818	0,611	0,664	2,092
JER018	0,000	0,932	0,932	0,500	0,647	2,078
JER014	0,000	0,733	0,733	0,636	0,681	2,051
JER004	0,001	0,565	0,565	0,773	0,700	2,038
JER035	0,000	0,768	0,768	0,611	0,656	2,035
JER040	0,010	0,697	0,687	0,684	0,655	2,026
JER012	0,000	0,805	0,804	0,550	0,663	2,018
JER017	0,034	0,425	0,390	0,905	0,720	2,015
JER007	0,007	0,648	0,641	0,682	0,684	2,007
JER003	0,000	0,630	0,630	0,682	0,679	1,991
JER057	0,047	0,619	0,572	0,722	0,680	1,974
JER033	0,005	0,531	0,526	0,714	0,692	1,933
JER015	0,000	0,788	0,788	0,455	0,662	1,905
JER032	0,000	0,652	0,651	0,571	0,675	1,898
JER022	0,000	0,468	0,468	0,714	0,688	1,870
JER045	0,000	0,358	0,358	0,722	0,710	1,791
JER010	0,033	0,461	0,427	0,667	0,681	1,775
JER047	0,003	0,558	0,556	0,500	0,679	1,734
JER006	0,001	0,352	0,351	0,682	0,699	1,732
JER039	0,040	0,462	0,422	0,579	0,688	1,689
JER002	0,002	0,408	0,406	0,591	0,690	1,687
JER054	0,000	0,172	0,172	0,778	0,717	1,667
JER001	0,001	0,326	0,326	0,636	0,704	1,666
JER019	0,000	0,482	0,482	0,500	0,675	1,657
JER048	0,000	0,432	0,432	0,526	0,666	1,625
JER050	0,000	0,405	0,405	0,556	0,660	1,620
JER030	0,000	0,000	0,000	0,818	0,802	1,620
JER026	0,000	0,087	0,086	0,762	0,740	1,588
JER016	0,000	0,265	0,265	0,600	0,717	1,582
JER028	0,000	0,000	0,000	0,790	0,778	1,568
JER023	0,000	0,312	0,311	0,546	0,701	1,558
JER009	0,000	0,000	0,000	0,762	0,795	1,557
JER051	0,000	0,207	0,207	0,625	0,714	1,546
JER043	0,000	0,076	0,076	0,737	0,728	1,541
JER053	0,004	0,538	0,535	0,333	0,664	1,532
JER038	0,000	0,226	0,226	0,571	0,723	1,520
JER013	0,001	0,132	0,131	0,682	0,707	1,520
JER021	0,000	0,156	0,156	0,619	0,730	1,505
JER027	0,000	0,000	0,000	0,700	0,794	1,494
JER025	0,001	0,158	0,157	0,636	0,695	1,489
JER008	0,000	0,009	0,009	0,727	0,743	1,479
JER046	0,000	0,064	0,064	0,684	0,728	1,476
JER042	0,002	0,136	0,133	0,632	0,709	1,474

---

JER020	0,000	0,378	0,378	0,409	0,666	1,453
JER055	0,000	0,001	0,001	0,667	0,784	1,452
JER031	0,006	0,130	0,124	0,591	0,697	1,412
JER029	0,000	0,087	0,087	0,600	0,724	1,411
JER049	0,000	0,023	0,023	0,667	0,713	1,403
JER005	0,002	0,106	0,104	0,546	0,705	1,355
JER034	0,005	0,270	0,265	0,400	0,667	1,332
JER044	0,000	0,017	0,017	0,571	0,743	1,332
JER037	0,000	0,022	0,022	0,500	0,719	1,241
JER056	0,000	0,044	0,044	0,444	0,713	1,201

---

Tabela 9. Classificação dos animais da raça Pantaneira pelo Índice de Prioridade para a Conservação (*Conservation Priority Index* - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA), a heterozigosidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada. A CPI foi estimada pela formula  $CPI = PA + Ind.H_{obs} + (1 - MMK)$ .

ID do animal	Probabilidade de alocação (PA)	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
PAN128	0,936	0,955	0,781	2,672
PAN076	0,902	0,909	0,789	2,600
PAN073	0,940	0,864	0,775	2,578
PAN103	0,953	0,810	0,811	2,573
PAN156	0,945	0,850	0,770	2,565
PAN124	0,883	0,857	0,802	2,542
PAN096	0,923	0,800	0,801	2,524
PAN144	0,844	0,864	0,815	2,522
PAN159	0,941	0,762	0,805	2,508
PAN140	0,889	0,818	0,801	2,508
PAN004	0,876	0,773	0,850	2,499
PAN154	0,964	0,727	0,788	2,480
PAN015	0,877	0,818	0,776	2,471
PAN087	0,905	0,773	0,783	2,461
PAN106	0,956	0,737	0,757	2,450
PAN041	0,889	0,773	0,786	2,448
PAN078	0,809	0,818	0,819	2,446
PAN146	0,936	0,714	0,791	2,442
PAN102	0,915	0,762	0,764	2,441
PAN080	0,818	0,857	0,759	2,434
PAN017	0,930	0,667	0,835	2,431
PAN065	0,917	0,727	0,777	2,422
PAN064	0,938	0,727	0,754	2,419
PAN006	0,970	0,700	0,737	2,407
PAN163	0,911	0,727	0,764	2,403
PAN054	0,904	0,714	0,780	2,398
PAN139	0,838	0,722	0,834	2,394
PAN112	0,963	0,682	0,748	2,393
PAN059	0,856	0,750	0,784	2,390
PAN056	0,964	0,682	0,742	2,388
PAN051	0,841	0,762	0,782	2,385
PAN057	0,948	0,647	0,787	2,382
PAN005	0,849	0,727	0,786	2,363
PAN046	0,960	0,636	0,764	2,361
PAN045	0,794	0,818	0,748	2,360
PAN084	0,871	0,727	0,758	2,356
PAN162	0,965	0,636	0,750	2,351
PAN079	0,952	0,636	0,753	2,342
PAN100	0,911	0,682	0,748	2,341
PAN153	0,967	0,636	0,735	2,338
PAN119	0,770	0,773	0,786	2,328
PAN069	0,843	0,727	0,756	2,326
PAN072	0,645	0,857	0,819	2,321
PAN093	0,943	0,636	0,738	2,317
PAN131	0,940	0,636	0,740	2,316
PAN042	0,964	0,591	0,758	2,313

---

PAN074	0,868	0,667	0,774	2,308
PAN109	0,824	0,727	0,756	2,307
PAN060	0,962	0,600	0,743	2,305
PAN040	0,871	0,706	0,728	2,304
PAN101	0,907	0,667	0,723	2,297
PAN089	0,975	0,591	0,731	2,296
PAN068	0,904	0,636	0,755	2,295
PAN014	0,782	0,714	0,796	2,292
PAN091	0,904	0,636	0,750	2,290
PAN075	0,972	0,546	0,770	2,287
PAN138	0,726	0,778	0,766	2,270
PAN081	0,911	0,591	0,764	2,266
PAN083	0,887	0,632	0,742	2,260
PAN010	0,715	0,700	0,829	2,244
PAN062	0,682	0,800	0,748	2,230
PAN088	0,837	0,619	0,773	2,229
PAN160	0,766	0,714	0,741	2,221
PAN142	0,588	0,818	0,798	2,204
PAN008	0,612	0,773	0,808	2,193
PAN118	0,474	0,909	0,796	2,179
PAN150	0,628	0,750	0,791	2,169
PAN001	0,555	0,773	0,832	2,160
PAN009	0,738	0,619	0,802	2,159
PAN097	0,489	0,833	0,829	2,151
PAN085	0,590	0,762	0,794	2,146
PAN161	0,749	0,636	0,757	2,143
PAN013	0,752	0,600	0,784	2,136
PAN016	0,625	0,682	0,790	2,097
PAN143	0,430	0,864	0,785	2,078
PAN007	0,636	0,636	0,777	2,050
PAN067	0,458	0,810	0,778	2,045
PAN032	0,711	0,500	0,798	2,009
PAN141	0,680	0,500	0,828	2,008
PAN044	0,564	0,619	0,806	1,989
PAN137	0,287	0,810	0,802	1,899
PAN157	0,348	0,773	0,768	1,889
PAN133	0,393	0,700	0,774	1,867
PAN019	0,166	0,895	0,784	1,845
PAN123	0,239	0,773	0,783	1,795
PAN095	0,182	0,773	0,830	1,784
PAN002	0,145	0,818	0,803	1,766
PAN090	0,320	0,650	0,759	1,729
PAN003	0,119	0,773	0,790	1,682
PAN164	0,213	0,636	0,823	1,673
PAN149	0,179	0,682	0,772	1,633
PAN121	0,163	0,682	0,779	1,624
PAN147	0,075	0,714	0,816	1,605
PAN108	0,200	0,591	0,785	1,576
PAN092	0,042	0,682	0,770	1,494
PAN063	0,013	0,429	0,802	1,244

---

Tabela 10. Classificação dos animais da raça Nelore pelo Índice de Prioridade para a Conservação (*Conservation Priority Index* - CPI) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA), a heterozigosidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada. A CPI foi estimada pela formula  $CPI = PA + Ind.H_{obs} + (1 - MMK)$ .

ID do animal	Probabilidade de alocação (PA)	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
NEL110	0,955	0,900	0,756	2,611
NEL117	0,919	0,857	0,749	2,525
NEL070	0,984	0,818	0,710	2,512
NEL035	0,935	0,750	0,794	2,479
NEL080	0,983	0,773	0,720	2,476
NEL063	0,970	0,750	0,732	2,452
NEL126	0,958	0,714	0,773	2,446
NEL027	0,982	0,773	0,690	2,445
NEL146	0,921	0,773	0,749	2,442
NEL656	0,945	0,762	0,730	2,437
NEL140	0,978	0,714	0,738	2,430
NEL051	0,975	0,722	0,729	2,427
NEL112	0,982	0,714	0,726	2,423
NEL149	0,953	0,727	0,737	2,417
NEL053	0,968	0,714	0,731	2,413
NEL013	0,936	0,773	0,694	2,402
NEL143	0,936	0,667	0,791	2,394
NEL116	0,982	0,700	0,711	2,393
NEL071	0,962	0,682	0,748	2,392
NEL102	0,984	0,727	0,680	2,391
NEL061	0,927	0,727	0,727	2,382
NEL660	0,785	0,810	0,783	2,378
NEL109	0,969	0,714	0,682	2,365
NEL074	0,980	0,682	0,698	2,360
NEL050	0,929	0,737	0,686	2,352
NEL073	0,976	0,619	0,754	2,349
NEL082	0,976	0,682	0,690	2,348
NEL090	0,888	0,750	0,706	2,344
NEL103	0,972	0,667	0,705	2,343
NEL003	0,967	0,706	0,668	2,341
NEL123	0,834	0,765	0,742	2,341
NEL130	0,976	0,667	0,697	2,340
NEL115	0,954	0,682	0,703	2,339
NEL125	0,978	0,636	0,720	2,335
NEL118	0,738	0,818	0,775	2,331
NEL065	0,953	0,636	0,736	2,325
NEL122	0,924	0,682	0,719	2,325
NEL097	0,987	0,636	0,699	2,323
NEL662	0,901	0,714	0,704	2,319
NEL069	0,986	0,636	0,692	2,314
NEL105	0,953	0,636	0,715	2,305
NEL033	0,978	0,611	0,715	2,304
NEL145	0,969	0,591	0,742	2,302
NEL029	0,983	0,636	0,682	2,301
NEL119	0,895	0,667	0,729	2,290
NEL046	0,981	0,579	0,728	2,288

---

NEL106	0,935	0,636	0,714	2,286
NEL654	0,964	0,600	0,718	2,282
NEL028	0,858	0,650	0,770	2,278
NEL072	0,971	0,600	0,705	2,276
NEL665	0,974	0,571	0,730	2,276
NEL081	0,978	0,619	0,677	2,274
NEL092	0,948	0,636	0,681	2,265
NEL100	0,964	0,600	0,699	2,263
NEL144	0,917	0,636	0,709	2,262
NEL142	0,969	0,600	0,692	2,261
NEL093	0,983	0,591	0,685	2,259
NEL077	0,942	0,591	0,723	2,256
NEL060	0,982	0,619	0,655	2,256
NEL084	0,979	0,591	0,685	2,255
NEL113	0,750	0,737	0,766	2,253
NEL062	0,917	0,650	0,685	2,252
NEL104	0,985	0,619	0,648	2,252
NEL107	0,977	0,571	0,699	2,247
NEL049	0,981	0,591	0,673	2,245
NEL058	0,864	0,636	0,743	2,244
NEL111	0,962	0,563	0,712	2,236
NEL670	0,884	0,611	0,735	2,230
NEL054	0,914	0,632	0,682	2,228
NEL006	0,882	0,632	0,713	2,227
NEL147	0,867	0,619	0,738	2,224
NEL059	0,976	0,546	0,690	2,212
NEL653	0,966	0,550	0,689	2,205
NEL120	0,968	0,546	0,684	2,198
NEL089	0,986	0,524	0,685	2,194
NEL659	0,955	0,571	0,663	2,190
NEL655	0,881	0,591	0,709	2,181
NEL086	0,913	0,571	0,689	2,174
NEL664	0,941	0,500	0,724	2,165
NEL096	0,976	0,500	0,688	2,164
NEL057	0,922	0,571	0,669	2,162
NEL663	0,855	0,591	0,704	2,150
NEL010	0,978	0,476	0,675	2,129
NEL148	0,911	0,471	0,728	2,110
NEL121	0,845	0,571	0,688	2,104
NEL661	0,807	0,619	0,678	2,104
NEL131	0,679	0,684	0,719	2,082
NEL079	0,773	0,591	0,700	2,064
NEL652	0,938	0,421	0,692	2,051
NEL091	0,651	0,667	0,716	2,034
NEL124	0,503	0,765	0,758	2,026
NEL108	0,781	0,500	0,678	1,959
NEL667	0,747	0,526	0,674	1,947
NEL055	0,335	0,650	0,751	1,736

---

Tabela 11. Classificação dos animais da raça Jersey pelo Índice de Prioridade para a Conservação (*Conservation Priority Index - CPI*) que corresponde à combinação da integridade racial máxima estimada pela probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA), a heterozigosidade individual máxima e o índice médio de parentesco molecular (MMK) com todos os outros indivíduos da população analisada. A CPI foi estimada pela formula  $CPI = PA + Ind.H_{obs} + (1 - MMK)$ .

ID do animal	Probabilidade de alocação (PA)	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
JER017	0,859	0,9048	0,7200	2,4837
JER004	0,95	0,7727	0,7004	2,4231
JER043	0,958	0,7368	0,7282	2,4230
JER045	0,966	0,7222	0,7104	2,3986
JER055	0,946	0,6667	0,7840	2,3966
JER057	0,97	0,7222	0,6802	2,3724
JER022	0,967	0,7143	0,6877	2,3690
JER033	0,958	0,7143	0,6923	2,3646
JER054	0,859	0,7778	0,7174	2,3542
JER003	0,974	0,6818	0,6786	2,3345
JER021	0,979	0,6190	0,7301	2,3281
JER006	0,936	0,6818	0,6991	2,3169
JER007	0,94	0,6818	0,6839	2,3057
JER014	0,979	0,6364	0,6810	2,2964
JER016	0,963	0,6000	0,7169	2,2799
JER040	0,927	0,6842	0,6552	2,2664
JER013	0,875	0,6818	0,7072	2,2640
JER051	0,918	0,6250	0,7142	2,2572
JER038	0,956	0,5714	0,7233	2,2507
JER001	0,907	0,6364	0,7035	2,2469
JER011	0,921	0,6500	0,6752	2,2462
JER041	0,968	0,6111	0,6635	2,2427
JER046	0,82	0,6842	0,7277	2,2319
JER026	0,727	0,7619	0,7402	2,2292
JER002	0,934	0,5909	0,6904	2,2153
JER044	0,898	0,5714	0,7432	2,2127
JER031	0,92	0,5909	0,6968	2,2077
JER032	0,95	0,5714	0,6754	2,1968
JER025	0,858	0,6364	0,6949	2,1892
JER023	0,941	0,5455	0,7013	2,1878
JER012	0,973	0,5500	0,6631	2,1861
JER035	0,912	0,6111	0,6559	2,1790
JER049	0,79	0,6667	0,7133	2,1700
JER037	0,95	0,5000	0,7190	2,1690
JER010	0,811	0,6667	0,6812	2,1589
JER042	0,815	0,6316	0,7091	2,1557
JER019	0,979	0,5000	0,6749	2,1539
JER047	0,972	0,5000	0,6788	2,1508
JER048	0,949	0,5263	0,6662	2,1415
JER056	0,975	0,4444	0,7132	2,1327
JER018	0,984	0,5000	0,6468	2,1308
JER039	0,849	0,5789	0,6876	2,1155
JER050	0,894	0,5556	0,6598	2,1094
JER005	0,859	0,5455	0,7046	2,1090
JER015	0,985	0,4545	0,6620	2,1015
JER029	0,755	0,6000	0,7235	2,0785

JER030	0,439	0,8182	0,8015	2,0586
JER020	0,981	0,4091	0,6656	2,0557
JER008	0,556	0,7273	0,7427	2,0260
JER034	0,94	0,4000	0,6667	2,0067
JER053	0,972	0,3333	0,6638	1,9691
JER009	0,265	0,7619	0,7950	1,8219
JER028	0,036	0,7895	0,7780	1,6035
JER027	0,045	0,7000	0,7939	1,5389

---

Tabela 12. Classificação dos animais da raça Pantaneira pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (BAS).

ID	Probabilidade de alocação					BAS	Ind, H <sub>obs</sub>	1 - MMK	CPI
	CA	CL	CU	MN	PAN				
PAN089	0,000	0,020	0,003	0,000	0,939	0,916	0,591	0,730	2,237
PAN056	0,000	0,002	0,003	0,000	0,901	0,896	0,682	0,742	2,320
PAN064	0,002	0,001	0,005	0,004	0,886	0,874	0,727	0,754	2,355
PAN006	0,000	0,001	0,000	0,000	0,859	0,858	0,700	0,737	2,295
PAN153	0,000	0,000	0,003	0,000	0,852	0,849	0,636	0,735	2,220
PAN112	0,000	0,001	0,000	0,000	0,835	0,834	0,682	0,748	2,264
PAN162	0,000	0,001	0,004	0,000	0,812	0,807	0,636	0,749	2,193
PAN093	0,000	0,001	0,003	0,000	0,782	0,778	0,636	0,738	2,152
PAN046	0,000	0,001	0,003	0,004	0,770	0,762	0,636	0,764	2,163
PAN042	0,000	0,023	0,001	0,004	0,788	0,760	0,591	0,758	2,109
PAN156	0,000	0,036	0,015	0,000	0,807	0,756	0,850	0,770	2,376
PAN073	0,000	0,024	0,005	0,000	0,766	0,737	0,864	0,775	2,375
PAN062	0,001	0,002	0,003	0,014	0,738	0,718	0,800	0,748	2,266
PAN100	0,002	0,136	0,048	0,023	0,898	0,689	0,682	0,748	2,119
PAN060	0,000	0,000	0,004	0,008	0,695	0,683	0,600	0,743	2,026
PAN091	0,000	0,025	0,019	0,013	0,711	0,654	0,636	0,750	2,040
PAN069	0,000	0,055	0,028	0,009	0,725	0,633	0,727	0,756	2,116
PAN160	0,000	0,039	0,111	0,002	0,777	0,625	0,714	0,741	2,080
PAN128	0,000	0,007	0,001	0,000	0,628	0,620	0,955	0,781	2,356
PAN131	0,000	0,263	0,022	0,009	0,910	0,616	0,636	0,740	1,992
PAN015	0,000	0,000	0,000	0,004	0,608	0,604	0,818	0,776	2,198
PAN102	0,000	0,055	0,005	0,012	0,671	0,599	0,762	0,764	2,125
PAN084	0,000	0,103	0,126	0,021	0,806	0,556	0,727	0,758	2,041
PAN045	0,000	0,016	0,113	0,080	0,758	0,549	0,818	0,748	2,115
PAN040	0,000	0,001	0,004	0,076	0,629	0,548	0,706	0,728	1,981
PAN065	0,000	0,015	0,003	0,005	0,555	0,532	0,727	0,777	2,037
PAN083	0,000	0,136	0,001	0,000	0,650	0,513	0,632	0,742	1,886
PAN068	0,000	0,005	0,001	0,000	0,497	0,491	0,636	0,755	1,882
PAN079	0,000	0,000	0,000	0,000	0,459	0,459	0,636	0,753	1,849
PAN076	0,000	0,001	0,000	0,000	0,448	0,447	0,909	0,789	2,145
PAN109	0,000	0,076	0,019	0,096	0,625	0,434	0,727	0,756	1,917
PAN074	0,000	0,053	0,038	0,017	0,505	0,397	0,667	0,774	1,837
PAN163	0,000	0,007	0,003	0,004	0,402	0,388	0,727	0,764	1,880
PAN157	0,000	0,037	0,026	0,000	0,447	0,384	0,773	0,768	1,925
PAN101	0,017	0,036	0,420	0,127	0,982	0,382	0,667	0,723	1,772
PAN154	0,000	0,001	0,000	0,000	0,376	0,375	0,727	0,788	1,890
PAN161	0,000	0,001	0,006	0,000	0,370	0,363	0,636	0,757	1,757
PAN005	0,000	0,001	0,009	0,000	0,352	0,342	0,727	0,786	1,856
PAN054	0,000	0,000	0,001	0,000	0,326	0,325	0,714	0,780	1,819
PAN081	0,000	0,001	0,000	0,000	0,326	0,325	0,591	0,764	1,680
PAN119	0,000	0,018	0,003	0,045	0,381	0,315	0,773	0,786	1,873
PAN075	0,000	0,000	0,000	0,000	0,306	0,306	0,545	0,770	1,621
PAN106	0,000	0,000	0,001	0,000	0,279	0,278	0,737	0,757	1,772
PAN087	0,000	0,000	0,000	0,000	0,268	0,268	0,773	0,783	1,824
PAN088	0,000	0,004	0,000	0,000	0,271	0,267	0,619	0,773	1,659
PAN123	0,000	0,010	0,005	0,033	0,309	0,261	0,773	0,783	1,817
PAN067	0,000	0,005	0,059	0,000	0,302	0,238	0,810	0,778	1,825
PAN057	0,000	0,000	0,000	0,000	0,219	0,219	0,647	0,787	1,653
PAN143	0,000	0,001	0,027	0,004	0,246	0,214	0,864	0,784	1,862
PAN146	0,000	0,000	0,000	0,000	0,213	0,213	0,714	0,791	1,719
PAN041	0,000	0,000	0,000	0,000	0,207	0,207	0,773	0,786	1,766
PAN118	0,000	0,000	0,056	0,000	0,261	0,205	0,909	0,796	1,910

PAN142	0,000	0,001	0,003	0,008	0,209	0,197	0,818	0,798	1,813
PAN159	0,000	0,000	0,000	0,000	0,192	0,192	0,762	0,805	1,759
PAN103	0,000	0,000	0,000	0,000	0,184	0,184	0,810	0,811	1,804
PAN080	0,081	0,015	0,043	0,558	0,876	0,179	0,857	0,759	1,795
PAN085	0,000	0,000	0,001	0,000	0,174	0,173	0,762	0,794	1,729
PAN149	0,000	0,034	0,003	0,005	0,203	0,161	0,682	0,772	1,615
PAN140	0,000	0,000	0,000	0,000	0,112	0,112	0,818	0,801	1,731
PAN138	0,000	0,559	0,072	0,002	0,738	0,105	0,778	0,766	1,649
PAN072	0,000	0,000	0,002	0,000	0,105	0,103	0,857	0,819	1,779
PAN108	0,000	0,000	0,052	0,000	0,153	0,101	0,591	0,785	1,477
PAN007	0,000	0,032	0,001	0,000	0,108	0,075	0,636	0,777	1,489
PAN121	0,000	0,000	0,000	0,008	0,080	0,072	0,682	0,779	1,533
PAN137	0,000	0,001	0,000	0,000	0,069	0,068	0,810	0,802	1,680
PAN009	0,000	0,006	0,000	0,000	0,071	0,065	0,619	0,802	1,486
PAN059	0,000	0,002	0,000	0,000	0,066	0,064	0,750	0,784	1,598
PAN032	0,000	0,000	0,000	0,001	0,064	0,063	0,500	0,798	1,361
PAN051	0,000	0,000	0,001	0,001	0,063	0,061	0,762	0,782	1,605
PAN150	0,000	0,000	0,003	0,000	0,062	0,059	0,750	0,791	1,600
PAN078	0,000	0,000	0,000	0,000	0,057	0,057	0,818	0,819	1,694
PAN013	0,000	0,000	0,000	0,000	0,043	0,043	0,600	0,784	1,427
PAN019	0,000	0,152	0,029	0,045	0,260	0,034	0,895	0,784	1,713
PAN144	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,032	0,864	0,815	1,710
PAN147	0,000	0,000	0,000	0,011	0,041	0,030	0,714	0,816	1,560
PAN124	0,000	0,000	0,000	0,000	0,022	0,022	0,857	0,802	1,681
PAN016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,020	0,682	0,790	1,492
PAN044	0,000	0,001	0,000	0,000	0,013	0,012	0,619	0,806	1,437
PAN014	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,010	0,714	0,795	1,520
PAN096	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,009	0,800	0,801	1,610
PAN139	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,008	0,722	0,833	1,564
PAN001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,006	0,773	0,832	1,611
PAN095	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,005	0,773	0,830	1,607
PAN164	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,004	0,636	0,823	1,464
PAN008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,003	0,773	0,808	1,584
PAN097	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,003	0,833	0,829	1,665
PAN017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,667	0,835	1,503
PAN004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,773	0,850	1,624
PAN003	0,000	0,011	0,000	0,000	0,011	0,000	0,773	0,790	1,563
PAN010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,700	0,829	1,529
PAN141	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,500	0,828	1,328
PAN002	0,000	0,024	0,001	0,000	0,024	-0,001	0,818	0,803	1,620
PAN133	0,001	0,062	0,069	0,161	0,288	-0,005	0,700	0,774	1,469
PAN090	0,001	0,388	0,025	0,254	0,595	-0,073	0,650	0,759	1,336
PAN092	0,000	0,091	0,003	0,507	0,207	-0,394	0,682	0,770	1,058
PAN063	0,000	0,484	0,002	0,012	0,031	-0,467	0,429	0,802	0,764

Tabela 13. Classificação dos animais da raça Nelore pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (BAS).

ID	Probabilidade de alocação			BAS	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
	GIR	GU	NEL				
NEL104	0,0140	0,0850	0,9520	0,8530	0,6190	0,6479	2,1199
NEL102	0,0000	0,0230	0,8550	0,8320	0,7273	0,6798	2,2391
NEL049	0,0090	0,0140	0,8280	0,8050	0,5909	0,6726	2,0685
NEL057	0,0060	0,0440	0,7710	0,7210	0,5714	0,6687	1,9611
NEL109	0,0180	0,0670	0,8050	0,7200	0,7143	0,6820	2,1163
NEL027	0,0010	0,1930	0,8810	0,6870	0,7727	0,6905	2,1502
NEL653	0,0020	0,0260	0,7020	0,6740	0,5500	0,6887	1,9127
NEL100	0,0460	0,0020	0,7080	0,6600	0,6000	0,6987	1,9587
NEL054	0,0110	0,0710	0,7220	0,6400	0,6316	0,6823	1,9539
NEL072	0,0020	0,0000	0,6140	0,6120	0,6000	0,7048	1,9168
NEL081	0,0240	0,2320	0,8490	0,5930	0,6190	0,6772	1,8892
NEL074	0,0010	0,0100	0,5510	0,5400	0,6818	0,6977	1,9195
NEL050	0,0180	0,0130	0,5630	0,5320	0,7368	0,6864	1,9552
NEL097	0,0000	0,0230	0,5510	0,5280	0,6364	0,6994	1,8638
NEL029	0,0010	0,0670	0,5900	0,5220	0,6364	0,6818	1,8402
NEL084	0,0010	0,0020	0,5020	0,4990	0,5909	0,6853	1,7752
NEL082	0,0000	0,0020	0,4920	0,4900	0,6818	0,6900	1,8618
NEL060	0,0030	0,4300	0,9090	0,4760	0,6190	0,6546	1,7496
NEL093	0,0020	0,0110	0,4880	0,4750	0,5909	0,6853	1,7512
NEL069	0,0000	0,0570	0,5030	0,4460	0,6364	0,6917	1,7741
NEL003	0,0000	0,0040	0,4450	0,4410	0,7059	0,6680	1,8149
NEL108	0,0960	0,0830	0,6190	0,4400	0,5000	0,6782	1,6182
NEL062	0,0240	0,0630	0,5260	0,4390	0,6500	0,6849	1,7739
NEL107	0,0100	0,0150	0,4640	0,4390	0,5714	0,6989	1,7093
NEL010	0,0000	0,0430	0,4700	0,4270	0,4762	0,6747	1,5779
NEL086	0,0020	0,0000	0,3920	0,3900	0,5714	0,6894	1,6508
NEL013	0,0000	0,1140	0,4980	0,3840	0,7727	0,6936	1,8503
NEL096	0,0000	0,0420	0,4220	0,3800	0,5000	0,6878	1,5678
NEL659	0,0050	0,0290	0,4110	0,3770	0,5714	0,6632	1,6116
NEL070	0,0000	0,0050	0,3740	0,3690	0,8182	0,7096	1,8968
NEL123	0,1080	0,0560	0,5330	0,3690	0,7647	0,7421	1,8758
NEL105	0,0000	0,0020	0,3580	0,3560	0,6364	0,7152	1,7076
NEL125	0,0010	0,0150	0,3670	0,3510	0,6364	0,7205	1,7079
NEL079	0,0050	0,0150	0,3700	0,3500	0,5909	0,6996	1,6405
NEL089	0,0000	0,0950	0,4390	0,3440	0,5238	0,6847	1,5525
NEL661	0,1570	0,0570	0,5560	0,3420	0,6190	0,6777	1,6387
NEL090	0,1740	0,0180	0,5160	0,3240	0,7500	0,7064	1,7804
NEL111	0,0050	0,0220	0,3350	0,3080	0,5625	0,7117	1,5822
NEL080	0,0000	0,0050	0,3060	0,3010	0,7727	0,7205	1,7942
NEL059	0,0000	0,0020	0,3000	0,2980	0,5455	0,6902	1,5337
NEL131	0,0060	0,0200	0,3200	0,2940	0,6842	0,7192	1,6974
NEL663	0,0080	0,0760	0,3760	0,2920	0,5909	0,7042	1,5871
NEL033	0,0040	0,1520	0,4390	0,2830	0,6111	0,7152	1,6093
NEL103	0,0000	0,0060	0,2610	0,2550	0,6667	0,7046	1,6263
NEL667	0,0130	0,0010	0,2630	0,2490	0,5263	0,6741	1,4494
NEL120	0,0000	0,0000	0,2430	0,2430	0,5455	0,6841	1,4726
NEL121	0,0000	0,0000	0,2390	0,2390	0,5714	0,6880	1,4984
NEL122	0,0200	0,0150	0,2620	0,2270	0,6818	0,7187	1,6275
NEL130	0,0000	0,0000	0,2200	0,2200	0,6667	0,6973	1,5840

NEL063	0,0000	0,0000	0,1960	0,1960	0,7500	0,7324	1,6784
NEL115	0,0000	0,0000	0,1920	0,1920	0,6818	0,7030	1,5768
NEL106	0,0000	0,0020	0,1790	0,1770	0,6364	0,7142	1,5276
NEL142	0,0200	0,1230	0,3200	0,1770	0,6000	0,6921	1,4691
NEL091	0,0330	0,0110	0,2070	0,1630	0,6667	0,7163	1,5460
NEL116	0,0000	0,0000	0,1610	0,1610	0,7000	0,7112	1,5722
NEL119	0,0000	0,0020	0,1620	0,1600	0,6667	0,7286	1,5553
NEL112	0,0000	0,0000	0,1490	0,1490	0,7143	0,7262	1,5895
NEL065	0,0000	0,0000	0,1450	0,1450	0,6364	0,7360	1,5174
NEL655	0,0000	0,0020	0,1380	0,1360	0,5909	0,7091	1,4360
NEL006	0,0010	0,0020	0,1280	0,1250	0,6316	0,7134	1,4700
NEL061	0,0010	0,0080	0,1320	0,1230	0,7273	0,7274	1,5777
NEL077	0,0000	0,0010	0,1030	0,1020	0,5909	0,7231	1,4160
NEL652	0,0000	0,0000	0,1020	0,1020	0,4211	0,6920	1,2151
NEL053	0,0000	0,0010	0,0950	0,0940	0,7143	0,7311	1,5394
NEL051	0,0000	0,0030	0,0960	0,0930	0,7222	0,7295	1,5447
NEL145	0,0000	0,0000	0,0910	0,0910	0,5909	0,7424	1,4243
NEL110	0,0000	0,0000	0,0720	0,0720	0,9000	0,7556	1,7276
NEL046	0,0000	0,0110	0,0720	0,0610	0,5789	0,7281	1,3680
NEL656	0,0000	0,0000	0,0570	0,0570	0,7619	0,7296	1,5485
NEL662	0,0000	0,0200	0,0710	0,0510	0,7143	0,7041	1,4694
NEL144	0,0000	0,0010	0,0510	0,0500	0,6364	0,7088	1,3952
NEL146	0,0010	0,0020	0,0490	0,0460	0,7727	0,7485	1,5672
NEL665	0,0000	0,0000	0,0460	0,0460	0,5714	0,7302	1,3476
NEL140	0,0000	0,0000	0,0450	0,0450	0,7143	0,7379	1,4972
NEL073	0,0000	0,0000	0,0450	0,0450	0,6190	0,7536	1,4176
NEL654	0,0000	0,0000	0,0370	0,0370	0,6000	0,7178	1,3548
NEL670	0,0000	0,0000	0,0330	0,0330	0,6111	0,7348	1,3789
NEL117	0,0000	0,0040	0,0300	0,0260	0,8571	0,7493	1,6324
NEL055	0,0130	0,0000	0,0330	0,0200	0,6500	0,7508	1,4208
NEL126	0,0000	0,0000	0,0180	0,0180	0,7143	0,7733	1,5056
NEL071	0,0000	0,0000	0,0180	0,0180	0,6818	0,7483	1,4481
NEL149	0,0000	0,0020	0,0180	0,0160	0,7273	0,7369	1,4802
NEL148	0,0000	0,0000	0,0140	0,0140	0,4706	0,7281	1,2127
NEL058	0,0000	0,0000	0,0120	0,0120	0,6364	0,7431	1,3915
NEL124	0,0020	0,0030	0,0110	0,0060	0,7647	0,7582	1,5289
NEL147	0,0000	0,0000	0,0060	0,0060	0,6190	0,7382	1,3632
NEL118	0,0000	0,0000	0,0050	0,0050	0,8182	0,7750	1,5982
NEL664	0,0000	0,0030	0,0080	0,0050	0,5000	0,7236	1,2286
NEL028	0,0000	0,0000	0,0020	0,0020	0,6500	0,7702	1,4222
NEL660	0,0000	0,0000	0,0010	0,0010	0,8095	0,7831	1,5936
NEL035	0,0000	0,0000	0,0010	0,0010	0,7500	0,7937	1,5447
NEL113	0,0000	0,0000	0,0010	0,0010	0,7368	0,7659	1,5037
NEL143	0,0000	0,0000	0,0010	0,0010	0,6667	0,7913	1,4590
NEL092	0,2450	0,5380	0,6320	-0,1510	0,6364	0,6809	1,1663

Tabela 14. Classificação dos animais da raça Jersey pela nota de alocação racial estimado pelo programa GENECLASS (BAS).

ID	Probabilidade de alocação		BAS	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
	HOL	JER				
JER018	0,000	0,932	0,932	0,500	0,647	2,078
JER041	0,014	0,831	0,818	0,611	0,664	2,092
JER012	0,000	0,805	0,804	0,550	0,663	2,017
JER015	0,000	0,788	0,788	0,455	0,662	1,905
JER011	0,002	0,779	0,777	0,650	0,675	2,102
JER035	0,000	0,768	0,768	0,611	0,656	2,035
JER014	0,000	0,733	0,733	0,636	0,681	2,051
JER040	0,010	0,697	0,687	0,684	0,655	2,026
JER032	0,000	0,652	0,651	0,571	0,675	1,898
JER007	0,007	0,648	0,641	0,682	0,684	2,007
JER003	0,000	0,630	0,630	0,682	0,679	1,991
JER057	0,047	0,619	0,572	0,722	0,680	1,974
JER004	0,001	0,565	0,565	0,773	0,700	2,038
JER047	0,003	0,558	0,556	0,500	0,679	1,734
JER053	0,004	0,538	0,535	0,333	0,664	1,532
JER033	0,005	0,531	0,526	0,714	0,692	1,933
JER019	0,000	0,482	0,482	0,500	0,675	1,657
JER022	0,000	0,468	0,468	0,714	0,688	1,870
JER048	0,000	0,432	0,432	0,526	0,666	1,625
JER010	0,033	0,461	0,427	0,667	0,681	1,775
JER039	0,040	0,462	0,422	0,579	0,688	1,689
JER002	0,002	0,408	0,406	0,591	0,690	1,687
JER050	0,000	0,405	0,405	0,556	0,660	1,620
JER017	0,034	0,425	0,390	0,905	0,720	2,015
JER020	0,000	0,378	0,378	0,409	0,666	1,453
JER045	0,000	0,358	0,358	0,722	0,710	1,791
JER006	0,001	0,352	0,351	0,682	0,699	1,732
JER001	0,001	0,326	0,326	0,636	0,703	1,665
JER023	0,000	0,312	0,311	0,545	0,701	1,558
JER034	0,005	0,270	0,265	0,400	0,667	1,332
JER016	0,000	0,265	0,265	0,600	0,717	1,582
JER038	0,000	0,226	0,226	0,571	0,723	1,520
JER051	0,000	0,207	0,207	0,625	0,714	1,546
JER054	0,000	0,172	0,172	0,778	0,717	1,667
JER025	0,001	0,158	0,157	0,636	0,695	1,488
JER021	0,000	0,156	0,156	0,619	0,730	1,505
JER042	0,002	0,136	0,133	0,632	0,709	1,474
JER013	0,001	0,132	0,131	0,682	0,707	1,520
JER031	0,006	0,130	0,124	0,591	0,697	1,412
JER005	0,002	0,106	0,104	0,545	0,705	1,354
JER029	0,000	0,087	0,087	0,600	0,724	1,411
JER026	0,000	0,087	0,086	0,762	0,740	1,588
JER043	0,000	0,076	0,076	0,737	0,728	1,541
JER046	0,000	0,064	0,064	0,684	0,728	1,476
JER056	0,000	0,044	0,044	0,444	0,713	1,201
JER049	0,000	0,023	0,023	0,667	0,713	1,403
JER037	0,000	0,022	0,022	0,500	0,719	1,241
JER044	0,000	0,017	0,017	0,571	0,743	1,332
JER008	0,000	0,009	0,009	0,727	0,743	1,479
JER055	0,000	0,001	0,001	0,667	0,784	1,452
JER030	0,000	0,000	0,000	0,818	0,801	1,620
JER028	0,000	0,000	0,000	0,789	0,778	1,568
JER009	0,000	0,000	0,000	0,762	0,795	1,557
JER027	0,000	0,000	0,000	0,700	0,794	1,494

Tabela 15. Classificação dos animais da raça Pantaneira em função da probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA).

ID do animal	Probabilidade de alocação (PA)	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
PAN089	0,975	0,591	0,731	2,296
PAN075	0,972	0,546	0,770	2,287
PAN006	0,970	0,700	0,737	2,407
PAN153	0,967	0,636	0,735	2,338
PAN162	0,965	0,636	0,750	2,351
PAN154	0,964	0,727	0,788	2,480
PAN056	0,964	0,682	0,742	2,388
PAN042	0,964	0,591	0,758	2,313
PAN112	0,963	0,682	0,748	2,393
PAN060	0,962	0,600	0,743	2,305
PAN046	0,960	0,636	0,764	2,361
PAN106	0,956	0,737	0,757	2,450
PAN103	0,953	0,810	0,811	2,573
PAN079	0,952	0,636	0,753	2,342
PAN057	0,948	0,647	0,787	2,382
PAN156	0,945	0,850	0,770	2,565
PAN093	0,943	0,636	0,738	2,317
PAN159	0,941	0,762	0,805	2,508
PAN073	0,940	0,864	0,775	2,578
PAN131	0,940	0,636	0,740	2,316
PAN064	0,938	0,727	0,754	2,419
PAN128	0,936	0,955	0,781	2,672
PAN146	0,936	0,714	0,791	2,442
PAN017	0,930	0,667	0,835	2,431
PAN096	0,923	0,800	0,801	2,524
PAN065	0,917	0,727	0,777	2,422
PAN102	0,915	0,762	0,764	2,441
PAN163	0,911	0,727	0,764	2,403
PAN100	0,911	0,682	0,748	2,341
PAN081	0,911	0,591	0,764	2,266
PAN101	0,907	0,667	0,723	2,297
PAN087	0,905	0,773	0,783	2,461
PAN054	0,904	0,714	0,780	2,398
PAN068	0,904	0,636	0,755	2,295
PAN091	0,904	0,636	0,750	2,290
PAN076	0,902	0,909	0,789	2,600
PAN140	0,889	0,818	0,801	2,508
PAN041	0,889	0,773	0,786	2,448
PAN083	0,887	0,632	0,742	2,260
PAN124	0,883	0,857	0,802	2,542
PAN015	0,877	0,818	0,776	2,471
PAN004	0,876	0,773	0,850	2,499
PAN084	0,871	0,727	0,758	2,356
PAN040	0,871	0,706	0,728	2,304
PAN074	0,868	0,667	0,774	2,308
PAN059	0,856	0,750	0,784	2,390
PAN005	0,849	0,727	0,786	2,363
PAN144	0,844	0,864	0,815	2,522
PAN069	0,843	0,727	0,756	2,326

---

PAN051	0,841	0,762	0,782	2,385
PAN139	0,838	0,722	0,834	2,394
PAN088	0,837	0,619	0,773	2,229
PAN109	0,824	0,727	0,756	2,307
PAN080	0,818	0,857	0,759	2,434
PAN078	0,809	0,818	0,819	2,446
PAN045	0,794	0,818	0,748	2,360
PAN014	0,782	0,714	0,796	2,292
PAN119	0,770	0,773	0,786	2,328
PAN160	0,766	0,714	0,741	2,221
PAN013	0,752	0,600	0,784	2,136
PAN161	0,749	0,636	0,757	2,143
PAN009	0,738	0,619	0,802	2,159
PAN138	0,726	0,778	0,766	2,270
PAN010	0,715	0,700	0,829	2,244
PAN032	0,711	0,500	0,798	2,009
PAN062	0,682	0,800	0,748	2,230
PAN141	0,680	0,500	0,828	2,008
PAN072	0,645	0,857	0,819	2,321
PAN007	0,636	0,636	0,777	2,050
PAN150	0,628	0,750	0,791	2,169
PAN016	0,625	0,682	0,790	2,097
PAN008	0,612	0,773	0,808	2,193
PAN085	0,590	0,762	0,794	2,146
PAN142	0,588	0,818	0,798	2,204
PAN044	0,564	0,619	0,806	1,989
PAN001	0,555	0,773	0,832	2,160
PAN097	0,489	0,833	0,829	2,151
PAN118	0,474	0,909	0,796	2,179
PAN067	0,458	0,810	0,778	2,045
PAN143	0,430	0,864	0,785	2,078
PAN133	0,393	0,700	0,774	1,867
PAN157	0,348	0,773	0,768	1,889
PAN090	0,320	0,650	0,759	1,729
PAN137	0,287	0,810	0,802	1,899
PAN123	0,239	0,773	0,783	1,795
PAN164	0,213	0,636	0,823	1,673
PAN108	0,200	0,591	0,785	1,576
PAN095	0,182	0,773	0,830	1,784
PAN149	0,179	0,682	0,772	1,633
PAN019	0,166	0,895	0,784	1,845
PAN121	0,163	0,682	0,779	1,624
PAN002	0,145	0,818	0,803	1,766
PAN003	0,119	0,773	0,790	1,682
PAN147	0,075	0,714	0,816	1,605
PAN092	0,042	0,682	0,770	1,494
PAN063	0,013	0,429	0,802	1,244

---

Tabela 16. Classificação dos animais da raça Pantaneira em função da probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA).

ID do animal	Probabilidade de alocação (PA)	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
NEL097	0,987	0,636	0,699	2,323
NEL069	0,986	0,636	0,692	2,314
NEL089	0,986	0,524	0,685	2,194
NEL104	0,985	0,619	0,648	2,252
NEL070	0,984	0,818	0,710	2,512
NEL102	0,984	0,727	0,680	2,391
NEL080	0,983	0,773	0,720	2,476
NEL029	0,983	0,636	0,682	2,301
NEL093	0,983	0,591	0,685	2,259
NEL027	0,982	0,773	0,690	2,445
NEL112	0,982	0,714	0,726	2,423
NEL116	0,982	0,700	0,711	2,393
NEL060	0,982	0,619	0,655	2,256
NEL046	0,981	0,579	0,728	2,288
NEL049	0,981	0,591	0,673	2,245
NEL074	0,980	0,682	0,698	2,360
NEL084	0,979	0,591	0,685	2,255
NEL140	0,978	0,714	0,738	2,430
NEL125	0,978	0,636	0,720	2,335
NEL033	0,978	0,611	0,715	2,304
NEL081	0,978	0,619	0,677	2,274
NEL010	0,978	0,476	0,675	2,129
NEL107	0,977	0,571	0,699	2,247
NEL073	0,976	0,619	0,754	2,349
NEL082	0,976	0,682	0,690	2,348
NEL130	0,976	0,667	0,697	2,340
NEL059	0,976	0,546	0,690	2,212
NEL096	0,976	0,500	0,688	2,164
NEL051	0,975	0,722	0,729	2,427
NEL665	0,974	0,571	0,730	2,276
NEL103	0,972	0,667	0,705	2,343
NEL072	0,971	0,600	0,705	2,276
NEL063	0,970	0,750	0,732	2,452
NEL109	0,969	0,714	0,682	2,365
NEL145	0,969	0,591	0,742	2,302
NEL142	0,969	0,600	0,692	2,261
NEL053	0,968	0,714	0,731	2,413
NEL120	0,968	0,546	0,684	2,198
NEL003	0,967	0,706	0,668	2,341
NEL653	0,966	0,550	0,689	2,205
NEL654	0,964	0,600	0,718	2,282
NEL100	0,964	0,600	0,699	2,263
NEL071	0,962	0,682	0,748	2,392
NEL111	0,962	0,563	0,712	2,236
NEL126	0,958	0,714	0,773	2,446
NEL110	0,955	0,900	0,756	2,611
NEL659	0,955	0,571	0,663	2,190
NEL115	0,954	0,682	0,703	2,339
NEL149	0,953	0,727	0,737	2,417
NEL065	0,953	0,636	0,736	2,325
NEL105	0,953	0,636	0,715	2,305
NEL092	0,948	0,636	0,681	2,265
NEL656	0,945	0,762	0,730	2,437
NEL077	0,942	0,591	0,723	2,256

---

NEL664	0,941	0,500	0,724	2,165
NEL652	0,938	0,421	0,692	2,051
NEL013	0,936	0,773	0,694	2,402
NEL143	0,936	0,667	0,791	2,394
NEL035	0,935	0,750	0,794	2,479
NEL106	0,935	0,636	0,714	2,286
NEL050	0,929	0,737	0,686	2,352
NEL061	0,927	0,727	0,727	2,382
NEL122	0,924	0,682	0,719	2,325
NEL057	0,922	0,571	0,669	2,162
NEL146	0,921	0,773	0,749	2,442
NEL117	0,919	0,857	0,749	2,525
NEL144	0,917	0,636	0,709	2,262
NEL062	0,917	0,650	0,685	2,252
NEL054	0,914	0,632	0,682	2,228
NEL086	0,913	0,571	0,689	2,174
NEL148	0,911	0,471	0,728	2,110
NEL662	0,901	0,714	0,704	2,319
NEL119	0,895	0,667	0,729	2,290
NEL090	0,888	0,750	0,706	2,344
NEL670	0,884	0,611	0,735	2,230
NEL006	0,882	0,632	0,713	2,227
NEL655	0,881	0,591	0,709	2,181
NEL147	0,867	0,619	0,738	2,224
NEL058	0,864	0,636	0,743	2,244
NEL028	0,858	0,650	0,770	2,278
NEL663	0,855	0,591	0,704	2,150
NEL121	0,845	0,571	0,688	2,104
NEL123	0,834	0,765	0,742	2,341
NEL661	0,807	0,619	0,678	2,104
NEL660	0,785	0,810	0,783	2,378
NEL108	0,781	0,500	0,678	1,959
NEL079	0,773	0,591	0,700	2,064
NEL113	0,750	0,737	0,766	2,253
NEL667	0,747	0,526	0,674	1,947
NEL118	0,738	0,818	0,775	2,331
NEL131	0,679	0,684	0,719	2,082
NEL091	0,651	0,667	0,716	2,034
NEL124	0,503	0,765	0,758	2,026
NEL055	0,335	0,650	0,751	1,736

---

Tabela 17. Classificação dos animais da raça Jersey em função da probabilidade individual de alocação racial estimada pelo programa STRUCTURE (PA).

ID do animal	Probabilidade de alocação (PA)	Ind, H <sub>obs</sub>	1- MMK	CPI
JER015	0,985	0,4545	0,6620	2,1015
JER018	0,984	0,5000	0,6468	2,1308
JER020	0,981	0,4091	0,6656	2,0557
JER021	0,979	0,6190	0,7301	2,3281
JER014	0,979	0,6364	0,6810	2,2964
JER019	0,979	0,5000	0,6749	2,1539
JER056	0,975	0,4444	0,7132	2,1327
JER003	0,974	0,6818	0,6786	2,3345
JER012	0,973	0,5500	0,6631	2,1861
JER047	0,972	0,5000	0,6788	2,1508
JER053	0,972	0,3333	0,6638	1,9691
JER057	0,97	0,7222	0,6802	2,3724
JER041	0,968	0,6111	0,6635	2,2427
JER022	0,967	0,7143	0,6877	2,3690
JER045	0,966	0,7222	0,7104	2,3986
JER016	0,963	0,6000	0,7169	2,2799
JER043	0,958	0,7368	0,7282	2,4230
JER033	0,958	0,7143	0,6923	2,3646
JER038	0,956	0,5714	0,7233	2,2507
JER004	0,95	0,7727	0,7004	2,4231
JER032	0,95	0,5714	0,6754	2,1968
JER037	0,95	0,5000	0,7190	2,1690
JER048	0,949	0,5263	0,6662	2,1415
JER055	0,946	0,6667	0,7840	2,3966
JER023	0,941	0,5455	0,7013	2,1878
JER007	0,94	0,6818	0,6839	2,3057
JER034	0,94	0,4000	0,6667	2,0067
JER006	0,936	0,6818	0,6991	2,3169
JER002	0,934	0,5909	0,6904	2,2153
JER040	0,927	0,6842	0,6552	2,2664
JER011	0,921	0,6500	0,6752	2,2462
JER031	0,92	0,5909	0,6968	2,2077
JER051	0,918	0,6250	0,7142	2,2572
JER035	0,912	0,6111	0,6559	2,1790
JER001	0,907	0,6364	0,7035	2,2469
JER044	0,898	0,5714	0,7432	2,2127
JER050	0,894	0,5556	0,6598	2,1094
JER013	0,875	0,6818	0,7072	2,2640
JER017	0,859	0,9048	0,7200	2,4837
JER054	0,859	0,7778	0,7174	2,3542
JER005	0,859	0,5455	0,7046	2,1090
JER025	0,858	0,6364	0,6949	2,1892
JER039	0,849	0,5789	0,6876	2,1155
JER046	0,82	0,6842	0,7277	2,2319
JER042	0,815	0,6316	0,7091	2,1557
JER010	0,811	0,6667	0,6812	2,1589
JER049	0,79	0,6667	0,7133	2,1700
JER029	0,755	0,6000	0,7235	2,0785
JER026	0,727	0,7619	0,7402	2,2292
JER008	0,556	0,7273	0,7427	2,0260
JER030	0,439	0,8182	0,8015	2,0586
JER009	0,265	0,7619	0,7950	1,8219
JER027	0,045	0,7000	0,7939	1,5389
JER028	0,036	0,7895	0,7780	1,6035

Tabela 18. Índices de diversidade genética nas raças Pantaneira, Nelore e Jersey estimados para os grupos formados com 50 % dos indivíduos considerados superiores utilizando as metodologias propostas para classificação de indivíduos baseada na alocação racial feita pelo programa GENECLASS (MT1 e MT2) ou o STRUCUTURE (MT3 e MT4) e para o conjunto formado com todas as amostras de cada uma das raças (Total). He – heterozigosidade esperada; Ho – heterozigosidade observada, FIS – índice de consangüinidade de Wright; AR – riqueza alélica.

Método	Pantaneiro				Nelore				Jersey			
	He	Ho	F <sub>IS</sub>	AR	He	Ho	F <sub>IS</sub>	AR	He	Ho	F <sub>IS</sub>	AR
MT1	0,751	0,741	0,015	8,163	0,695	0,662	0,048	7,532	0,667	0,641	0,039	5,628
MT2	0,740	0,711	0,040	8,115	0,675	0,626	0,073	7,332	0,661	0,619	0,065	5,543
MT3	0,776	0,747	0,037	8,553	0,733	0,701	0,044	8,164	0,714	0,678	0,051	5,920
MT4	0,761	0,718	0,057	8,311	0,701	0,637	0,093	7,788	0,682	0,587	0,141	5,696
TOTAL	0,784	0,723	0,076	9,003	0,722	0,645	0,096	8,375	0,714	0,632	0,121	8,161

## 4. DISCUSSÃO

Testes de alocação individual estão sendo amplamente utilizados para solucionar assuntos diferentes relativos à diferenciação de populações (Paetkau *et al.*, 1995), padrões de imigração (Rannala & Mountain, 1997), preservação da integridade racial (Koskinen, 2003), certificação de origem de produto e investigações forenses (Primmer *et al.*, 2000). Neste estudo foi proposta uma nova aplicação para os testes de alocação, o seu uso como uma poderosa ferramenta para quantificar a probabilidade de um animal pertencer a sua raça esperada, visando avaliar as prioridades para a conservação e classificar os individuais para a formação de coleções de tamanho limitado de raças de bovino locais.

Vários estudos tentaram resolver o assunto de como priorizar os esforços de conservação de raça animais, a maioria deles está focada na busca de raças prioritárias e não de indivíduos dentro de raças (Laval *et al.*, 2000; Canon *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2005; Consortium, 2006). Até onde se conhece, este é o primeiro estudo que propõe uma metodologia de classificação individual que tenta maximizar a integridade racial e a diversidade simultaneamente para a manutenção a longo prazo. Esta metodologia poderá ser particularmente útil quando o valor específico de uma raça já foi estabelecido e a questão agora é saber quais e quantos animais devem ser conservados. Além disso, a introdução de um teste prévio de alocação racial deve ser particularmente valioso quando houver evidências de miscigenação entre raças próximas e existem diversos candidatos à conservação, podendo estes ser geneticamente semelhantes. Este é, em particular, o caso das raças crioulas localmente adaptadas de animais domésticos.

### 4.1. Desempenho dos métodos de alocação de racial

A magnitude da diferenciação genética entre raças-alvo tem um impacto forte e direto na precisão da alocação individual, especialmente quando são exigidos níveis de confiança mais altos no procedimento de alocação. Porém, dada a uma bateria relativamente alta de marcadores microssatélites hipervariáveis, os resultados obtidos demonstram que é possível com níveis altos de confiança obter uma alta precisão de alocação para a vasta maioria dos animais. Uma diferenciação genética significativa foi observada entre todas as comparações aos pares no grupo composto pelas dez raças analisadas, com uma estimativa global de  $F_{ST}$  igual a 0,098 e um valor médio de  $F_{ST}$  para todas as comparações aos pares de 0,109 (Tabela 1). Uma

estimativa comparável de diferenciação racial global foi estimada as raças crioulas taurinas e as raças zebuínas da Argentina e da Bolívia ( $F_{ST} = 0,088$ ) (Mirol *et al.*, 2003) e entre raças bovinas locais portuguesas ( $F_{ST} = 0,089$ ) (Mateus *et al.*, 2004). Estes resultados indicam que as dez raças estudadas podem ser consideradas como entidades geneticamente independentes e, assim, os testes de alocação individual de animais às suas populações de origem tendem a ter êxito utilizando este conjunto de marcadores moleculares.

Do ponto de vista dos métodos de alocação disponíveis, dado que o conjunto de marcadores utilizado foi suficiente e poderoso, todos os métodos Bayesianos foram eficientes de forma semelhante (Tabelas 2 e 3). Porém a escolha de uma ou outra metodologia poderia variar de acordo com a situação específica encontrada. Os métodos implementados pelos programas STRUCTURE e WHICHRUN, em particular o segundo, seriam a melhor escolha quando uma alocação de alta estringência é necessária, endossada pelos limiares de precisão, pelas estatísticas de confiança e por modelos que suportam a miscigenação quando está é presumida. Por outro lado, quando só uma raça é amostrada ou quando a verdadeira raça de origem pode não ter sido amostrada, o método Bayesiano implementado pelo programa GENECLASS seria recomendado, pois este permite não só nomear um indivíduo a sua legítima população, mas também exclui com confiança uma raça incorretamente deduzida como foi demonstrado em um estudo de fraude em uma competição de pesca (Primmer *et al.*, 2000).

Consistente com Cornuet *et al.* (1999) e Maudet *et al.* (2002), o teste de exclusão simulado de Rannala & Mountain (1997) implementado pelo programa GENECLASS (Cornuet *et al.*, 1999) mostrou uma maior precisão que o teste baseado na frequência alélica de Paetkau *et al.* (1995). Quando a alocação (*self-assignment*) foi realizada pela metodologia Bayesiana o resultado foi ligeiramente superior com 90,1% dos animais (824 em 915 animais) alocados às suas respectivas raças vs. 86,4% (791 animais em 915) para a metodologia baseada na frequência alélica ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2). Esta observação corrobora com os resultados de estudos de simulação computacional que defendem que os métodos Bayesianos devem ser superiores aos métodos de frequência alélica sob várias suposições relativas à dinâmica mutacional dos microssatélites, aos polimorfismos e a demografia das populações (Cornuet *et al.*, 1999). Além disso, uma suposição limitante do teste de Paetkau *et al.* (1995) é que a frequência alélica estimada na população referência representa com precisão as verdadeiras frequências alélicas na população. No caso de uma frequência alélica igual a zero, uma frequência de 0,01 foi assumida ao usar o método de Paetkau *et al.* (1995). Neste estudo, tendo em vista o alto número amostras, somando quase 200 cromossomos para a maioria das raças, alelos raros, com frequência abaixo de 5% foram observados em todas as populações com quase todos os locos

(Egito *et al.*, 2007 no prelo). É importante observar, entretanto, que a diferença no sucesso da alocação entre dois testes não foi afetado, provavelmente devido número de marcadores microssatélites utilizado. Se poucos marcadores tivessem sido utilizados provavelmente a performance dos testes diferiria de forma mais contundente.

As taxas de sucesso de alocação, obtidas neste estudo, são condizentes com as observadas em outros trabalhos que também empregaram de 20 a 26 marcadores microssatélites, em raças bovinas e eqüinas, obtendo taxas entre 80 e 100% de alocação individual correta às raças de origem (MacHugh *et al.*, 1998; Bjornstad & Roed, 2001;2002; Maudet *et al.*, 2002; Achmann *et al.*, 2004). Quando o teste de alocação foi realizado com todos os 915 animais, a porcentagem de indivíduos designados às suas raças de origem, pelos testes de exclusão por simulação (GENECLASS) utilizando uma aproximação de Bayesiana, foi ligeiramente superior à análise realizada pelo STRUCTURE (90,1 vs. 89,40). Esta diferença na eficiência provavelmente foi devida à presença das raças crioulas, pouco diferenciadas, da mesma forma como a porcentagem de alocações corretas caiu quando estas raças foram analisadas separadamente (Tabela 2). Contrastando com os valores observados para as raças crioulas, foram observadas taxas superiores de alocação individual quando apenas as raças taurinas especializadas ou as zebuínas foram analisadas. Estas raças fazem parte de programas de seleção e melhoramento e tem um histórico de manejo controlado que evita a miscigenação. Quando todos os indivíduos de cada raça foram confrontados com o banco de dados formado pelos 915 animais, observou-se, da mesma forma, uma maior proporção de alocação às populações de origem nas raças que possuem um histórico de manejo controlado e melhoramento (Tabela 3). Entre as raças de crioulas foi observada uma porcentagem mais alta de alocações corretas, independente do método, nas raças CRL e CAR enquanto a raça CUR foi a que exibiu uma porcentagem mais baixa de alocações corretas.

A eficiência ligeiramente mais baixa da metodologia implementada pelo STRUCTURE pode ser devida ao modelo de miscigenação aplicado e ao fato de que não nenhuma informação prévia a respeito das populações (Pritchard *et al.*, 2000). A alocação racial de indivíduos com níveis baixos de diferenciação utilizando esta metodologia se torna desafiadora e requer informações prévias a respeito da população. Maudet *et al.*, (2002) observou que entre raças altamente relacionadas com  $F_{ST} = 0,03$ , apenas 50% dos indivíduos podem ser alocados corretamente com um certo nível de segurança utilizando a metodologia implementada pelo STRUCTURE. Ibeagha-Awemu & Erhardt (2005) só conseguiram alocar indivíduos às suas respectivas raças zebuínas utilizando informações prévias. Este é o caso das raças crioulas brasileiras que divergiram relativamente há pouco tempo de forma que é improvável a obtenção

de 100% de alocações corretas simplesmente porque alguns indivíduos da população ou são imigrantes ou descendem de imigrantes de outras raças crioulas. Além disto, em um estudo prévio foi possível observar a introgressão de raças zebuínas exóticas nas raças crioulas e a miscigenação entre estas (Egito *et al.*, 2007 no prelo). A proporção de participantes de cada raça assinalados a um dos 10 possíveis clusters formados pelo programa STRUCTURE ( $k=10$ ) demonstrou que os indivíduos das raças analisadas agrupam-se com os seus pares embora existam evidências de miscigenação especialmente entre as raças crioulas, onde as maiores proporções de agrupamento foram inferiores as observadas para as raças taurinas especializadas e as raças zebuínas (Tabela 4).

#### 4.2. Poder discriminatório dos microssatélites nos testes de alocação racial

A avaliação do poder discriminatório dos microssatélites para os testes de alocação racial pôde ser realizada mediante o uso de diferentes conjuntos de análises. Os resultados obtidos demonstraram que as variáveis cruciais e interdependentes são a precisão requerida na alocação, a confiança (LOD) com que a alocação necessita ser realizada e o número de locos requeridos ou os possíveis marcadores microssatélite utilizados. Em situações onde os recursos são limitados e somente alguns marcadores podem ser genotipados, os testes de alocação ainda seriam poderosos se as raças a serem alocadas possuísem um alto  $F_{ST}$ . Este seria o caso de indivíduos de raças taurinas serem diferenciados de uma população de raças zebuínas ou dentro de grupos de raças taurinas especializadas. Menos de 10 marcadores forneceriam porcentagens de alocação corretas acima de 90% com 95% precisão e LOD 2 (Tabela 5). Por outro lado, a baixa diferenciação genética observada entre raças como o GYR e o GUZ, no grupo zebuino, ou entre o PAN, o CRL e CUR, no grupo de crioulo, exigiria a utilização dos 22 marcadores para alcançar a precisão adequada na alocação.

Os resultados também demonstraram que até mesmo com 22 marcadores uma alocação com 100% de acerto não foi possível quando todas as sete raças taurinas (taurinas especializadas e crioulas) foram analisadas. Isto poderia ser devido à ocorrência de alelos raros ou a erros de genotipagem (Davies *et al.*, 1999) que tornariam o genótipo multiloco menos provável de ocorrer em uma raça particular prevenindo sua alocação à sua população de origem ou a qualquer outra raça analisada. Além disso, a inclusão de muitas fontes potenciais geralmente reduz a habilidade para descobrir a raça de origem, particularmente quando o animal a ser alocado pode ser um híbrido e algumas das raças são relacionadas (Bjornstad & Roed, 2002). Por este motivo, foi sugerido que para maximizar o poder de alocação, o número de

possíveis raças deveria ser minimizado, incluindo no teste apenas aquelas que fossem pertinentes ao problema específico (Bjornstad & Roed, 2002; Hansen *et al.*, 2002; Maudet *et al.*, 2002).

Em um estudo de simulação foi demonstrado que para um nível de confiança elevado com  $LOD = 2$  (i.e. os dados genéticos 100 vezes mais prováveis, condicional a hipótese do animal pertencer à raça de origem), mais de vinte microssatélites seriam necessários para alocar corretamente acima de 80% dos animais derivados de cruzamentos entre raças pouco diferenciadas ( $F_{ST}$  entre 0,05 e 0,069) enquanto que só dez marcadores, ou menos, seriam necessários se a diferenciação racial fosse maior ( $F_{ST} > 0,08$ ) ou se não fossem animais mestiços e com uma alta pureza racial (Bjornstad & Reed, 2002). Nossos dados experimentais confirmam os resultados desta simulação e sugerem que os testes de alocação realizados, com base em um conjunto de 22 microssatélites, poderiam identificar corretamente animais derivados de cruzamentos e até mesmo de raças relacionadas. Por exemplo, quando um teste de alocação racial for solicitado para diferenciar animais das raças GIR ou GUZ que apresentam um valor de  $F_{ST}$  baixo estimado em 0,033, 88% dos animais podem ser corretamente assinalados com uma acurácia de 99,9% e com um  $LOD=3$  utilizando esta bateria de 22 microssatélites (Tabela 5). Com este nível de diferenciação racial em nenhum instante é possível alocar animais com uma acurácia superior a 95% com menos de 22 marcadores. Por outro lado, quando a alocação solicitada for para animais das raças JER ou HOL, somente oito marcadores serão suficientes para alocar corretamente acima de 95% de animais com uma acurácia de 95% e um  $LOD=2$ . O mesmo teste simulado indicou que, de fato, com oito marcadores e um  $F_{ST}$  entre 0,08 e 0,139, pode-se alocar corretamente acima de 89% dos indivíduos com um  $LOD = 2,0$ .

Dentro do objetivo deste estudo o interesse é o de alocar indivíduos às suas raças de origem com um alto grau de confiança considerando o investimento empregado na conservação a longo prazo, seja para a manutenção de animais vivos ou para a criopreservação de gametas. Neste contexto, os animais para a conservação deverão, preferencialmente, ser tipados com uma grande bateria de microssatélites de modo a fornecer um poder discriminatório que não possa ser questionado e que possibilite a priori um  $LOD$  score alto.

#### **4.3. Classificação individual para a formação de Núcleos de Conservação**

Enquanto a variação dentro das populações e as análises individuais para conservação a longo prazo são um tema comum na genética vegetal, a variação genética dentro de raças e as análises individuais para a conservação de recursos genéticos animais ainda é um tópico

pouco discutido. Em função do sistema reprodutivo dos animais domésticos, independente da espécie em consideração, mais de 80% da variância total está localizada entre os indivíduos dentro da raça sendo uma pequena porcentagem observada entre as populações. Enquanto a variação entre raças e os efeitos heteróticos potenciais resultantes têm sido eficientemente explorados através de cruzamentos, a melhoria de uma raça específica por seleção recorrente, depende essencialmente da manutenção de níveis adequados de diversidade genética dentro da raça.

Este trabalho e a metodologia proposta para classificar os indivíduos para a conservação foram baseados em estudos prévios (Mariante & Egito 2002; Egito *et al.*, 2007 no prelo) que identificaram algumas raças crioulas brasileiras como sendo repositórios relevantes e únicos de variabilidade genética para a melhoria dos rebanhos nos trópicos. Primeiro, devido à estreita relação entre algumas destas raças foram utilizados procedimentos de alocação, baseados em marcadores moleculares, com um alto limiar de estringência para identificar os animais geneticamente mais apropriados (*true-to-type*) para a conservação. Em segundo, considerando que as populações são pequenas e correm risco de extinção é crucial se evitar a homozigose, foram incluídas mensurações simples e diretas de heterozigosidade observada individual. Finalmente, para melhor acessar a unicidade de cada indivíduo como candidato potencial para compor uma coleção de tamanho limitado, foram estimados índices médios de coancestria molecular. A partir daí, tendo como base uma mensuração *ad-hoc* que representaria um índice prioritário para a conservação (CPI) para cada indivíduo dentro de sua raça, os animais puderam ser classificados e ordenados. A metodologia proposta foi meramente prática com o objetivo de fornecer um mecanismo racional para otimizar os recursos alocados no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal. O foco deste estudo não foi o de prover avaliações teóricas e/ou comparativas para o método proposto, mas o de propor um método objetivo para embasar as decisões a serem tomadas. Nas diferentes abordagens avaliadas quanto aos parâmetros de diversidade genética foi possível observar que, no conjunto formado por 50% dos indivíduos melhores classificados quanto à pureza racial dentro de cada raça, a maior parte dos indivíduos aparecia no subgrupo selecionado independentemente da metodologia implementada (Tabelas 6 a 17). Estes animais poderiam assim constituir o primeiro conjunto de indivíduos selecionados para fazer parte de uma coleção nuclear (*core collection*) animal. A utilização de diferentes metodologias de seleção de animais candidatos a fazerem parte de uma coleção nuclear seguida da comparação dos resultados obtidos e identificação daqueles animais que consistentemente foram selecionados nas várias metodologias poderá ser uma abordagem prática interessante.

Como esperado pelo histórico das raças, o PAN demonstrou uma heterozigidade média um pouco mais alta com uma variação maior devido, provavelmente, a um manejo reprodutivo menos rígido assim como, devido aos eventos de miscigenação que deram origem a raça. Esta evidência foi corroborada pelo fato que enquanto a variação da probabilidade de alocação foi similar para as três raças testadas, uma variação muito superior no CPI foi observada para a raça PAN (0,089) quando comparada com o NEL (0,048) e o JER (0,062). Assim como foi visualizada uma maior variação nas probabilidades de alocação no PAN, com alguns animais nem mesmo sendo assinalados à raça ou com uma probabilidade de alocação muito baixa e/ou com uma probabilidade de alocação relativamente alta ser alocado em outras raças (Tabelas 6 a 17). Poucos estudos reportam as probabilidades de alocação racial de indivíduos. De modo geral, somente são informadas as porcentagens de todos os animais que foram alocados corretamente às suas respectivas raças. Koskinen (2003), porém, em um gráfico apresentado, demonstra uma probabilidade de miscigenação desprezível na análise de 250 indivíduos de cinco raças caninas bem diferenciadas. Negrini *et al.* (2007) utilizando marcadores AFLP e a metodologia Bayesiana (STRUCTURE) para alocar de raças bovinas italianas, demonstraram que quando todas as raças de referência estão presentes as probabilidades de agrupamentos individuais são altas. Entretanto, quando a raça designada não está no conjunto de referência o método tende a assinalar o indivíduo em uma outra raça errada, a menos que, um valor de limiar mínimo muito alto de diferença da probabilidade log fosse utilizado aumentando a taxa de erro do tipo II, i.e. porcentagem de animais não alocados às suas raças.

Dado o objetivo do teste de alocação no contexto de prioridade para a conservação, a melhor metodologia para alocação racial foi a implementada pelo GENECLASS onde o método Bayesiano (Rannala & Mountain, 1997) incorpora o teste de significância de exclusão por simulação de Cornuet *et al.* (1999), sendo o único teste, até o momento disponível, que leva em consideração que o conjunto de amostras referência pode não conter a população real do indivíduo a ser alocado. Neste caso, a probabilidade de alocação para a raça esperada ou quaisquer outras raças incluídas seria muito baixa permitindo assim a identificação dos indivíduos atípicos para a raça em questão (Cornuet *et al.* 1999). Estes genótipos multiloco atípicos podem derivar de eventos de hibridização recorrentes ou até mesmo a erros de genotipagem. Em todo caso estes indivíduos seriam classificados em posições baixas na lista de priorização de indivíduos para a conservação e, a maioria, provavelmente, não seria incluída nas coleções, como foi observado ao simularmos uma *core collection* teste formada por 50% da população base. Do ponto de vista prático de conservação, na melhor metodologia (MT1) o

número e a proporção de animais que apresentaram um CPI acima da média foi elevado (45 em 96 (47%) para PAN, 38 em 94 (40%) para NEL e 22 em 54 (41%) para JER).

De uma forma geral, a melhor abordagem para a classificação de animais quanto à prioridade de conservação que satisfaça simultaneamente pureza racial, máxima variabilidade e mínimo endocruzamento foi observada com o método MT1. Neste métodos os índices de diversidade genética foram superiores àqueles obtidos quando a alocação era realizada previamente em uma abordagem *em tandem* (MT2). A nota de alocação racial BAS estimada com base na abordagem do software GENECLASS e aplicando uma penalização pela subtração da probabilidade de pertencer a outras raças da probabilidade de pertencer à sua raça original, mostrou ser um método eficiente para evitar que indivíduos que sejam miscigenados ou não façam parte da população sejam incluídos no grupo considerado prioritário para a conservação. O melhor desempenho da abordagem via GENECLASS em comparação àquele do STRUCTURE foi verificada pelos menores valores de  $F_{IS}$  (Tabela 18) Este resultado é altamente relevante para a conservação de recursos genéticos animais, uma vez que as raças que fazem parte do programa encontram-se em perigo de extinção existindo um número de animais extremamente reduzido, fato este que leva a um aumento da endogamia dos núcleos de conservação. Análises posteriores deverão ser realizadas com o intuito de se refinar a metodologia proposta e averiguar o número mínimo de indivíduos necessários para compor uma *core collection* animal.

Existem várias metodologias disponíveis para se construir uma coleção nuclear (*core collection*) desenvolvidas para espécies vegetais (Huaman *et al.*, 1999; Malosetti & Abadie, 2001; Li *et al.*, 2002; Upadhyaya *et al.*, 2002; Balfourier *et al.*, 2007). Tipicamente todas envolvem a descrição da diversidade genética da coleção inteira, seguido por uma estimativa das distâncias genéticas entre todos os acessos e uma seleção final de amostras de acessos individuais para formar o núcleo. Neste estudo foram seguidos estes três passos comuns, mas, em se tratando de animais e raças diferentes, foi incluído de forma inédita um parâmetro de integridade racial visando prevenir a inclusão de indivíduos atípicos do ponto de vista racial obtendo assim, uma coleção composta por representantes mais fidedignos da raça a ser conservada. No que se refere à maximização de diversidade genética mantida em coleções nucleares métodos sofisticados tem sido propostos como, por exemplo, a estratégia M descrita por Schoen e Marrom (1993) e a recentemente aplicada a trigo (Balfourier *et al.* 2007). Esta metodologia poderá ser utilizada juntamente com a abordagem de alocação racial para avaliar comparativamente o método proposto neste estudo com base em  $H_{obs}$  e MMK desenvolvido neste trabalho.

Em conclusão, neste trabalho foi proposto um método que visa maximizar simultaneamente a pureza racial e diversidade genética de um grupo de animais candidatos a constituir uma coleção nuclear para conservação. A premissa subjacente para justificar a maximização de variabilidade a marcadores moleculares é que o desequilíbrio de ligação esperado entre estes marcadores em princípio neutros e outros genes associados pelo fenômeno de *hitch-hiking* (carona) permitiria capturar uma maior quantidade de variação genética adaptativa relevante. Esta preocupação vem crescendo largamente no contexto da conservação de recursos genéticos. Os programas de melhoramento genético podem ter levado à mudanças fenotípicas codificadas por alelos que não estão necessariamente ligados a marcadores neutros (European Cattle Diversity Consortium, 2006). A caracterização da diversidade genética animal em pesquisas futuras deverá buscar de forma crescente a variação adaptativa, pela análise de genes específicos ou marcadores *outliers*, e as características quantitativas em combinação com a variação neutra (Toro, 2006). No caso de espécies animais geneticamente heterogêneas e com fecundação cruzada, em particular raças autóctonas que sujeitas a uma seleção branda, a extensão do desequilíbrio de ligação será limitado o que demanda um elevado número de marcadores para a caracterização de variabilidade funcional. Entretanto com os avanços recentes nas tecnologias de genotipagem, que permitem uma ampla cobertura do genoma bovino com as plataformas de genotipagem de SNPs em genes (Khatkar *et al.*, 2007; Zenger *et al.*, 2007), a perspectiva é extremamente positiva para que se torne possível uma alocação mais precisa ainda de animais às suas respectivas raças e, principalmente, uma caracterização detalhada de variabilidade genética não apenas a marcadores neutros mas sim aos milhares de genes expressos.

## 5. CONCLUSÕES

As principais conclusões deste trabalho são:

- A magnitude da diferenciação genética entre raças-alvo tem um impacto decisivo e direto na precisão da alocação individual, especialmente quando são exigidos níveis de confiança mais altos no procedimento de alocação. Porém, dada a uma bateria relativamente alta de marcadores microsatélites hipervariáveis, é possível obter uma alta precisão de alocação para a vasta maioria dos animais;
- Do ponto de vista dos métodos de alocação disponíveis, dado um conjunto de marcadores suficiente e com elevada capacidade de discriminação, todos os métodos Bayesianos de alocação racial foram mais eficientes do que aqueles baseados em frequências alélicas;
- Na comparação dos métodos Bayesianos, quando só uma raça é amostrada ou quando a verdadeira raça de origem pode não ter sido amostrada, o método implementado pelo programa GENECLASS é superior e recomendado, pois permite não só alocar um indivíduo a sua legítima população, mas também exclui com confiança uma raça incorretamente deduzida. A eficiência ligeiramente mais baixa da metodologia implementada pelo STRUCTURE pode ser devida ao modelo de miscigenação aplicado e ao fato de que nenhuma informação prévia a respeito das populações em geral é disponível;
- Os resultados obtidos demonstraram que as variáveis cruciais e interdependentes no processo de alocação racial são a precisão requerida na alocação, a confiança (LOD) com que a alocação necessita ser realizada e o número de locos requeridos ou os possíveis marcadores microsatélites utilizados. Em situações onde os recursos são limitados e somente alguns marcadores podem ser genotipados, os testes de alocação ainda seriam poderosos se as raças a serem alocadas possuísem uma elevada diferenciação;
- A nota de alocação racial estimada com base na abordagem Bayesiana do software GENECLASS e aplicando uma penalização pela subtração da probabilidade de pertencer a outras raças da probabilidade de pertencer à sua raça original, mostrou ser um método eficiente para evitar que indivíduos que sejam miscigenados ou não façam parte da população sejam incluídos no grupo considerado prioritário para a conservação; e,

- O método de priorização para conservação proposto pela estimativa de um parâmetro denominado CPI (*Conservation Priority Index*) que objetiva a seleção de animais que simultaneamente satisfaçam requisitos de pureza racial e máxima variabilidade, se mostrou mais eficiente quando o CPI foi estimado consolidando simultaneamente as notas de alocação racial e os índices de diversidade ( $H_{obs}$  e MMK) do que por métodos de seleção em tandem, i.e. classificação pela pureza racial primeiro e diversidade genética em uma segunda etapa.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achmann, R.; Curik, I.; Dovc, P.; Kavar, T.; Bodo, I.; Habe, F.; Marti, E.; Solkner, J.; Brem, G. Microsatellite diversity, population subdivision and gene flow in the Lipizzan horse. **Anim. Genet.**, v.35, n.4, p. 285-292. 2004.
- Balfourier, F.; Roussel, V.; Strelchenko, P.; Exbrayat-Vinson, F.; Sourdille, P.; Boutet, G.; Koenig, J.; Ravel, C.; Mitrofanova, O.; Beckert, M.; Charmet, G. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. **Theor. Appl. Genet.**, v.114, p. 1265-1275. 2007.
- Banks, M. A.; Eichert, W. WHICHRUN (version 3.2): a computer program for population assignment of individuals based on multilocus genotype data. **J. Hered.**, v.91, n.1, p. 87-89. 2000.
- Banks, M. A.; Eichert, W.; Olsen, J. B. Which genetic loci have greater population assignment power? **Bioinformatics**, v.19, n.11, p. 1436-1438. 2003.
- Baumung, R.; Simianer, H.; Hoffmann, I. Genetic diversity studies in farm animals - a survey. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.121, p. 361-373. 2004.
- Bernatchez, L.; Duchesne, P. Individual-based genotype analysis in studies of parentage and population assignment : how many loci, how many alleles? **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.57, n.1, p. 1-12. 2000.
- Bicalho, H. M. S. **Grupos sanguíneos e polimorfismos de proteínas do sangue da raça Caracu (*Bos taurus taurus*)**. UFMG, Belo Horizonte - MG, 259 p., 1985. (Dissertação de Mestrado).
- Bjornstad, G.; Roed, K. H. Breed demarcation and potential for breed allocation of horses assessed by microsatellite markers. **Anim. Genet.**, v.32, n.2, p. 59-65. 2001.
- Bjornstad, G.; Roed, K. H. Evaluation of factors affecting individual assignment precision using microsatellite data from horse breeds and simulated breed crosses. **Anim. Genet.**, v.33, n.4, p. 264-270. 2002.
- Blott, S. C.; Williams, J. L.; Haley, C. S. Discriminating among cattle breeds using genetic markers. **Heredity**, v.82, p. 613-619. 1999.
- Bradley, D. G.; MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Sow, R. S.; Hoste, C. H.; Cunningham, E. P. Zebu-aurine variation in Y chromosomal DNA: a sensitive assay for genetic introgression in west African trypanotolerant cattle populations. **Anim. Genet.**, v.25, n.1, p. 7-12. 1994.
- Caballero, A.; Toro, M. A. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. **Conservation Genetics**, v.3, p. 289-299. 2002.
- Canon, J.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carleos, C.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferran, N.; Garcia, D.; Jordana, J.; Laloe, D.; Pereira, A.; Sanchez, A.; Moazami-Goudarzi, K. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. **Genet. Sel. Evol.**, v.33, n.3, p. 311-332. 2001.

- Carvajal-Carmona, L. G.; Bermudez, N.; Olivera-Angel, M.; Estrada, L.; Ossa, J.; Bedoya, G.; Ruiz-Linares, A. Abundant mtDNA diversity and ancestral admixture in Colombian criollo cattle (*Bos taurus*). **Genetics**, v.165, n.3, p. 1457-1463. 2003.
- Ciampolini, R.; Cetica, V.; Ciani, E.; Mazzanti, E.; Fosella, X.; Marroni, F.; Biagetti, M.; Sebastiani, C.; Papa, P.; Filippini, G.; Cianci, D.; Presciuttini, S. Statistical analysis of individual assignment tests among four cattle breeds using fifteen STR loci. **J. Anim. Sci.**, v.84, n.1, p. 11-19. 2006.
- Consortium, E. C. G. D. Marker-assisted conservation of European cattle breeds: An evaluation. **Anim. Genet.**, v.37, n.5, p. 475-481. 2006.
- Cornuet, J. M.; Piry, S.; Luikart, G.; Estoup, A.; Solignac, M. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. **Genetics**, v.153, n.4, p. 1989-2000. 1999.
- Davies, N.; Villablanca, F. X.; Roderick, G. K. Determining the source of individuals: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, v.14, n.1, p. 17-21. 1999.
- Eding, H.; Crooijmans, R. P. M. A.; Groenen, M. A. M.; Meuwissen, T. H. E. Assessing the contribution of breeds to genetic diversity in conservation schemes. **Genet. Sel. Evol.**, v.34, p. 613– 634. 2002.
- Eding, H.; Meuwissen, T. H. E. Marker-based estimates of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.118, n.3, p. 141-159. 2001.
- 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 Genet.**, 2007.no prelo.
- Estoup, A.; Rousset, F.; Michalakis, Y.; Cornuet, J. M.; Adriaamanga, M.; Guyomard, R. Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). **Mol. Ecol.**, v.7, n.3, p. 339-353. 1998.
- Frankel, O. H.; Brown, A.H.D. Plant genetic resource today: a critical appraisal. In: Holden, J.H.W.; Williams, J.T. (Eds.). **Crop Genetic Resources: conservation & evaluation**. London: George Allen & Unwin, p. 249-257. 1984
- Freeman, A. R.; Hoggart, C. J.; Hanotte, O.; Bradley, D. G. Assessing the relative ages of admixture in the bovine hybrid zones of Africa and the Near East using X chromosome haplotype mosaicism. **Genetics**, v.173, n.3, p. 1503-1510. 2006.
- Garcia, D.; Corral, N.; Canon, J. Combining inter- and intrapopulation information with the Weitzman approach to diversity conservation. **J. Hered.**, v.96, n.6, p. 704-712. 2005.
- Goudet, J. FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Version 2.9.3.2). p. 2002.

- Gutiérrez, J. P. R., L. J.; Álvarez, I.; Goyache, F. MolKin v2.0: A Computer Program for Genetic Analysis of Populations Using Molecular Coancestry Information. **J. Hered.**, v.96, n.6, p. 718-721. 2005.
- Hall, S. J. G.; Bradley, D. G. Conserving livestock breed biodiversity. **TREE**, v.10, n.7, p. 267-270. 1995.
- Hanotte, O.; Bradley, D. G.; Ochieng, J. W.; Verjee, Y.; Hill, E. W.; Rege, J. E. African pastoralism: genetic imprints of origins and migrations. **Science**, v.296, n.5566, p. 336-339. 2002.
- Hansen, C.; Shrestha, J. N.; Parker, R. J.; Crow, G. H.; Mcalpine, P. J.; Derr, J. N. Genetic diversity among Canadienne, Brown Swiss, Holstein, and Jersey cattle of Canada based on 15 bovine microsatellite markers. **Genome**, v.45, n.5, p. 897-904. 2002.
- Hansen, M. M.; Kenchington, E.; Nielsen, E. E. Assigning individual fish to populations using microsatellite DNA markers. **Fish and Fisheries**, v.2, p. 93-112. 2001.
- Huaman, Z.; Aguilar, C.; Ortiz, R. Selecting a Peruvian sweet potato core collection on the basis of morphological, eco-geographical, and disease and pest reaction data. **Theor. Appl. Genet.**, v.98, p. 840-844. 1999.
- Ibeagha-Awemu, E. M.; Erhardt, G. Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.122, n.1, p. 12-20. 2005.
- Idury, R. M.; Cardon, L. R. A simple method for automated allele binning in microsatellite markers. **Genome Res.**, v.7, n.11, p. 1104-1109. 1997.
- Kantanen, J.; Olsaker, I.; Holm, L. E.; Lien, S.; Vilkki, J.; Brusgaard, K.; Eythorsdottir, E.; Danell, B.; Adalsteinsson, S. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. **J. Hered.**, v.91, n.6, p. 446-457. 2000.
- Khatkar, M. S.; Zenger, K. R.; Hobbs, M.; Hawken, R. J.; Cavanagh, J. A.; Barris, W.; McClintock, A. E.; McClintock, S.; Thomson, P. C.; Tier, B.; Nicholas, F. W.; Raadsma, H. W. A primary assembly of a bovine haplotype block map based on a 15k SNP panel genotyped in Holstein-Friesian cattle. **Genetics**, v.Epub ahead of print, p. 2007.
- Kim, K. S.; Yeo, J. S.; Choi, C. B. Genetic diversity of north-east Asian cattle based on microsatellite data. **Anim. Genet.**, v.33, n.3, p. 201-204. 2002.
- Koskinen, M. T. Individual assignment using microsatellite DNA reveals unambiguous breed identification in the domestic dog. **Anim. Genet.**, v.34, n.4, p. 297-301. 2003.
- Kumar, P.; Freeman, A. R.; Loftus, R. T.; Gaillard, C.; Fuller, D. Q.; Bradley, D. G. Admixture analysis of South Asian cattle. **Heredity**, v.91, n.1, p. 43-50. 2003.
- Laval, G.; Iannuccelli, N.; Legault, C.; Milan, D.; Groenen, M. A. M.; Giuffra, E.; Andersson, L.; Nissen, P. H.; Jorgensen, C. B.; Beeckmann, P.; Geldermann, H.; Foulley, J. L.; Chevalet, C.;

- Ollivier, L. Genetic diversity of eleven European pig breeds. **Genet. Sel. Evol.**, v.32, p. 187–203. 2000.
- Li, Z.; Zhang, H.; Zeng, Y.; Yang, Z.; Shen, S.; Sun, C.; Wang, X. Studies on sampling schemes for establishment of core collection of rice landraces in Yunnan, China. **Genet. Res. Crop. Evol.**, v.49, p. 67-74. 2002.
- Liron, J. P.; Bravi, C. M.; Mirol, P. M.; Peral-Garcia, P.; Giovambattista, G. African matrilineages in American Creole cattle: evidence of two independent continental sources. **Anim. Genet.**, v.37, n.4, p. 379-382. 2006.
- Loftus, R. T.; Ertugrul, O.; Harba, A. H.; El-Barody, M. A.; MacHugh, D. E.; Park, S. D.; Bradley, D. G. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. **Mol. Ecol.**, v.8, n.12, p. 2015-2022. 1999.
- MacHugh, D. E.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Bradley, D. G. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. **Anim. Genet.**, v.29, n.5, p. 333-340. 1998.
- MacHugh, D. E.; Shriver, M. D.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Bradley, D. G. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). **Genetics**, v.146, n.3, p. 1071-1086. 1997.
- Malécot, G. **Les mathématiques de l'hérédité**. Paris: Masson et Cie. 1948
- Malosetti, M.; Abadie, T. Sampling strategy to develop a core collection of Uruguayan maize landraces based on morphological traits. **Genet. Res. Crop. Evol.**, v.48, p. 381-390. 2001.
- Mariante, A. S.; Egito, A. A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v.57, n.1, p. 223-235. 2002.
- Mateus, J. C.; Penedo, M. C.; Alves, V. C.; Ramos, M.; Rangel-Figueiredo, T. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.35, n.2, p. 106-113. 2004.
- Maudet, C.; Luikart, G.; Taberlet, P. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. **J. Anim. Sci.**, v.80, n.4, p. 942-950. 2002.
- Mckean, J. D. The importance of traceability for public health and consumer protection. **Rev. Sci. Tech.**, v.20, n.2, p. 363-371. 2001.
- Meirelles, F. V.; Rosa, A. J. M.; Lôbo, R. B.; Garcia, J. M.; Smith, L. C.; Duarte, F. A. M. Is the American Zebu really *Bos indicus*? **Genet. Mol. Biol.**, v.22, n.4, p. 543-546. 1999.
- Miller, S. A.; Dykes, D. D.; Polesky, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res.**, v.16, n.3, p. 1215. 1988.

- Miretti, M. M.; Pereira, H. A., Jr.; Poli, M. A.; Contel, E. P.; Ferro, J. A. African-derived mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage. **J. Hered.**, v.93, n.5, p. 323-330. 2002.
- Mirol, P. M.; Giovambattista, G.; Liron, J. P.; Dulout, F. N. African and European mitochondrial haplotypes in South American Creole cattle. **Heredity**, v.91, n.3, p. 248-254. 2003.
- Negrini, R.; Milanesi, E.; Colli, L.; Pellecchia, M.; Nicoloso, L.; Crepaldi, P.; Lenstra, J. A.; Ajmone-Marsan, P. Breed assignment of Italian cattle using biallelic AFLP markers. **Anim. Genet.**, v.38, n.2, p. 147-153. 2007.
- Paetkau, D.; Calvert, W.; Stirling, I.; Strobeck, C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. **Mol. Ecol.**, v.4, n.3, p. 347-354. 1995.
- Park, S. D. E. **Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetics Effects of Selection**. University of Dublin, Dublin, Ireland, p., 2001. (PhD thesis).
- Piry, S.; Alapetite, A.; Cornuet, J. M.; Paetkau, D.; Baudouin, L.; Estoup, A. GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. **J. Hered.**, v.95, n.6, p. 536-539. 2004.
- Primmer, C. R.; Koskinen, M. T.; Piironen, J. The one that did not get away: individual assignment using microsatellite data detects a case of fishing competition fraud. **Proc. Biol. Sci.**, v.267, n.1453, p. 1699-1704. 2000.
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, n.2, p. 945-959. 2000.
- Rannala, B.; Mountain, J. L. Detecting immigration by using multilocus genotypes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.94, n.17, p. 9197-9201. 1997.
- Rege, J. E. O.; Bester, J. **Livestock resources and sustainable development in Africa**. 6th World Congress on Genetics Applied Livestock Production. Armidale, Australia. January 11-16 1998, 1998. p. 19-26.
- Reist-Marti, S. B.; Simianer, H.; Gibson, J.; Hanotte, O.; Rege, J. E. O. Weitzman's Approach and Conservation of Breed Diversity: an Application to African Cattle Breeds. **Conservation Biology**, v.15, n.5, p. 1299-1311. 2003.
- Toro, M. A. Assessing genetic diversity between breeds for conservation. **J. Anim. Breed. Genet.**, v.123, n.5, p. 289. 2006.
- Toro, M. A.; Barragan, C.; Ovilo, C. Estimation of genetic variability of the founder population in a conservation scheme using microsatellites. **Anim. Genet.**, v.34, n.3, p. 226-228. 2003.
- Toro, M. A.; Barragán, C.; Óvilo, C.; Rodrigañez, J.; Rodríguez, C.; Silió, L. Estimation of coancestry in Iberian pigs using molecular markers. **Conservation Genetics**, v.3, p. 309-320. 2002.

- Troy, C. S.; MacHugh, D. E.; Bailey, J. F.; Magee, D. A.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Chamberlain, A. T.; Sykes, B. C.; Bradley, D. G. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. **Nature**, v.410, n.6832, p. 1088-1091. 2001.
- Upadhyaya, H. D.; Bramel, P. J.; Ortiz, R.; Sing, S. Developing a mini core of peanut for utilisation of genetic resources. **Crop. Sci.**, v.42, p. 2150-2156. 2002.
- Waser, P. M.; Strobeck, C. Genetic signatures of dispersal. **Trends Ecology and Evolution**, v.13, p. 43-44. 1998.
- Weir, B. S.; Cockerham, C. C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v.38, p. 1358-1370. 1984.
- Weitzman, M. L. What to preserve? An application of diversity theory to crane conservation. **Quarterly Journal of Economics**, v.CVIII, p. 157–183. 1993.
- Weitzman, M. L. The Noah's Ark problem. **Econometrica**, v.66, p. 1279–1298. 1998.
- Zenger, K. R.; Khatkar, M. S.; Cavanagh, J. A.; Hawken, R. J.; Raadsma, H. W. Genome-wide genetic diversity of Holstein Friesian cattle reveals new insights into Australian and global population variability, including impact of selection. **Anim. Genet.**, v.38, n.1, p. 7-14. 2007.

## CAPÍTULO III – DIVERSIDADE NUCLEOTÍDICA E ANCESTRALIDADE MATERNA DE RAÇAS BOVINAS BRASILEIRAS BASEADAS NA ANÁLISE DO DNA MITOCONDRIAL

### 1. INTRODUÇÃO

A análise da diversidade genética existente na seqüência de mtDNA em bovinos tem demonstrado o potencial desta ferramenta para o conhecimento da origem e natureza dos processos de domesticação (Bradley *et al.*, 1998) bem como para estudos a respeito da diversificação das populações de bovinos atuais (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003).

Sendo essencialmente haplóide e transmitido uniparentalmente via materna, o mtDNA abriu uma nova perspectiva no estudo da genética de populações. Sendo o marcador molecular mais utilizado em estudos de domesticação (Bruford *et al.*, 2003), o mtDNA é utilizado para identificar os prováveis ancestrais selvagens, o número de linhagens maternas na população em estudo e sua origem geográfica (Hanotte & Jianlin, 2005). Com os dados observados pode-se traçar um padrão geográfico da diversidade e evolução de uma espécie, a dispersão e o fluxo gênico, verificar as expansões demográficas, a deriva genética e a miscigenação (Bruford *et al.*, 2003).

O mtDNA possui características fundamentais: (i) é conservado o suficiente para permitir à identificação da população ancestral que deu origem a população em estudo; (ii) está estruturado geograficamente permitindo a localização próxima do ponto de domesticação e (iii) tem uma taxa evolutiva rápida e constante o que permite a datação da origem de determinado polimorfismo (Bruford *et al.*, 2003).

Embora seja extremamente informativo, em estudos evolutivos o mtDNA possui suas limitações. Por se portar como um único loco (haplótipo) e ser um marcador extranuclear com uma dinâmica própria, não é um bom indicador para inferir a respeito da diversidade genética total. Além disto, devido a sua herança materna não se detecta o fluxo gênico mediado pelo macho, o qual tem fundamental importância na evolução dos animais domésticos e na dinâmica dos rebanhos na atualidade (Bruford *et al.*, 2003).

Pela análise da região controle do mtDNA (*d-loop*) foi possível verificar a separação da espécie bovina em dois grandes clusters (Afro-europeu e Asiático), cuja divergência ocorreu há aproximadamente 12.000 anos, coincidindo com os eventos independentes de domesticação das subespécies taurina e zebuína (Loftus *et al.*, 1994a). Segundo dados históricos, o *Bos indicus*

teria se originado a partir do *Bos taurus namadicus*, na região hoje conhecida como Paquistão, enquanto que os *Bos taurus* teriam se originado de uma linhagem distinta dos auroques (*Bos primigenius primigenius*) na região do Oriente Próximo, tendo sido domesticado pelas civilizações neolíticas no oeste da Ásia (Epstein & Mason, 1984).

Estudos posteriores demonstraram que existia uma grande divergência entre taurinos originados da África e da Europa, evidenciando a origem e expansão das duas populações a partir de duas fontes ancestrais, anteriores a domesticação, distintas e separadas (Bradley *et al.*, 1996). Haplótipos únicos e altamente freqüentes nos dois grupos representavam as raças taurinas Africanas (*Afcons* – African consensus) e as taurinas Europeias (*Eucons* – European consensus), estando à diferença entre as duas linhagens mitocondriais relacionadas a três substituições dentro de uma região de 240bp na região controle (*d-loop*) e suas variantes, que podem envolver diversos ciclos mutacionais. O gado Europeu teria tido sua origem na Anatólia enquanto as raças africanas teriam se originado no Sahara oriental (Cymbron *et al.*, 1999). Segundo Epstein & Mason (1984) embora o primeiro bovino africano tenha sido de origem taurina observa-se que a maioria das raças daquele continente possuem morfologia zebuína, e apesar desta introgressão maciça ocorrida há aproximadamente 3.000 anos (Bradley *et al.*, 1998), a maioria dos animais possuem mtDNA do tipo taurino.

Haplótipos de origem africana foram observados nas raças ibéricas, evidenciando a introgressão das raças taurinas africanas naquela península provavelmente ocorrida à época do domínio mouro na região (Cymbron *et al.*, 1999). Esta influência é confirmada pela expansão da linhagem mtDNA africana (T1) que não ocorre apenas nas raças localizadas ao Norte de Portugal (Barrosã e Maronesa). Beja-Pereira *et al.* (2006) sugerem também que esta miscigenação possa ter ocorrido devido à expansão demográfica observada na época da Idade do Bronze (~ 3.000 A.C.), pelo Estreito de Gibraltar.

Tendo em vista a colonização das Américas e a introdução dos bovinos em nosso continente, supunha-se que deveria existir um número reduzido de haplótipos mitocondriais compartilhados pelas raças naturalizadas da América do Sul. Contrariando esta hipótese, Miretti *et al.* (2002) observaram a existência de nove haplótipos distintos de origem taurina em raças brasileiras e argentinas, sendo um deles em alta freqüência formando um haplogrupo distinto (AA1) inexistente em raças portuguesas e africanas. Os autores sugerem que devido a sua grande proporção no gado nativo sul-americano, este haplótipo possa estar refletindo o processo evolutivo das próprias raças crioulas locais. Neste estudo não foi possível observar linhagens mitocondriais de origem zebuína sugerindo que a introgressão de genes zebuínos nas populações naturalizadas deve ter sido mediada pelo macho.

A diversidade mitocondrial observada em sete raças crioulas colombianas foi superior à observada em raças européias e africanas, comparando-se apenas à diversidade observada nas raças do Oriente Próximo. Ao redor de 26% das linhagens observadas neste estudo foram de origem africana, provavelmente devido às miscigenações ocorridas na Península Ibérica anteriores à colonização (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003).

A diversidade das linhagens de mtDNA na espécie bovina tem sido estudada, na maioria dos casos, pelo sequenciamento de uma região de 240bp localizada na região controle do mtDNA (Bradley *et al.*, 1996; Cymbron *et al.*, 1999; Magee *et al.*, 2002; Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona *et al.*, 2003; Mirol *et al.*, 2003; Beja-Pereira *et al.*, 2006; Liron *et al.*, 2006). Pouco se sabe sobre a origem e padrões de introgressão materna nas diversas raças crioulas que evoluíram no Brasil desde a introdução de bovinos no continente com a chegada dos colonizadores. Este trabalho teve os seguintes objetivos: (a) investigar a variabilidade haplotípica na região controle do mtDNA de raças bovinas brasileiras. (b) explorar dados de seqüência existentes em bancos de dados visando a reconstrução filogenética e elucidação da origem mais provável de algumas raças brasileiras naturalizadas (Pantaneiro, Curraleiro, Crioulo Lageano, Mocho Nacional, e Caracu); (c) analisar as possíveis conexões entre as raças brasileiras e raças taurinas ibéricas e africanas bem como os padrões de introgressão materna de origem zebuína nas raças brasileiras naturalizadas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Animais e raças analisadas

Foram seqüenciadas as regiões controle do mtDNA de 174 animais oriundos de diferentes rebanhos e representativos de 16 raças bovinas criadas no Brasil sendo estas: (i) oito taurinas naturalizadas – Caracu (n=12), Crioula Lageana (n = 12), Curraleira (n = 12), Junqueira (n=4), Mocha Nacional (n = 12), Mantiqueira (n=11), Pantaneira (n = 12) e Patuá (n=6); (ii) três raças taurinas especializadas – Holandesa (n = 14), Jersey (n = 11) e Simental (n=12) e (iii) cinco raças zebuínas – Kangayam (n = 8), Gir (n = 13), Guzerá (n = 12), Nelore (n = 11) e Tabapuã (n=12) (Tabela 1).

Quatrocentos e vinte e cinco seqüências da região controle do mtDNA depositadas no *GenBank*, representando 50 raças bovinas originárias da África, Espanha, Portugal, Índia, Argentina, Bolívia, Colômbia e Caribe foram incluídas nas análises, com o intuito de investigar as relações filogenéticas entre estas e as raças brasileiras.

O DNA genômico foi obtido a partir de amostras sanguíneas processadas em até cinco dias após sua coleta em tubos contendo o EDTA a 10% como anticoagulante. As amostras de DNA estão entre aquelas utilizadas nos capítulos anteriores desta tese e as demais foram extraídas seguindo o mesmo procedimento já descrito anteriormente (veja capítulo 1).

### 2.2 Amplificação da região controle do mtDNA

Uma seqüência de 375bp localizada na região controle (*d-loop*) foi escolhida por ter sido amplamente utilizada em diferentes trabalhos envolvendo raças da Península Ibérica o que permitiria a imediata comparação das seqüências geradas neste trabalho com um grande número de seqüências disponíveis na literatura (Loftus *et al.*, 1994b; Bradley *et al.*, 1996; Cymbrom *et al.*, 1999) e da América Latina (Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona *et al.*, 2003; Mirol *et al.*, 2003). Os *primers* (AN4 e AN3) foram sintetizados com base nas seqüências descritas por Cymbrom *et al.* (1999). O objetivo específico foi a obtenção de seqüência de alta qualidade de um trecho de 240bp localizados na posição 16023-16262 que corresponde ao segmento mais amplamente utilizado nos diversos estudos citados acima.

A amplificação foi realizada em um volume final de 20µl contendo 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,25 µM de cada *primer*, 200µM de cada dNTP, 10-25ng de DNA e 1UI de Taq DNA polimerase. A otimização das reações foi realizada em um termociclador com sistema gradiente (Eppendorf). As PCRs foram realizadas seguindo a programação de 94°C/5' seguido de 30 ciclos a 94°C/1', 56°C/1' e 72°C/1', com extensão final de 72°C/30'. As amplificações foram realizadas em dois termocicladores distintos (Perkin Elmer Gene Amp PCR System 9700 e MJ Research – PTC-100).

A amplificação dos fragmentos foi confirmada pela corrida em gel de agarose 2,0% corado com brometo de etídeo, com posterior visualização sob luz UV, de uma alíquota da PCR (3µl).

Após esta primeira amplificação as amostras foram purificadas de acordo com Werle *et al.*, 1994 utilizando as enzimas exonuclease I (*exol*) e fosfatase alcalina de camarão (*sAP*). A *exol* digere o excesso de *primers* da reação enquanto a *sAP* defosforila o excesso de dNTPs. As enzimas foram adicionadas à reação de amplificação na proporção de 1:1 (0,5UI de cada uma) e incubadas a 37° C por 30 minutos seguido de 20 minutos a 80° C.

A reação de sequenciamento foi realizada pelo método de terminação de cadeia utilizando dideoxynucleotídeos marcados com fluorocromos (Sanger, 1988). Foi utilizado o kit Big Dye v.3 (Applied Biosystems) sendo a reação preparada em um volume final de 10µl com 1,6µM de *primer* e aproximadamente 10ng do DNA purificado com *Exol-sAP*. A amplificação foi realizada em um termociclador Perkin Elmer Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystem) programado para 96° C por 1 minuto, 25 ciclos a 96° C por 10 segundos, 50° C por 5 segundos e 60° C por 4 minutos.

As reações foram purificadas novamente antes de serem seqüenciadas utilizando EDTA e etanol. A eletroforese foi realizada em um seqüenciador automático ABI PRISM 3100.

Tabela 1. Raças estudadas de acordo com suas regiões de origem, número de animais amostrados em cada raça e número de acesso no *GenBank* (\* - raças zebuínas).

Raça	Sigla	Local	N	Referência	Acessos
Kenana*	KEN	África	9	Bradley et al., 1996; Troy et al., 2001; Loftus et al., 1994b	L27728, L27729, U51835, U21836; AF336729 a AF336733
Kuri	KUR	África	10	Troy et al., 2001	AF336677 a AF336686
Butana*	BUT	África	14	Bradley et al., 1996; Troy et al., 2001; Xuebin et al., unpublished	U51831 a U51834; AF336711 a AF336717; AY378138 a AY378140
White Fulani*	FUL	África	9	Bradley et al., 1996; Troy et al., 2001; Loftus et al., 1994b	U51840 a U51842; L27720, L27721: AF336734 a F336737
Egípcion	EGT	África	11	Troy et al., 2001	AF336718 a AF336728
Nanchi	NAN	África	10	Troy et al., 2001	AF336701 a AF336710
Somba	SOM	África	10	Troy et al., 2001	AF336666 a AF336675
Kurdi	KUD	África	10	Troy et al., 2001	AF336646 a AF336655
N'Dama	NDA	África	8	Troy et al., 2001	AF336656 A 336663
Kapsiki	KAP	África	10	Troy et al., 2001	AF336689 a AF336698
Crioulo Argentino	ARC	Argentina	17	Miretti et al., 2002 ; Mirol et al., 2003	AF517789 a AF217798, AF531381, AF531384, AF531392, AF531394, AF531402, AF531404, AF531406
Crioulo Boliviano	BOC	Bolívia	8	Mirol et al., 2003	AF531382, AF531385, AF531391, AF531393, AF531405, AF531407, AF531408, AF531409
Caracu	CAR	Brasil	12	este trabalho	
Crioula Lageano	CRL	Brasil	12	este trabalho	
Curraleiro	CUR	Brasil	12	este trabalho	
Junqueira	JUN	Brasil	4	este trabalho	
Mocho Nacional	MON	Brasil	12	este trabalho	
Mantiqueira	MNT	Brasil	11	este trabalho	
Nelore*	NEL	Brasil	11	este trabalho	
Pantaneira	PAN	Brasil	12	este trabalho	
Patuá	PAT	Brasil	6	este trabalho	
Simental	SIM	Brasil	12	este trabalho	
Holandês	HOL	Brasil	14	este trabalho	
Jersey	JER	Brasil	11	este trabalho	
Guzerá*	GUZ	Brasil	12	este trabalho	
Kangayam*	KAN	Brasil	8	este trabalho	
Gir*	GIR	Brasil	13	este trabalho	
Tabapuã *	TAB	Brasil	12	este trabalho	
Santa Lucia Creole	SLC	Caribe	10	Magee et al., 2003	AY235780 a AY235790
Guadeloupe Creole	GDC	Caribe	13	Miretti et al., 2004; Magee et al., 2003	AY426319 a AY426321; AY235767 a AY235773

Antiguan Creole	ATC	Caribe	10	Magee et al., 2003	AY235742 a AY235751
Alistana	ALI	Espanha	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515547 a DQ515551
Retinta	RET	Espanha	4	Miretti et al., 2004; Mirol et al., 2003	AY426323, AY426324, AF531410, AF531411
Tudanca	TUD	Espanha	6	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515601 a DQ515606
Rubia Gallega	RUB	Espanha	4	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515597 a DQ515600
Pajuna	PAJ	Espanha	9	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515583 a DQ515591
Negra Serrana	NSE	Espanha	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515578 a DQ515582
Monchina	MOC	Espanha	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515573 a DQ515577
Murciana	MUR	Espanha	3	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515560 a DQ515562
Mostrenca	MOS	Espanha	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515555 a DQ515559
Morucha	MOR	Espanha	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515550 a DQ515554
Cárdena Andaluza	CRA	Espanha	7	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515594 a DQ515500
Berrenda	BER	Espanha	18	Beja-Pereira et al., 2006; Troy et al., 2001	DQ515584 a DQ515591; AF3362492 a AF3365501
Austuriana Montaña	ASM	Espanha	3	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515559 a DQ515561
Avileña	AVI	Espanha	7	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515552 a DQ515558
Lidia	LIDs	Espanha	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515508 a DQ515512
Albera	ALB	Espanha	6	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515541 a DQ515546
Ongole*	ONG	Índia	8	Troy et al., 2001; Xuebin et al., unpublished	AF336738 a AF336742; AY378134 a AY378136
Indianas locais*	IND	Índia	25	Baig et al., 2005	AY972131 a AY972154
Sahiwal*	SAH	Índia	3	Bradley et al., 1996; Loftus et al., 1994	L27732, L24433; U51877
Hariana*	HAR	Índia	9	Bradley et al., 1996; Fujise et al., 2003; Loftus et al., 1994b	U51806 a U51810; AB085922, AB085923; L27722, L27723
Tharparkar*	THR	Índia	6	Bradley et al., 1996; Loftus et al., 1994b	U51812 a U51815; L27736, L27737
Preta	PRE	Portugal	4	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515592 a DQ515595
Maronesa	MAR	Portugal	9	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515563 a DQ515572
Mertolenga	MER	Portugal	10	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515537 a DQ515547
Garvonesa	GRA	Portugal	7	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515501 a DQ515507
Barrosã	BAR	Portugal	9	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515562 a DQ515571
Alentejana	ALE	Portugal	10	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515531 a DQ515540
Lidia	LIDp	Portugal	5	Beja-Pereira et al., 2006	DQ515522 a DQ515526
Costeño com Cuernos	CCC	Colômbia	10	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444483 a AY444492
San Martinero	SMT	Colômbia	10	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444464 a AY444473
Romosinuano	ROS	Colômbia	10	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444445 a AY444454
Harton del Vale	HDV	Colômbia	10	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444425 a AY444434
Chino Santandereano	CHS	Colômbia	8	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444406 a AY444413
Casanareño	CAS	Colômbia	4	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444402 a AY444405
Bon	BON	Colômbia	12	Carvajal-Carmona et al., 2003	AY444390 a AY444401

## 2.4. Análise estatística

As seqüências geradas foram inicialmente avaliadas para qualidade (QV , *Quality value*) maior ou igual a 20, pelo software Phred (Ewing e Green, 1998; Ewing *et al.*, 1998), sendo que  $QV = -10 * \log_{10}(P_e)$  e  $P_e$  é a probabilidade da determinação da base ser errada, ou seja, as seqüências serão aceitas com no máximo 1 base não determinada a cada 100 bases seqüenciadas. As seqüências aceitas foram alinhadas e editadas pelo programa SeqScape v 2.1 (Applied Biosystems) tendo como seqüência de referência a NC\_001567, usualmente utilizada nos trabalhos publicados na literatura (Anderson *et al.* 1982). As seqüências consenso, obtidas a partir do SeqScape, foram alinhadas posteriormente às demais obtidas no *GenBank* mediante o uso do programa MEGA v.3.0 (Kumar *et al.*, 2004) sendo o alinhamento checado posteriormente com o uso do programa DNA alignment ([www.fluxus-engineering.com/align.htm](http://www.fluxus-engineering.com/align.htm)).

Os índices de diversidade nucleotídica, a diversidade haplotípica e as distâncias dentro, entre e para toda a população incluída nos grupos formados (raças naturalizadas, taurinas especializadas, taurinas em geral, zebuínas com ou sem a raça Kangayam e para o conjunto formado pelas 16 raças brasileiras) foram obtidos mediante o uso dos programas Mega 3 (Kumar *et al.*, 2004), DNA alignment e o ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2000). As matrizes de distâncias geradas foram baseadas no modelo de substituição de Kimura 2-parâmetros (Kimura, 1980), o qual leva em consideração as taxas de substituição transição/transversão, enquanto assume que as freqüências dos quatro nucleotídeos são as mesmas e o índice de substituição não varia entre os sítios. As matrizes de distância também foram calculadas para o conjunto de todas as 66 raças incluídas nestas análises. Além disto, analisou-se ainda a relação existente entre as raças brasileiras e as da América Latina; das raças da América Latina em relação às raças da Península Ibérica e a relação das 66 raças agrupadas por continente.

A partir das matrizes de distância geradas aos pares para todos os grupos formados a partir do conjunto total de seqüências foram construídos dendrogramas utilizando-se o agrupamento de *Neighbor-Joining* (*Consensus Network*), levando em consideração a possibilidade de miscigenação entre as populações (*Hybridization Network*). Esta análise foi implementada pelo programa SplitTree4 (<http://www-ab.informatik.unituebingen.de/software/splittree4/welcome.html>). A filogenia das raças brasileiras e das demais também foram verificadas pela construção de redes (*networks*) haplotípicas, pelo método de *median-joining* (MJN) (Bandelt *et al.*, 1999), utilizando-se o programa NETWORK 4.1.0.8 ([www.fluxus-engineering.com](http://www.fluxus-engineering.com)).

A distribuição pareada de diferenças haplotípicas (*mismatch distribution*), a qual estima a frequência do número de diferenças observadas entre os pares de haplótipos existentes entre duas populações; o teste de neutralidade de Fu (1997) e a análise de variância molecular (AMOVA) foram implementadas pelo programa ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2000).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Diversidade da região controle do mtDNA nas raças bovinas brasileiras

Foram observados 26 haplótipos nas 173 amostras seqüenciadas definidos por 51 sítios polimórficos, sendo 35 transições, 14 transversões, uma deleção e uma inserção (Figura 1). Com base na presença nucleotídica em determinadas posições foi possível incluir as raças brasileiras em quatro grupos pré-definidos por outros autores (Troy *et al.*, 2001; Miretti *et al.*, 2002; Baig *et al.*, 2005): 52 animais apresentaram o haplogrupo AA (Miretti *et al.*, 2002), também denominado de T1a (Liron *et al.*, 2006), correspondente à uma derivação da linhagem taurina de origem africana encontrada apenas em raças crioulas da América do Sul; 24 animais apresentaram o haplogrupo T1 (definido pelas posições 16050, 16113 e 16255), que corresponde a linhagem taurina de origem africana (*Afcons*); 87 apresentaram a linhagem T3 (*Eucons*), que corresponde a seqüência de referência européia (Anderson *et al.*, 1982) e 10 apresentaram o haplótipo zebuino (Z). Não foi observado, no conjunto de animais analisados, haplótipos correspondentes ao haplogrupo T2, definido pelas posições 16057, 16185 e 16255; mais comum em raças do Oriente Próximo, que foram encontrados, em baixa proporção, em raças crioulas colombianas (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003).

Treze dos 26 haplótipos observados não haviam sido descritos no conjunto de seqüências extraídas do *GenBank*, sendo estes: PAN102, TAB16, TAB18, HOL22, HOL 10, HOL133, HOL95, JER16, NEL86, NEL90, SIM25, TAB38 e GIR42. Os haplótipos CAR44 e CRL172 foram observados apenas na raça Crioula Argentina (Miretti *et al.*, 2002) enquanto que os haplótipos GUZ2 e MON27 foram descritos, respectivamente, apenas nas raças Retinta da Espanha (Miretti *et al.*, 2004) e na raça Bon da Colômbia (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003). A freqüência dos haplótipos observada para todas as raças brasileiras estudadas pode ser visualizada na Tabela 2. O número de haplótipos observados foi superior ao encontrado por Miretti *et al.* (2002) estudando 4 raças crioulas brasileiras e uma argentina (9 haplótipos), Magee *et al.* (2002) analisando 3 raças do Caribe e animais da raça Nelore (17 haplótipos) e Mirol *et al.* (2003) em raças crioulas argentinas e bolivianas (23 haplótipos); sendo inferior apenas ao observado por Carvajal-Carmona *et al.* (2003) para um conjunto formado por sete raças crioulas colombianas (29 haplótipos). Contrariando os achados de Magee *et al.* (2002), neste trabalho não foi observado nenhum haplótipo zebuino nos animais estudados pertencentes a raça Nelore,

da mesma forma, ao contrário do observado por Miretti *et al.* (2002) foram encontrados diversos haplótipos de origem africana na raça CUR.

Na raça CRL foi verificada a presença de um haplótipo observado apenas em animais desta raça (CRL172), com uma frequência relativamente alta (5 em 12 animais). No conjunto de 599 animais analisados este haplótipo só foi verificado em um único indivíduo da raça Crioula Argentina (Miretti *et al.*, 2002).

Dentro dos grandes haplogrupos observou-se uma predominância das linhagens de origem africana nas raças crioulas enquanto que nas raças taurinas especializadas mais de 80% dos animais apresentaram, como esperado, a linhagem taurina de origem européia. O haplogrupo AA, observado apenas nas raças crioulas sul-americanas além de ocorrer em 40% dos animais crioulos também foi observado em aproximadamente 10% e 28% nas raças taurinas especializadas e nas zebuínas respectivamente (Tabela 3). A linhagem de origem indiana só foi encontrada na raça Kangayam, criada em menor escala no Brasil, e em dois indivíduos, um da raça Gir e o outro da raça Guzerá.

Os resultados observados sugerem uma elevada participação materna de raças de origem africana na população bovina do Brasil, sendo estes dados consistentes com o histórico de expansão e introdução dos bovinos nas Américas e outros trabalhos publicados recentemente (Magee *et al.*, 2002; Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona *et al.*, 2003; Mirol *et al.*, 2003).

Os índices de diversidade genética média foram calculados a partir do modelo nucleotídico de Kimura 2 parâmetros (Kimura, 1980) e os resultados descritos para os grupos de raças formados a partir de suas prováveis origens e para o conjunto formado pelas 16 raças brasileiras (Tabela 4). A diversidade média observada na população composta por todos os indivíduos foi de  $0,0174 \pm 0,0042$ ; sendo a população taurina a que apresentou uma menor diversidade ( $0,0106 \pm 0,0026$ ) e a zebuína a que apresentou a maior ( $0,0365 \pm 0,0078$ ), mesmo com a exclusão da raça Kangayam do grupo ( $0,0185 \pm 0,0046$ ). Na análise em nível interpopulacional chama a atenção a baixa diversidade observada nas raças zebuínas quando a raça Kangayam é excluída do grupo, que de  $0,0217 \pm 0,0048$  cai para  $0,0001 \pm 0,0004$ . A proximidade genética dos indivíduos das raças zebuínas com maior efetivo populacional no País, no que se refere ao mtDNA, já foi relatada nos capítulos anteriores ao se analisar uma bateria de microssatélites autossômicos. É possível observar ainda que a variabilidade existente no grupo de raças taurinas se deve fundamentalmente à contribuição das raças crioulas ou naturalizadas (Tabela 4). Em contrapartida, quando a análise é efetuada dentro das populações observa-se que a maior diversidade ocorre dentro das raças zebuínas (sem a raça Kangayam). A menor diversidade dentro das raças zebuínas quando a raça Kangayam é incluída em comparação com



Tabela 2. Haplótipos observados em cada uma das 16 raças bovinas analisadas e as respectivas contagens observadas de cada haplótipo e variante específico em cada raça bovina estudada. AA - Haplogrupo derivado do *Afcons* observado nas raças das Américas; T1 – Haplogrupo Taurino de origem africana (*Afcons*) e seus derivados; T3 – Haplogrupo taurino de origem europeia (*Eucons*) e seus derivados; Z – Haplogrupo zebuino.

HAPLÓTIPO	n total	Número de animais apresentando o haplótipo															
		CAR	CRL	CUR	JUN	MON	MNT	PAN	PAT	HOL	JER	SIM	GIR	GUZ	NEL	KAN	TAB
<b>AA</b>																	
AA-A	52	7		3	1	8	5	5	3	1		3	4	3	3		6
AA-B	1							1									
<b>T1</b>																	
T1-A	18			5				2	2			2	1	2	3		1
T1-B	4					1	2								1		
T1-C	1																1
T1-D	1																1
<b>T3</b>																	
T3-A	46	3	5	2	3	2	2	1		5	7	3	7	5			1
T3-B	16	1	2	2			1	2	1	2	2				2		1
T3-C	2	1								1							
T3-D	5		5														
T3-E	3						1	1						1			
T3-F	2									2							
T3-G	2					1						1					
T3-H	2											2					
T3-I	1									1							
T3-J	1									1							
T3-K	1									1							
T3-L	1										1						
T3-M	1										1						
T3-N	1														1		
T3-O	1														1		
T3-P	1											1					
T3-Q	1																1
<b>Z</b>																	
Z-A	1												1				
Z-B	1													1			
Z-C	8																8

Tabela 3. Frequências dos diferentes haplogrupos observados nos três grandes grupos das raças bovinas brasileiras.

Haplogrupos	Raças		
	Crioulas (n = 81)	Taurinas especializadas (n = 37)	Zebuínas (n = 56)
AA	33 (40,74%)	4 (10,81%)	16 (28,57%)
T1	12 (14,81%)	2 (5,41%)	10 (17,54%)
T3	36 (44,44%)	31 (83,78%)	20 (30,08%)
Z	-	-	10 (17,54%)

Tabela 4. Diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e coeficiente de diferenciação observado nos diferentes grupos formados a partir do conjunto de 16 raças bovinas brasileiras, inferidos pelo programa Mega 3.

Grupos	N	Diversidade ( $\pi$ )			Coeficiente de diferenciação
		Dentro das populações	Interpopulacional	Na população	
Locais	8	0,0121 $\pm$ 0,0043	0,0013 $\pm$ 0,0006	0,0134 $\pm$ 0,0047	0,1003 $\pm$ 0,0299
Taurinas	11	0,0093 $\pm$ 0,0032	0,0018 $\pm$ 0,0007	0,0112 $\pm$ 0,0039	0,1594 $\pm$ 0,0293
Taur. Espec.	3	0,0101 $\pm$ 0,0024	0,0005 $\pm$ 0,0002	0,0106 $\pm$ 0,0026	0,0495 $\pm$ 0,0186
Zebu	5	0,0148 $\pm$ 0,0037	0,0217 $\pm$ 0,0048	0,0365 $\pm$ 0,0078	0,5942 $\pm$ 0,0423
Zebu s/ Kangayam	4	0,0185 $\pm$ 0,0046	0,0001 $\pm$ 0,0004	0,0185 $\pm$ 0,0046	0,0036 $\pm$ 0,0192
Todas brasileiras	16	0,0083 $\pm$ 0,0027	0,0090 $\pm$ 0,0020	0,0174 $\pm$ 0,0042	0,5195 $\pm$ 0,0632

Testes para estimar a distribuição pareada de diferenças haplotípicas (*mismatch distribution*) foram calculados entre os diferentes grupos inferidos (Figura 2). Todos os testes não foram significativos, assumindo um modelo de expansão com o conjunto das subpopulações constante. Nos gráficos apresentados é possível visualizar um padrão unimodal quando a análise foi realizada para os grupos de raças taurinas enquanto que um padrão bimodal só é observado para o conjunto das 16 raças e quando as populações zebuínas são analisadas.

Os valores  $F_S$ , negativos e altamente significativos ( $p < 0,02$  a  $p < 0,0000$ ), observados no teste de neutralidade de Fu (1997) sugerem que as populações estão em expansão. Esta análise foi realizada para todas as raças brasileiras e entre os diferentes grupos formados, tendo como base a origem das raças analisadas. O valor  $F_S$  observado para o conjunto de todas as 16 raças brasileiras foi de -24,762 ( $p < 0,0000$ ).

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) revelou que a maior variação ocorre dentro das populações bovinas, resultado este que corrobora os resultados obtidos pela análise de marcadores microssatélites autossômicos (Egito *et al.*, 2007). A única exceção foi verificada no grupo composto pelas raças zebuínas onde 54,19% ( $p < 0,001$ ) da variação foi observada entre as cinco raças estudadas (Tabela 6). Esta ampla variação entre raças resulta da presença da raça Kangayam no grupo amostrado e a presença de linhagens mitocondriais de origem indiana. Os valores observados quando a análise foi realizada sem esta raça foram negativos e não significativos, demonstrando a inexistência de variação dentro do grupo zebuínio composto pelas raças NEL, GIR e GUZ.

Conforme esperado, as menores porcentagens de variação foram observadas nas raças taurinas especializadas, novamente confirmando o padrão observado com os marcadores

microssatélites (Egito *et al.*, 2007). Foi possível verificar que a variação genética observada em nível de seqüência no mtDNA foi superior nas raças crioulas em comparação às raças taurinas especializadas, ao contrário do que foi observado com os marcadores microssatélites. A proporção da variabilidade existente entre raças ao analisar o conjunto de todas as 16 raças foi muito superior ao observado com os marcadores nucleares. Esta diferença, indica uma padrão marcante de subestruturação genética entre raças para o mtDNA em comparação ao genoma nuclear refletindo, conforme esperado, o padrão diferencial de herança uni versus biparental e a ocorrência de recombinação no genoma nuclear além das diferentes taxas de mutação de bases individuais versus microssatélites.

### 3.2. Filogenia das raças brasileiras

Matrizes de distância aos pares, para os diferentes grupamentos formados, baseadas no modelo de Kimura 2p foram geradas pelo programa Mega v3.0. A partir desta matriz, foram geradas árvores filogenéticas pelo grupamento de *Neighbor-Joining*, levando em conta redes de consenso (*networks consensus*) e a possibilidade de hibridização entre os indivíduos.

Na figura 3 observa-se a relação existente entre as raças bovinas criadas no Brasil. Dentro das raças zebuínas apenas a raça Kangayam está distante das demais, formando um grupo a parte do resto, representando a linhagem mitocondrial de origem indiana. Esta característica indica que estes animais ainda mantêm sua origem pura, não tendo sido miscigenados com as raças crioulas existentes no Brasil. As demais raças zebuínas NEL, GIR e GUZ, embora um pouco mais distantes das demais raças analisadas, agrupam-se com o conjunto de raças que possuem a linhagem de mtDNA de origem taurina. A proximidade das mesmas corrobora os dados observados com os marcadores nucleares e a sua origem comum em relação às demais (raças zebuínas). O agrupamento da raça TAB com as raças naturalizadas de origem taurina e sua maior proximidade com a raça MON corrobora a versão existente de que seu caráter mocho é devido à participação da raça MON na sua formação. A exceção das raças CRL e JUN, as raças crioulas agrupam-se em um *cluster* distinto.

Na rede (*network*) formada para o conjunto das 16 raças é possível visualizar a proporção de genomas crioulos, taurinos especializados e zebuínos distribuídos dentro dos maiores haplogrupos observados neste estudo (Figura 4). Esta análise confirma os resultados de expansão demográfica observados pelo teste de neutralidade. Diversos haplótipos circundam os haplogrupos centrais (mais primitivos) evidenciando a expansão demográfica ocorrida nas raças

brasileiras e as diversas introduções de material genético que devem ter ocorrido na formação das raças brasileiras.

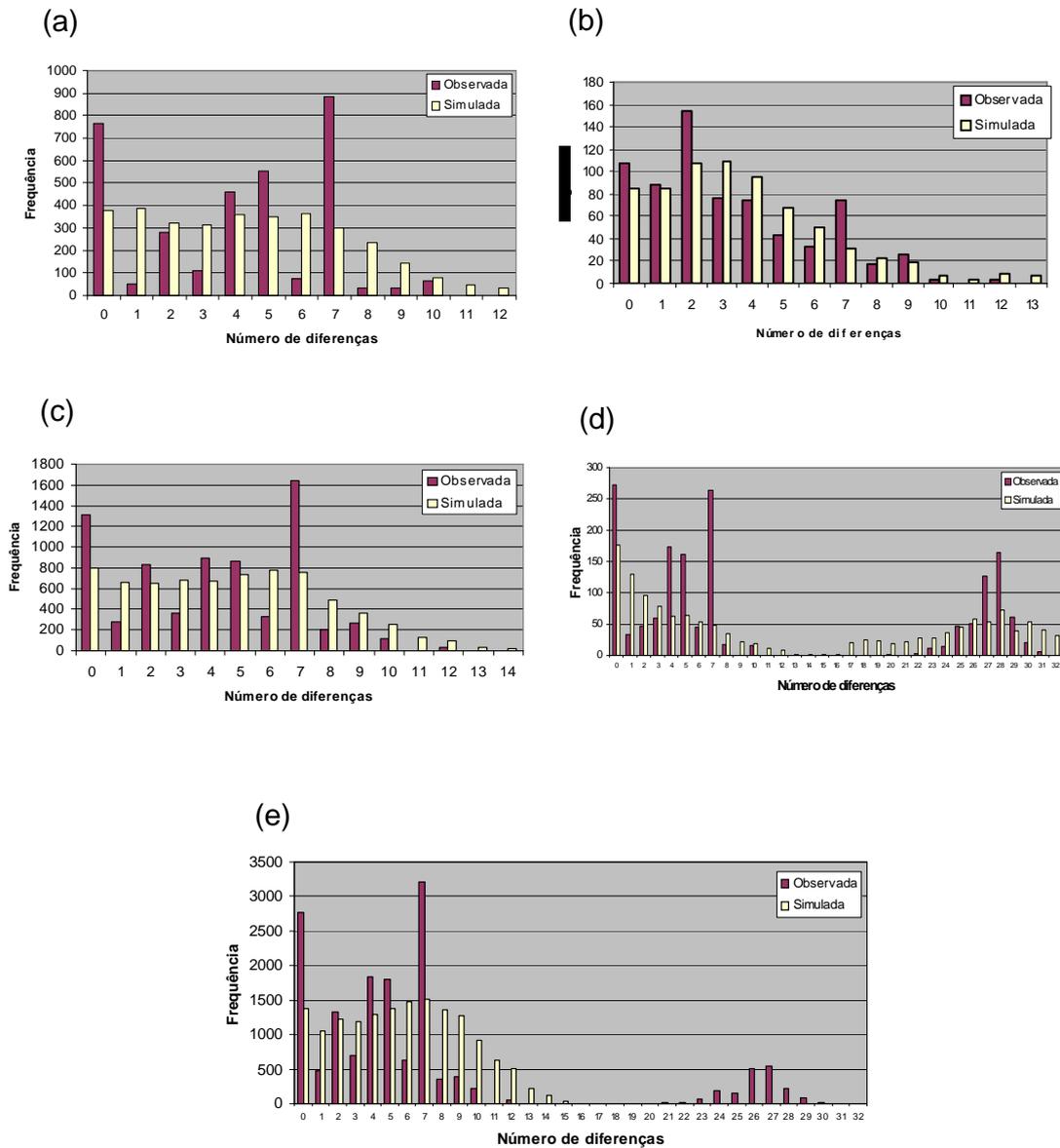


Figura 2. Histogramas de distribuição pareada de diferenças haplotípicas (*mismatch distribution*) entre: (a) raças crioulas; (b) raças taurinas especializadas; (c) raças taurinas em geral; (d) raças zebrúinas e (e) todas as 16 raças bovinas analisadas.

Tabela 5. Partição da variância molecular (AMOVA) nos diferentes níveis hierárquicos entre e dentro das 16 raças bovinas estudadas baseada na distância de Kimura 2P; GL – graus de liberdade; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001.

Estrutura	Fonte de variação	GL	Varição (%)	Índice de fixação
Raças locais (crioulas)	Entre populações	7	11,17	$F_{ST} = 0,1117^{**}$
	Dentro das populações	74	88,83	
Todas as raças taurinas	Entre populações	10	18,72	$F_{ST} = 0,1872^{***}$
	Dentro das populações	109	81,28	
Taurinas especializadas	Entre populações	2	7,55	$F_{ST} = 0,0755^*$
	Dentro das populações	35	92,45	
Raças zebuínas	Entre populações	4	54,19	$F_{ST} = 0,5419^{***}$
	Dentro das populações	52	45,81	
Raças zebuínas e taurinas especializadas	Entre populações	4	16,88	$F_{ST} = 0,16878^*$
	Dentro das populações	887	83,12	
Entre as 16 raças	Entre populações	15	40,17	$F_{ST} = 0,4017^{***}$
	Dentro das populações	161	59,83	

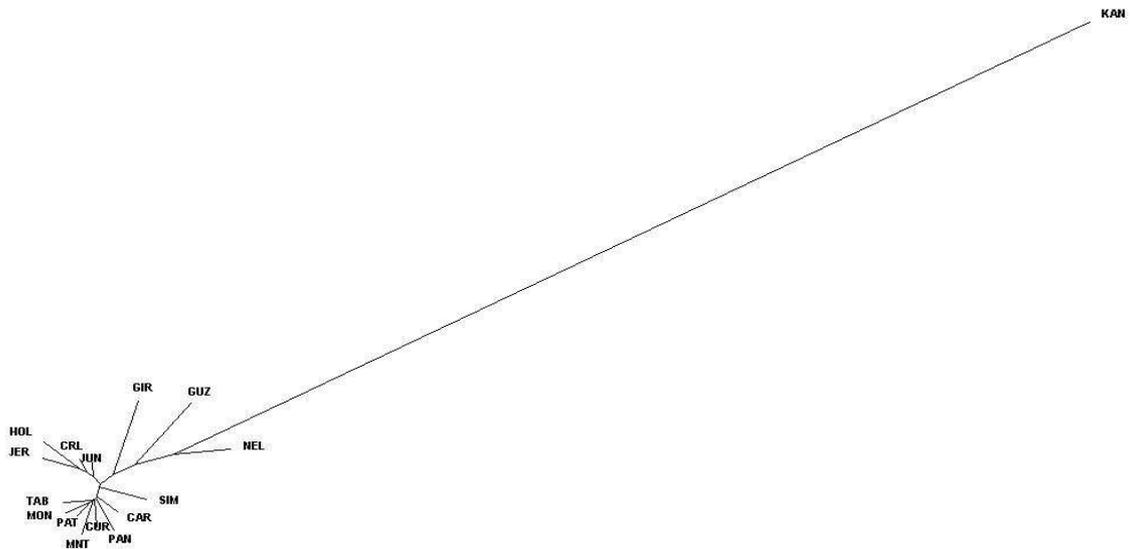


Figura 3. Árvore filogenética das raças bovinas brasileiras inferida a partir da análise de uma seqüência do *d-loop* de 320bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de *Neighbor-joining*.

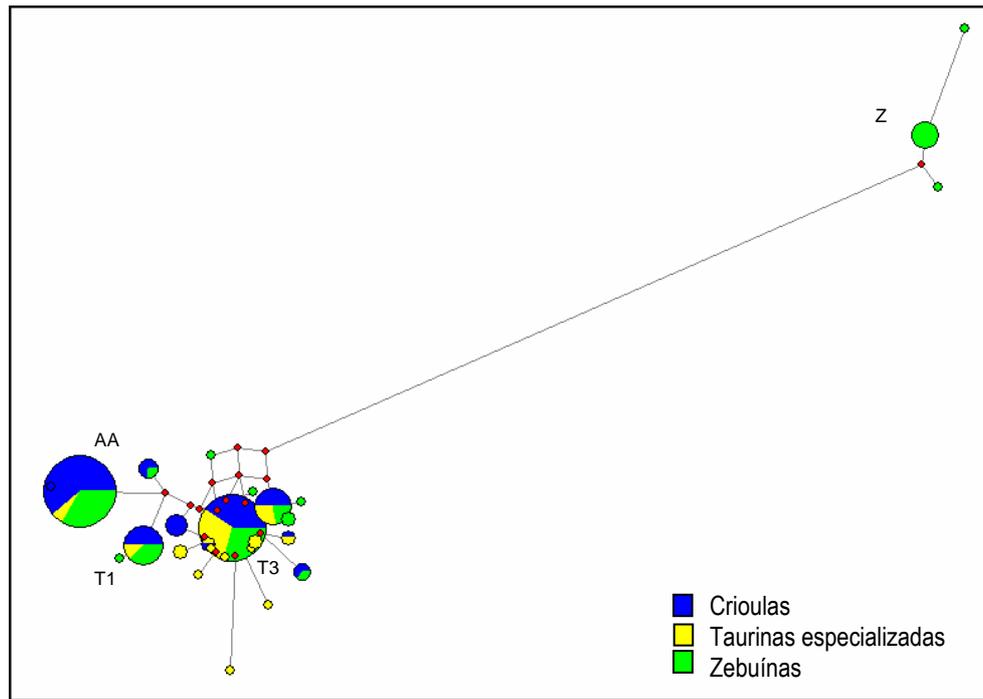


Figura 4. Network formada pelo método de *median-joining* (Bandelt *et al.*, 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas para as 16 raças bovinas brasileiras. Os círculos representam as seqüências haplotípicas, sendo a área dos mesmos proporcionais à freqüência do haplótipo. O comprimento das linhas está relacionado aos passos mutacionais que separam cada haplótipo. Os pontos vermelhos indicam nós teóricos intermediários introduzidos pelo algoritmo executado.

### 3.3. Relação das raças brasileiras com as demais raças analisadas

A diversidade nucleotídica total observada, que equivale aos valores de distância geral média para a população composta de 599 indivíduos, foi de  $0,0258 \pm 0,0054$ . Ao ser realizada uma comparação entre diferentes grupos foi possível verificar que a população composta pelas 16 raças brasileiras analisadas foi a que apresentou um maior grau de diversidade (0,0174) seguida pelo conjunto formado pelas demais raças latino-americanas (0,0164,  $n = 122$ ). O grupo formado pelas raças indianas apresentou uma distância média geral de 0,0158 ( $n=51$ ) enquanto que as raças ibéricas e as raças africanas apresentaram respectivamente valores de 0,0110 ( $n=122$ ) e 0,0104 ( $n = 101$ ). Com base nestes resultados é possível concluir que as raças latino-americanas formam um reservatório único e vasto de diversidade genética, sendo o Brasil

composto de animais com uma alta variabilidade, confirmando os dados observados com marcadores do tipo microssatélites. Este fato também pode ser evidenciado nos valores obtidos para o coeficiente de diferenciação. As raças brasileiras apresentam valores próximos ao observado para o conjunto das 66 raças analisadas (0,5195 e 0,5262 respectivamente).

Na árvore filogenética da figura 5, onde se observa a relação existente entre as raças brasileiras e as outras raças da América Latina, dois pontos merecem atenção. Primeiro, o agrupamento da maioria das raças naturalizadas brasileiras em um cluster distinto, onde pode ser verificada ainda a presença da raça Crioula de Guadalupe, do Caribe, que em um trabalho realizado previamente naquela região, foi a única que apresentou marcadores microssatélites de raças zebuínas, além de possuir em maior grau mtDNA de origem africana (Magee *et al.*, 2002). Segundo a autora, a presença destas linhagens no gado do Caribe poderia ser explicada pela importação de animais zebuínos e a entrada de animais de origem africana vinda provavelmente com os navios negreiros africanos.

O segundo ponto que merece consideração está relacionado à presença da raça CRL e JUN em um *cluster* formado por raças colombianas e próximo à raça Crioula Argentina, fato este provavelmente relacionado à proximidade geográfica entre as regiões de criação destes animais e também ao histórico das introduções bovinas nas Américas.

A influência das raças taurinas na população crioula brasileira pode ser ainda observada na figura 6, onde as árvores foram construídas acrescentando-se as raças bovinas ibéricas e duas raças africanas (como *outgroup*), onde apenas o JUN e o CRL ficam próximos às raças de origem ibérica. Esta influência fica ainda mais evidente na Figura 7, onde foram incluídas todas as raças analisadas neste estudo.

Visando a comparação e maiores esclarecimentos a respeito das raças brasileiras zebuínas, uma árvore filogenética foi construída levando-se em conta apenas animais de origem indiana e africana (Figura 6). Esta figura revela claramente a dicotomia existente e distinta entre as linhagens de mtDNA indianas e taurinas. Vê-se claramente a introgressão do mtDNA de origem taurina no genoma das raças zebuínas, sendo que a única raça zebuína que se agrupa com seus pares foi a raça KAN. As demais raças zebuínas, embora apresentando mtDNA de origem taurina africana, ficam em uma posição intermediária na árvore, excetuando a raça TAB, que indubitavelmente possui uma forte influência de animais taurinos na sua composição racial, a qual pode ser inclusive confirmada fenotipicamente pela ausência de chifres.

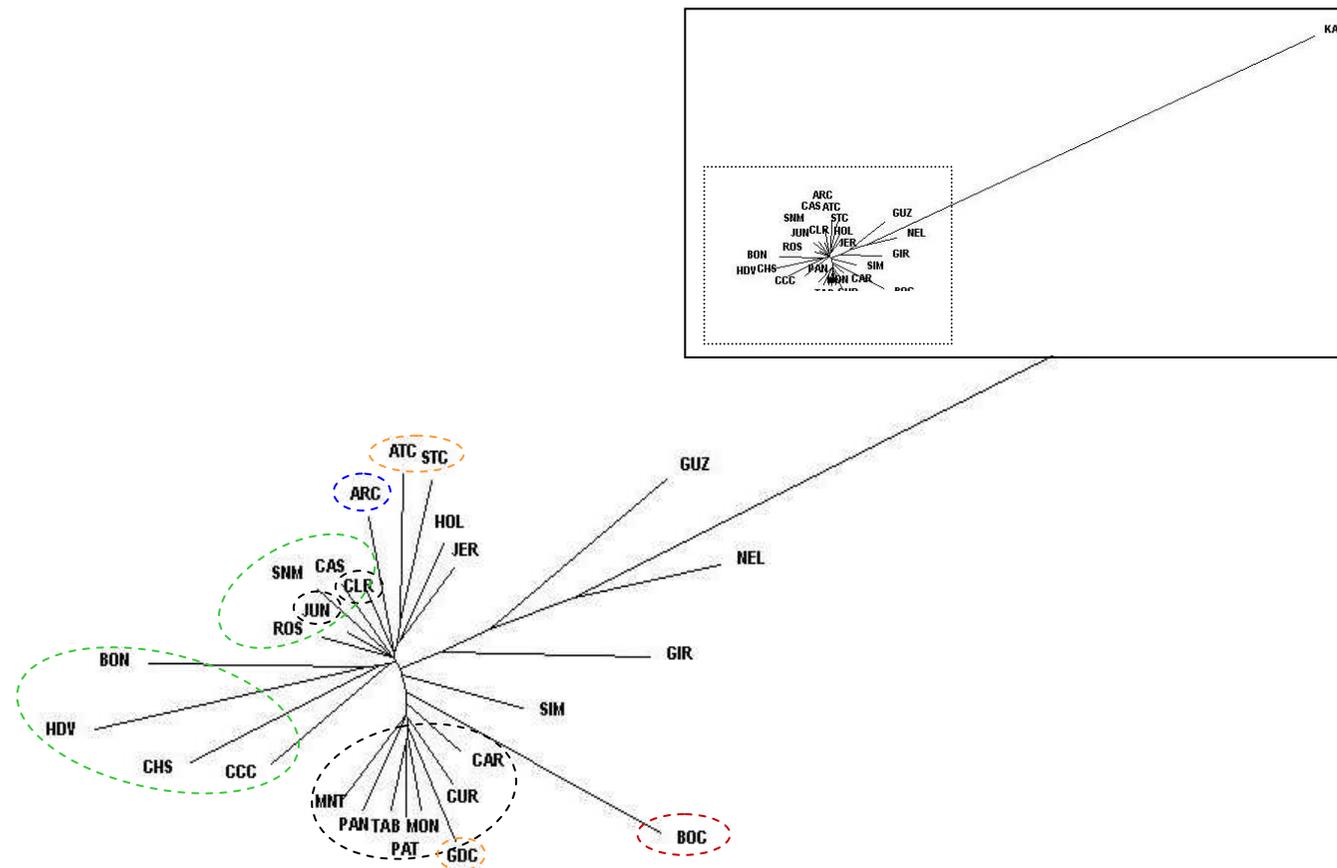


Figura 5. Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência *d-loop* da região controle de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de *Neighbor-joining* para as raças bovinas brasileiras e crioulas da América Latina. Os círculos tracejados em verde indicam o grupamento de raças da Colômbia, os pretos indicam as raças brasileiras, o vermelho a raça da Bolívia, o azul o da Argentina e em laranja as raças do Caribe.

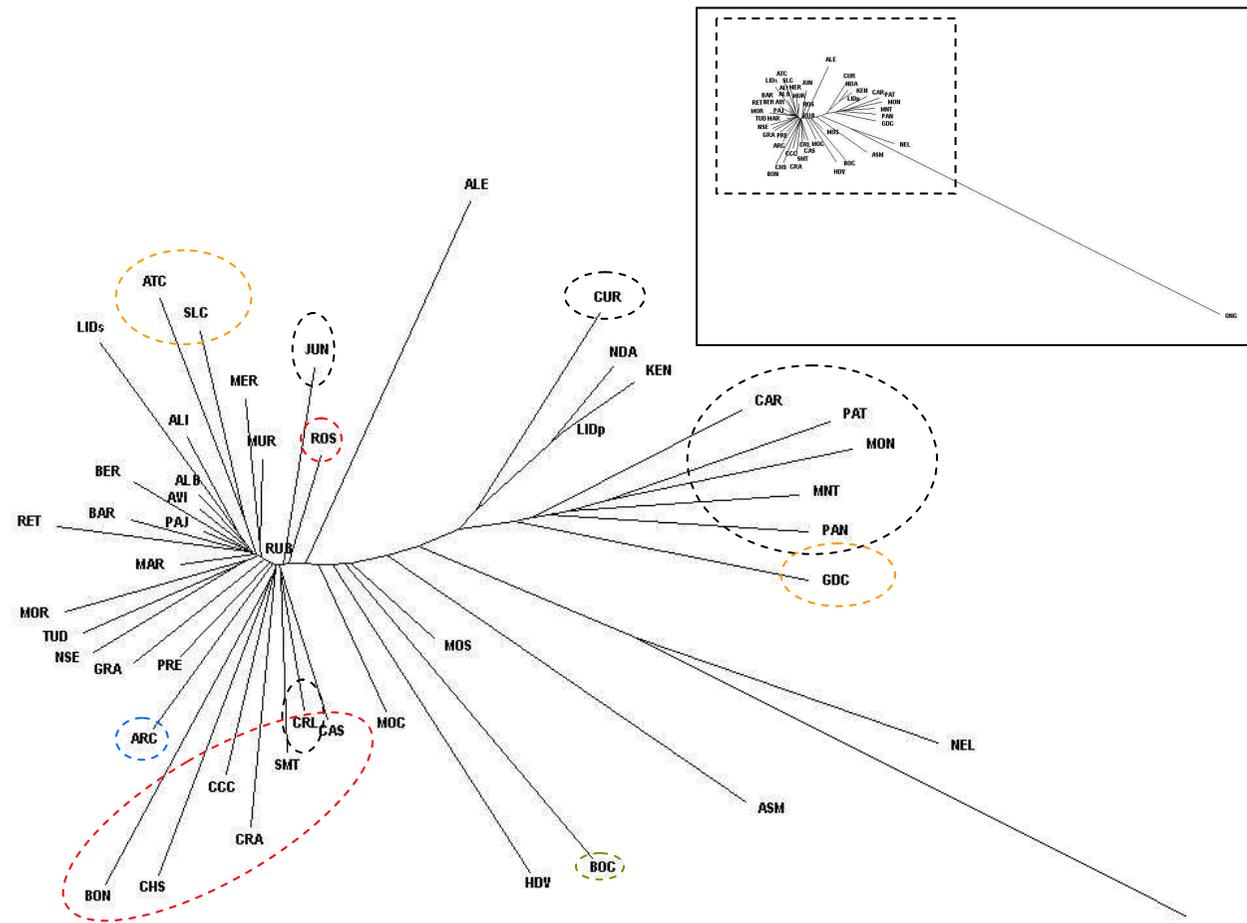


Figura 6. Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência do *d-loop* de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de *Neighbor-joining* para as raças bovinas brasileiras, crioulas da América Latina e as raças de origem Ibérica. Os círculos tracejados em vermelho indicam as raças colombianas, os pretos indicam as raças brasileiras, o verde a raça boliviana, o azul o da Argentina e em laranja as raças do Caribe.

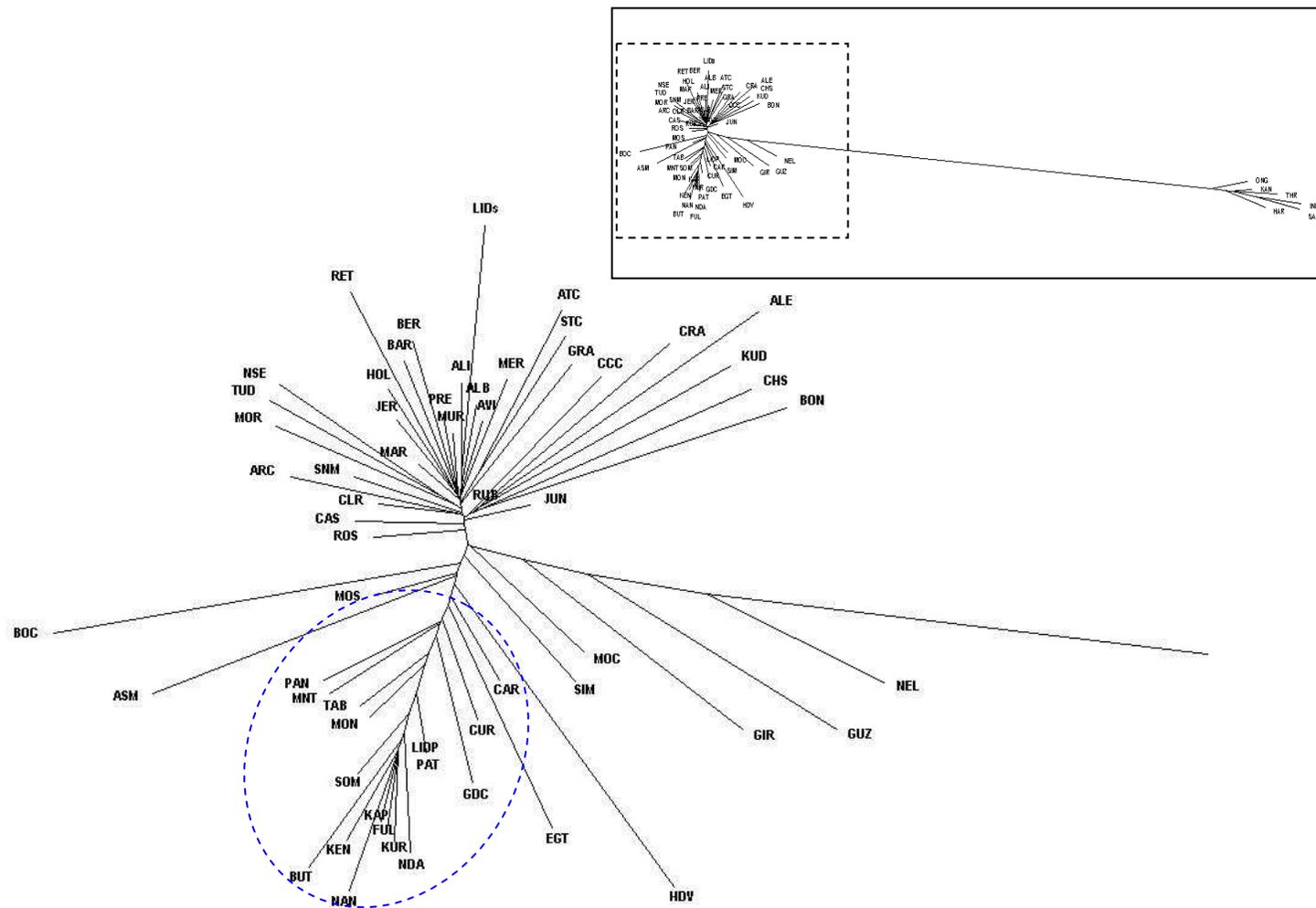


Figura 7. Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência do *d-loop* de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de *Neighbor-joining* demonstrando a relação existente entre as raças bovinas brasileiras e conjunto de 50 raças amostradas no *GenBank*. O círculo tracejado em azul localiza na árvore as raças crioulas brasileiras.

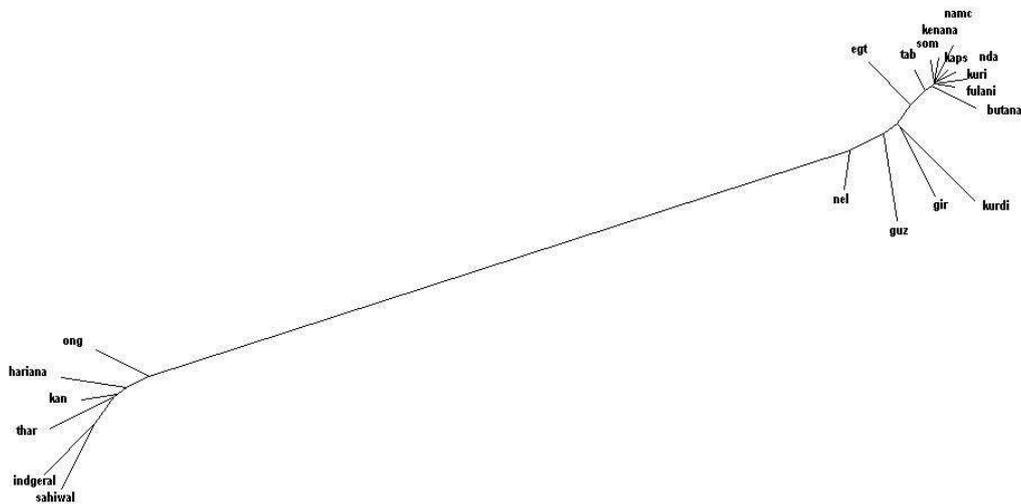


Figura 8. Árvore filogenética obtida a partir da análise de uma seqüência do *d-loop* de 240bp baseada na distância de Kimura 2p e agrupamento pelo método de *Neighbor-joining* para as raças zebuínas brasileiras, para as raças indianas e raças africanas de origem zebuína e taurina incluídas neste estudo.

Nas redes (*networks*) das Figuras 9 e 10 podem ser observados claramente os eventos de expansão demográfica e as diversas introduções ocorridas na América Latina. O haplogrupo T3 é o mais freqüente em raças de origem européia, enquanto os haplogrupos T1 e T2 ocorrem em animais taurinos de origem africana. O haplótipo T2 na América Latina, até o momento, só foi descrito em raças crioulas colombianas e em baixa proporção. O haplótipo AA que ocorre apenas em animais das raças crioulas brasileiras e em animais do Caribe, pode ser o resultado de um processo evolutivo da espécie no novo continente ou mais provavelmente refletir uma segunda possível fonte de introgressão de genes taurinos de origem africana de raças crioulas não estudadas até hoje.

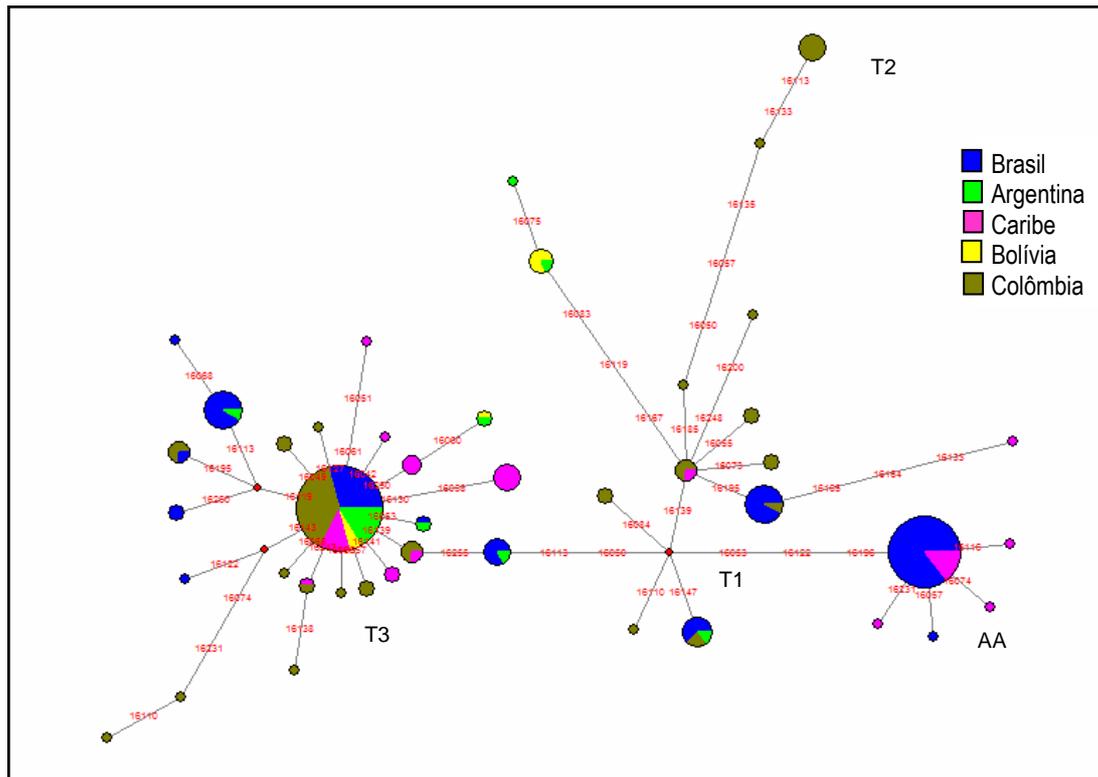


Figura 9. *Network* formada pelo método de *median-joining* (Bandelt *et al.*, 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas as raças bovinas brasileiras e as raças crioulas da América Latina. Os círculos representam as seqüências haplotípicas, sendo a área dos mesmos proporcionais à freqüência do haplótipo. O comprimento das linhas está relacionado aos passos mutacionais que separam cada haplótipo estando a posição mutada grafada em vermelho. Os pontos vermelhos indicam nós teóricos intermediários introduzidos pelo algoritmo executado.

Na figura 10 observa-se claramente a influência das raças africanas no genoma bovino latino-americano, principalmente nas raças brasileiras, onde o haplótipo de origem européia (T3), embora esteja presente em grande proporção em nosso continente, está presente em maior proporção nas raças dos demais Países, ocorrendo em uma pequena proporção no Brasil e, em maior concentração, nas raças taurinas especializadas. A influência das raças africanas fica ainda mais evidente na rede (*network*) contraída, formada por todas as populações incluídas nesta análise. Também podem ser visualizados nesta análise os eventos de introdução bovina no Novo Continente e a expansão demográfica da população bovina como um todo.

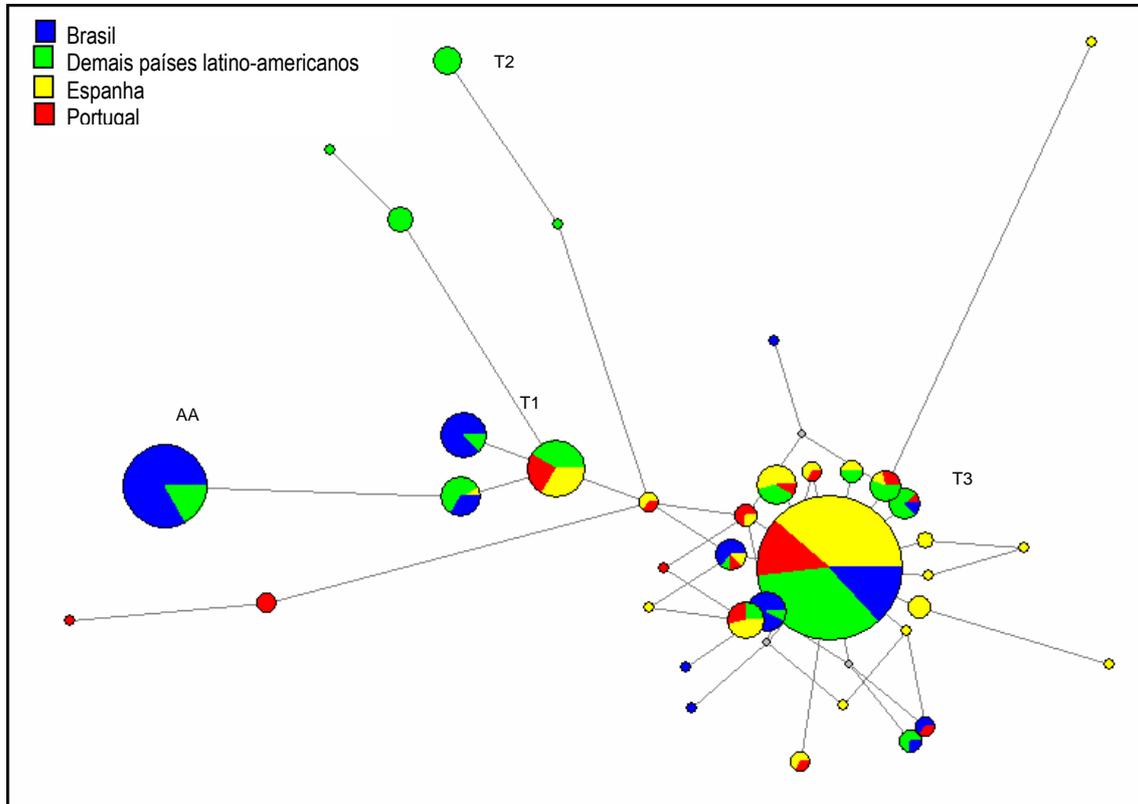


Figura 10. Rede (*Network*) contraída formada pelo método de *median-joining* (Bandelt *et al.*, 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas as raças bovinas brasileiras, as raças crioulas da América Latina e as raças da Península Ibérica. Os círculos representam as seqüências haplotípicas, sendo a área dos mesmos proporcionais à frequência do haplótipo. O comprimento das linhas está relacionado aos passos mutacionais que separam cada haplótipo. Os pontos cinza indicam nós teóricos intermediários introduzidos pelo algoritmo executado.

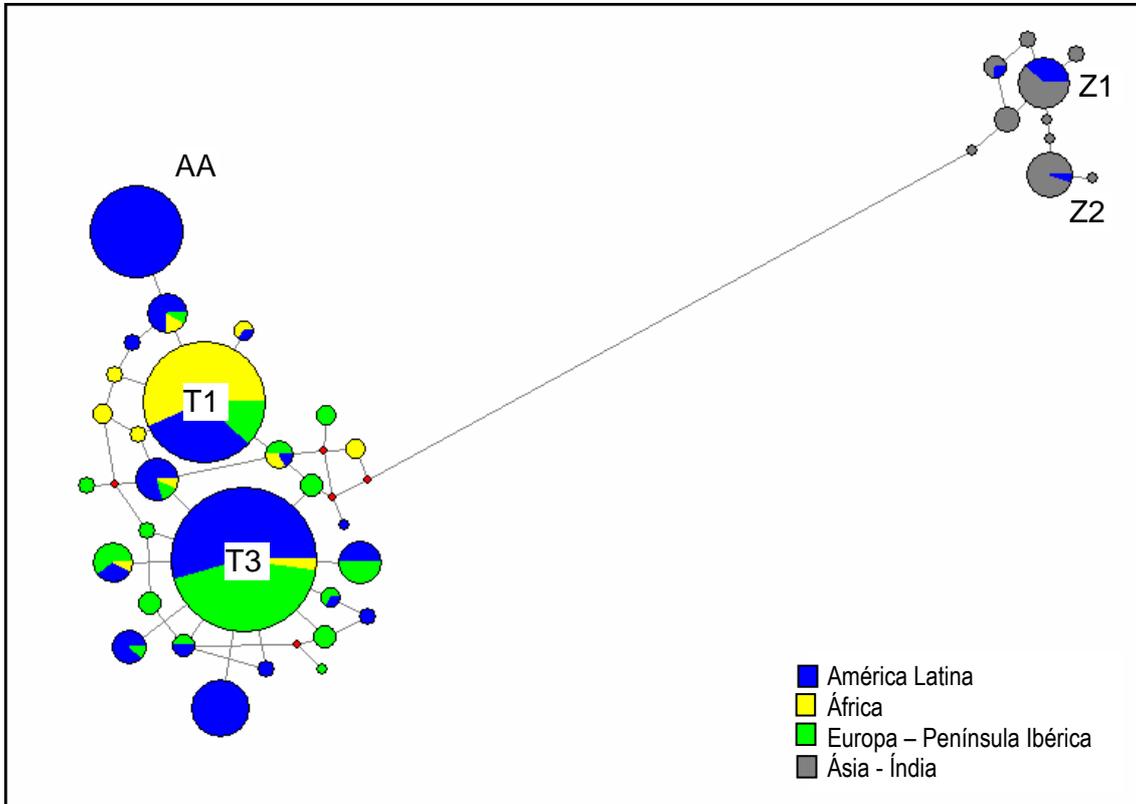


Figura 11. Rede (*Network*) contraída formada pelo método de *median-joining* (Bandelt *et al.*, 1999) demonstrando as linhagens de mtDNA observadas em 66 raças bovinas, sendo a proporção de haplótipos observada baseada na distribuição das raças dentro dos quatro continentes englobados neste estudo. Os círculos representam as seqüências haplotípicas, sendo a área dos mesmos proporcionais à freqüência do haplótipo. O comprimento das linhas está relacionado aos passos mutacionais que separam cada haplótipo. Os pontos vermelhos indicam nós teóricos intermediários introduzidos pelo algoritmo executado.

#### 4. DISCUSSÃO

A domesticação animal iniciou-se há 12.000 anos e tanto sua evolução quanto sua expansão foram moldadas pelo homem ao longo das gerações devido aos movimentos migratórios e ao estabelecimento do ser humano nas mais diversas regiões. Os bovinos foram introduzidos na América durante os primeiros anos da colonização, sendo que a história das raças naturalizadas brasileiras confunde-se com o descobrimento do Brasil e com a expansão dos colonizadores no continente Americano. Os primeiros bovinos chegaram em 1493 na ilha Espanhola, onde hoje estão localizados o Haiti e a República Dominicana (Mariante, 1993). O Brasil foi o único país do continente americano que recebeu raças de origem portuguesa, sendo que a primeira introdução ocorreu 34 anos após o descobrimento do Brasil (Primo, 1993; Mazza *et al.*, 1994), através do porto de São Vicente no ano de 1534 (Lima *et al.*, 1990) seguido do desembarque de animais na costa de Pernambuco e na Bahia (Mariante & Cavalcante, 2006). Além das raças portuguesas, houve a introdução de bovinos de origem espanhola que vieram nas expedições que tinham como destino a Bacia do Prata, pelas fronteiras com o Uruguai, Argentina e Paraguai (Rosa *et al.*, 1992; Mazza *et al.*, 1994).

Futuras introduções de animais de origem zebuína e africana ocorreram de modo não intencional no final do século XVIII e início do século XIX, sendo que o primeiro rebanho zebuíno do Brasil pertencia à D. Pedro I e tinha origem africana. Só a partir do ano de 1870 estão registradas entradas, via importação, de animais zebuínos de origem indiana (Josahkian, 2000). Além destas introduções documentadas existe uma alta probabilidade de animais oriundos da África terem sido introduzidos à época da escravatura, de forma não intencional, trazidos por navios negreiros. Esta possibilidade, em relação às raças do Caribe, também foi aventada por Magge *et al.* (2002). As raças especializadas de origem taurina possuem uma introdução mais recente no Brasil.

Grandes projetos vem sendo desenvolvidos atualmente em todo o mundo para a conservação dos recursos genéticos animais. A manutenção da diversidade genética é fundamental para o melhoramento genético sustentável, facilitando assim, a rápida adaptação às mudanças necessárias e imprevistas para o desenvolvimento dos sistemas de produção.. Baseado nos resultados observados neste estudo é possível verificar a existência de um pool gênico, altamente diverso no que se refere à diversidade do DNA mitocondrial de origem materna, consistente com a história da bovinocultura brasileira. As diversas introduções de animais de diferentes origens favoreceram a proliferação e expansão de diferentes haplótipos

encontrados. A América – Latina e, principalmente o Brasil, possui, portanto, um reservatório importante e vasto para o futuro da pecuária mundial.

A ocorrência de haplótipos de origem taurina no gado zebuino já era esperada, uma vez que o mtDNA permite verificar a contribuição materna na população. Pelos dados históricos verifica-se a introdução de um número reduzido de animais desta subespécie, sendo a maioria de animais do sexo masculino (Josahkian, 2000), que contrasta com o número efetivo atualmente observado na população zebuina brasileira (Mariante *et al.*, 2003). Além disto, relatos históricos confirmam a miscigenação, através de cruzamentos absorventes, dos animais de origem indiana com a vacada nacional, predominantemente taurina (Primo, 1992; Mariante, 1993; Primo, 1993; 2000; Mariante & Egito, 2002).

Contrastando com o esperado, de que as raças brasileiras formassem um pool de linhagens procedentes da Península Ibérica e da Índia, os dados aqui apresentados demonstram uma marcante participação de raças africanas no genoma bovino brasileiro (Figuras 7, 9 e 10). Embora diversos autores tenham observado esta influência também nas raças ibéricas, pela presença de haplótipos de origem africana (T1) (Cymbron *et al.*, 1999; Miretti *et al.*, 2002; Beja-Pereira *et al.*, 2006), foi possível observar que este ocorre em uma frequência muito inferior ao haplótipo AA nas raças crioulas da América Latina.

As linhagens atribuídas ao haplogrupo T1 ocorrem nas raças Norte, Leste e Oeste da África (Bradley *et al.*, 1996; Troy *et al.*, 2001). Da mesma forma ocorrem nas raças ibéricas de Portugal e da Espanha (Cymbron *et al.*, 1999; Miretti *et al.*, 2004; Beja-Pereira *et al.*, 2006) e nas raças crioulas americanas (Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona *et al.*, 2003; Mirol *et al.*, 2003). Por outro lado o haplótipo AA foi observado apenas nas raças do Caribe (Magee *et al.*, 2002), nas raças brasileiras analisadas neste estudo e por (Miretti *et al.*, 2002), e em animais da raça Retinta da Espanha (Miretti *et al.*, 2004).

Pela ocorrência deste haplótipo em bovinos da raça Retinta, Miretti *et al.* (2004) sugerem que o mesmo tenha sido originado na Espanha. Este fato é questionável uma vez que o haplótipo não ocorre em países da América do Sul sabidamente colonizados por espanhóis, ocorrendo apenas no Brasil e em ilhas do Caribe que não tiveram uma colonização espanhola (Liron *et al.*, 2006). Outro ponto que fortalece este questionamento foi a observação que dentre as raças brasileiras, a única que não apresenta o haplótipo AA foi a raça CRL, que sabidamente tem origem espanhola. A explicação mais provável para a ocorrência deste haplótipos na raça Retinta pode ser devida a um fluxo inverso (Brasil para a Península Ibérica) ocorrido nos anos de 1960 e 1970, onde fêmeas da raça Nelore eram acasaladas com machos do Sul da Península Ibérica (Beja-Pereira *et al.*, 2003). Esta introdução de genoma brasileiro de origem taurina

africana também pode ser explicada pela reprodução via macho, uma vez que os animais zebuínos brasileiros possuem mtDNA desta origem.

Este cenário é possivelmente o mais plausível uma vez que haplótipos T1 africanos encontrados na Península Ibérica, ocorrem em baixa frequência nas raças crioulas brasileiras (14%), enquanto que o haplótipo AA é observado com frequências superiores a 40% nas raças crioulas e 28% nas raças zebuínas (Tabela 3).

Desta forma, a discordância entre a frequência dos haplótipos AA e T1 na Península Ibérica e no Brasil sugere que um outro evento de introdução de linhagens africanas tenha ocorrido provavelmente pelas entradas ocorridas no transporte de escravos oriundos da África, hipótese esta também defendida por Lirón *et al.* (2006). Se for esta a hipótese mais plausível, a inexistência destes haplótipos nas raças africanas, até o momento, se deve provavelmente à amostragem geograficamente limitada das raças deste continente ou a introdução e expansão de um haplótipo no Novo Continente, em épocas remotas, que atualmente encontra-se extinto nas raças africanas. Uma outra hipótese aventada por Miretti *et al.* (2002) é que este haplótipo seja oriundo de um processo evolutivo novo ocorrido nas Américas. Esta questão poderá ser esclarecida quando amostras ainda não analisadas, de raças do Sul e do Centro da África, forem analisadas.

A existência de haplótipos de origem zebuína nas raças GIR e GUZ deve ser provavelmente residual, oriunda das poucas fêmeas importadas da Índia; enquanto que o grupo Kangayam, por ser uma raça com histórico de recente re-introdução ainda mantém suas características únicas.

## 5. CONCLUSÕES

A investigação da variabilidade haplotípica na região controle do mtDNA de raças bovinas brasileiras revelou que:

- As raças brasileiras possuem um alta diversidade nucleotídica na região controle do mtDNA;
- O número elevado de diferentes haplótipos observados quando comparado com as raças crioulas da América Latina e raças autóctones da Península Ibérica, corroboram os resultados obtidos com a análise do genoma nuclear e indicam mais uma vez que o Brasil possui um rebanho local com características únicas e peculiares, fonte importante de diversidade genética que poderá ser útil para o progresso da pecuária nacional e mundial;
- Os dados confirmaram os registros históricos que indicam padrões variáveis de miscigenação entre raças bovinas desde a colonização do Brasil e,
- Acreditava-se que a maior influência no rebanho atual tivesse suas origens na introdução de raças zebuínas indianas nas raças locais. Os dados indicam, entretanto, uma marcante participação dos zebuínos de origem africana na formação das raças crioulas brasileiras. Uma possível explicação para estes resultados seria a introdução, em parte clandestina, de animais africanos do sexo feminino trazidos pelo comércio ilegal de escravos para fornecer o leite e a carne durante o trajeto até o litoral americano. Com a expansão da amostragem de raças bovinas africanas, principalmente de raças do Sul e do Centro da África, esta hipótese poderá ser efetivamente testada contribuindo assim para o esclarecimento mais definitivo da constituição das raças crioulas brasileiras.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, S.; De Bruijn, M. H.; Coulson, A. R.; Eperon, I. C.; Sanger, F.; Young, I. G. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. **J. Mol. Biol.**, v.156, n.4, p. 683-717. 1982.
- Baig, M.; Beja-Pereira, A.; Mohammad, R.; Kulkarni, K.; Farah, S.; Luikart, G. Phylogeography and origin of Indian domestic cattle. **Current Science**, v.89, n.1, p. 38-40. 2005.
- Bandelt, H. J.; Forster, P.; Rohl, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Mol. Biol. Evol.**, v.16, n.1, p. 37-48. 1999.
- Beja-Pereira, A.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferrand, N.; Jordana, J.; Laloe, D.; Moazami-Goudarzi, K.; Sanchez, A.; Canon, J. Genetic characterization of southwestern European bovine breeds: a historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. **J.Hered.**, v.94, n.3, p. 243-250. 2003.
- Beja-Pereira, A.; Caramelli, D.; Lalueza-Fox, C.; Vernesi, C.; Ferrand, N.; Casoli, A.; Goyache, F.; Royo, L. J.; Conti, S.; Lari, M.; Martini, A.; Ouragh, L.; Magid, A.; Atash, A.; Zsolnai, A.; Boscato, P.; Triantaphylidis, C.; Ploumi, K.; Sineo, L.; Mallegni, F.; Taberlet, P.; Erhardt, G.; Sampietro, L.; Bertranpetit, J.; Barbujani, G.; Luikart, G.; Bertorelle, G. The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.103, n.21, p. 8113-8118. 2006.
- Bradley, D. G.; Loftus, R. T.; Cunningham, C.; MacHugh, D. E. Genetics and Domestic Cattle Origins. **Evolutionary Anthropology News and Reviews**, v.6, p. 79-86. 1998.
- Bradley, D. G.; MacHugh, D. E.; Cunningham, P.; Loftus, R. T. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.93, n.10, p. 5131-5135. 1996.
- Bruford, M. W.; Bradley, D. G.; Luikart, G. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. **Nat. Rev. Genet.**, v.4, n.11, p. 900-910. 2003.
- Carvajal-Carmona, L. G.; Bermudez, N.; Olivera-Angel, M.; Estrada, L.; Ossa, J.; Bedoya, G.; Ruiz-Linares, A. Abundant mtDNA diversity and ancestral admixture in Colombian criollo cattle (*Bos taurus*). **Genetics**, v.165, n.3, p. 1457-1463. 2003.
- Cymbron, T.; Loftus, R. T.; Malheiro, M. I.; Bradley, D. G. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. **Proc. Biol. Sci.**, v.266, n.1419, p. 597-603. 1999.
- Ewing, B.; Green, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. **Genome Res.**, v.8, n.3, p.186-94. 1998.
- Ewing, B.; Hillier, L.; Wendl, M. C.; Green, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. **Genome Res.**, v.8, n.3, p.175-85. 1998.

- 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 Genet.**, 2007. no prelo.
- Epstein, H.; Mason, I. Cattle. In: L. Mason (Ed.). **Evolution of domesticated animals**. London: Longman, Cattle, p. 6-27. 1984
- Fu, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v.147, n.2, p. 915-925. 1997.
- Fujise, H.; Muramaki, M.; Devkota, D.; Dhakal, I. P.; Takeda, K.; Hanada, H.; Fujitani, H.; Sasaki, M.; Kobayashi, K. Breeding distribution and maternal genetic lineages in Lulu, a dwarf cattle population in Nepal. **Anim. Sci. J.**, v.74, n.1, p. 1-5. 2003.
- Hanotte, O.; Jianlin, H. **Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making**. The Role of Biotechnology for the Characterization of Crop, Forestry Animal and Fishery Genetic Resources. Turim, 2005. p. 131-136.
- Josahkian, L. A. Programa de melhoramento genético das raças zebuínas. In: Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 3, 2000. Belo Horizonte. Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 3. **Anais**. Belo Horizonte - MG: SBMA, 2000. 7 p.
- Kimura, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **J. Mol. Evol.**, v.16, n.2, p. 111-120. 1980.
- Kumar, S.; Tamura, K.; Nei, M. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. **Brief. Bioinform.**, v.5, n.2, p. 150-163. 2004.
- Lima, M. L. P.; Neto, L. M. B.; Razook, A. G. O gado Caracu. **Revista dos Criadores**. outubro, p. 28-30. 1990.
- Liron, J. P.; Bravi, C. M.; Mirol, P. M.; Peral-Garcia, P.; Giovambattista, G. African matrilineages in American Creole cattle: evidence of two independent continental sources. **Anim. Genet.**, v.37, n.4, p. 379-382. 2006.
- Loftus, R. T.; MacHugh, D. E.; Bradley, D. G.; Sharp, P. M.; Cunningham, P. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.91, n.7, p. 2757-2761. 1994a.
- Loftus, R. T.; MacHugh, D. E.; Ngere, L. O.; Balain, D. S.; Badi, A. M.; Bradley, D. G.; Cunningham, E. P. Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. **Anim. Genet.**, v.25, n.4, p. 265-271. 1994b.
- Magee, D. A.; Meghen, C.; Harrison, S.; Troy, C. S.; Cymbron, T.; Gaillard, C.; Morrow, A.; Maillard, J. C.; Bradley, D. G. A partial african ancestry for the creole cattle populations of the Caribbean. **J. Hered.**, v.93, n.6, p. 429-432. 2002.
- Mariante, A. S. Conservação de recursos genéticos animais: uma questão de bom senso. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30, 1993, Rio de Janeiro. Reunião

- Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais**. Rio de Janeiro - RJ: SBZ, 1993. p. 175-182.
- Mariante, A. S.; Cavalcante, N. **Animais do Descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2006. 232 p.
- Mariante, A. S.; Egito, A. A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v.57, n.1, p. 223-235. 2002.
- Mariante, A. S.; Mcmanus, C.; Mendonça, J. F. **Country Report on the State of Animal Genetic Resources in Brazil**. Brasília, Brazil: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, v.99. 2003. 121 p.
- Mazza, M. C. M.; Mazza, C. A. S.; Sereno, J. R. B.; Santos, S. A.; Pellegrin, A. O. **Etnobiologia e Conservação do Bovino Pantaneiro**. Corumbá: Embrapa CPAP. 1994. 61 p.
- Miretti, M. M.; Dunner, S.; Naves, M.; Contel, E. P.; Ferro, J. A. Predominant African-derived mtDNA in Caribbean and Brazilian Creole cattle is also found in Spanish cattle (*Bos taurus*). **J Hered**, v.95, n.5, p. 450-453. 2004.
- Miretti, M. M.; Pereira, H. A., Jr.; Poli, M. A.; Contel, E. P.; Ferro, J. A. African-derived mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage. **J. Hered.**, v.93, n.5, p. 323-330. 2002.
- Mirol, P. M.; Giovambattista, G.; Liron, J. P.; Dulout, F. N. African and European mitochondrial haplotypes in South American Creole cattle. **Heredity**, v.91, n.3, p. 248-254. 2003.
- Primo, A. T. El ganado bovino Iberico en las Americas: 500 años después. **Arch. Zootec.**, v.41, p. 421-432. 1992.
- Primo, A. T. Os bovinos ibéricos nas Américas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30, 1993, Rio de Janeiro. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais**. Rio de Janeiro - RJ: SBZ, 1993. p. 116-122.
- Primo, A. T. The discovery of Brazil and the introduction of domestic animals. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5, 2000, Brasília. Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5. **Proceedings**. Brasília, DF. : Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, 2000. 4 p.
- Rosa, A. N.; Silva, L. O. C.; Porto, J. C. A. **Raças mochas: história e genética**. Embrapa CNPGL. Campo Grande. 1992. 64 p.
- Schneider, S.; Roessli, D.; Excoffier, L. **Arlequin version 2000: a software for population genetics data analysis**. Geneva, Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 2000.
- Troy, C. S.; MacHugh, D. E.; Bailey, J. F.; Magee, D. A.; Loftus, R. T.; Cunningham, P.; Chamberlain, A. T.; Sykes, B. C.; Bradley, D. G. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. **Nature**, v.410, n.6832, p. 1088-1091. 2001.

Xuebin,Q.; Jianlin,H.; Rege,J.E.O.; Hanotte,O. Phylogenetic analysis of Chinese indigenous cattle using mitochondrial entire control region variation. Unpublished. (*GenBank*).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho descreve a utilização de marcadores moleculares microssatélites e de sítios polimórficos no DNA mitocondrial no estudo da diversidade genética e da estrutura de raças bovinas criadas no Brasil, o País que possui a maior população de rebanhos comerciais de bovinos no mundo, e que tem uma composição peculiar composta de raças zebuínas, taurinas e seus híbridos. Acredita-se que este seja o estudo mais amplo e detalhado realizado, até o momento, sobre a estrutura do rebanho brasileiro. Embora existisse um conhecimento histórico a respeito da introdução das raças bovinas no País, muito pouco se sabia a respeito de sua composição genética. Com base nos resultados obtidos foi possível verificar que:

- Todas as raças analisadas podem ser consideradas como entidades genéticas distintas;
- Existe uma quantidade significativa de variabilidade genética nas populações de bovinos criados no Brasil, tanto dentro das raças taurinas especializadas, como dentro das raças zebuínas e das raças localmente adaptadas;
- As raças crioulas possuem uma riqueza de alélica distintamente mais alta do que as raças especializadas e as raças zebuínas;
- A introgressão gênica ocorre em ambas as direções, i.e. de genes taurinos no genoma zebuínos e vice-versa, e pode explicar os níveis altos de diversidade observados;
- Na raça Curraleira, os índices observados de endogamia estão atingindo níveis considerados alarmantes, sendo necessária uma junção de esforços no sentido de promover o intercâmbio entre os reprodutores existentes nas diferentes propriedades;
- Quatro raças crioulas apresentaram uma maior diversidade genética seguida pelas raças zebuínas, pelas duas raças taurinas especializadas e pela raça naturalizada Caracu;
- A análise do DNA mitocondrial corrobora com os dados históricos de miscigenação e múltiplas introduções de genoma bovino no Brasil;
- Existe uma grande influência de raças de origem africana nas raças naturalizadas;
- Os testes de alocação racial, associados a índices de diversidade genética individual, podem ser utilizados para classificar animais dentro de suas populações, sendo a metodologia proposta uma ferramenta valiosa, principalmente para os programas de conservação e manejo de populações em risco de extinção, pois podem maximizar os recursos alocados pela escolha de indivíduos que devem ser considerados prioritários para este fim e,

- As raças bovinas crioulas constituem um reservatório vasto e importante de diversidade genética para a produção e a conservação da espécie bovina; sendo todas importantes e viáveis, com características fenotípicas, genotípicas, culturais e históricas únicas que merecem que esforços sejam realizados para a sua conservação.

## ANEXO I

Raças estudadas, número de indivíduos/grupo e propriedades e estados de origem dos animais.

Raça	Pop.	N	Propriedade e/ou Proprietário	Cidade/Estado
Caracu	CAR1	3	BBGA Embrapa	Brasília -DF
	CAR2 <sup>1</sup>	5	Otávio C. Dias	Conceição da Aparecida - MG
	CAR3 <sup>1</sup>	3	Leandro Cunha Bastos	Goiânia -GO
	CAR4	19	Faz. Trijunção - Theodoro Hungria	Morrinhos - GO
	CAR5 <sup>1</sup>	6	Wilson Farjala	Passos -MG
	CAR6	23	Faz. Chiqueirão - André Dias	Poços de Caldas-MG
	CAR7 <sup>1</sup>	15	Joaquim Carvalho Dias	São Sebastião da Gama-SP
	CAR8 <sup>1</sup>	3	Elias Antonio de Oliveira e Joaquim C. Dias	Uberlândia - MG
Crioulo Lageano	CL1 <sup>2</sup>	81	Antônio Camargo	Ponte Alta - SC
	CL2 <sup>2</sup>	19	Antônio Camargo	Ponte Alta - SC
Curraleiro	CUR1	6	BBGA	Brasília -DF
	CUR2 <sup>3</sup>	9	Faz. Trijunção - Theodoro Hungria	Brasília -DF
	CUR3 <sup>3</sup>	10	Faz. Trijunção - Theodoro Hungria	Gurupi-TO
	CUR4 <sup>4</sup>	10	Faz. Lagoa Branca - João Pereira de Oliveira	Maranhão
	CUR5 <sup>4</sup>	22	Faz. Sta. Mônica - Murilo Alves da Cunha	Natividade-TO
	CUR6	15	Antônio Peixoto	Salto da Divisa - MG
	CUR7	27	EMBRAPA Meio norte	São João do Piauí-PI
Gir	GIR1	11	ABS PECPLAN	Diversos Estados
	GIR2	16	Faz. Mutum - Léo Machado Ferreira	Alexânia - GO
	GIR3	11	Faz. Manga - Noberto Salim	Aurora do Tocantins - TO
	GIR4 <sup>5</sup>	30	Agropecuária Palma - Joaquim Roriz	Luziania -GO
	GIR5 <sup>5</sup>	23	Faz. Eldorado - Nelson Frota	Santa Inês - MA
	GIR6	7	Faz. Novo Horizonte - Marlene Valência	São Sebastião-DF
Guzerá	GUZ1	5	ABS Pecplan	Diversos Estados
	GUZ2	9	Faz. São Sebastião - Haroldo Fontenelle	Baixo Guandu - ES
	GUZ3	36	Faz. Morumbi - Leizer Valadão	Luziânia-GO
	GUZ4	21	Faz. São Luiz - Luiz Ricardo Castro	Santo Antonio do Descoberto-GO
	GUZ5	29	Rubens Araújo	Sobradinho-DF
Holandês	HOL1 <sup>5</sup>	48	Embrapa Cerrados	Brasília-DF
	HOL2	13	Estância São Lucas - Antonio Luis Nogueira e Eduardo Serafim Souza	Dourados - MS
	HOL3	6	BBGA	Brasília- DF
	HOL4	10	ABS PECPLAN	Diversos Estados
	HOL5 <sup>5</sup>	23	Agropecuária Palma - Joaquim Roriz	Luziânia-GO
Jersey	JER1	6	ABS PECPLAN	Diversos Estados
	JER2	19	Faz. Manga - Noberto Salim	Aurora do Tocantins - TO
	JER3	10	Chácara Cristal - Elizário Cardoso Pereira	Brazlândia-DF
	JER4	7	Faz. Casa Pequena - Vera Silva	Luziânia-GO
	JER5	5	Chácara São Luís - Luis Ricardo de Castro	Núcleo Rural Casa Grande-GO
	JER6	3	Faz. Terra Santa - Newton Araújo Silva	Santa Maria-DF
	JER7 <sup>6</sup>	4	Faz. Novo Horizonte - Marlene Valência e Chácara 13 - Sr. Lúcio	São Sebastião - DF

Cont...

Continuação da tabela

M. Nacional	MON1	11	BBGA Embrapa	Brasília - DF
	MON2	14	Faz. Trijunção - Theodoro Hungria	Morrinhos-GO
	MON3 <sup>7</sup>	38	Faz. Diamante Orlândia-SP - Cícero Junqueira Franco	Nova Odessa-SP
	MON4	34	Faz. Três Barras - Adílio Camargo Junior	Uberaba-MG
Nelore	NEL1 <sup>8</sup>	16	ABS Pecplan, Lagoa da Serra, criadores particulares, etc...	Diversos Estados
	NEL2	14	Faz. Manga - Noberto Salim	Aurora do Tocantins - TO
	NEL3	29	Faz. Nhumirim - Embrapa Pantanal	Corumbá - MS
	NEL4 <sup>9</sup>	6	Exp Agropecuária	DF
	NEL5	10	Embrapa Pecuária Sudeste	São Carlos - SP
	NEL6 <sup>9</sup>	11	Exp Agropecuária	Uberaba - MG
	NEL7	9	Faz. Mata Velha - Jonas Barcelos	Uberlândia -MG
Pantaneiro	PAN1	86	Faz. Nhumirim – Embrapa Pantanal	Corumbá - MS
	PAN2	10	BBGA	Porto Jofre-MT

<sup>1</sup> - Amostras coletadas na Exposição Agropecuária de Goiânia, 2000.

<sup>2</sup> - Amostras oriundas do mesmo rebanho. Diferenciam-se pela característica mocha da população CL2.

<sup>3</sup> - Amostras separadas por origem dos animais.

<sup>4</sup> - Propriedades localizadas em Porangatu-GO, mas com rebanho originário do Maranhão e Natividade - GO.

<sup>5</sup> - Rebanhos que sabidamente possuem animais de diferentes origens.

<sup>6</sup> - Amostras de dois sítios distintos, mas reunidas pela região da coleta.

<sup>7</sup> - Amostras coletadas na Exposição Agropecuária de Brasília, 2000.

<sup>8</sup> - Amostras obtidas a partir de sêmen de descendentes de touros de diferentes linhagens da raça Nelore.

<sup>9</sup> - Propriedade localizada em Orlândia – SP, mas animais oriundos de Nova Odessa-SP

## ANEXO II

Tabela 1. Frequência alélica do loco INRA 35.

	98	100	102	104	106	108	110	112	116	118	120	122
CA	0,092	0,526	0,000	0,013	0,125	0,013	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,204
CL	0,275	0,440	0,000	0,000	0,225	0,000	0,000	0,005	0,000	0,040	0,000	0,015
CU	0,051	0,712	0,005	0,000	0,212	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,010	0,005
GIR	0,167	0,406	0,005	0,016	0,167	0,109	0,016	0,000	0,005	0,036	0,010	0,062
GU	0,268	0,141	0,030	0,051	0,141	0,066	0,000	0,005	0,025	0,197	0,015	0,061
HOL	0,372	0,602	0,010	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005
JER	0,019	0,861	0,009	0,000	0,009	0,000	0,019	0,074	0,000	0,009	0,000	0,000
MN	0,216	0,475	0,006	0,006	0,173	0,019	0,037	0,037	0,000	0,012	0,000	0,019
NEL	0,167	0,194	0,011	0,043	0,333	0,129	0,005	0,000	0,011	0,086	0,011	0,011
PAN	0,076	0,647	0,005	0,016	0,098	0,011	0,011	0,016	0,000	0,027	0,043	0,049

Tabela 2. Frequência alélica do loco HEL 9.

	145	147	149	151	153	155	157	159	161	163	165	167	169
CA	0,040	0,073	0,087	0,060	0,020	0,007	0,000	0,160	0,367	0,173	0,007	0,000	0,007
CL	0,060	0,100	0,120	0,115	0,080	0,075	0,015	0,080	0,150	0,155	0,035	0,000	0,015
CU	0,015	0,015	0,025	0,071	0,015	0,126	0,040	0,101	0,354	0,111	0,121	0,005	0,000
GIR	0,032	0,047	0,011	0,147	0,021	0,195	0,095	0,026	0,053	0,121	0,200	0,053	0,000
GU	0,076	0,172	0,051	0,071	0,010	0,091	0,111	0,030	0,157	0,066	0,096	0,056	0,015
HOL	0,005	0,010	0,200	0,090	0,040	0,025	0,035	0,105	0,130	0,085	0,140	0,005	0,130
JER	0,000	0,009	0,264	0,179	0,160	0,028	0,009	0,160	0,066	0,113	0,009	0,000	0,000
MN	0,046	0,077	0,165	0,119	0,108	0,026	0,026	0,129	0,175	0,062	0,031	0,026	0,010
NEL	0,086	0,188	0,038	0,043	0,016	0,108	0,188	0,038	0,091	0,108	0,091	0,005	0,000
PAN	0,011	0,032	0,032	0,100	0,116	0,221	0,026	0,068	0,179	0,142	0,068	0,005	0,000

Tabela 3. Frequência alélica do loco INRA63.

	171	173	175	177	179	181	183	185
CA	0,000	0,421	0,493	0,020	0,000	0,066	0,000	0,000
CL	0,005	0,495	0,080	0,010	0,005	0,380	0,025	0,000
CU	0,010	0,429	0,394	0,000	0,015	0,121	0,030	0,000
GIR	0,000	0,090	0,064	0,011	0,043	0,676	0,117	0,000
GU	0,000	0,010	0,206	0,005	0,005	0,577	0,196	0,000
HOL	0,020	0,470	0,445	0,060	0,000	0,005	0,000	0,000
JER	0,000	0,189	0,443	0,302	0,038	0,028	0,000	0,000
MN	0,000	0,490	0,339	0,005	0,005	0,156	0,005	0,000
NEL	0,000	0,017	0,239	0,006	0,023	0,562	0,125	0,028
PAN	0,000	0,342	0,247	0,011	0,005	0,321	0,068	0,005

Tabela 4. Frequência alélica do loco ILSTS05.

	177	179	181	183	185	187	189	191	193
CA	0,000	0,000	0,066	0,875	0,039	0,000	0,000	0,020	0,000
CL	0,026	0,041	0,097	0,612	0,036	0,143	0,015	0,031	0,000
CU	0,000	0,010	0,087	0,638	0,056	0,087	0,005	0,112	0,005
GIR	0,037	0,043	0,080	0,250	0,048	0,277	0,064	0,154	0,048
GU	0,020	0,141	0,030	0,157	0,020	0,414	0,071	0,116	0,030
HOL	0,005	0,010	0,570	0,335	0,060	0,020	0,000	0,000	0,000
JER	0,000	0,000	0,189	0,679	0,094	0,028	0,000	0,009	0,000
MN	0,031	0,026	0,155	0,665	0,077	0,015	0,005	0,026	0,000
NEL	0,000	0,199	0,170	0,114	0,068	0,250	0,068	0,091	0,040
PAN	0,000	0,016	0,154	0,447	0,154	0,043	0,021	0,128	0,037

Tabela 5. Frequência alélica do loco HEL5.

	145	147	149	151	153	155	157	159	161	163	165	167	169
CA	0,007	0,047	0,153	0,100	0,060	0,007	0,000	0,080	0,227	0,133	0,187	0,000	0,000
CL	0,051	0,158	0,194	0,107	0,133	0,015	0,005	0,041	0,077	0,097	0,102	0,020	0,000
CU	0,081	0,131	0,126	0,081	0,146	0,061	0,086	0,010	0,025	0,106	0,136	0,010	0,000
GIR	0,233	0,167	0,228	0,056	0,094	0,011	0,022	0,006	0,050	0,039	0,061	0,028	0,006
GU	0,050	0,172	0,183	0,061	0,117	0,056	0,006	0,050	0,094	0,106	0,083	0,011	0,011
HOL	0,000	0,151	0,027	0,038	0,016	0,027	0,005	0,355	0,220	0,108	0,022	0,027	0,005
JER	0,010	0,039	0,049	0,118	0,069	0,000	0,000	0,000	0,127	0,216	0,206	0,167	0,000
MN	0,016	0,064	0,133	0,106	0,048	0,000	0,000	0,112	0,112	0,176	0,223	0,011	0,000
NEL	0,117	0,258	0,250	0,039	0,086	0,062	0,016	0,000	0,023	0,055	0,047	0,031	0,016
PAN	0,021	0,073	0,151	0,203	0,089	0,036	0,021	0,031	0,042	0,047	0,214	0,073	0,000

Tabela 6. Frequência alélica do loco ETH152.

	189	191	193	195	197	199	201	203	205	207
CA	0,280	0,100	0,013	0,073	0,173	0,060	0,253	0,013	0,013	0,020
CL	0,315	0,010	0,075	0,445	0,055	0,050	0,040	0,000	0,000	0,010
CU	0,179	0,000	0,163	0,464	0,077	0,066	0,026	0,005	0,000	0,020
GIR	0,763	0,016	0,132	0,005	0,000	0,079	0,000	0,005	0,000	0,000
GU	0,806	0,000	0,015	0,071	0,000	0,046	0,010	0,046	0,000	0,005
HOL	0,021	0,000	0,067	0,448	0,082	0,180	0,170	0,021	0,010	0,000
JER	0,057	0,000	0,189	0,443	0,047	0,151	0,075	0,028	0,000	0,009
MN	0,188	0,005	0,193	0,224	0,047	0,182	0,115	0,005	0,042	0,000
NEL	0,756	0,062	0,051	0,000	0,006	0,023	0,085	0,000	0,017	0,000
PAN	0,184	0,063	0,084	0,400	0,089	0,068	0,079	0,026	0,000	0,005

Tabela 7. Frequência alélica do loco INRA 37.

	112	114	116	118	120	122	124	126	128	130	132	134	136	140	142	144	146
CA	0,007	0,000	0,000	0,007	0,000	0,026	0,184	0,092	0,375	0,296	0,007	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000
CL	0,000	0,005	0,031	0,051	0,036	0,046	0,332	0,301	0,046	0,138	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CU	0,000	0,010	0,010	0,010	0,000	0,077	0,158	0,240	0,276	0,173	0,046	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GIR	0,016	0,005	0,033	0,137	0,005	0,000	0,264	0,170	0,247	0,099	0,011	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000
GU	0,026	0,000	0,005	0,180	0,098	0,005	0,381	0,165	0,103	0,015	0,010	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
HOL	0,000	0,037	0,053	0,000	0,011	0,105	0,174	0,021	0,453	0,079	0,005	0,005	0,000	0,016	0,021	0,011	0,011
JER	0,000	0,120	0,100	0,010	0,010	0,400	0,050	0,000	0,220	0,050	0,000	0,000	0,010	0,020	0,010	0,000	0,000
MN	0,000	0,006	0,030	0,006	0,000	0,006	0,262	0,171	0,195	0,171	0,043	0,006	0,000	0,000	0,037	0,061	0,006
NEL	0,058	0,041	0,041	0,262	0,029	0,006	0,209	0,163	0,134	0,041	0,006	0,006	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000
PAN	0,000	0,000	0,028	0,050	0,022	0,022	0,206	0,122	0,244	0,244	0,061	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 8. Frequência alélica do loco CSSM09.

	98	100	102	104	106	108	110	112	114	116	118	120	122	126	130	132	134	138	140	142	146	148
CA	0,000	0,000	0,260	0,000	0,312	0,143	0,019	0,026	0,065	0,039	0,130	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CL	0,015	0,045	0,010	0,000	0,310	0,105	0,080	0,145	0,070	0,060	0,005	0,025	0,005	0,000	0,000	0,005	0,005	0,095	0,000	0,020	0,000	0,000
CU	0,010	0,010	0,222	0,000	0,232	0,187	0,005	0,005	0,015	0,131	0,010	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,141	0,000	0,025	0,000	0,000
GIR	0,119	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,041	0,031	0,005	0,005	0,000	0,000	0,015	0,036	0,052	0,361	0,010	0,129	0,108	0,067
GU	0,025	0,195	0,000	0,000	0,015	0,005	0,140	0,000	0,120	0,125	0,005	0,000	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000	0,255	0,015	0,085	0,010	0,000
HOL	0,025	0,000	0,000	0,010	0,192	0,000	0,318	0,258	0,000	0,182	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000
JER	0,019	0,009	0,028	0,000	0,352	0,028	0,056	0,185	0,046	0,213	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,009	0,019	0,019	0,009	0,000	0,000
MN	0,088	0,000	0,088	0,000	0,258	0,155	0,026	0,052	0,093	0,108	0,005	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,103	0,000	0,010	0,000	0,005
NEL	0,104	0,022	0,000	0,000	0,022	0,104	0,049	0,005	0,143	0,000	0,000	0,000	0,016	0,005	0,016	0,005	0,093	0,214	0,000	0,099	0,088	0,011
PAN	0,021	0,005	0,197	0,005	0,362	0,037	0,016	0,021	0,064	0,181	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,090	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 9. Frequência alélica do loco TGLA122.

	135	137	139	141	143	145	147	149	151	153	155	157	159	161	163	165	167	169	171	173	175	177	185
CA	0,000	0,041	0,034	0,014	0,054	0,074	0,020	0,041	0,027	0,108	0,216	0,020	0,014	0,095	0,034	0,108	0,014	0,034	0,047	0,007	0,000	0,000	0,000
CL	0,005	0,030	0,000	0,066	0,197	0,040	0,025	0,066	0,237	0,152	0,056	0,015	0,005	0,045	0,040	0,005	0,000	0,005	0,000	0,005	0,005	0,000	0,000
CU	0,005	0,060	0,016	0,099	0,060	0,044	0,033	0,022	0,022	0,187	0,044	0,005	0,011	0,055	0,137	0,060	0,022	0,088	0,022	0,000	0,005	0,000	0,000
GIR	0,116	0,250	0,006	0,035	0,035	0,012	0,047	0,047	0,169	0,157	0,047	0,000	0,006	0,029	0,035	0,006	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GU	0,052	0,207	0,057	0,017	0,063	0,080	0,052	0,040	0,092	0,155	0,098	0,029	0,000	0,023	0,017	0,000	0,006	0,006	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000
HOL	0,000	0,018	0,000	0,102	0,229	0,012	0,054	0,163	0,102	0,048	0,018	0,006	0,000	0,030	0,036	0,048	0,000	0,012	0,006	0,030	0,030	0,012	0,042
JER	0,000	0,000	0,010	0,078	0,265	0,078	0,010	0,098	0,127	0,039	0,010	0,000	0,000	0,010	0,049	0,000	0,000	0,098	0,088	0,029	0,000	0,010	0,000
MN	0,049	0,016	0,011	0,060	0,077	0,055	0,016	0,038	0,115	0,104	0,049	0,000	0,000	0,082	0,033	0,033	0,115	0,071	0,066	0,000	0,000	0,000	0,005
NEL	0,023	0,247	0,000	0,040	0,195	0,086	0,080	0,017	0,046	0,115	0,040	0,006	0,006	0,046	0,052	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PAN	0,034	0,062	0,017	0,062	0,034	0,062	0,084	0,045	0,174	0,146	0,011	0,000	0,000	0,067	0,084	0,006	0,022	0,084	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 10. Frequência alélica do loco TGLA53.

	149	151	153	155	157	159	161	163	165	167	169	171	173	175	177	179	181	183	185	187	189
CA	0,013	0,000	0,007	0,007	0,593	0,020	0,013	0,027	0,060	0,020	0,047	0,020	0,113	0,013	0,000	0,000	0,033	0,013	0,000	0,000	0,000
CL	0,063	0,179	0,016	0,016	0,274	0,079	0,053	0,084	0,089	0,053	0,021	0,000	0,026	0,005	0,005	0,016	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000
CU	0,006	0,084	0,024	0,030	0,193	0,042	0,096	0,018	0,127	0,072	0,060	0,036	0,018	0,030	0,054	0,012	0,060	0,036	0,000	0,000	0,000
GIR	0,014	0,014	0,021	0,064	0,429	0,029	0,043	0,064	0,064	0,093	0,014	0,014	0,000	0,007	0,007	0,036	0,029	0,057	0,000	0,000	0,000
GU	0,000	0,000	0,012	0,059	0,306	0,059	0,076	0,100	0,094	0,047	0,053	0,018	0,006	0,006	0,018	0,047	0,047	0,029	0,012	0,000	0,012
HOL	0,000	0,043	0,000	0,152	0,256	0,134	0,091	0,024	0,067	0,049	0,037	0,012	0,030	0,043	0,012	0,000	0,006	0,043	0,000	0,000	0,000
JER	0,000	0,045	0,000	0,000	0,136	0,091	0,167	0,045	0,106	0,288	0,030	0,015	0,015	0,000	0,000	0,000	0,045	0,000	0,000	0,015	0,000
MN	0,024	0,024	0,012	0,018	0,399	0,054	0,030	0,214	0,095	0,018	0,042	0,006	0,036	0,018	0,000	0,006	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000
NEL	0,000	0,000	0,018	0,006	0,565	0,035	0,029	0,006	0,118	0,035	0,029	0,006	0,012	0,000	0,000	0,000	0,012	0,018	0,065	0,035	0,012
PAN	0,042	0,060	0,048	0,012	0,173	0,226	0,054	0,113	0,113	0,006	0,036	0,000	0,024	0,000	0,000	0,030	0,054	0,000	0,000	0,000	0,012

Tabela 11. Frequência alélica do loco INRA05.

	130	132	134	136	138	140	142	144	146	150	152
CA	0,000	0,000	0,000	0,021	0,264	0,571	0,071	0,007	0,021	0,021	0,021
CL	0,000	0,012	0,065	0,218	0,424	0,212	0,029	0,018	0,024	0,000	0,000
CU	0,006	0,026	0,013	0,058	0,250	0,564	0,045	0,006	0,026	0,006	0,000
GIR	0,000	0,011	0,078	0,278	0,244	0,156	0,067	0,133	0,011	0,022	0,000
GU	0,031	0,049	0,123	0,105	0,185	0,296	0,093	0,037	0,037	0,012	0,031
HOL	0,000	0,000	0,008	0,015	0,138	0,469	0,277	0,046	0,038	0,008	0,000
JER	0,000	0,000	0,000	0,014	0,129	0,600	0,200	0,043	0,000	0,014	0,000
MN	0,000	0,000	0,085	0,096	0,617	0,181	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000
NEL	0,000	0,000	0,348	0,291	0,139	0,114	0,019	0,051	0,038	0,000	0,000
PAN	0,000	0,000	0,048	0,089	0,333	0,298	0,179	0,036	0,006	0,000	0,012

Tabela 12. Frequência alélica do loco HEL1.

	100	102	104	106	108	110	112	114	116	118
CA	0,125	0,033	0,296	0,046	0,066	0,007	0,421	0,007	0,000	0,000
CL	0,085	0,025	0,285	0,165	0,035	0,055	0,270	0,010	0,070	0,000
CU	0,105	0,011	0,374	0,158	0,026	0,037	0,237	0,016	0,037	0,000
GIR	0,070	0,022	0,081	0,360	0,011	0,081	0,059	0,022	0,290	0,005
GU	0,085	0,020	0,090	0,285	0,050	0,040	0,075	0,005	0,335	0,015
HOL	0,105	0,021	0,321	0,147	0,016	0,037	0,311	0,011	0,032	0,000
JER	0,098	0,020	0,255	0,059	0,000	0,059	0,461	0,020	0,029	0,000
MN	0,103	0,026	0,428	0,082	0,021	0,000	0,330	0,010	0,000	0,000
NEL	0,258	0,016	0,065	0,387	0,038	0,032	0,016	0,000	0,188	0,000
PAN	0,073	0,042	0,292	0,109	0,000	0,104	0,354	0,000	0,021	0,005

Tabela 13. Frequência alélica do loco CSSM66.

	175	177	179	181	183	185	187	189	191	193	195	197	199	201	209
CA	0,000	0,000	0,091	0,039	0,078	0,149	0,052	0,266	0,000	0,045	0,039	0,208	0,026	0,006	0,000
CL	0,005	0,005	0,162	0,162	0,061	0,167	0,030	0,096	0,025	0,106	0,035	0,101	0,010	0,035	0,000
CU	0,000	0,000	0,084	0,079	0,063	0,100	0,042	0,274	0,021	0,016	0,016	0,242	0,042	0,005	0,016
GIR	0,011	0,005	0,234	0,217	0,027	0,174	0,016	0,092	0,005	0,000	0,060	0,087	0,065	0,005	0,000
GU	0,000	0,000	0,311	0,205	0,058	0,042	0,063	0,037	0,000	0,005	0,047	0,121	0,084	0,026	0,000
HOL	0,000	0,000	0,054	0,038	0,118	0,237	0,059	0,306	0,005	0,134	0,005	0,032	0,005	0,005	0,000
JER	0,000	0,000	0,019	0,065	0,037	0,102	0,111	0,139	0,037	0,361	0,019	0,074	0,037	0,000	0,000
MN	0,021	0,031	0,046	0,180	0,031	0,108	0,052	0,227	0,000	0,036	0,062	0,186	0,021	0,000	0,000
NEL	0,018	0,000	0,306	0,347	0,012	0,106	0,124	0,000	0,006	0,000	0,000	0,012	0,071	0,000	0,000
PAN	0,000	0,005	0,082	0,136	0,049	0,114	0,027	0,217	0,076	0,038	0,082	0,147	0,022	0,005	0,000

Tabela 14. Frequência alélica do loco CSSM33.

	151	153	155	157	159	161	163	165	167	169	173	175	177	179	181
CA	0,123	0,048	0,041	0,014	0,185	0,555	0,007	0,014	0,000	0,007	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000
CL	0,139	0,273	0,036	0,005	0,320	0,108	0,000	0,000	0,005	0,010	0,010	0,000	0,052	0,031	0,010
CU	0,138	0,276	0,031	0,117	0,250	0,041	0,000	0,010	0,000	0,036	0,020	0,051	0,031	0,000	0,000
GIR	0,016	0,214	0,021	0,005	0,135	0,073	0,000	0,036	0,000	0,057	0,000	0,167	0,193	0,083	0,000
GU	0,000	0,189	0,005	0,000	0,117	0,026	0,000	0,020	0,077	0,122	0,092	0,005	0,316	0,031	0,000
HOL	0,115	0,214	0,010	0,000	0,391	0,224	0,042	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
JER	0,039	0,108	0,304	0,000	0,039	0,402	0,049	0,029	0,000	0,010	0,010	0,010	0,000	0,000	0,000
MN	0,294	0,194	0,044	0,033	0,322	0,061	0,011	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000
NEL	0,018	0,061	0,140	0,055	0,073	0,220	0,006	0,024	0,000	0,037	0,030	0,030	0,213	0,073	0,018
PAN	0,081	0,124	0,059	0,032	0,108	0,441	0,005	0,005	0,027	0,011	0,016	0,000	0,038	0,022	0,032

Tabela 15. Frequência alélica do loco BM2113.

	123	125	127	129	131	133	135	137	139	141	143
CA	0,145	0,158	0,033	0,118	0,026	0,039	0,250	0,164	0,033	0,033	0,000
CL	0,040	0,126	0,101	0,152	0,035	0,056	0,172	0,096	0,045	0,162	0,015
CU	0,005	0,010	0,005	0,067	0,031	0,072	0,474	0,227	0,062	0,031	0,015
GIR	0,000	0,010	0,000	0,175	0,149	0,005	0,268	0,062	0,144	0,144	0,041
GU	0,000	0,000	0,015	0,090	0,060	0,115	0,195	0,005	0,265	0,210	0,045
HOL	0,040	0,160	0,160	0,110	0,020	0,010	0,310	0,105	0,075	0,005	0,005
JER	0,000	0,010	0,020	0,059	0,010	0,206	0,578	0,098	0,020	0,000	0,000
MN	0,052	0,115	0,036	0,156	0,062	0,115	0,120	0,198	0,073	0,062	0,010
NEL	0,000	0,005	0,016	0,321	0,054	0,005	0,212	0,000	0,033	0,201	0,152
PAN	0,158	0,105	0,011	0,116	0,021	0,089	0,226	0,032	0,205	0,021	0,016

Tabela 16. Frequência alélica do loco ETH10.

	209	211	213	215	217	219	221	223	225
CA	0,033	0,007	0,000	0,000	0,092	0,349	0,520	0,000	0,000
CL	0,131	0,025	0,146	0,081	0,217	0,273	0,121	0,005	0,000
CU	0,015	0,057	0,036	0,005	0,041	0,423	0,402	0,015	0,005
GIR	0,309	0,052	0,546	0,005	0,000	0,072	0,015	0,000	0,000
GU	0,280	0,105	0,550	0,000	0,000	0,065	0,000	0,000	0,000
HOL	0,025	0,000	0,080	0,010	0,230	0,510	0,025	0,050	0,070
JER	0,000	0,009	0,009	0,176	0,463	0,185	0,139	0,019	0,000
MN	0,026	0,010	0,047	0,005	0,286	0,297	0,286	0,042	0,000
NEL	0,242	0,634	0,075	0,000	0,000	0,048	0,000	0,000	0,000
PAN	0,053	0,058	0,158	0,005	0,147	0,389	0,189	0,000	0,000

Tabela 17. Freqüência alélica do loco SPS115.

	244	246	248	250	252	254	256	258	260
CA	0,000	0,000	0,507	0,020	0,280	0,007	0,067	0,000	0,120
CL	0,000	0,020	0,811	0,051	0,046	0,041	0,010	0,000	0,020
CU	0,000	0,011	0,663	0,032	0,179	0,021	0,084	0,005	0,005
GIR	0,000	0,168	0,603	0,196	0,000	0,000	0,022	0,011	0,000
GU	0,000	0,380	0,245	0,188	0,000	0,000	0,161	0,026	0,000
HOL	0,000	0,033	0,565	0,005	0,217	0,060	0,082	0,027	0,011
JER	0,000	0,010	0,324	0,020	0,304	0,137	0,000	0,000	0,206
MN	0,000	0,011	0,517	0,115	0,149	0,017	0,069	0,000	0,121
NEL	0,000	0,199	0,511	0,085	0,000	0,034	0,125	0,011	0,034
PAN	0,022	0,067	0,612	0,135	0,073	0,006	0,067	0,000	0,017

Tabela 18. Freqüência alélica do loco ETH225.

	138	140	142	144	146	148	150	152	154	156	158	160
CA	0,007	0,066	0,164	0,283	0,178	0,145	0,066	0,000	0,000	0,033	0,059	0,000
CL	0,000	0,066	0,106	0,253	0,040	0,207	0,131	0,010	0,051	0,030	0,101	0,005
CU	0,000	0,170	0,139	0,175	0,067	0,129	0,057	0,021	0,005	0,113	0,124	0,000
GIR	0,005	0,099	0,005	0,005	0,010	0,036	0,026	0,083	0,094	0,078	0,557	0,000
GU	0,000	0,035	0,030	0,010	0,005	0,045	0,010	0,030	0,060	0,095	0,645	0,035
HOL	0,010	0,082	0,056	0,031	0,066	0,321	0,306	0,092	0,000	0,000	0,036	0,000
JER	0,000	0,056	0,028	0,185	0,009	0,324	0,352	0,000	0,000	0,000	0,028	0,019
MN	0,000	0,105	0,021	0,284	0,100	0,200	0,126	0,000	0,005	0,026	0,132	0,000
NEL	0,000	0,022	0,038	0,032	0,005	0,022	0,065	0,070	0,113	0,177	0,452	0,005
PAN	0,005	0,232	0,021	0,353	0,005	0,132	0,047	0,005	0,053	0,011	0,137	0,000

Tabela 19. Freqüência alélica do loco TGLA227

	75	77	79	81	83	85	87	89	91	93	95	97	99	105
CA	0,000	0,233	0,027	0,027	0,033	0,000	0,060	0,447	0,133	0,020	0,000	0,020	0,000	0,000
CL	0,015	0,146	0,086	0,056	0,051	0,000	0,131	0,172	0,091	0,177	0,000	0,030	0,040	0,005
CU	0,045	0,237	0,056	0,091	0,010	0,000	0,399	0,071	0,066	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000
GIR	0,000	0,724	0,071	0,071	0,005	0,005	0,010	0,005	0,000	0,066	0,000	0,015	0,015	0,010
GU	0,000	0,770	0,070	0,045	0,000	0,010	0,055	0,035	0,005	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
HOL	0,000	0,031	0,010	0,066	0,097	0,005	0,041	0,138	0,214	0,051	0,015	0,077	0,194	0,061
JER	0,000	0,210	0,010	0,170	0,000	0,000	0,000	0,000	0,170	0,330	0,010	0,100	0,000	0,000
MN	0,000	0,271	0,021	0,115	0,109	0,016	0,010	0,125	0,156	0,125	0,010	0,016	0,026	0,000
NEL	0,011	0,809	0,128	0,027	0,005	0,000	0,000	0,000	0,005	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000
PAN	0,000	0,473	0,021	0,043	0,032	0,000	0,229	0,053	0,090	0,053	0,000	0,000	0,005	0,000

Tabela 20. Frequência alélica do loco INRA23.

	194	196	198	200	202	204	206	208	210	212	214	216	218
CA	0,000	0,026	0,145	0,000	0,000	0,000	0,204	0,118	0,026	0,224	0,250	0,000	0,007
CL	0,061	0,036	0,061	0,005	0,026	0,000	0,148	0,036	0,015	0,000	0,612	0,000	0,000
CU	0,032	0,005	0,086	0,000	0,011	0,038	0,188	0,054	0,000	0,016	0,565	0,005	0,000
GIR	0,000	0,045	0,124	0,034	0,011	0,067	0,017	0,157	0,152	0,006	0,354	0,034	0,000
GU	0,028	0,112	0,051	0,006	0,146	0,006	0,056	0,090	0,062	0,022	0,416	0,006	0,000
HOL	0,000	0,000	0,018	0,000	0,076	0,000	0,365	0,071	0,176	0,000	0,282	0,006	0,006
JER	0,011	0,032	0,160	0,085	0,074	0,000	0,191	0,138	0,074	0,000	0,138	0,011	0,085
MN	0,005	0,016	0,088	0,038	0,005	0,000	0,231	0,253	0,044	0,022	0,291	0,005	0,000
NEL	0,067	0,140	0,011	0,000	0,152	0,000	0,006	0,090	0,045	0,000	0,478	0,011	0,000
PAN	0,065	0,054	0,071	0,065	0,012	0,000	0,167	0,119	0,095	0,000	0,345	0,000	0,006

Tabela 21. Frequência alélica do loco ETH3.

	101	105	107	115	117	119	121	123	125	127	129
CA	0,013	0,000	0,211	0,204	0,151	0,000	0,046	0,342	0,007	0,013	0,013
CL	0,076	0,010	0,005	0,278	0,374	0,071	0,025	0,040	0,030	0,010	0,081
CU	0,108	0,005	0,072	0,129	0,371	0,005	0,000	0,186	0,108	0,005	0,010
GIR	0,098	0,005	0,005	0,722	0,160	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000
GU	0,066	0,000	0,010	0,464	0,321	0,066	0,000	0,015	0,056	0,000	0,000
HOL	0,005	0,000	0,000	0,026	0,578	0,016	0,005	0,052	0,125	0,115	0,078
JER	0,009	0,000	0,000	0,038	0,670	0,009	0,057	0,094	0,094	0,028	0,000
MN	0,027	0,005	0,152	0,179	0,397	0,054	0,049	0,071	0,065	0,000	0,000
NEL	0,043	0,000	0,000	0,516	0,362	0,000	0,000	0,011	0,069	0,000	0,000
PAN	0,070	0,000	0,075	0,199	0,253	0,038	0,000	0,263	0,102	0,000	0,000

Tabela 22. Frequência alélica do loco BM1824.

	174	176	178	180	182	184	186	188	190	192	194	196
CA	0,007	0,000	0,180	0,173	0,507	0,007	0,000	0,120	0,007	0,000	0,000	0,000
CL	0,000	0,005	0,036	0,250	0,396	0,016	0,000	0,240	0,000	0,031	0,026	0,000
CU	0,000	0,027	0,090	0,223	0,197	0,011	0,005	0,293	0,122	0,011	0,005	0,016
GIR	0,007	0,000	0,080	0,341	0,377	0,051	0,022	0,014	0,007	0,043	0,058	0,000
GU	0,000	0,000	0,048	0,458	0,333	0,000	0,012	0,006	0,000	0,018	0,119	0,006
HOL	0,006	0,000	0,256	0,193	0,233	0,000	0,000	0,176	0,114	0,011	0,006	0,006
JER	0,014	0,027	0,041	0,500	0,230	0,000	0,000	0,014	0,135	0,041	0,000	0,000
MN	0,000	0,000	0,185	0,268	0,304	0,024	0,000	0,107	0,089	0,000	0,024	0,000
NEL	0,005	0,022	0,187	0,456	0,225	0,000	0,000	0,000	0,005	0,011	0,049	0,038
PAN	0,000	0,000	0,079	0,281	0,236	0,006	0,000	0,197	0,124	0,011	0,022	0,045

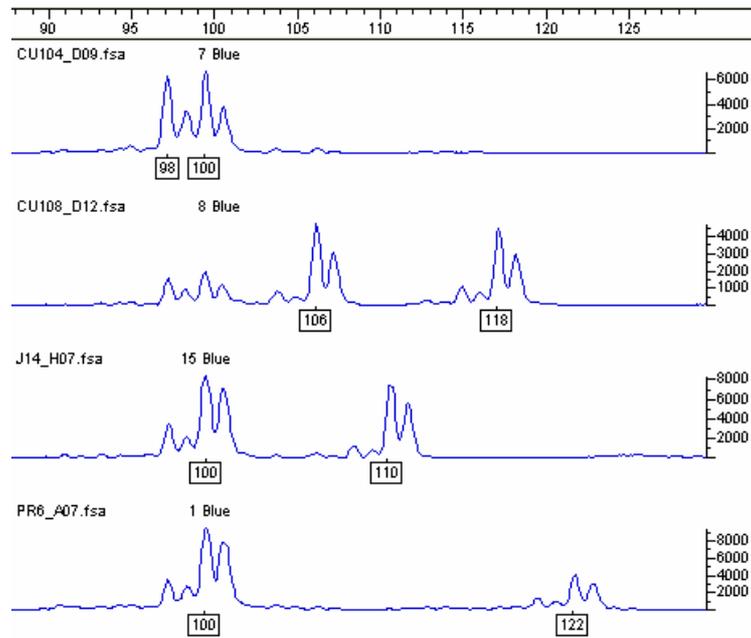


Figura 1. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco INRA35.

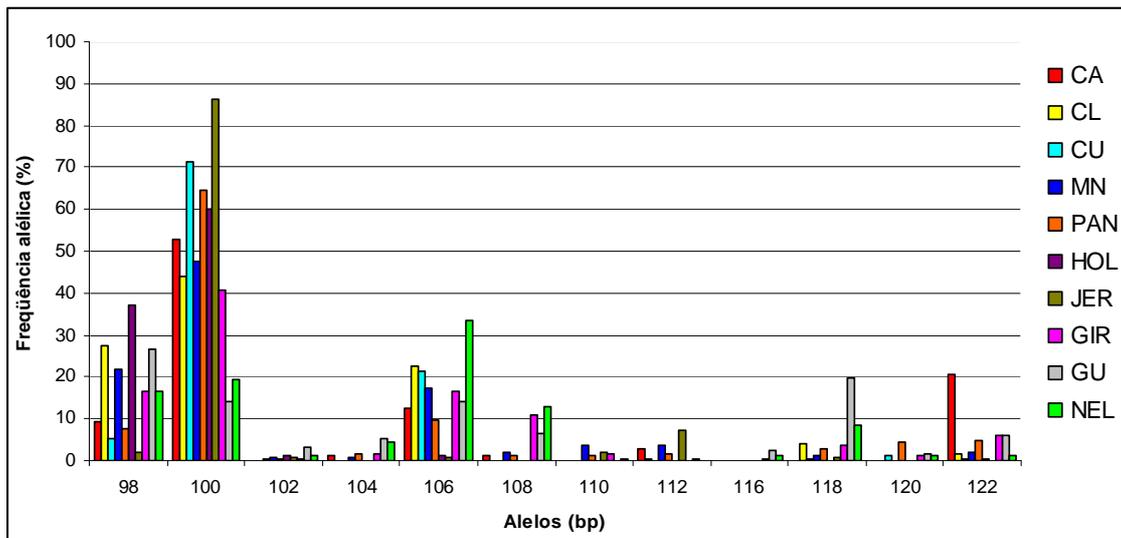


Figura 2. Gráfico dos alelos observados para o loco INRA35 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

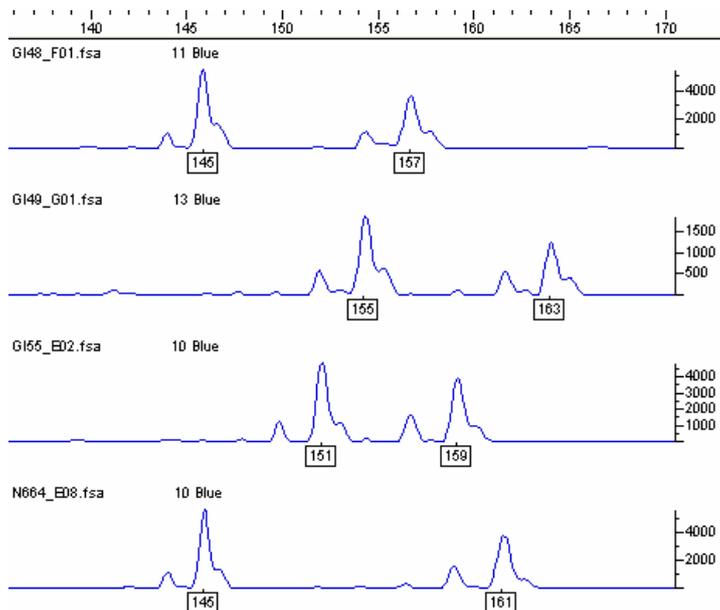


Figura 3. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco HEL9.

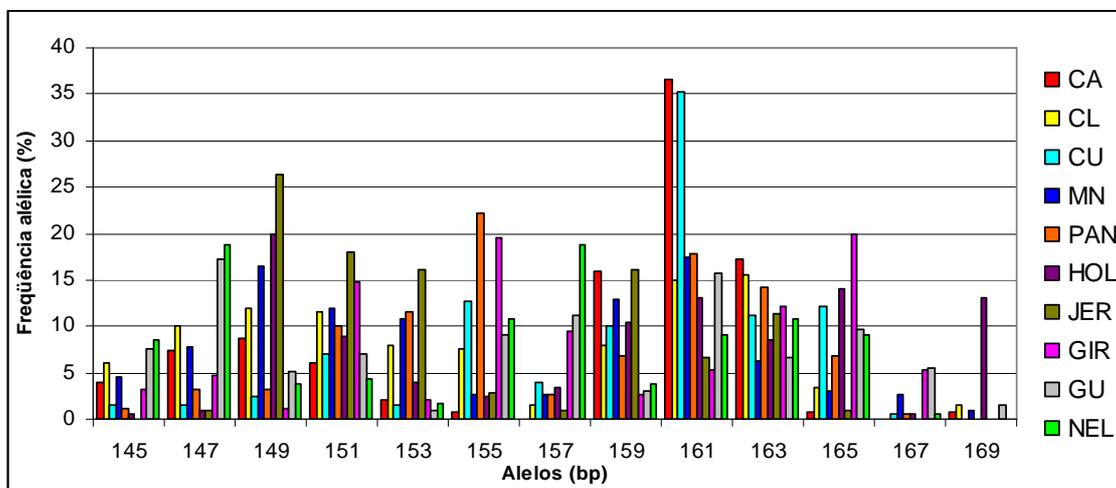


Figura 4. Gráfico dos alelos observados para o loco HEL9 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

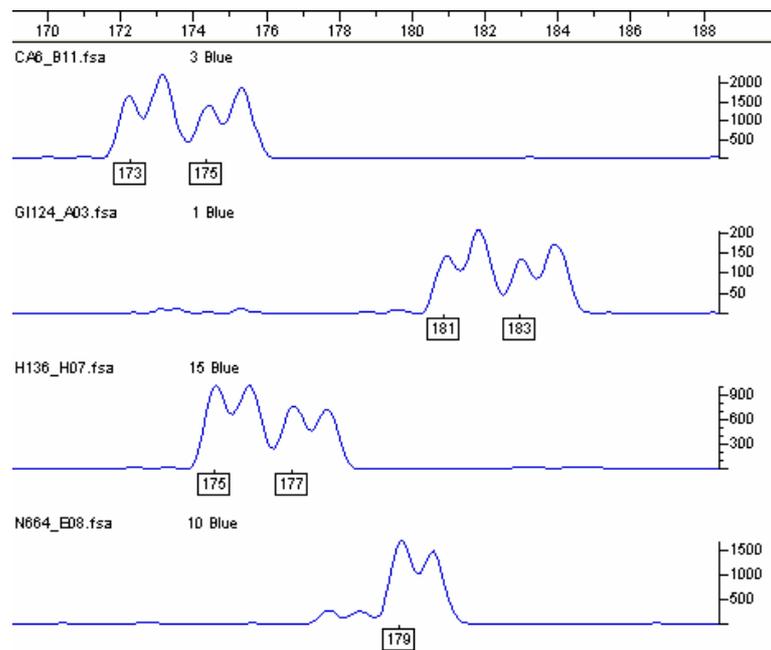


Figura 5. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco INRA63.

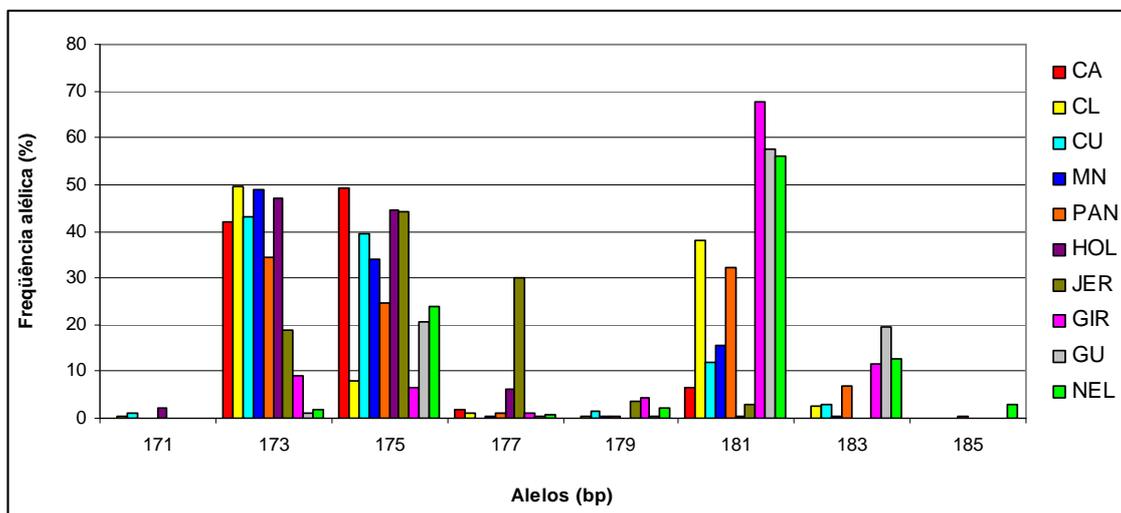


Figura 6. Gráfico dos alelos observados para o loco INRA63 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

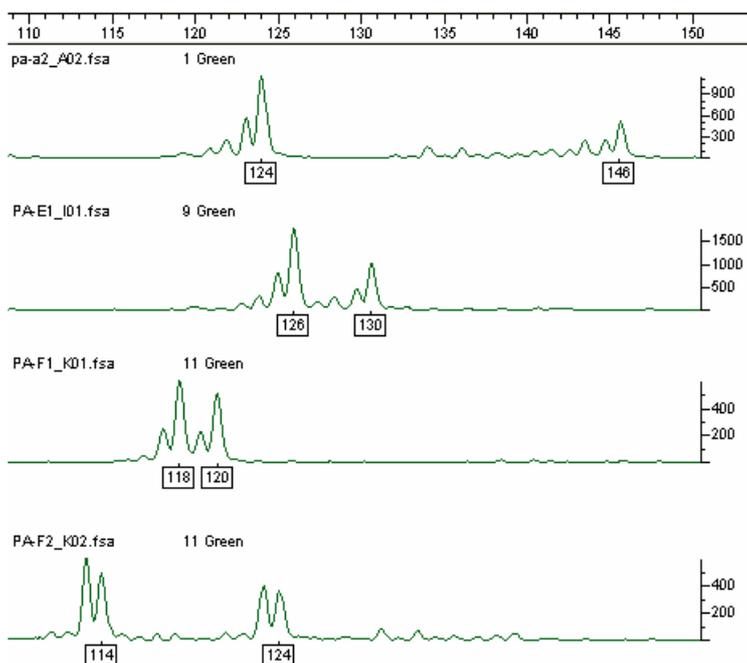


Figura 7. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco INRA37.

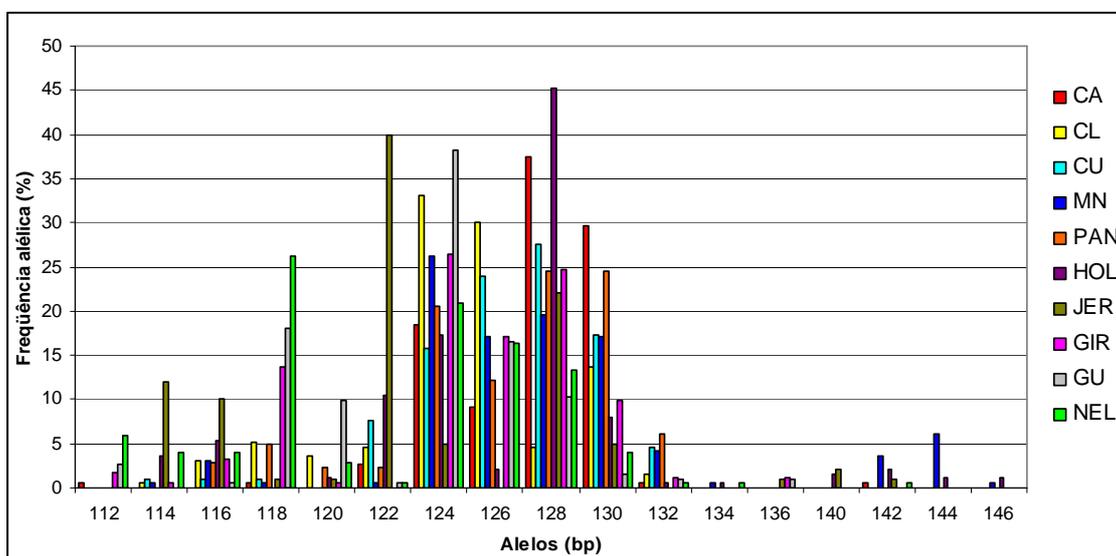


Figura 8. Gráfico dos alelos observados para o loco INRA37 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

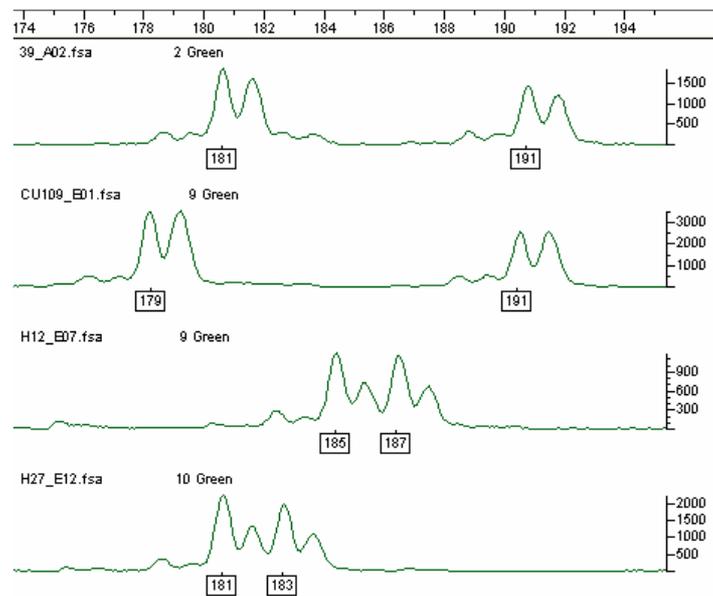


Figura 9. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco ILSTS5.

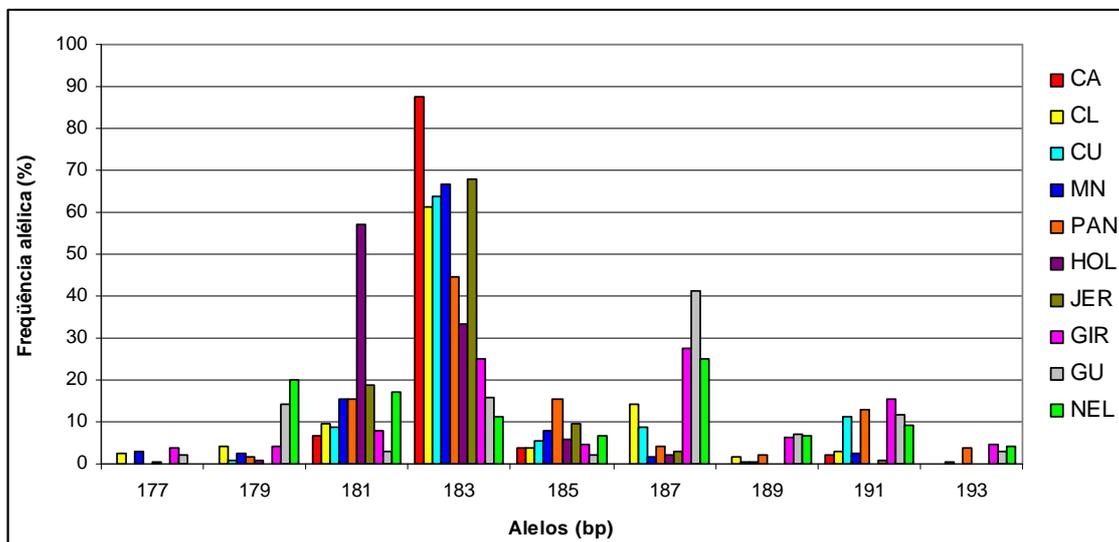


Figura 10. Gráfico dos alelos observados para o loco ILSTS5 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

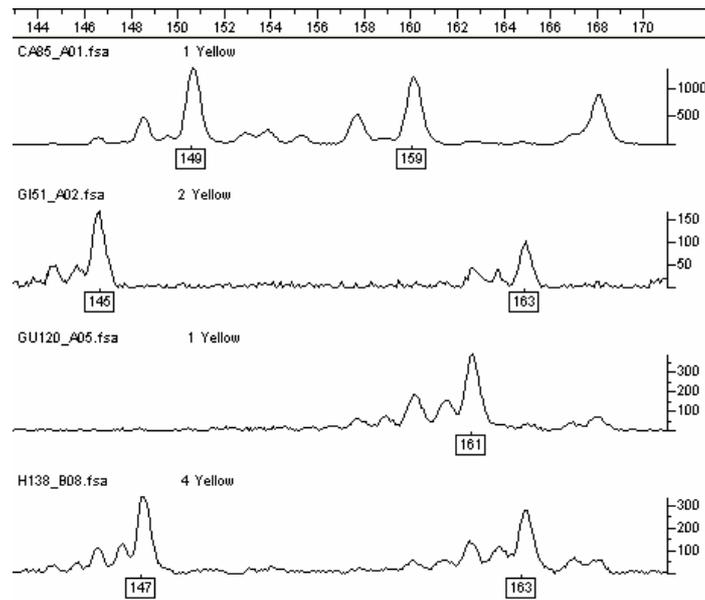


Figura 11. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco HEL5.

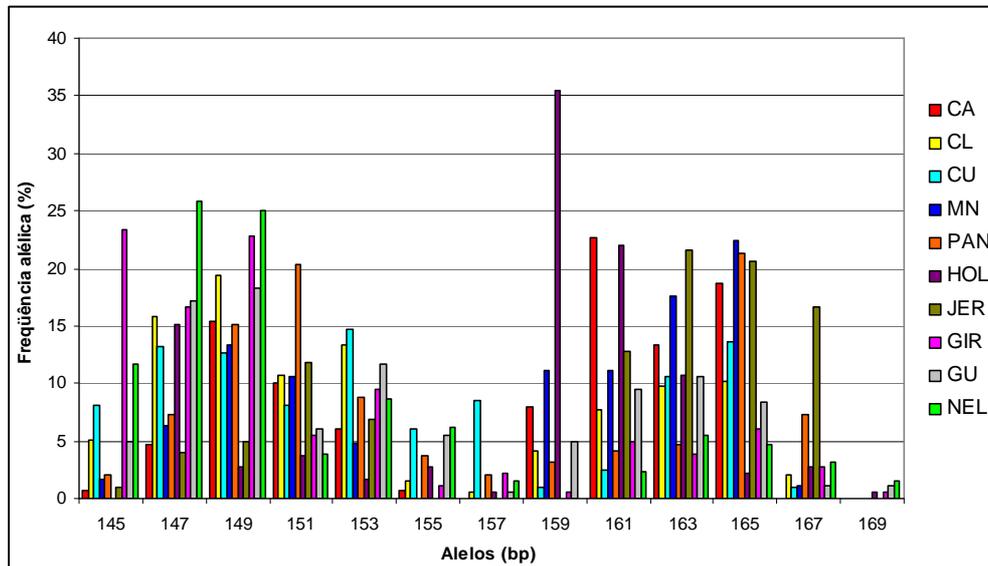


Figura 12. Gráfico dos alelos observados para o loco HEL5 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

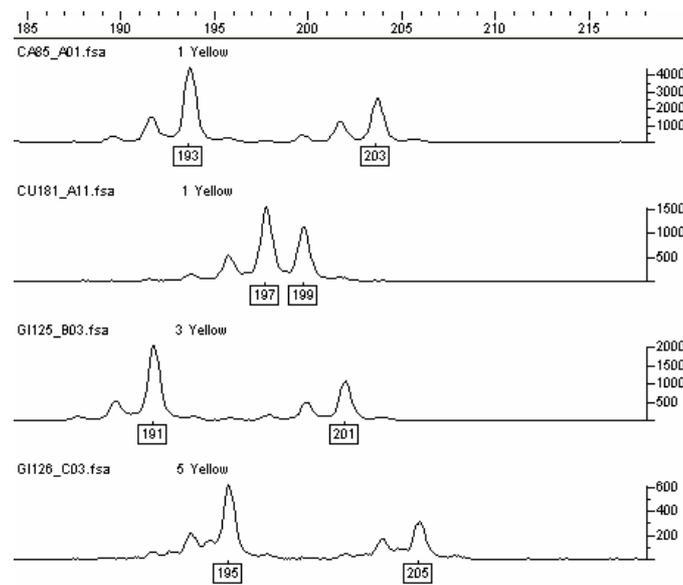


Figura 13. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco ETH152.

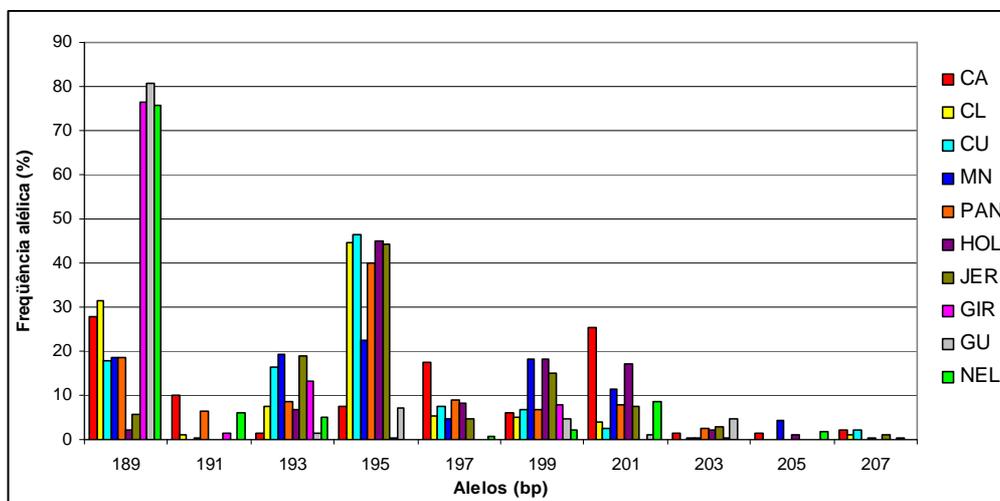


Figura 14. Gráfico dos alelos observados para o loco ETH152 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

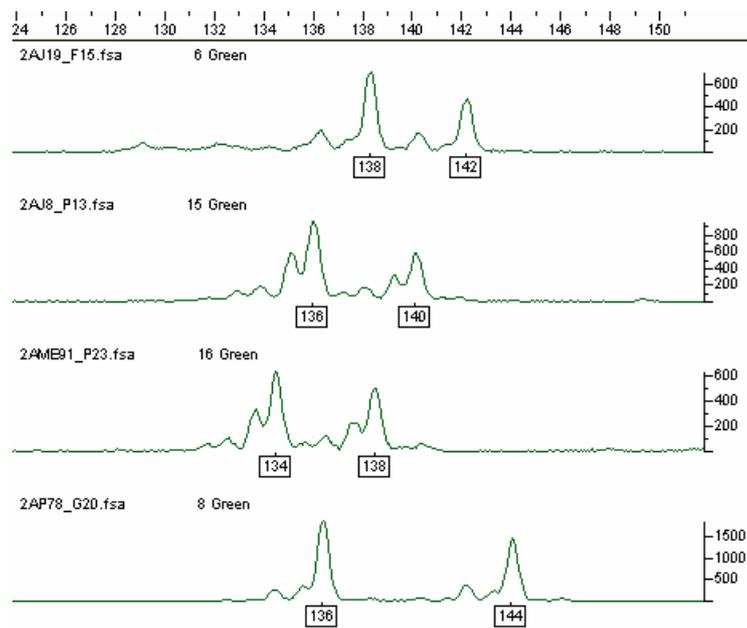


Figura 15. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco INRA5.

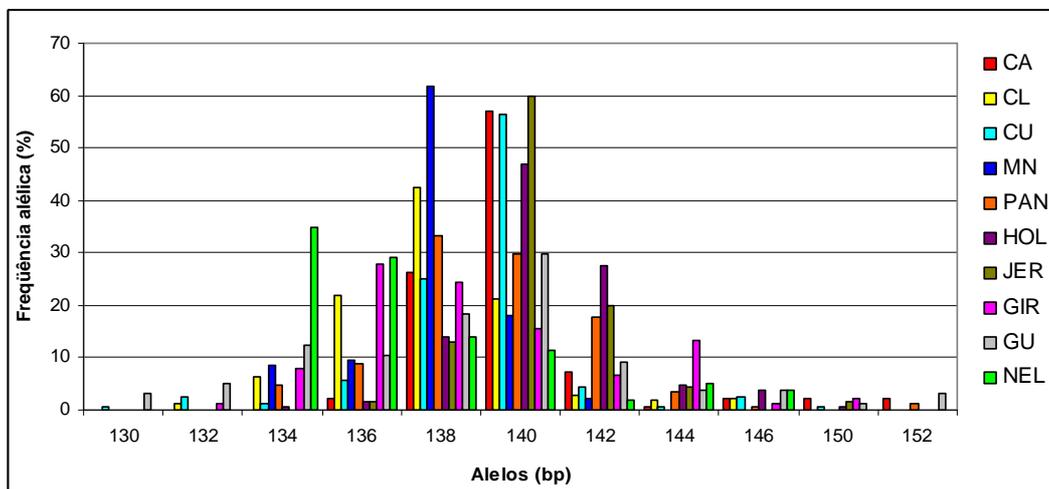


Figura 16. Gráfico dos alelos observados para o loco INRA5 e suas freqüências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

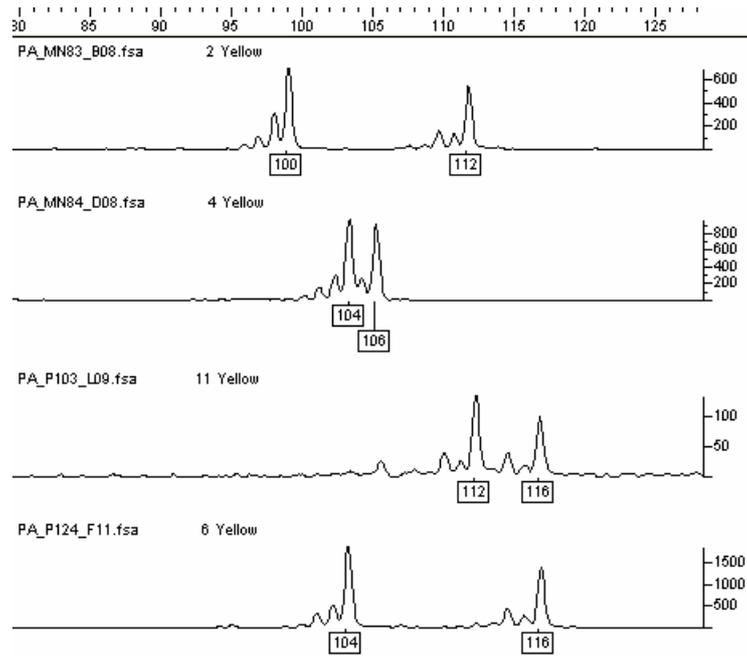


Figura 17. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco HEL1.

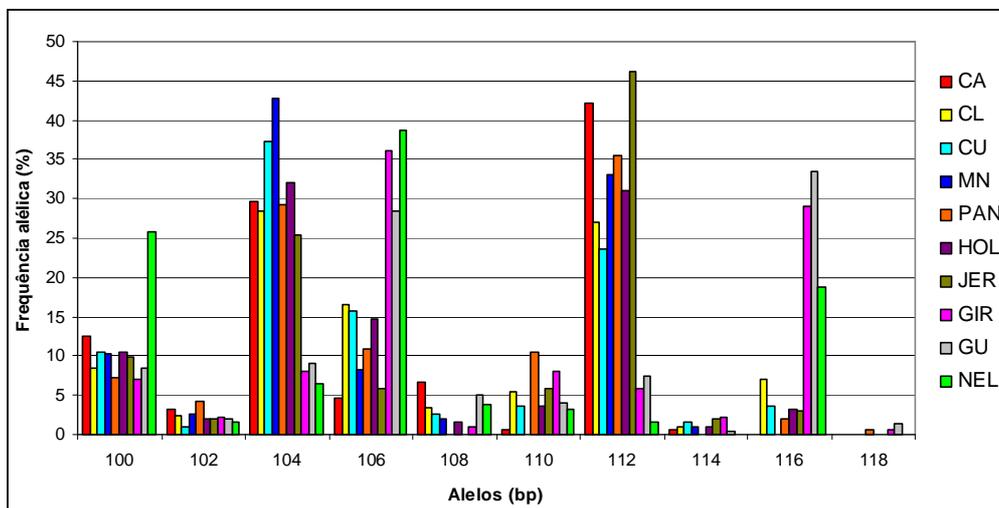


Figura 18. Gráfico dos alelos observados para o loco HEL1 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

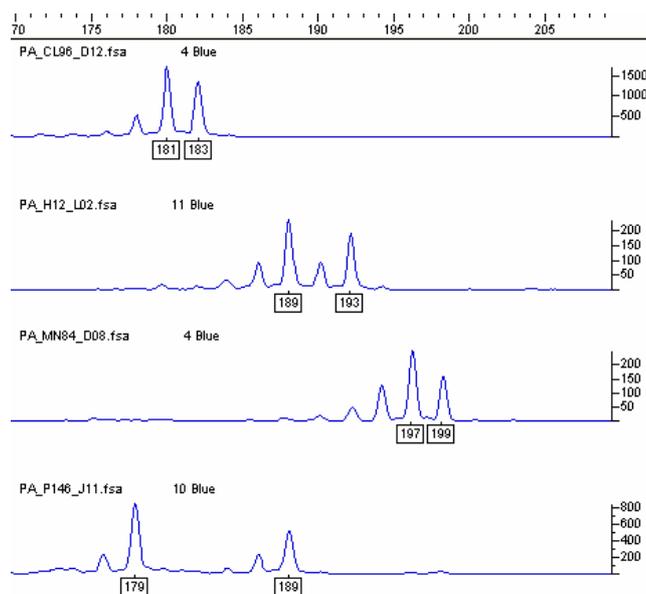


Figura 19. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco CSSM66.

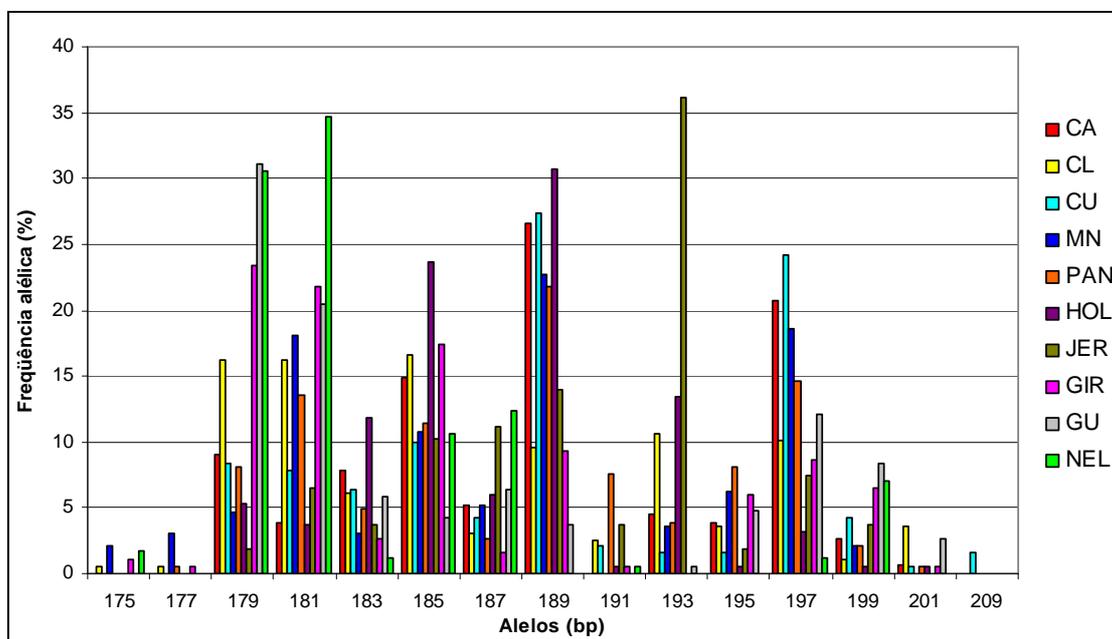


Figura 20. Gráfico dos alelos observados para o loco CSSM66 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

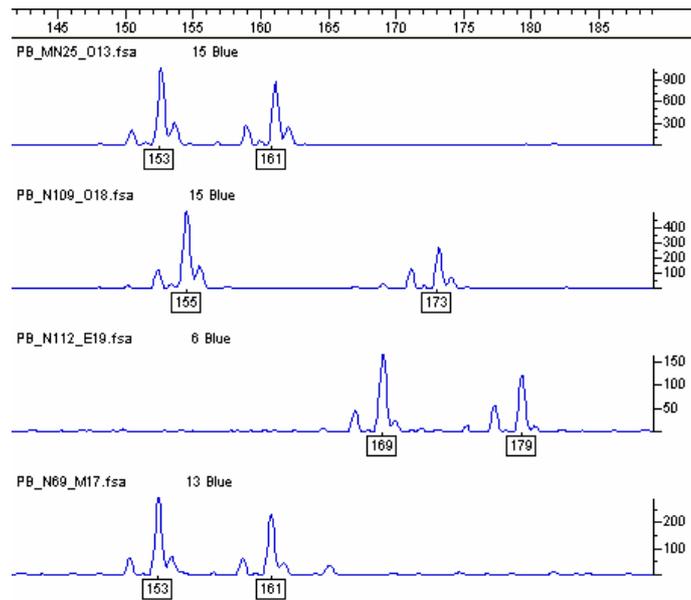


Figura 21. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco CSSM33.

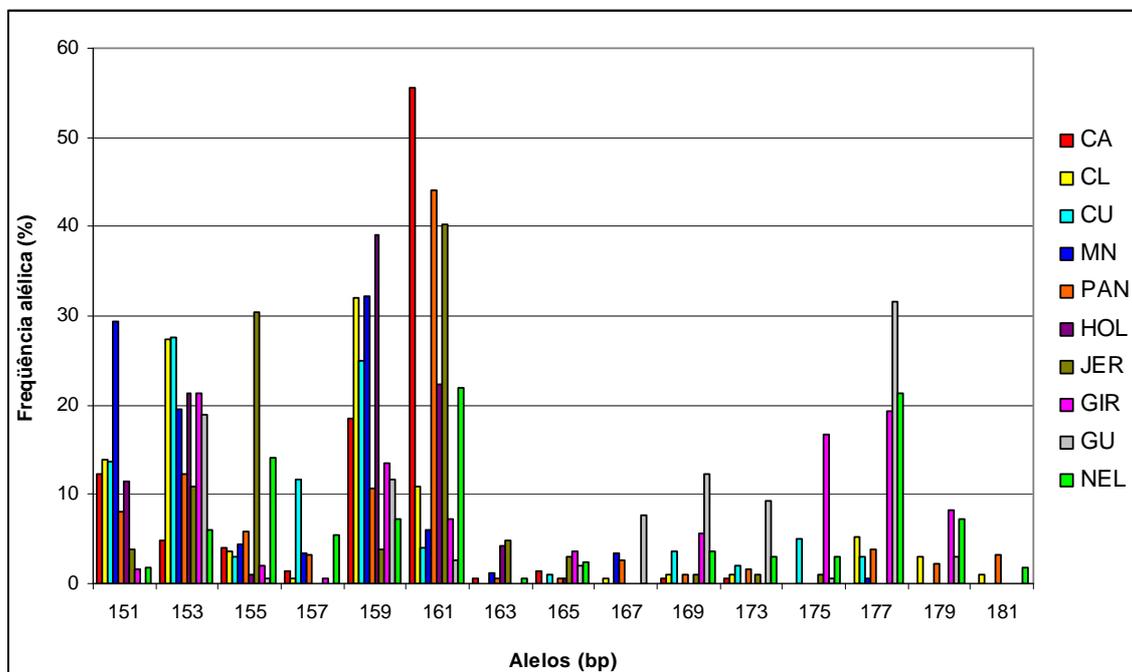


Figura 22. Gráfico dos alelos observados para o loco CSSM33 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

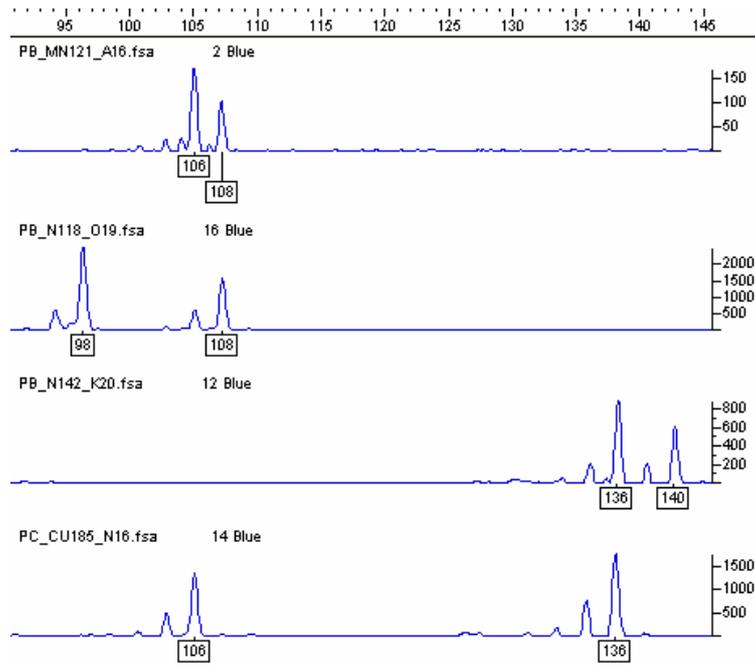


Figura 23. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco CSSM09

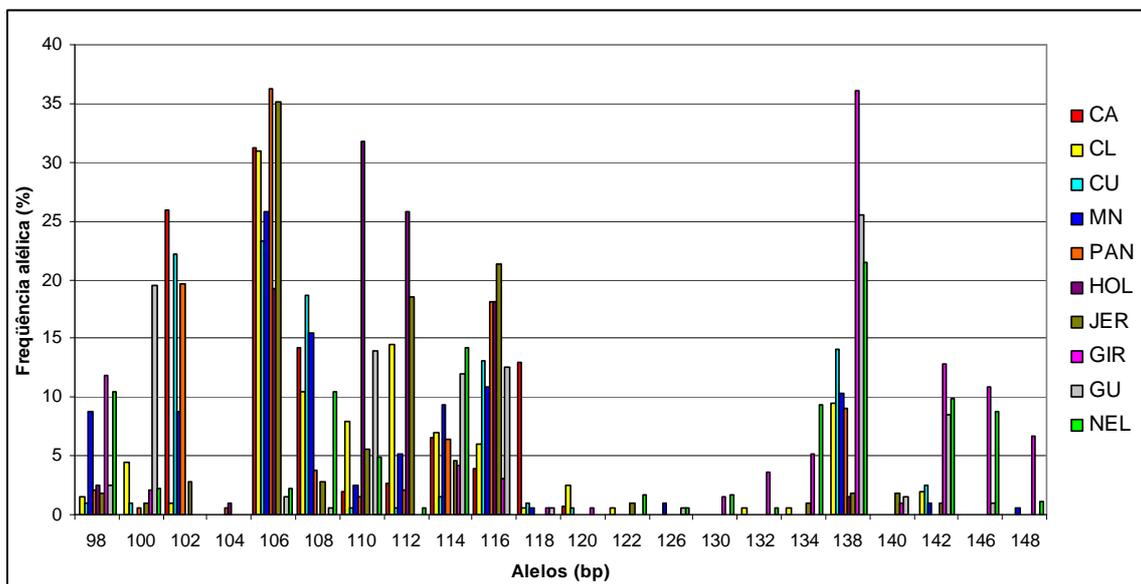


Figura 24. Gráfico dos alelos observados para o loco CSSM9 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

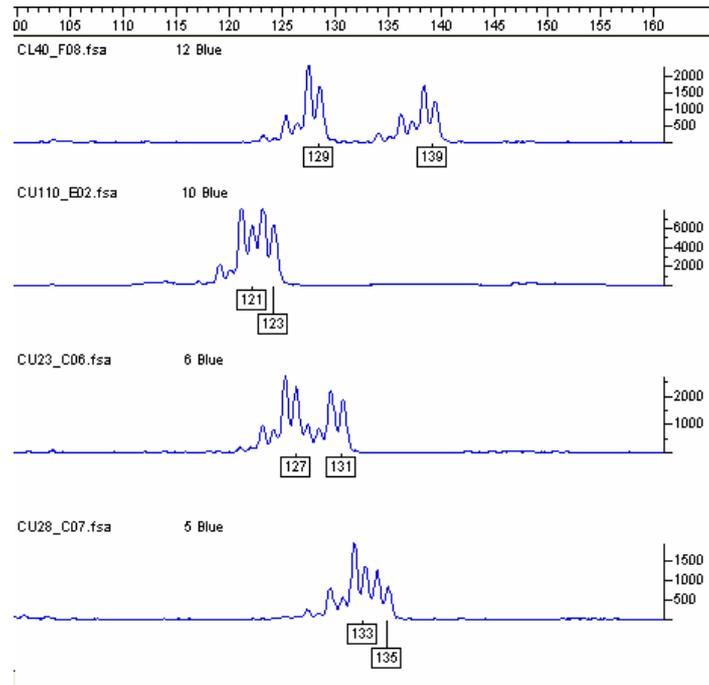


Figura 25. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco BM2113.

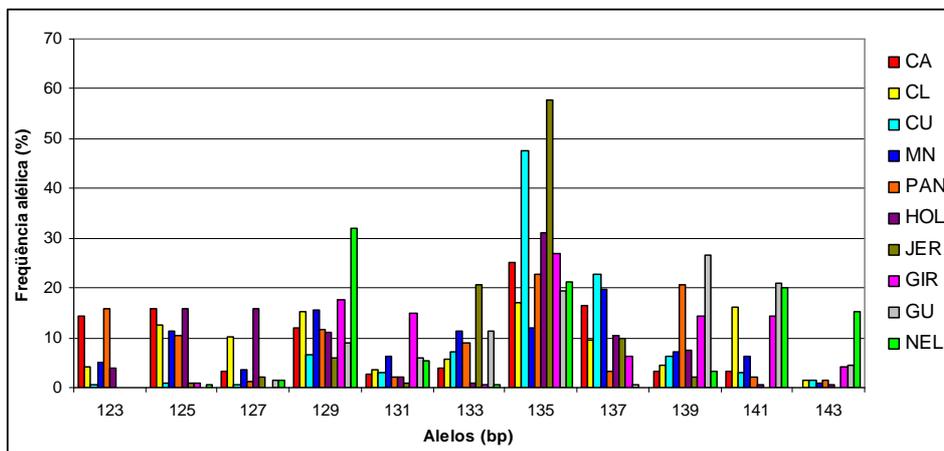


Figura 26. Gráfico dos alelos observados para o loco BM2113 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

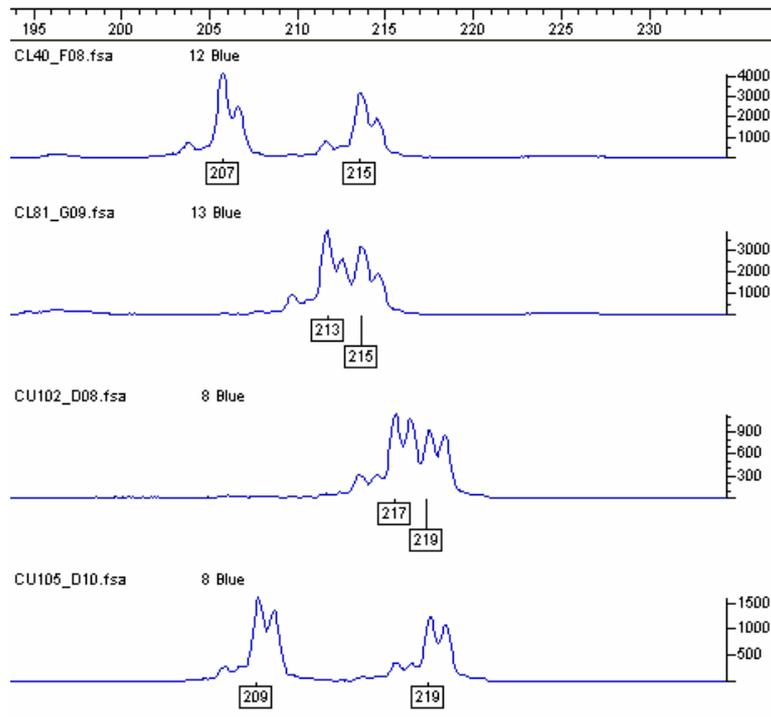


Figura 27. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco ETH10.

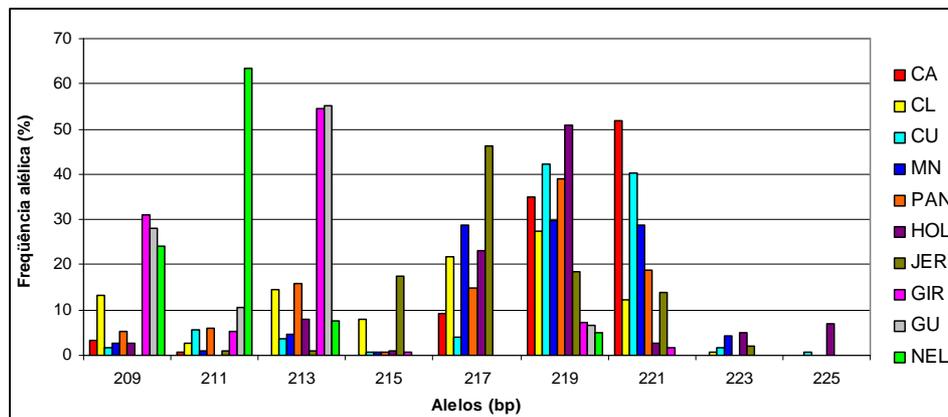


Figura 28. Gráfico dos alelos observados para o loco ETH10 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

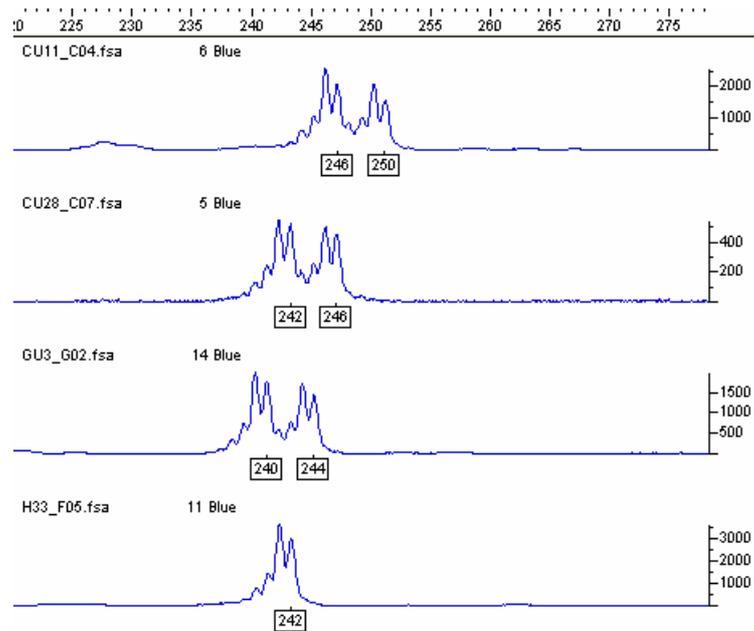


Figura 29. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco SPS115.

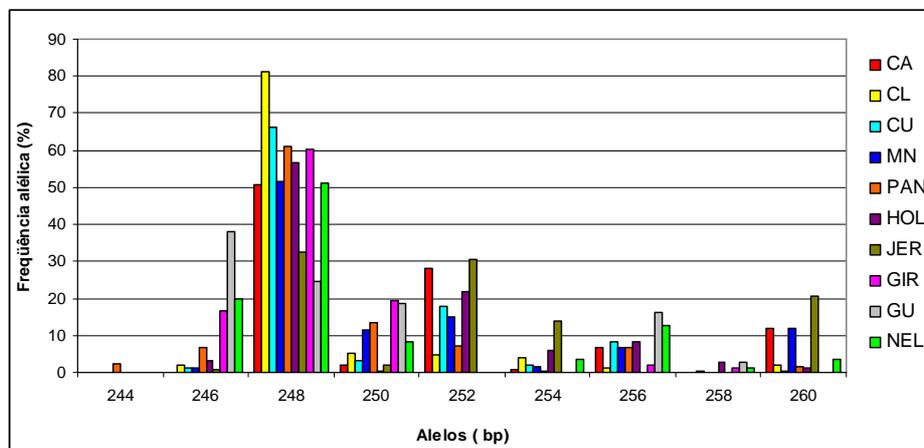


Figura 30. Gráfico dos alelos observados para o loco SPS115 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

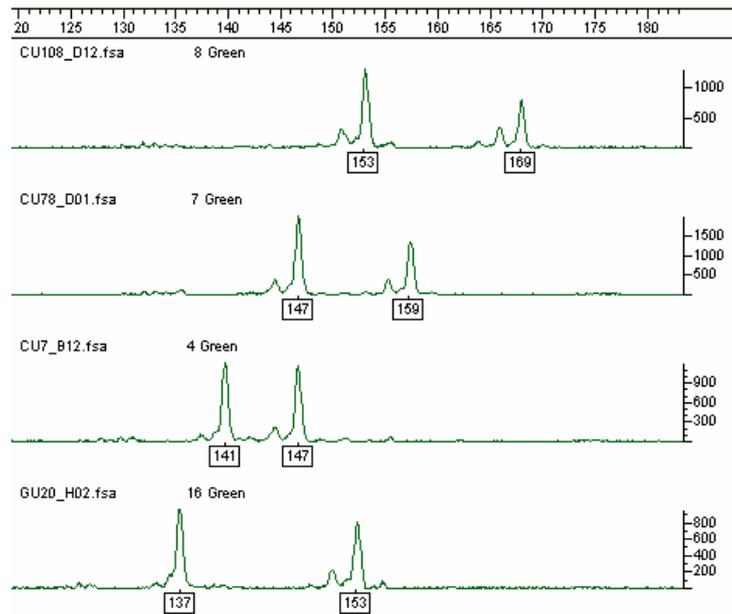


Figura 31. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco TGLA122.

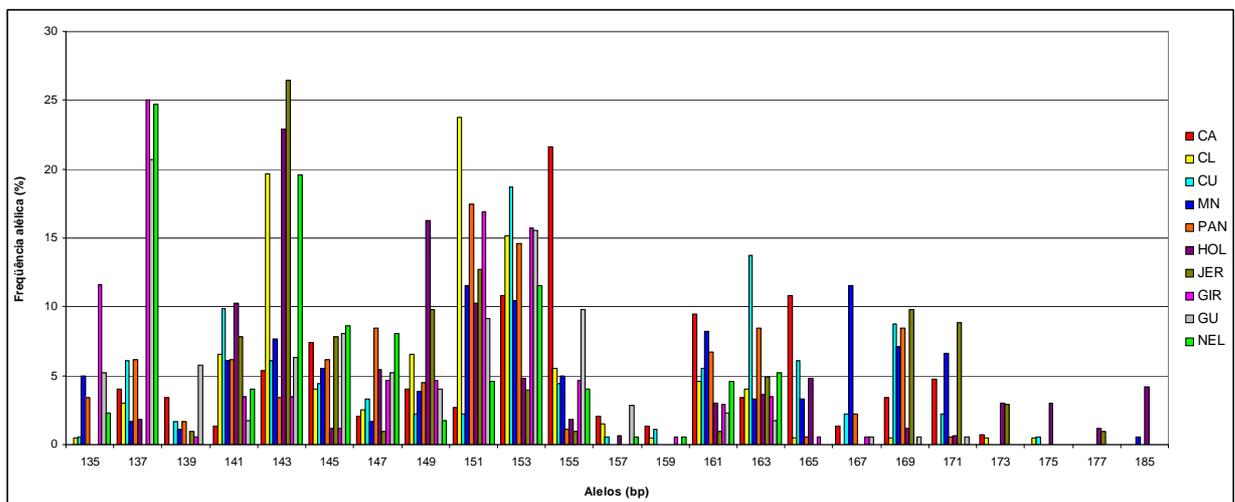


Figura 32. Gráfico dos alelos observados para o loco TGLA122 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

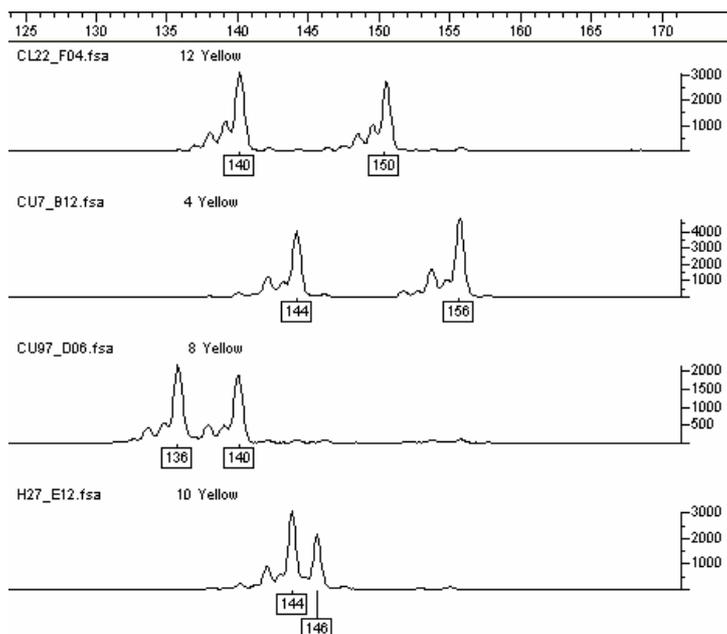


Figura 33. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco ETH225.

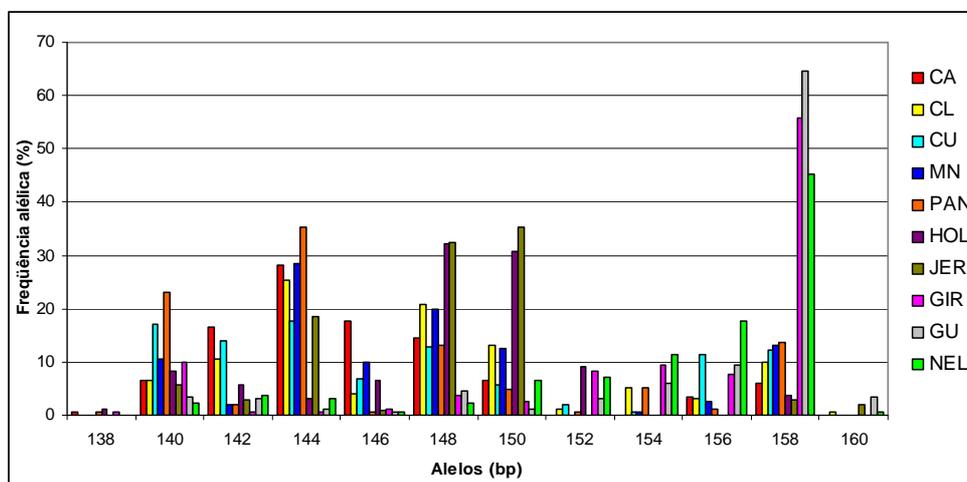


Figura 34. Gráfico dos alelos observados para o loco ETH225 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

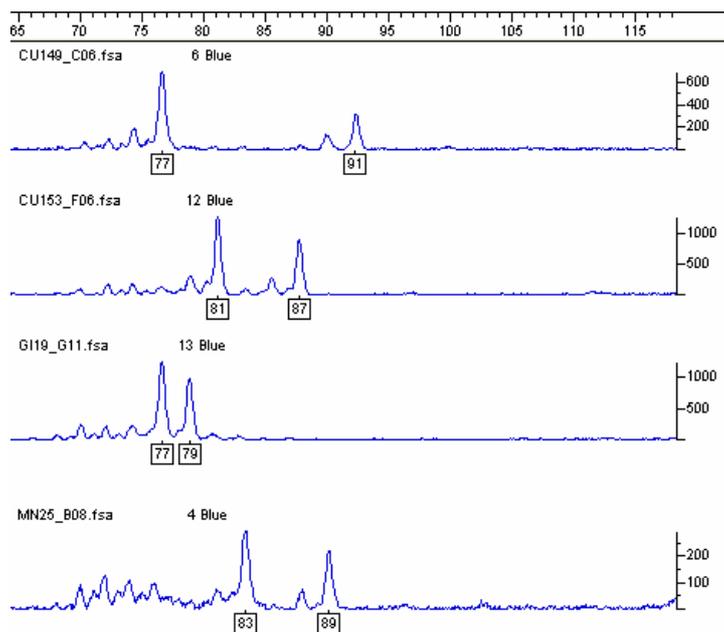


Figura 35. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco TGLA227.

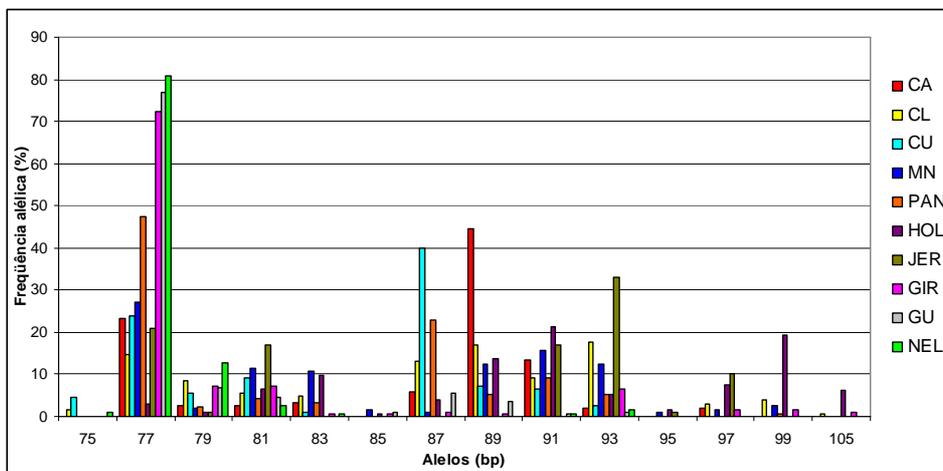


Figura 36. Gráfico dos alelos observados para o loco TGLA227 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

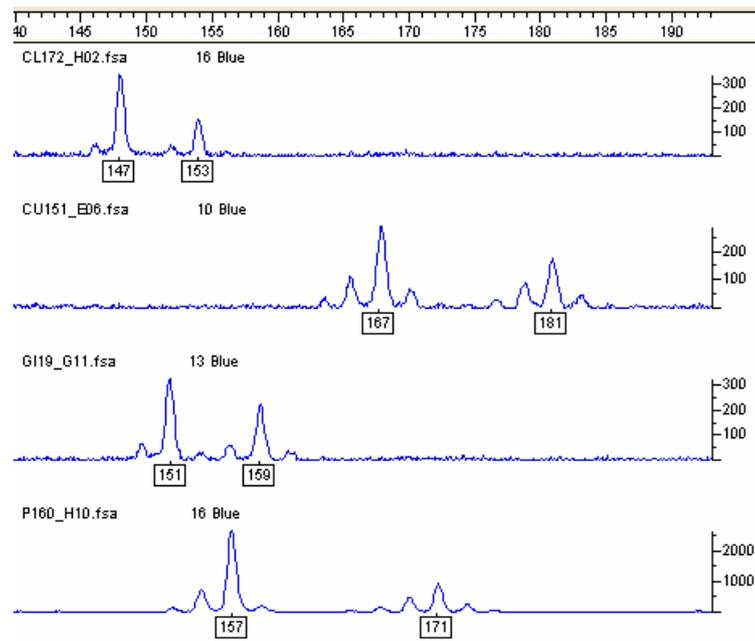


Figura 37. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco TGLA53.

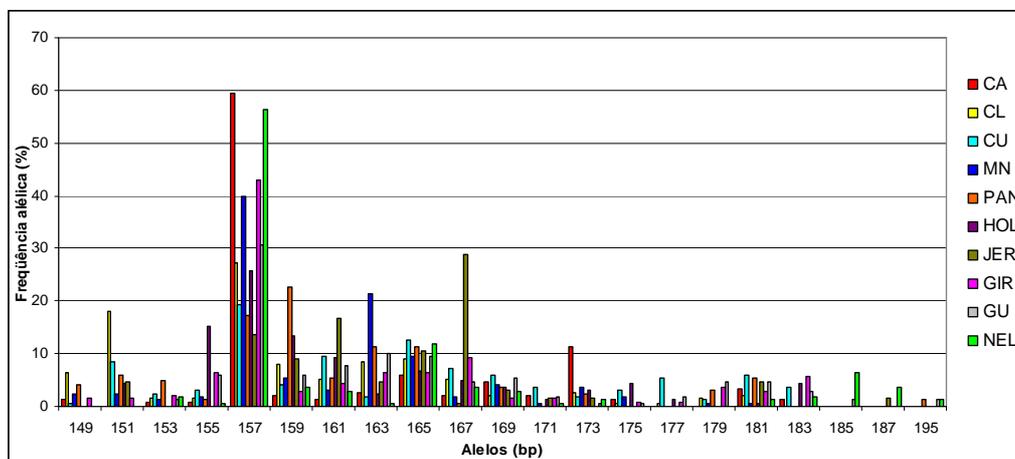


Figura 38. Gráfico dos alelos observados para o loco TGLA53 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

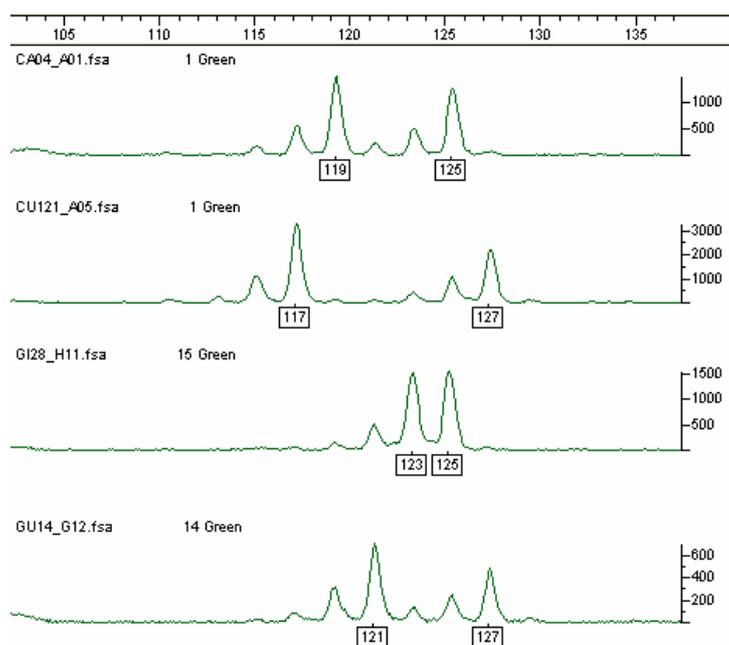


Figura 39. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco TGLA126.

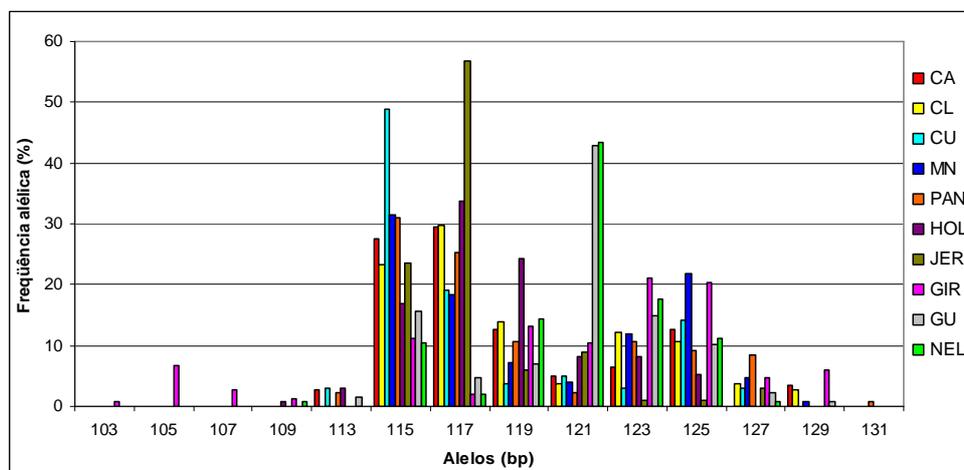


Figura 40. Gráfico dos alelos observados para o loco TGLA126 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

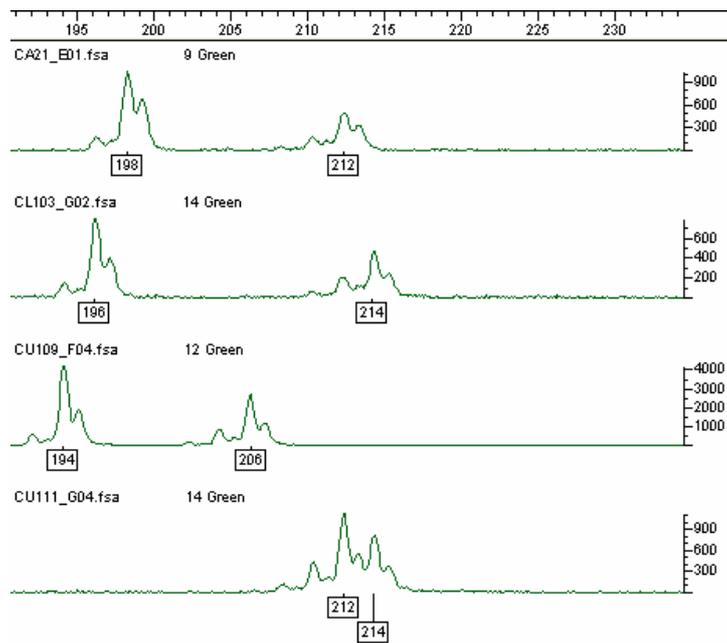


Figura 41. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco INRA23.

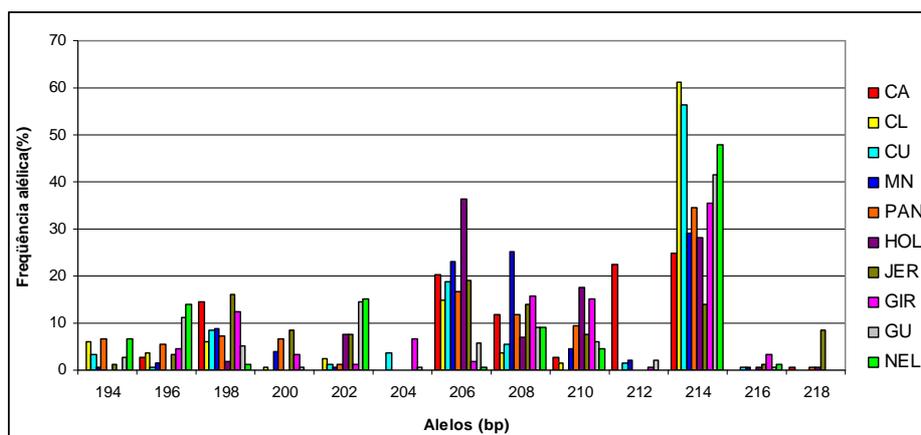


Figura 42. Gráfico dos alelos observados para o loco INRA23 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

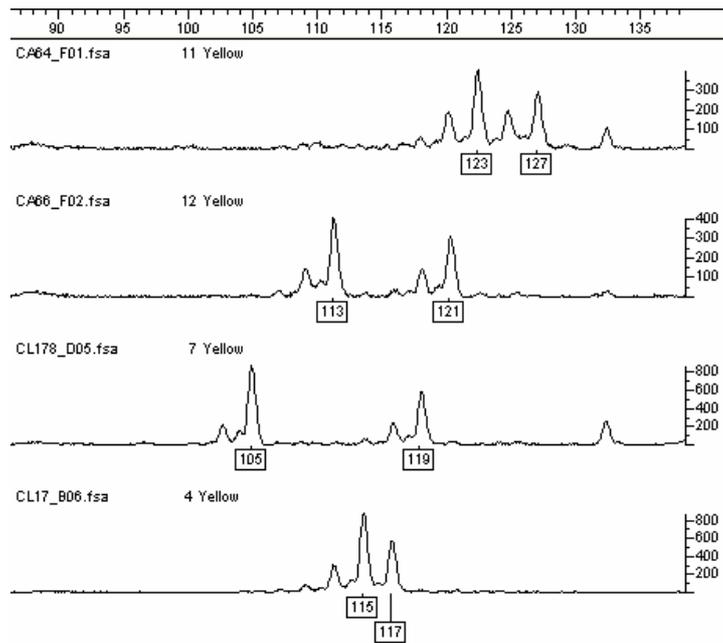


Figura 43. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco ETH3.

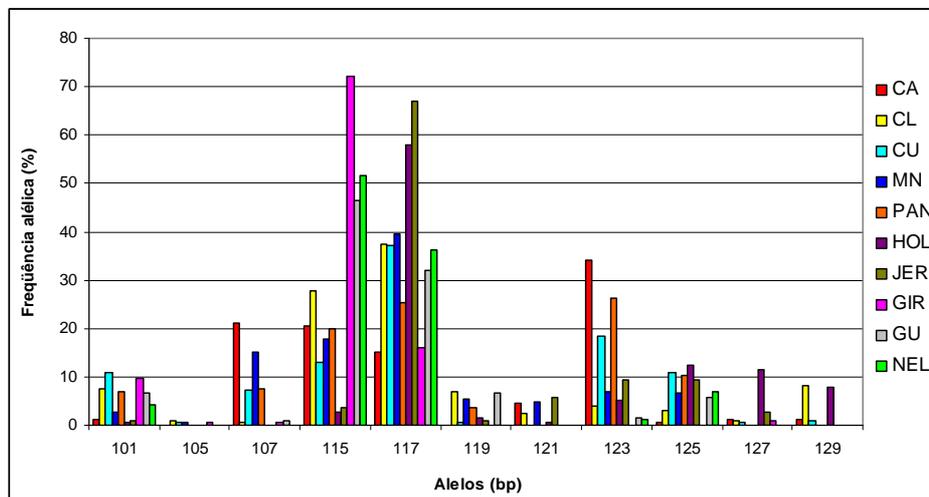


Figura 44. Gráfico dos alelos observados para o loco ETH3 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

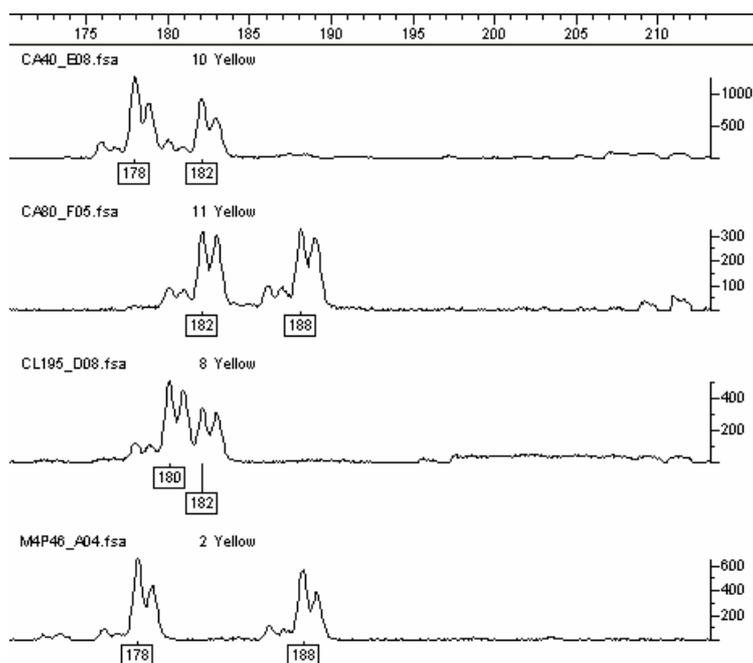


Figura 45. Eletroferograma demonstrando alguns alelos observados no loco BM1824.

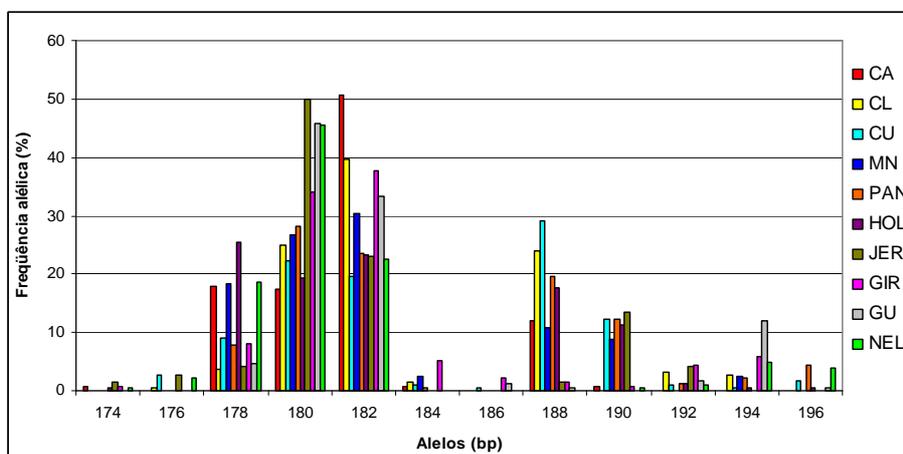
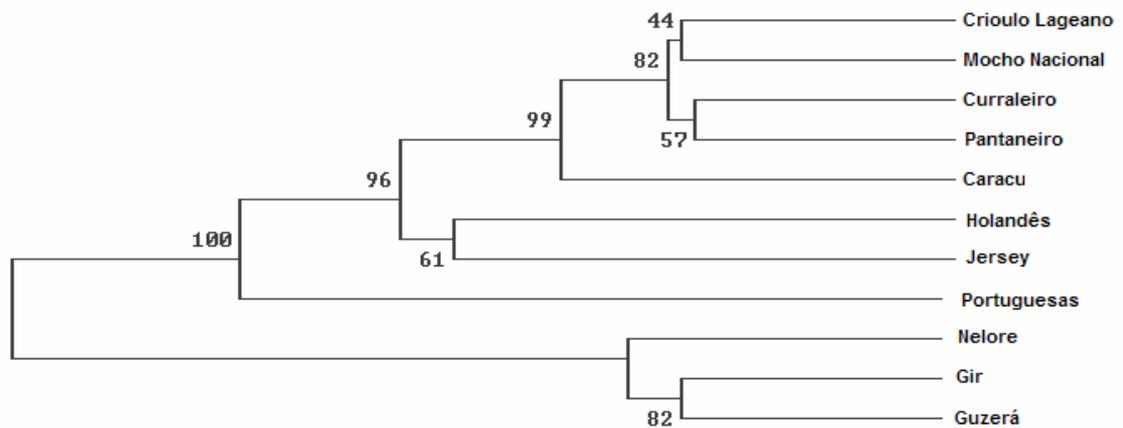


Figura 46. Gráfico dos alelos observados para o loco BM1824 e suas frequências alélicas nas 10 populações bovinas analisadas.

## ANEXO III

(a)



(b)

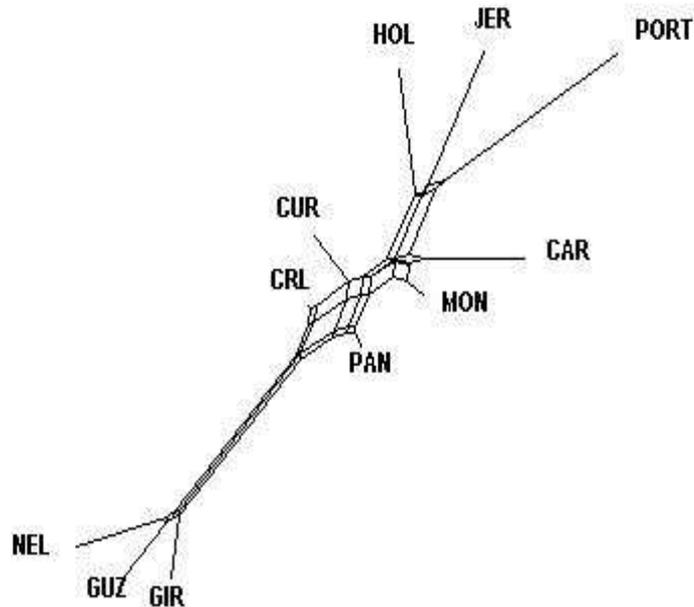


Figura 1. Dendrograma realizado pelo agrupamento de UPGMA e Neighbor-Net baseados na distância DA (Nei, 1983) a partir da análise de 22 marcadores microsatélites com 10 raças brasileiras e 12 indivíduos pertencentes a três raças portuguesas (*outgroup*).



S3	.....C.....G.....	4
T16	.....T.....C.....T.....G.....C.....	1
T18	.....T.....A.....C.....G.....C.....	1
T38	.....C.....C.....T.....R.....	1
RTEA11	.....C.....T.....	1
tud432	.....T.....C.....	1
tud433	.....T.....C.....C.....	2
tud1	.....C.....	1
rub51	.....T.....	1
pre09	..C.....	5
pre01	.....T.....C.....C.....	50
paj1	.....A.....	3
paj9	.....G.....T.....	1
paj2	.....G.....	3
paj3	.....C.....	11
nse05	.....A.....T.....	4
mon7	.....T.....	1
mar23	.....G.....C.....	1
mar01	.....T.....	2
mar02	.....T.....	7
mur10	.....C.....	4
mos2	.....C.....C.....	3
mor4	.....T.....C.....A.....C.....	3
mor3	.....C.....	4
mer98	.....A.....C.....G.....	1
mer9	.....C.....T.....	1
mer03	.....C.....T.....	2
lids2	.....G.....G.....	2
lids5	.....C.....G.....T.....	2
gra07	.....T.....C.....T.....C.....	1
gra08	.....T.....C.....G.....	1
gra09	.....G.....	5
cra13	.....T.....T.....G.....	1
cra4	.....C.....C.....C.....A.....C.....	1
ber14	.....C.....C.....C.....	3
Ber 10	.....T.....	2
bar918	.....G.....	2

bar917	.....C.....	1
bar2	.....A.....T.....	1
bar6	.....G.....	1
asm01	.....T.....C.....C.....T.....C.....	3
asm283	.....C.....CC.....C.....C.....C.....	1
asm291	.....T.....C.....T.C.....C.....AT.....	1
avi32	.....C.....T.....	2
ali12	.....C.....T.....	1
alb6	.....C.....	1
ale15	.....T.....G.....C.....C.....T.....A.A.....C.....	1
ale14	.....T.....A.....	1
ale12	.....G.....	1
ale21	.....C.....C.....T.....A.A.....C.....	3
ale17	.....C.....T.....	1
Ret2	.A.....T.....	1
SLC1	.....T.C.....C.....C.....T.....A.....T.....C.....	1
SLC4	.....T.....C.....	6
GCAA7	.....T.....C.....C.....CC.....G.....C.....	1
GCAA5	.....T.C.....C.....C.....C.....T.....A.....C.....	1
GCAA3	.....T.C.....CC.....C.....T.....A.....C.....	1
ATC5	.....C.....C.....	1
CC19	.....C.....G.....T.....	1
CC16	.....C.....C.....C.....A.....C.....	1
CC12	.....T.....G.....T.....C.....T.....C.....	2
CC11	.....T.....G.....C.....C.....	2
SM10	.....T.....	2
HV20	.....C.....CC.....A.....C.....	6
HV18	.....T.C.....C.....C.....C.....	2
HV13	.....T.....C.....A.....T.....C.....	1
CS7	.....C.....T.....G.....T.....	1
BO19	.....A.....	1
BO17	.....A.....	2
BO1o	.....T.....TC.....T.....C.....	1
BO8	.....T.....C.....A.....C.....	1
ACC20	.....T.....G.G.....C.C.....T.....C.....	1
ACC18	.....T.....G.....C.C.....T.....C.....	5
ACC2	.....A.....G.....	2

ONG7	.....TT.....A.....A.....A..C..CA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
ONG6	.....GT.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
ONG5	.....T.....AT.....A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	3
ONG3	.....G.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
ON771	.....TT.....AT.....A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A...G...TT.....	1
INM4	.....T.....AT.....C..A.TC.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A...G...TTT.....	1
INM1	.....T.....AT.....C..A.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A...G...TTT.....	1
INS7	.....TT.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
INS6	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A.AA...G...TTT.....	1
INS5	.....T.....A.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
INS2	.....T.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A.AA...G...TT.....	1
INR9	.....T.....AT.....A.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
INR7	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A.T.G...TTT.....	A 1
INR6	.....T.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....C.....A..A...G...TT.....	1
RC4	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A...G...TTT.....	1
RC3	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..AC.GG...TTT.....	1
RC2	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A.GG...TTT.....	1
RC1	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C..CA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A...G...TTT.....	1
Sah3	.....T.....AT.....C..A..C.....A..C.CCA.CAC.....CC.CCAC-	.....A..A...G...TTT.....	1
THR2	.....T.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A.....TT.....	1
THR3	.....T.....AT.....A..C.....A..C.CCA.CAC.....C...CC.CCAC-	.....A..A...G...TTT.....	1
THR4	.....T.....AT.....A.T.....A..C.CCA.CAC.C...C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
THR5	.....T.....AT.....C..A.T...C.A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	2
HAR2	.....T.....AT.....A.T.....A..C..CA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
HAR3	.....T.....AT.....C..A.TC.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
HAR4	.....TT.....AT.....C..A.T.....A..C.CCA.CAC.....CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
HAR5	.....TT.....AT.....A.T.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....C.....A..A...G...TT.....	1
HAR7	.....AT.....C..A.TC.....A..C.CCA.CAC.....C...CC..CAC-	.....A..A...G...TT.....	1
BU33	.....T.....C.....C.....C.....	.....C.....	1
BU20	.....T.....T.....C.....	.....C.....	3
BU18	.....T.....C.....C.....T.....C.....	.....C.....	1
But3	..T..T.....C.....C.....C.....	.....C.....	1
BT12	.....T.....G.....C...C.....T.....C.....	.....C.....	2
BT10	.....TC..A.....C.....C.....T.....C.....	.....C.....	1
KEN1	.....T.....C.....T.....C.....	.....C.....	2
KEN2	.....T.....G.....C.....C.....	.....C.....	1
KEN3	.....T.....C.....G.....C.....	.....C.....	3

WF1	.....T.....C...A.....C.....	3
WF3	.....T.....C.....C...T.	1
WF4	.....T.....C.....C.....C....	3
EgT12	.....T...G.....C.....C.....	1
EgT10	.....T.....C.....C.....C....	2
EgT9	.....C.....C.....C.....T.....	1
EgT8	.....T.....C.....C.....C.....	3
EgT6	.....A.....C.....C.....C....	1
EgT3	.....A.....C.....C.....C.....	1
Nam11	.....T.....C.....C.....C.....	1
Nam10	.....T.....C.....C...C.....T...C....	1
Nam8	.....T.....C.....C.....C.....	3
Nam3	.....T...A.....C.....C.....C....	1
Kap12	.....T.....C.....C.....T...C....	2
Kap6	.....T.....G.....C.....C.....	2
Kap5	.....T.C.....T.....C.....C....	1
Kap4	.....T.....G.....C.....C.....T...C....	1
Kur9	.....T.....T...C.....C.....C....	1
Kur5	.....TT.....C.....C.....C.....C....	1
Som11	.....T.....C.....C.....A.....C....	1
Som9	.....T.....C.....C.....C.....C....	1
Som5	.....T.....C.....C.....C.....C....	1
NdA11	.....T.....TC.....C.....C.....C....	1
NdA10	.....T.....C.....C.....C.....C....	1
NdA3	.....T...T.....C.....C.....C....	1
NdA2	.....T.....C.....C.....ATGAC.AC.A	1
Kud12	.....CT.....C.....A.A.....C....	1
Kud10	.....T.....C.....C.....C.....C....	1
Kud9	.....T.....C.....C.....A.....C....	1
Kud7	.....T.....C.....C.....C.....C....	1
Kud6	.....T.....C.....C.....A.....G.....T.	1
Kud3	.....C.....C.....C.....A.....G.....C..T.	1

## ANEXO V

Artigo submetido e aceito pela BMC genetics:

### Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten creole and commercial cattle breeds raised in Brazil

Andrea Alves do Egito<sup>1,2</sup>; Samuel Rezende Paiva<sup>1</sup>; Maria do Socorro Maúes Albuquerque<sup>1</sup>; Arthur da Silva Mariante<sup>1</sup>; Leonardo Daniel de Almeida<sup>1</sup>; Silvia Ribeiro Castro<sup>1</sup> and Dario Grattapaglia<sup>1,2,3\*</sup>