



## COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES TESTES DE ALOCAÇÃO INDIVIDUAL NA CERTIFICAÇÃO RACIAL DE BOVINOS

Andréa Alves do Egito<sup>1</sup>, Maria do Socorro M. Albuquerque<sup>2</sup>, Dário Grattapaglia<sup>3</sup>, Arthur Mariante<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadora Embrapa Gado de Corte, Laboratório de Genômica e Melhoramento Animal, [egito@cnpqc.embrapa.br](mailto:egito@cnpqc.embrapa.br)

<sup>2</sup> Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Laboratório de Genética Animal, [socorro.mauaes@embrapa.br](mailto:socorro.mauaes@embrapa.br)

<sup>3</sup> Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Laboratório de Genética Vegetal, [dario.grattapaglia@embrapa.br](mailto:dario.grattapaglia@embrapa.br)

<sup>4</sup> Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, [arthur.mariante@embrapa.br](mailto:arthur.mariante@embrapa.br)

**Resumo:** Em programas de conservação de recursos genéticos animais se torna fundamental à certificação racial dos animais selecionados para compor um Núcleo de Conservação ou serem doadores. Várias metodologias foram criadas visando realizar a inclusão de um dado indivíduo à população à qual o seu genótipo mais pertence, bem como, determinar sua composição racial ou grau de introgressão que possa existir. Para auxiliar o trabalho de conservação *in situ* e *ex situ* de raças bovinas localmente adaptadas analisou-se comparativamente quatro diferentes metodologias utilizadas para alocação de indivíduos às suas populações a partir de dados obtidos pela genotipagem de 22 locos microsátélites. 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.

**Palavras-chave:** assignment tests, STRUCTURE, GENECLASS

### Introdução

No contexto dos programas de conservação de recursos genéticos animais a utilização de testes de designação racial pode ser uma ferramenta poderosa para a correta inclusão de animais representativos em determinadas populações ou raças, ao mesmo tempo em que podem discriminar os animais puros daqueles que são mestiços.

Diversas metodologias estatísticas e programas computacionais foram desenvolvidos com o foco voltado para a designação de indivíduos a populações. Estes métodos utilizam 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 e, também se obtém uma proporção relativa de cada população ou raça ancestral que participou mais provavelmente na composição do indivíduo.



O objetivo do presente estudo foi avaliar quatro diferentes metodologias existentes para a alocação individual de animais de 10 raças bovinas utilizando-se uma bateria de 22 locos microsatélites, internacionalmente recomendados pela FAO e pela ISAG.

### **Material e Métodos**

Um total de 915 indivíduos representando 10 raças bovinas brasileiras foi analisado. As raças estudadas foram: (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). Na análise avaliaram-se os dados obtidos a partir de 22 microsatélites amplificados por PCR em cinco sistemas multiplexes diferentes (EGITO *et al.*, 2007).

As quatro metodologias testadas para a alocação racial dos indivíduos 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 metodologias “a” e “b” foram implementadas pelo programa GENECLASS (PIRY *et al.*, 2004), enquanto que as demais, “c” e “d”, foram implementadas pelos programas WHICHRUN (BANKS & EICHERT, 2000) e STRUCTURE (PRITCHARD *et al.*, 2000), respectivamente. Para cada uma das metodologias utilizadas, os testes de alocação racial foram conduzidos de maneira global ou mediante o agrupamento das populações em grupos pré-determinados de acordo com sua origem.

### **Resultados e Discussão**

As porcentagens de indivíduos assinalados às suas raças de origem foram acima de 87% para todos os métodos e todos os grupos analisados, a única exceção foi observada para o método “a”, baseado na frequência alélica, que teve pior desempenho. 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 1).

Tabela 1. Porcentagem de indivíduos alocados às suas populações de origem utilizando quatro diferentes metodologias para alocação baseada na genotipagem de 22 locos microssatélites.

Grupos	n	GENECLASS		WHICHRUN	STRUCTURE
		Frequência	Bayesiano		
Entre as 10 raças	915	86,40	90,10	91,79	89,40
Raças crioulas	469	83,40	87,20	88,9	85,93
Raças taurinas	623	85,10	87,60	90,73	88,60
Raças taurinas especializadas	154	100,00	100,00	98,7	98,70
Raças zebuínas	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 2). 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. SANZ et al. (2009) também verificaram uma diminuição no poder discriminante em função do grau de miscigenação/introgressão observado nas populações em estudo.

Tabela 2. Número (e porcentagem) de indivíduos alocados às suas raças originais.

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 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 obtendo taxas entre 80 e 100% de alocação individual correta às raças de origem (MAUDET et al., 2002). Embora novas metodologias, baseadas em polimorfismos de base única (SNPs), estejam em franco desenvolvimento para a diferenciação de populações e estudos de diversidade genética, segundo HAASL & PAYSEUR (2011), em populações com grau elevado de miscigenação, os marcadores microssatélites possuem uma menor redução no poder discriminatório quando comparados com os SNPs.

### Conclusão

A magnitude da diferenciação genética entre raças têm um impacto direto na precisão da alocação individual, especialmente quando são exigidos níveis de confiança mais altos no procedimento de alocação. Com uma bateria relativamente alta de marcadores microssatélites, é possível obter uma alta precisão de alocação para a vasta maioria dos animais e, neste caso, os métodos Bayesianos de alocação racial são mais eficientes do que os baseados em frequências alélicas.

### Referências Bibliográficas

- 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.** 8:83, 2007.
- HAASL, R.J.; PAYSEUR, B.A. Multi-locus inference of population structure: a comparison between single nucleotide polymorphisms and microsatellites. **Heredity** 106, 158–171, 2011.
- 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.
- 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.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, n.2, p. 945-959. 2000.
- SANZ, N.; ARAGUAS, R.M.; FERNANDEZ, R.; VERA, M.; GARCIA-MARIN, J-L. Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations. **Conserv Genet** 10: 225–236, 2009.