

ESTUDO POPULACIONAL DE REBANHOS DE BOVINOS PANTANEIROS VISANDO A GESTÃO E O MANEJO GENÉTICO DA RAÇA

POPULATION STUDY OF PANTANEIRO CATTLE HERDS AIMING THE MANAGEMENT AND GENETIC HANDLING OF THE BREED

Egito A.A.^{1*}, Martínez Martínez A.², Juliano R.S.³, Landi V.², Moura M.I.⁴,
Silva M.C.⁴, Delgado J.V.², Fioravanti M.C.S.⁴

¹Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil. *andrea.egito@embrapa.br

²Universidad de Córdoba, Espanha.

³Embrapa Pantanal, Corumbá, MS, Brasil.

⁴Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Goiás, GO, Brasil.

Keywords: Genetic diversity; Population structure; Genetic management; Population management; Conservation.

Palavras chaves: Diversidade genética; Estrutura de populações; Gestão genética; Gestão de populações; Conservação.

ABSTRACT

Given its history of near extinction, currently the Pantaneira cattle breed is subject to the dynamics and the risks inherent to the evolutionary processes that characterize small populations. Population studies have been conducted to the implementation of management plans and genetic handling of the breed. With this approach 204 animals that belong to the first four herds registered in the Brazilian Association of Cattle Breeders Pantaneiro were genotyped using 12 microsatellite loci. Genetic diversity indices were calculated from the FSAT and ARLEQUIN programs. The population structure was obtained from a Bayesian analysis. The total breed heterozygosity was 0.746, with higher genetic diversity indices observed in the older herds. It was also verified that one of the evaluated herd appears to be differing from the others. The analysis attested the work conducted in the breed Conservation Center located at Fazenda Nhumirim by its low level of inbreeding ($F_{IS} = 3.9\%$) and high observed genetic diversity (0.7508). The generated results will serve to complement the management carried out to date, adding genetic data in the development of mating plans, exchange and disposal of individuals contributing to the maintenance and preservation of the breed by the Breeders Association.

RESUMO

Tendo em vista seu histórico de quase extinção, atualmente, a raça bovina Pantaneira está sujeita à dinâmica e aos riscos inerentes aos processos evolutivos que caracterizam as pequenas populações. Estudos populacionais vêm sendo conduzidos visando à implantação de planos de gestão e manejo genético na raça. Com este enfoque 204 animais, pertencentes aos quatro primeiros rebanhos registrados na Associação Brasileira de Criadores de Bovino Pantaneiro, foram genotipados com 12 locos microssatélites. Índices de diversidade genética foram calculados a partir dos programas FSAT e ARLEQUIM. A estrutura populacional foi obtida a partir de uma análise Bayesiana. A heterozigosidade total da raça foi de 0,746, sendo os maiores índices de diversidade gênica observados nos rebanhos mais antigos. Verificou-se também que um dos rebanhos avaliados aparenta estar se diferenciando dos demais. A análise realizada atestou o trabalho conduzido na conservação da raça no Núcleo de Conservação localizado na Fazenda Nhumirim pelos baixos níveis de endogamia ($FIS = 3,9\%$) e alta diversidade gênica observada (0,7508). Os resultados gerados servirão para complementar a gestão realizada até o momento, agregando os dados genéticos na elaboração de planos de acasalamento, intercâmbio e descarte de indivíduos contribuindo para a manutenção e conservação da raça junto à Associação de Criadores.

INTRODUÇÃO

O bovino Pantaneiro descende de raças oriundas da Península Ibérica introduzidas na América durante o processo de colonização do Brasil e da bacia do rio da Prata. Esta raça localmente adaptada se desenvolveu no bioma Pantanal brasileiro ao longo mais de 300 anos de seleção natural, a qual lhe conferiu mediante adaptação às condições edafoclimáticas do Pantanal, rusticidade, prolificidade e habilidade para sobreviver em condições de estresse térmico, hídrico e alimentar (Mazza et al., 1994). Após a introdução dos zebuínos, mediante cruzamentos absorventes, foi quase totalmente substituída. Em 1984 foi implantado, com o Programa de Conservação de Recursos Genéticos da Embrapa, o núcleo de conservação *in situ* do Bovino Pantaneiro na fazenda Nhumirim, pertencente a Embrapa Pantanal, e desde então o rebanho é caracterizado em seus aspectos genéticos e produtivos (Abreu et al., 2000). Devido à necessidade de conservar e promover o uso potencial e diversificado desta raça, como estratégia para evitar sua extinção, trabalhos de caracterização genética foram realizados por meio de diferentes metodologias visando avaliar a sua unicidade e distância genética em relação às demais raças criadas no Brasil (Serrano et al. 2004; Egito et al., 2007), o processo de miscigenação (Lara et al., 1997), origem (Egito, 2007) e a diversidade genética no Núcleo de Conservação *in situ* (Lara et al., 1998). Em função do seu histórico de quase extinção, existe atualmente um número reduzido de indivíduos. Nestes casos a endogamia pode aumentar ao longo das gerações, reduzindo a variância genética e tornando a população, em função da deriva genética, mais homocigótica. A diversidade genética dentro de uma raça é necessária para que esta consiga se adaptar geneticamente as mudanças ambientais, econômicas ou produtivas, e evitar problemas relacionados à endogamia (Meuwissen et al., 2009). Desta forma, visando avaliar e auxiliar a manutenção da diversidade genética existente na raça pretende-se, juntamente com Associação Brasileira de Criadores de Bovino Pantaneiro, fomentar estudos que visem à elaboração de planos de gestão e manejo genético de suas populações. O presente trabalho dá início a estes trabalhos onde se objetivou avaliar, mediante genotipagem por marcadores microssatélites, a estrutura populacional da raça e seus rebanhos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no âmbito da Rede PRÓ-CENTRO-OESTE - Caracterização, Conservação e Uso das Raças Bovinas Locais Brasileiras: Currealeiro e Pantaneiro. Foram avaliados 204 indivíduos pertencentes a quatro rebanhos registrados na Associação Brasileira de Criadores de Bovino Pantaneiro (Tabela I). O DNA das amostras de pêlo foi extraído utilizando resina Chelex®, de acordo com o método de Walsh (Walsh et al., 1991), no Laboratório de Genética Molecular Animal da Universidade de Córdoba, onde também foram genotipados em sistemas multiplexes e fluorescentes, em sequenciador automático, os 12 locos microssatélites utilizados nesta análise, sendo estes: BM1314, ETH010, BM1818, BM1824, CRSM60, ETH185, ETH225, INRA023, SPS115, TGLA122, TGLA126 e TGLA227. Índices de diversidade genética foram calculados a partir dos programas FSAT (Goudet, 2002) e ARLEQUIN (Schneider et al., 2000), onde se obteve as estimativas de heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e seus respectivos desvios padrões, bem como a riqueza alélica (RA), padronizada para variações no tamanho amostral entre os distintos rebanhos. Uma análise hierárquica de variância foi realizada pelo método de análise da variância molecular (AMOVA) implementado no pacote ARLEQUIN. A endogamia intrapopulacional foi estimada pelo coeficiente F_{IS} . A distância genética entre os rebanhos foi calculada utilizando-se o índice de Reynold's (F_{ST}). 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). A partir da matriz F_{ST} foi gerado um dendrograma pelo algoritmo de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) sendo construído utilizando-se o programa SplitsTree4 (Huson & Bryant, 2006). Baseado nos genótipos dos 12 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, mas levando-se em conta as populações originais visando avaliá-las de acordo com sua formação. As análises foram realizadas com cinco repetições independentes e k (número de populações inferidas) variando de 2 a 5 com 200.000 interações e período "burn-in" de 50.000.

Tabela I. Parâmetros genéticos populacionais observados para os quatro rebanhos estudados baseado em 12 locos microssatélites (N – número de indivíduos; He – heterozigiosidade esperada; Ho – heterozigiosidade observada; DP – desvio padrão; RA – riqueza alélica). [*Population genetic parameters observed for the four herds studied based on 12 microsatellite loci (N - number of individuals; He - expected heterozygosity; Ho - observed heterozygosity; SD - standard deviation; AR - allelic richness)*].

Rebanho	N	He ± DP	Ho ± DP	RA	F _{IS}
BPF1	66	0,751 ± 0,017	0,721 ± 0,016	5,78	0,039
BPF2	85	0,750 ± 0,024	0,692 ± 0,015	6,48	0,078
BPF3	38	0,729 ± 0,019	0,737 ± 0,021	5,65	-0,011
BPF4	15	0,693 ± 0,031	0,739 ± 0,034	5,06	-0,069

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A heterozigiosidade esperada da raça foi de 0,732 enquanto a heterozigiosidade observada foi de 0,722, sendo os maiores índices de diversidade gênica observados nos rebanhos mais antigos (BPF1 e BPF2, Tabela I), que possuem um efetivo populacional maior. Pelos gráficos gerados no STRUCTURE (Figura 1) e o dendograma (Figura 2), gerado a partir de uma matriz baseada em índices de F_{ST}, verificou-se que um dos rebanhos avaliados (BPF2) aparenta estar se diferenciando dos demais (p<0,01). Apesar deste rebanho apresentar uma maior riqueza alélica (6,48) verifica-se que é o que possui um maior grau de endogamia (F_{IS} = 7,8%) (Tabela I). Esta diferenciação pode ser devida a sua distância geográfica em relação aos demais ou pela possível introdução de material de origem distinta. Esse resultado contradiz os resultados observados em 2007 (Egito, 2007) onde se verificou naquela época, que não havia subestruturação na população de bovinos Pantaneiros. Nesta análise também foi possível realizar o monitoramento do Núcleo de Conservação localizado na Fazenda Nhumirim (BPF1) e atestar o trabalho conduzido na conservação da raça espelhado pelos baixos níveis de endogamia observados (F_{IS} = 3,9%) e uma alta variabilidade genética, demonstrada pela sua alta diversidade gênica (0,751) e riqueza alélica (5,78). Estes resultados são condizentes com os observados por Lara et al. (2000) que havia realizado esta avaliação no rebanho da Fazenda Nhumirim utilizando marcadores proteicos. Também se constatou que a formação dos novos rebanhos, ocorrida a partir de 2009, foi realizada de modo a favorecer a diversidade genética, onde se verifica níveis de heterozigiosidade observados superiores à heterozigiosidade esperada e valores de F_{IS} negativos (BPF3 e BPF4 – Tabela I). A partir dos resultados gerados buscar-se-á complementar a gestão realizada até o momento, agregando os dados genéticos na elaboração de planos de acasalamento, intercâmbio e descarte de indivíduos. A estratégia de associar as informações genéticas aos critérios fenotípicos e morfométricos já foi sugerida anteriormente, como uma oportunidade de realizar o manejo genético da raça Bovino Pantaneiro, com maior segurança, evitando a perda de variabilidade genética (Ferro et al., 2015). Presumia-se que a rebanho BPF4 seria o que melhor representaria a raça Pantaneira, pois este possui animais provenientes de todos os outros rebanhos. Este fato foi comprovado neste estudo e pode ser visualizado no gráfico da figura 1 (k=3, seta), onde se verificou que o mesmo possui em sua composição alelos pertencentes a todas as demais populações. Em k=4 (figura 1) foi possível observar uma subestruturação na população da Fazenda Nhumirim (BPF1) a qual deverá ser melhor investigada a partir dos dados gerados neste trabalho. Os resultados aqui observados, tanto na diferenciação da população BPF2 e a possível subestruturação, ou origem diferenciada de animais do Núcleo de Conservação, demonstram a necessidade da gestão destes recursos genéticos ser efetuada de modo sistemático e rápido evitando que alelos favoráveis possam ser perdidos ao longo do tempo. Neste ponto, as ferramentas moleculares possuem as qualidades necessárias para que esta gestão seja realizada de maneira mais eficaz e acurada, auxiliando na manutenção da variabilidade genética, no intercâmbio de estoques genéticos promovendo a diminuição da endogamia e evitando possíveis depressões endogâmicas, bem como, auxiliando na conservação e uso do material genético existente.

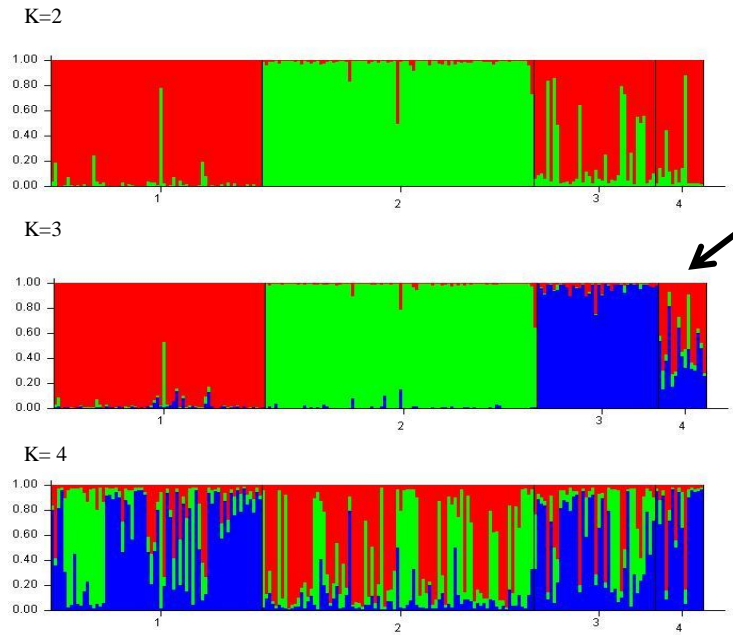


Figura 1. Gráficos representando o agrupamento individual dos 204 animais Pantaneiros dos quatro rebanhos (1 = BP1; 2 = BP2; 3= BP3 e 4 = BP4) em relação ao número de populações inferidas (2, 3 ou 4) pelo método estatístico bayesiano utilizando-se o programa STRUCTURE. Cada animal é representado por uma linha vertical. A cor e tamanho em cada linha estão relacionados à proporção relativa do genoma do animal que corresponde a um agrupamento particular que representa uma população. [Graphics representing individual grouping of the 204 Pantaneiro animals of the four herds (1 = BP1 2 = BP2; 3 = BP3 and 4 = BP4) in relation to the number of inferred populations (2, 3, or 4) by Bayesian statistical method using the STRUCTURE program. Each animal is represented by a vertical line. The color and size in each line is related to the relative proportion of the animal's genome that corresponds to a particular cluster representing a given population].

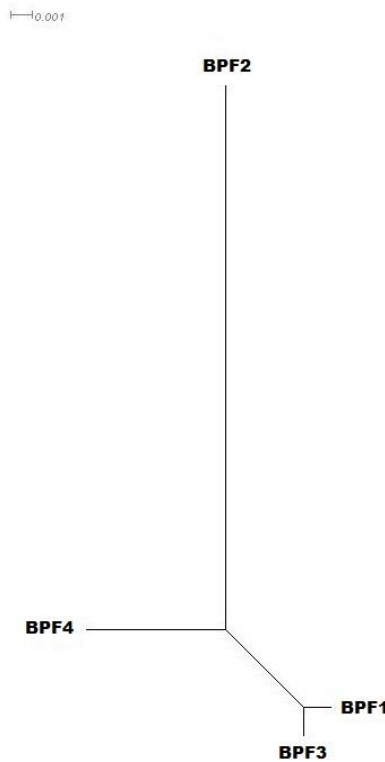


Figura 2. Dendrograma baseado na distância genética de Reynolds (F_{ST}) utilizando o método de UPGMA, evidenciando a relação genética entre os 4 rebanhos Pantaneiros. [Dendrogram based on Reynolds' genetic distance (F_{ST}) using the UPGMA method, showing the genetic relationship between 4 Pantaneiro herds].

CONCLUSÃO

A partir dos resultados pode-se concluir que a condução do trabalho de conservação e a formação de novos núcleos ou rebanhos tem sido conduzido de maneira adequada, promovendo a manutenção da variabilidade genética da população, bem como minimizando a endogamia. A diferenciação de rebanhos da raça ou mesmo subestruturação dentro de um mesmo rebanho, como observado, reforçam a necessidade da gestão e manejo genético imediatos na raça. Pretende-se a partir dos dados gerados subsidiar a Associação de Criadores e os rebanhos existentes nesta atividade.

AGRADECIMENTOS

À UFG, Embrapa, Fundect e ao CNPq pelo financiamento e a RED Conbiand pela oportunidade de parcerias e colaborações mútuas.

BIBLIOGRAFIA

- Abreu G., Sereno J. & Lara M. 2000. Evaluación zootécnica del núcleo de conservación in situ del bovino pantaneiro en el pantanal brasileño. *Archivos de Zootecnia* 49, 27-30.
- Egito, A.A. 2007. 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 doutoramento. Brasília, DF: Universidade de Brasília. 246 p.
- Ferro D., Miyagi E., Juliano R., Arnhold E., Fioravanti M., Ferro R. & Silva B. 2015. Proposta de grupos de acasalamento para bovinos Pantaneiro por meio da caracterização morfológica. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA* 6, 81-91.
- Goudet J. 2002. FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Version 2.9.3.2). URL <http://www2.unil.ch/izea/sotwares/fstat.html>. Mazza M.C.M.,
- Huson D.H. & Bryant D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular biology and evolution* 23, 254-67.
- Lara M.A.C. & Contel E.P.B. 1997. A new allele of peptidase-B in cattle. *Brazil. J. Genet.* 20, 9-12.
- Lara M.A.C., Sereno J.R.B., Abreu U.G.P. & Mariante A.S. 1998. Genetic diversity in Pantanal cattle determined by protein polymorphisms. In: *Global Conference on Conservation of Domestic Animal Genetic Resources* (ed. by RBI), pp. 9-10. RBI, Kathmandu, Nepal.
- Mazza C.A.d.S., Sereno J.R.B., Santos S.A. & Pellegrin A.O. 1994. Etnobiologia e conservação do bovino Pantaneiro. *Corumbá: Embrapa-CPAP/Brasília: Embrapa-SPI*.
- Meuwissen T. 2009. Genetic management of small populations: A review. *Acta Agriculturae Scand Section A* 59, 71-9.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-59.
- Schneider S., Roessli D. & Excoffier L. 2000. Arlequin version 2000: a software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- Serrano G.M.S., Egito A.A., McManus C. & Mariante A.S. 2004. Genetic diversity and population structure of Brazilian native bovine breeds. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 29, 543-9.
- Walsh P.S., Metzger D.A. & Higuchi R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10, 506-13.