

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ANCESTRALIDADE GENÉTICA DA RAÇA SENEPOL POR MEIO DA
ANÁLISE DE PAINÉIS DE POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDEO
ÚNICO**

Dissertação de Mestrado

PAULA ADAS PEREIRA SUNIGA

CAMPO GRANDE – MS, 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ANCESTRALIDADE GENÉTICA DA RAÇA SENEPOL POR MEIO DA
ANÁLISE DE PAINÉIS DE POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDEO
ÚNICO**

PAULA ADAS PEREIRA SUNIGA

Orientadora: Dra. Andréa Alves do Egito

Coorientador: Dr. Gilberto Romeiro de
Oliveira Menezes

Coorientador: Dr. Marcos Vinicius
Gualberto Barbosa da Silva

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal. Área concentração:
Produção Animal.

CAMPO GRANDE – MS, 2019

Certificado de aprovação

Paula Adas Pereira Suniga

Ancestralidade genética da raça Senepol por meio da análise de painéis de polimorfismos de base única

Genetic ancestry of the Senepol breed by analyzing single nucleotide polymorphism panels

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Mestra em Ciência Animal.

Aprovado(a) em: 29-08-2019

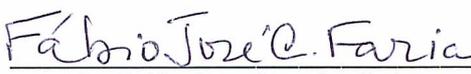
BANCA EXAMINADORA:



Dra. Andrea Alves do Egito
Orientadora (EMBRAPA)



Dra. Fabiane Siqueira
(EMBRAPA)



Dr. Fabio Jose Carvalho Faria
(UFMS)

*Dedico esse trabalho àqueles que acreditaram
em mim incondicionalmente, meus pais,
e àqueles que acreditam que o
mundo precisa da ciência
e lutam por isso.*

Agradecimentos

Primeiramente à **Deus** por colocar as pessoas certas nas horas certas na minha vida, por me dar forças nos momentos que a fraqueza quis me consumir.

Aos meus pais, **Paulo** e **Vanda**, que nunca mediram esforços para me ensinar o caminho do bem, e sempre me apoiaram em todas as etapas da minha vida. A vocês que, muitas vezes, renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento.

À minha **família**, sinônimo de amor e união. Obrigada por acreditar no meu sonho e sempre me motivar a seguir em frente. Não citarei nomes, para não me esquecer de ninguém. Gratidão a todos vocês!

À minha orientadora, **Andréa**, que me acompanha desde a minha iniciação científica. Foram esses cinco anos de convívio e ensinamentos compartilhados que me fizeram chegar até aqui. Obrigada pela oportunidade de realizar este trabalho e por me guiar nos primeiros passos da pós-graduação de forma admirável. Muito obrigada por tudo!

Aos meus coorientadores, **Marcos Vinícius** e **Gilberto**, por toda a ajuda durante a realização deste trabalho. A contribuição de vocês foi essencial para a concretização do mesmo. Minha gratidão por todo conhecimento compartilhado.

Aos **professores, funcionários e colegas** do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS, que estarão para sempre em minha memória.

Às minhas amigas **Rayana, Beatriz e Polyanna**, mesmo com a distância vocês sempre estiveram presentes e me ajudaram durante o Mestrado, com um gesto de carinho ou uma palavra amiga. É muito bom saber que tenho vocês sempre comigo, minhas boas e velhas amigas. Amo vocês!

Àquela pessoa que apareceu na minha vida no início dessa jornada da pós-graduação, **Chris**, pessoa iluminada, e prova de que Deus coloca anjos em nosso caminho. Um grande exemplo de força e serenidade. Obrigada por me oferecer um ombro amigo sempre que precisei. A você, minha eterna gratidão!

Aos meus **amigos** que se tornaram família campo grandense, que dividiram os melhores momentos e me ofereceram uma mão amiga quando precisei. Vocês são incríveis. Obrigada, obrigada, muito obrigada!

Aos amigos de laboratório, **Franciele, Catherine, Isabella, Arianna, Isadora, Thalles, Gustavo, Ana Paula, Thiago** e demais, nós passamos mais tempo juntos do que em nossa casa, com a nossa família. Conviver com vocês ao longo desses dois anos e meio foi sensacional. Muito obrigada por toda forma de ajuda, pela companhia durante um café, pelas inúmeras conversas e risadas. Vocês são muito especiais e tornaram o trabalho muito mais agradável.

Àqueles que me ajudaram nessa jornada em busca de conhecimento, **Daniele, Flávia, Karol, Juliana, Raquel, Jéssica, Larissa, Fernando, Hyago e Felipe**, que me receberam tão bem em Juiz de Fora, **Silvana, Rafaela, Lucas, Adam, Yuri e Marco**, que compartilharam todo conhecimento e me acolheram em Araçatuba. Agradeço também ao Prof. Dr. **Fernando Garcia** que abriu as portas para que eu pudesse aprender tanto. Gratidão por todo crescimento profissional e pessoal que tive nesses meses com vocês.

Àqueles que fomentaram nossa pesquisa e possibilitaram que o trabalho fosse desenvolvido, a **CAPES** pela concessão da bolsa, à **Embrapa Gado de Corte**, os **criadores** e a **Associação Brasileira de Criadores de Bovinos Senepol**, muito obrigada.

Àqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, a minha eterna gratidão!

“Quando não souberes para onde ir, olha para trás e sabe pelo menos de onde vens” (Provérbio africano).

“A persistência é o menor caminho do êxito”. (Charles Chaplin)

Resumo

SUNIGA, P.A.P. **Ancestralidade genética da raça Senepol por meio da análise de painéis de polimorfismos de nucleotídeo único.** 2019. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

Este trabalho objetivou avaliar a ancestralidade genética da raça Senepol mediante análises genômicas baseadas em marcadores do tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) em larga escala visando elucidar sua composição genética. Foram genotipados 20 touros Senepol, os quais foram escolhidos a partir de sua contribuição na população brasileira, com o painel *BovineHD BeadChip*. Além dela, outras 21 raças foram incluídas no estudo perfazendo um total de 294 indivíduos avaliados. Um controle de qualidade prévio foi realizado para amostras, aquelas com *call rate* superior a 0,9 permaneceram nas análises, e para marcadores, MAF (*minor allele frequency*) acima de 0,5 e *call rate* 0,95 também foram mantidos. Foram feitas análises de ADMIXTURE e componentes principais. Para a primeira análise, foram retirados os marcadores em alto desequilíbrio de ligação. Os resultados demonstram que o Senepol tem, em maior proporção, compartilhamento alélico com taurinos europeus, compatível com sua história. A proporção de taurinos africanos é pequena ($\bar{x} = 2\%$) e existe uma introgressão de 14,4%, em média, de alelos zebuínos. Além disto, foi possível observar que uma composição genética semelhante às raças localmente adaptadas do Brasil, sendo inclusive mais próximas geneticamente. Conclui-se que a raça Senepol possui ancestralidade de taurinos europeus predominantemente e comprovou-se a participação de bovinos crioulos na sua formação, provavelmente através do uso destes em cruzamentos absorventes.

Palavras-chave: ADMIXTURE, composição racial, SNP, taurino adaptado

Abstract

SUNIGA, P.A.P. **Ancestralidade genética da raça Senepol por meio da análise de painéis de polimorfismos de nucleotídeo único.** 2019. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

This work aimed to evaluate the genetic ancestry of the Senepol breed by genomic analysis based on large-scale SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers to elucidate its genetic composition. Twenty Senepol bulls were genotyped, which were chosen based on their contribution to the Brazilian population, with the BovineHD BeadChip panel. Prior quality control was performed for samples, those with call rates above 0.9 remained in the analysis, and for markers, minor allele frequency (MAF) above 0.5 and call rates 0.95 were also maintained. Analyses of ADMIXTURE and main components were performed. For the first analysis, the markers in high binding imbalance were removed. The results show that Senepol has, in greater proportion, allelic sharing with European taurines, compatible with its history. The proportion of African Taureans is small ($\bar{x} = 2\%$) and there is an average 14.4% introgression of Zebu alleles. In addition, it was possible to observe that a genetic composition similar to the locally adapted breeds of Brazil, being even closer genetically. It is concluded that the Senepol breed has predominantly European taurine ancestry and it was verified the participation of Creole cattle in its formation, probably through their use in absorbent crosses.

Keywords: adapted taurine, ADMIXTURE, genetic composition, SNP

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
1. CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
1.1. A Raça Senepol	12
1.2. Marcadores Moleculares	14
1.3.1. Marcadores SNP.....	15
1.3. Composição Genética	17
REFERÊNCIAS.....	20
2. CAPÍTULO 2: ARTIGO	24
REFERÊNCIAS.....	35

INTRODUÇÃO

A pecuária bovina é uma das atividades mais antigas exercidas no Brasil e no mundo. A formação da espécie bovina se deu no continente asiático e sua expansão aconteceu por migrações dos animais ainda selvagens durante o período glacial e, depois já domesticados, acompanhando os homens após o Neolítico (LENSTRA e BRADLEY, 1999; JORGE, 2013).

A importância econômica global da pecuária, em combinação com o interesse antropológico na história compartilhada entre bovinos e humanos, tornou a espécie bovina um alvo ideal para pesquisa genética. Com o advento do sequenciamento do genoma bovino (ELSIK et al., 2009), geneticistas puderam estudar as variações genéticas entre raças e as relações de ligação entre esses marcadores para traçar a história global da domesticação e desenvolvimento de diversas raças. Além de marcadores, abrangendo todo o genoma, para analisar a história de muitas espécies, incluindo humanos (NOVEMBRE e RAMACHANDRAN, 2011), equinos (MCCUE et al., 2012), ovinos (KIJAS et al., 2009), dentre outras.

A domesticação e o desenvolvimento dos bovinos impactaram consideravelmente as sociedades humanas, mas as histórias de algumas raças e populações ainda são pouco compreendidas, especialmente para raças africanas, asiáticas e americanas (DECKER et al., 2014).

A espécie foi trazida ao continente americano pelos europeus no período colonial. O gado importado da Península Ibérica se espalhou por toda a América e se adaptou a uma ampla diversidade de ambientes e mais tarde receberam influências de outras origens, incluindo o gado zebu nos anos mais recentes (PRIMO et al., 1992). Além dessas raças crioulas, outras foram criadas por meio de cruzamentos como o Projeto Montana Tropical (FERRAZ et al., 2000), o Senepol (HUPP, 1978) e outras.

Com uma introdução relativamente recente no Brasil (ano de 2000), a raça Senepol apresenta-se como uma alternativa para produção de carne de origem taurina, com o diferencial de ser uma população adaptada aos trópicos permitindo sua expansão e produção de carne a pasto nas condições predominantes no Brasil. Sua origem esteve relacionada com a busca de uma população que resistisse ao

estresse térmico e as condições nutricionais do clima tropical caribenho. Os produtos do cruzamento apresentam resistência ao calor, temperamento dócil e habilidade de sobreviver em regiões com baixa disponibilidade de alimento (MENEZES et al., 2013).

Sobre essa raça, foram realizados estudos científicos abordando a estrutura populacional (OKAMURA, 2015), termotolerância (HAMMOND, 1993), presença de mutações genéticas favoráveis aos fenótipos *Slick Hair* e musculatura dupla (MARIASEGARAM, et al., 2007; XAVIER et al., 2013) e outros. No entanto, relatos de sua ancestralidade genética são escassos (HUPP, 1978; FLORI et al., 2012; DE PAULA et al., 2018).

Flori e colaboradores (2012) avaliaram a ancestralidade do Senepol e identificaram uma introgressão de zebuína inesperada. Anos antes, em 2009, Siqueira e colaboradores observaram que o Senepol apresenta uma menor distância genética de bovinos Nelore (0,44) que de Angus (0,57). Estudos nessa temática colaborariam para o embasamento outros trabalhos científicos de maneira mais acurada, além de auxiliar a elucidar questões como a origem da mutação do gene *Slick* na raça.

1. CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. A Raça Senepol

A raça Senepol foi originada em meados de 1900 em Saint Croix, uma das ilhas do arquipélago das Ilhas Virgens Americanas (Figura 1). O rebanho nativo da região era composto basicamente de bovinos crioulos descendentes dos animais de origem espanhola que chegaram na segunda viagem de Colombo em 1493 à ilha chamada La Española, hoje sede da República Dominicana e Haiti (PRIMO, 1992; GINJA et al, 2010).

O rebanho crioulo nativo da região não conseguia suprir a demanda local e, com isso, a família Nelthropp teve a iniciativa de criar uma nova raça para abastecer a ilha. O Senepol surgiu à partir do cruzamento de bovinos da raça N'Dama – raça taurina senegalesa que apresenta características adaptativas como resistência a

parasitas, adaptação ao clima tropical e possui chifres - e a raça Red Poll – taurino europeu com conformação frigorífica, caráter mocho, dócil e cor vermelha padronizada (HUPP, 1978; DE PAULA et al., 2018).

Em 1918, se iniciaram os cruzamentos de um touro da raça Red Poll recém adquirido e as vacas da raça senegalesa que foram importadas no século anterior, originando crias com maior produção de carne e leite e mais resistentes ao calor (HUPP, 1978).

Hoje a raça apresenta-se distribuída, abrangendo diversos países como: Austrália, Paraguai, Colômbia, Argentina, Panamá, Canadá, República Dominicana, Equador, Nicarágua, Porto Rico, Venezuela, México, Filipinas, Zimbabwe e Brasil



(OKAMURA, 2015; ABCB Senepol, 2019).

Figura 1. Raça Senepol, fruto do cruzamento da raça N'dama com a raça Red Poll.

Fonte: <http://rondorural.com/wp-content/uploads/2019/06/cruzamento-ndama-x-red-poll-surgiu-senepol-780x405.jpg>

No cenário brasileiro, a primeira introdução da raça Senepol foi mediante o uso de sêmen de reprodutores para auxiliar no programa Montana Tropical na década de 1990, que objetivava a criação de uma raça composta mais adaptada ao clima tropical e com alta produtividade, atributos intensificados com a heterose (FERRAZ et al., 2000).

Em 2000 foram realizadas as primeiras importações de bovinos da raça Senepol, com animais oriundos dos Estados Unidos. A Fazenda da Grama, localizada em Pirajuí no interior do estado de São Paulo, importou 700 embriões provenientes de fêmeas acasaladas com touros americanos. A Fazenda Nova Vida, situada em Ariquemes no estado de Rondônia, parceira da fazenda paraguaia Ganadeira 63, importou 11 bezerros e 59 matrizes, as quais seriam aspiradas no Brasil (MENEZES et al, 2013; DE PAULA et al., 2018).

Em 2002 foi fundada a Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos Senepol (ABCB-Senepol) com seis criadores e com sede em Uberlândia, no Triângulo Mineiro. Atualmente, o Brasil é o país que possui o maior rebanho populacional da raça Senepol que continua crescendo (MENEZES et al., 2013). O banco de dados genealógicos da Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos Senepol (ABCB Senepol) conta com mais de 104 mil registros. Em 2017 foi lançado um programa oficial de abrangência nacional de melhoramento genético da raça, o PMGS – Programa de Melhoramento Genético do Senepol (DE PAULA et al., 2018).

Poucos estudos científicos foram feitos sobre a raça até os dias atuais. Com isso, existe a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre a mesma a fim de auxiliar o seu melhoramento genético e o progresso da raça.

1.2. Marcadores Moleculares

Os marcadores moleculares surgiram da necessidade de identificar polimorfismos, ou seja, mutações genéticas diretamente do DNA. São regiões que diferem em dois ou mais seres e são herdados. São amplamente utilizados no estudo de populações de animais domésticos e condicionam diferenças na expressão de características de interesse zootécnico (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

Existem diversos tipos de marcadores moleculares: RAPD - *Random Amplification Of Polymorphism*, RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*, AFLP - *Amplified Fragment Length Polymorphism*, microssatélites e SNP - *Single Nucleotide Polymorphism* (LITT e LUTY, 1989, WILLIAMS et al., 1990, FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1996; POWELL et al., 1996, VIGNAL et al., 2002). Alguns desses

marcadores caíram em desuso pela dificuldade de replicação do experimento, por serem técnicas laboriosas, dentre outros motivos. Os marcadores microssatélites apesar de serem amplamente utilizados em trabalhos de caracterização genética racial vem sendo progressivamente substituídos, desde a década de 2010, pelos SNPs, principalmente por estes serem distribuídos ao longo do genoma de maneira homogênea e em grande quantidade (CAETANO, 2009; MARTIN, 2010).

De um modo geral, vários marcadores de DNA podem ser utilizados para detectar a introgressão e eventos de mestiçagem entre as subespécies que possuem padrões de diferenciação distintos (ALBUQUERQUE et al., 2006; EGITO et al., 2007; SIQUEIRA et al., 2009). Embora, a utilização dos dados de painéis de alta densidade de SNP tenha custo elevado em relação a outros métodos, a técnica pode ser utilizada para estudar a estrutura genética de raças bovinas de forma mais acurada (CAETANO, 2009; KELLERHER et al., 2017).

1.3.1. Marcadores SNP

Os SNPs são polimorfismos de base individual ou única, ou seja, é a variação da sequência observada em apenas uma base nitrogenada (Adenina, Citosina, Timina ou Guanina) (MARTIN, 2010). As mutações mais comuns são as transições, onde ocorrem trocas entre purinas (Adenina e Guanina) ou entre pirimidinas (Citosina e Timina). São gerados por substituição de base ou pequenos eventos de inserção e deleção e são normalmente bi-alélicos, ou seja, são encontradas apenas duas variantes em uma mesma espécie (FALEIRO, 2007).

São os sítios polimórficos mais diversos e os mais estudados, visto que estão amplamente distribuídos ao longo de todo o genoma (HALUSHKA et al., 1999), responsáveis por 90% de toda a variação genética (LI et al., 2009), podendo ocorrer tanto em regiões expressas quanto não-expressas (WEINER e HUDSON, 2002). Estudos prévios evidenciam que podem existir milhões desses polimorfismos no genoma de um indivíduo (ELSIK et al., 2009; LI et al., 2009)

O uso de marcadores do tipo SNP no mapeamento genético, em estudos de associação, testes de paternidade, rastreabilidade, detecção de doenças e outros, esteve restrito devido à carência de tecnologias específicas. O método convencional

para a detecção e descoberta de novos polimorfismos era baseado no método de Sanger (CAETANO, 2009). Esse método baseia-se na adição de didesoxiribonucleotídeos (ddNTP's) que não possuem o grupo hidroxila da 3' pentose e, com a ausência do OH, impede que o fragmento de DNA cresça durante a replicação após sua adição. Com isso, fitas de diversos tamanhos de fragmentos do mesmo DNA são obtidas, permitindo a identificação dos alelos (SANGER et al., 1977). Por meio de técnicas como esta, associadas a programas de bioinformática, grandes conjuntos de SNPs foram descobertos.

A diminuição dos custos, o aprimoramento das metodologias e dos equipamentos para genotipagem, permitiram que o primeiro painel de SNPs em larga escala para bovinos fosse disponibilizado comercialmente em 2009, o BovineSNP50 (50k ou 54.000 SNP) BeadChip (*Illumina Inc., USA*; MATUKUMALLI et al., 2009). Outros painéis nessa mesma densidade de marcadores já foram validados, para humanos, ovinos, equinos, suínos e caninos (*BOVINE HAPMAP CONSORTIUM*, 2009).

A genotipagem desses chips pode ser feita de forma terceirizada, evitando, assim, a necessidade de investimento na aquisição de equipamentos e de mão-de-obra competente para a geração desses dados. As amostras de DNA genômico são enviadas aos laboratórios especializados e são submetidas a análises altamente automatizadas. Os ensaios são conduzidos com extrema precisão, reduzindo os erros para índices mínimos (CAETANO, 2009). Embora essa técnica tenha custo elevado em relação a outros métodos, é uma forma mais acurada de obtenção de dados genômicos facilitando a detecção de assinaturas de seleção, a estimação da diversidade genética entre e dentro dos grupos raciais (KELLEHER et al., 2017), identificação de paternidade (HEATON et al., 2002), estudos de associação ampla (GWAS) que buscam detectar genes relacionados à determinadas características como doenças ou fenótipos de interesse zootécnico (OZAKI et al., 2002; DUNCAN, 2006) e aplicação em programas de melhoramento por meio da seleção genômica (HAYES et al., 2010).

Após a obtenção dos genótipos, os dados são filtrados e selecionados quanto à sua qualidade, tanto dos marcadores quanto das amostras. Para os marcadores duas formas frequentes de avaliação é a análise do *Call Rate*, que é a proporção de SNPs identificados, e a Frequência Alélica Mínima (MAF), na qual os marcadores

que não alcançarem o valor mínimo tolerado serão excluídos das análises. Para a amostra os critérios comumente usados são *Call Rate*, identificação de genótipos idênticos e erros na identificação do sexo. Posteriormente, estatísticas acerca da heterozigosidade média esperada e observada, endogamia e diversidade genética poderão ser calculadas em *softwares* específicos (*BOVINE HAPMAP CONSORTIUM*, 2009; KIJAS et al., 2009, ANDERSON et al., 2010; TURNER et al., 2011).

1.3. Composição Genética

Há mais de 12.000 anos, as espécies animais começaram a ser domesticadas pelo homem e passaram por processos adaptativos culminando com a sua evolução (JORGE, 2013). Esses animais domesticados acompanharam as migrações que ocorreram ao longo dos séculos resultando na diferenciação em subpopulações animais, normalmente denominadas raças, cujos caracteres físicos que os diferenciam se mantêm ao longo de diversas gerações (MARIANTE e EGITO, 2002).

Cada indivíduo possui uma combinação gênica única com determinada frequência alélica específica à sua população. A variedade genética dentro das espécies está refletida na abundância de raças existentes e na variação dentro das mesmas (HETZEL, 1992; BARKER, 1994).

Pelo uso de marcadores moleculares é possível viabilizar análises genômicas e mediante, diferentes técnicas de agrupamento pode-se caracterizar populações geneticamente distintas, atribuindo indivíduos a populações, identificando migrantes e indivíduos mestiços, além de identificar possíveis ancestrais selvagens das populações atuais (PRITCHARD et al., 2000; LUIKART et al., 2003; ALEXANDER et al., 2009).

O conhecimento da distância genética entre as populações bovinas é particularmente útil na identificação de raças distintas que podem ser exploradas para maximizar a heterose em acasalamentos, portanto, uma investigação mais aprofundada das diferenças genéticas é uma questão pertinente e reveladora para ajudar na estratégia de cruzamento (KELLERHER et al., 2017). Essas informações

são úteis para criadores interessados em melhorar a produtividade do seu rebanho por meio de esquemas de acasalamentos direcionados. A decisão sobre o que as raças devem incorporar numa estratégia de cruzamento auxilia o incremento da heterose do rebanho (MSALYA et al., 2017).

Existem várias formas para estudar a composição racial dos rebanhos. Os *softwares* STRUCTURE e ADMIXTURE buscam inferir a ancestralidade de indivíduos de populações não relacionadas, com base em marcadores moleculares do tipo SNP ou microssatélites. Ambos agrupam os indivíduos geneticamente semelhantes em grupos ou *clustes* (K) caracterizados por um conjunto de frequências alélicas em cada loco. Os dois programas se diferem quanto ao método utilizado para classificar os indivíduos em K populações e no número de marcadores envolvidos na análise (PRITCHARD et al., 2000; ALEXANDER et al., 2009).

O ADMIXTURE utiliza o método da máxima verossimilhança para estimar a matriz dos coeficientes de ancestralidade com base em milhares de SNPs. Considera-se que os indivíduos são resultados da união aleatória de gametas. As distribuições binomiais são calculadas da seguinte forma:

$$Probabilidade (1/1 \text{ para } i \text{ em } SNP_j) = \left[\sum_k q_{ik} f_{kj} \right]^2$$

$$Probabilidade (1/2 \text{ para } i \text{ em } SNP_j) = 2 \left[\sum_k q_{ik} f_{kj} \right] \left[\sum_k q_{ik} (1 - f_{kj}) \right]$$

$$Probabilidade (2/2 \text{ para } i \text{ em } SNP_j) = \left[\sum_k q_{ik} (1 - f_{kj}) \right]^2$$

em que o alelo 1 é o menos frequente e o alelo 2, o alelo principal, j é o número do SNP genotipado em i indivíduos não relacionados resultantes de uma população composta com ancestralidade k . A população k contribui com uma q ésima fração do genoma individual. O alelo 1 no j ésimo SNP tem frequência f_{kj} na k ésima população (ALEXANDER et al., 2009, BUZANSKAS et al., 2017).

Outro método muito empregado para estudar a composição racial é a Análise de Componentes Principais (PCA). Esse método foi descrito por Karl Pearson em 1901 e tem como finalidade resumir um grande conjunto de variáveis em um conjunto menor sem perder as informações contidas nos mesmos, mantendo apenas os caracteres que mais contribuem para a variação dos dados, de modo que

possam ser avaliados em um esquema bi ou tridimensional de interpretação fácil (PEARSON, 1901; PATTERSON et al., 2006).

Os componentes principais (PC) não são correlacionados, com isso a variação dos dados existente neles são somadas. Os primeiros PCs detêm a maior fonte variância dos dados que é determinada por um autovalor. Os coeficientes dos componentes principais são determinados por autovetores que indicam a direção de máxima variabilidade dos dados (JOHNSON e WICHERN, 1988). São obtidos os melhores resultados, quanto mais correlacionadas forem as variáveis originais (LIBERATO, 1995).

Diante do exposto, observou-se a necessidade de estudar a ancestralidade da raça Senepol mediante o uso de marcadores moleculares do tipo SNP em painéis de alta densidade a fim de determinar sua ancestralidade buscando identificar as raças que contribuíram para a sua formação.

REFERÊNCIAS

- ABCB Senepol. **A raça**. Disponível em: <<http://www.senepol.org.br/sobre-a-raca/>>. Acesso em: 17 Agosto 2019.
- ALBUQUERQUE, et al. Variabilidade genética em búfalos estimada por marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 623-628, 2006.
- ALEXANDER, D. H.; NOVEMBRE, J.; LANGE, K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. **Genome Research**, v. 19, n. 9, p. 1655-1664, 2009.
- ANDERSON, C. A., et al. Data quality control in genetic case-control association studies. **Nature Protocols**, London, v. 5, n. 9, p.1564–1573, 2010.
- 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. **Proceedings...** Guelph, Canadá, 1994. p. 501-508.
- BOVINE HAPMAP CONSORTIUM. Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. **Science**, v. 324, n. 5936, p. 528-532, 2009.
- BUZANSKAS, M. E., et al. Study on the introgression of beef breeds in Canchim cattle using single nucleotide polymorphism markers. *PloS One*, v. 12, n. 2, e0171660, 2017.
- CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 64-71, 2009.
- DECKER, J. E., et al. Worldwide patterns of ancestry, divergence, and admixture in domesticated cattle. **PLoS One**, v. 10, n3, e1004254, 2014.
- DE PAULA, D.; CORSI, F.; CORSI, M. H. **Linhagens do Senepol. Os Genearcas da Raça – de Saint Croix para o Brasil e do Brasil para o Mundo**. 1. ed. Uberlândia – MG, 2018. ISBN 978-85-62723-04-9.
- DUNCAN, T. C. Are we ready for genome-wide association studies? **AAC Journals - Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2006; v.15, n.4, p. 595-598, 2006.
- EGITO, A. A., et al. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. **BMC Genetics**, v. 8, n.1, p. 83, 2007.
- ELSIK, C. G., TELLAM, R. L., WORLEY, K. C. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. **Science**, v. 324, n. 5926, p. 522-528, 2009.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. 1. ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P. Desenvolvimento de bovinos de corte compostos no Brasil: o desafio do projeto Montana Tropical. In: III SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 3., 2000. **Anais...** Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2000.

- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília, DF - Embrapa-Cenargen, 1995. 220 p.
- FLORI, L., et al. A quasi-exclusive European ancestry in the Senepol tropical cattle breed highlights the importance of the slick locus in tropical adaptation. **PloS One**, v. 5, p. e36133, 2012.
- GINJA, C., et al. Origins and genetic diversity of New World Creole cattle: inferences from mitochondrial and Y chromosome polymorphisms. **Animal Genetics**, v. 41, n. 2, p. 128-141, 2010.
- GINJA, C., et al. The genetic ancestry of American creole cattle inferred from uniparental and autosomal genetic markers. **Scientific Reports**, v. 1, n.15, p. 1-16, 2019.
- HALUSHKA, M. K., et al. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. **Nature Genetics**, v. 22, n. 3, p. 239-247, 1999.
- HAMMOND, A. C. Evaluation of the Senepol breed: Heat tolerance and grazing activity. In: 42ND ANNUAL FLORIDA BEEF CATTLE SHORTCOURSE, 42., 1993, Flórida. **Proceedings...** Gainesville: University of Florida, 1993. 45 p.
- HAYES, B.; GODDARD, M. Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. **Genome**, v. 53, n. 11, p. 876-883, 2010.
- HEATON, M. P., et al. Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle. **Mammalian Genome**, v. 13, n. 5, p. 272-81, 2002.
- HETZEL, D. J. S.; DRINKWATER, R. D. The use of DNA technologies for the conservation and improvement of animal genetic resources. In: HODGES, J. 1992, p. 309. The management of global animal genetic resources, **Proceedings...** Rome: FAO, 1992.
- HUPP, H. D. **History and development of Senepol cattle**. Saint Croix: Agricultural Experiment Station, College of the Virgin Islands, 1978. 12 p.
- ILLUMINA Inc. Product literature. Disponível em: <https://support.illumina.com/array/array_kits/bovinesnp50-beadchip-kit/documentation.html>. Acesso em: 2 Julho 2019.
- JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 8. ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice hall, 2002. 607p.
- JORGE, W. A genômica bovina-origem e evolução de taurinos e zebuinos. **Vet. e Zootec**, v. 20, n. 2, p. 217-237, 2013.
- KELLEHER, M. M., et al. Inference of population structure of purebred dairy and beef cattle using high-density genotype data. **Animal**, v. 11, n. 1, p. 15-23, 2017.
- KIJAS, J. W., et al. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. **PloS One**, v. 4, n. 3, e4668, 2009.
- LENSTRA, J. A., BRADLEY, D. G. Systematics and phylogeny of cattle. In: RUVINSKY RFA, 1999, p. 1-14, ed. The genetics of cattle, **Proceedings...** Wallingford: CAB Int, 1999.

LI, R., et al. SNP detection for massively parallel whole-genome resequencing. **Genome Research**, v.19, n. 6, p. 1124-32, 2009.

LIBERATO, J. R. **Aplicações de técnicas de análise multivariada em fitopatologia**. 1995. 144 p. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**. v.44, n. 3, p. 398-401, 1989.

LUIKART, G., et al. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nat. Rev. Genet.*, v.4, n.12, p. 981-994, 2003.

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.

MARIASEGARAM, M., et al. The slick hair coat locus maps to chromosome 20 in Senepol-derived cattle. **Animal Genetics**, v. 38, n. 1, p. 54-59, 2007.

MARTIN, L. C. **Identificação de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) no gene colina monooxigenase relacionado ao metabolismo da glicina betaína em Eucalyptus**. 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Genética) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

MATUKUMALLI, L. K., et al. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. **PLoS One**, v. 4, n. 4, e5350, 2009.

MCCUE, M. E., et al. A high density SNP array for the domestic horse and extant *Perissodactyla*: utility for association mapping, genetic diversity, and phylogeny studies. **PLoS One**, v. 8, n. 1, e1002451, 2012.

MENEZES, G. R. O., et al. Variabilidade genética da raça Senepol no Brasil. In: MENEZES, G. R. de O., et al. (Ed.). **Sumários Senepol 2016: sumário de touros Senepol Geneplus-Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 76 p.

MSALYA, G., et al. Determination of Genetic Structure and Signatures of Selection in Three Strains of Tanzania Shorthorn Zebu, Boran and Friesian Cattle by Genome-Wide SNP Analyses. **PLoS One**, v. 12, n. 1, e0171088, 2017.

NOVEMBRE, J.; RAMACHANDRAN, S. Perspectives on human population structure at the cusp of the sequencing era. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 12, p. 245-274, 2011.

OKAMURA, V. **Estrutura genética da raça Senepol no Brasil por meio de análise de pedigree**. 2015. 42 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.

OZAKI, K., et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-± gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. **Nature Genetics**, v. 32, n. 4, p. 650, 2002.

PATTERSON, N., PRICE, A. L., REICH, D. Population structure and eigenanalysis. **PLoS One**, v. 2, n. 12, e190, 2006.

PEARSON, K. Principal components analysis. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, v. 6, n. 2, p. 559, 1901.

POWELL, W., et al. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding**, v. 2, n. 3, p. 225-238, 1996.

- PRIMO, A. T. El ganado bovino ibérico en las Américas: 500 años después. **Archivos de Zootecnia**, v. 41, n. 154, p. 13, 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.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. In: National Academy of Sciences, 74., 1977. **Proceedings...** 1977. p. 5463-5467.
- SIQUEIRA, F., et al. Diversidade genética de bovinos de corte por meio de marcadores microssatélites. In: 46^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009. **Anais...** Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009.
- TURNER, S. et al. Quality control procedures for genome-wide association studies. **Current protocols in human genetics**, v. 68, n. 1, p. 1-19, 2011.
- VIGNAL, A., et al. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 3, p. 275, 2002.
- WEINER, M. P.; HUDSON, T. J. Introduction to SNPs: discovery of markers for disease. **Biotechniques**, Supl:4-7, v. 10, p. 12-3, 2002.
- WILLIAMS, J. G., et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p. 6.531-6.535, 1990.
- XAVIER, S., et al. Polimorfismos de nucleotídeos únicos no gene da miostatina em bovinos da raça Senepol. In: 9^aJORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA GADO DE CORTE, 9., 2013, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2013.

21

ABSTRACT

22 Knowledge about the ancestry and racial composition of herds is useful for devising
23 effective strategies to improve animal production, management and breeding. Thus, the
24 objective was to determine the ancestry of Senepol based on 264 numbers of bovine breeds
25 from Asia, Africa, Europe and South America and genotyped with BovineHD panel
26 containing 777,000 single nucleotide polymorphisms (SNPs). Principal component and
27 ADMIXTURE analyzes were performed, which revealed a greater contribution of European
28 cattle in the formation of the Senepol breed, what was expected according to the history of
29 colonization of the Caribbean island. However, the portion of alleles shared with the N'Dama
30 was tiny. In addition, Zebu alleles were introgressed throughout the genome. According to the
31 allelic sharing and the proximity evidenced by the principal component analysis, the Senepol
32 breed has a large allele sharing with the other Creole breeds, being genetically close to them.
33 Thus, Thus, we verified the occurrence of absorbent crosses for the formation of the Senepol
34 breed, performed on the island of Saint Croix.

35

KEYWORDS: adapted taurine, ADMIXTURE, genetic composition

36

37

Introdução

38

39

40

41

42

As raças bovinas modernas descendem de diferentes eventos de domesticação de uma espécie selvagem primitiva, os Auroques, ocorridos a milhares de anos (Loftus et al., 1994). Análises populacionais baseadas em polimorfismos de base única (SNPs) detectaram três grandes agrupamentos bovinos – zebuínos asiáticos, taurinos europeus e africanos, e identificaram as rotas migratórias históricas que conduziram os mesmos ao resto do mundo

43 (Bovine HapMap Consortium, 2009; McTavish et al., 2013). No entanto, relatos sobre
44 ancestralidade e domesticação do gado americano ainda são escassos (Decker et al., 2014).

45 O gado domesticado foi introduzido no Caribe em 1493 por Cristóvão Colombo e,
46 posteriormente, pelos demais colonizadores espanhóis e se adaptaram às novas condições
47 ambientais (Rouse, 1977). Os descendentes desses bovinos são conhecidos por serem
48 tolerantes ao estresse alimentar e térmico (Primo, 1992).

49 Criada nos trópicos, a raça Senepol é natural de Saint Croix, originada por meio do
50 cruzamento do N'dama (raça taurina africana do Senegal) com o Red Poll (raça taurina
51 britânica). Apresenta-se como uma alternativa para a produção de carne em regiões com altas
52 temperaturas de forma extensiva permitindo sua expansão em países de clima quente, como o
53 Brasil (Hupp, 1978; da Silva et al., 2018).

54 Um dos fatores que propicia a termotolerância na raça é a presença de uma mutação que
55 resulta em uma pelagem curta, lisa e brilhante (Mariasegaram et al., 2007). O loco *slick* se
56 encontra no cromossomo 20 e é um traço dominante herdado, que tem sido associado à raças
57 crioulas das Américas, adaptadas aos trópicos e descendentes de raças Ibero-americanas
58 trazidas pelos colonizadores (Huson et al., 2014, da Silva et al., 2018). No entanto, a origem
59 da mutação do gene *Slick* no Senepol ainda não é totalmente conhecida (Flori et al., 2012).

60 Um trabalho utilizando marcadores SNP em alta densidade para realizar uma avaliação
61 das origens genéticas da raça Senepol, com animais da ilha de Saint Croix, evidenciou que
62 cerca de 90% da composição genética era relacionada à raça europeia Red Poll, 0,6% de
63 bovinos africanos N'Dama e, contradizendo o histórico da raça, 10,4% de bovinos zebuínos
64 (Flori et al., 2012). Huson e colaboradores (2014) também encontraram um pequeno

65 compartilhamento alélico com a raça senegalesa. Em adição, constataram uma assinatura
66 genética própria do Senepol.

67 Usando ferramentas genômicas, podemos reconstruir a estrutura populacional global do
68 bovino domesticado e determinar como diferentes linhagens contribuíram para a evolução
69 desse grupo (McTavish et al., 2013). Estudos nesse contexto podem auxiliar a elucidar
70 questões controversas como as abordadas previamente.

71 À vista disto, objetivou-se verificar a ancestralidade da raça Senepol, buscando
72 identificar as raças que contribuíram para a sua formação, por meio da análise de painéis de
73 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*).

74

75 **Material e Métodos**

76 *Amostras Biológicas*

77 Foram amostrados 20 touros da raça Senepol no Brasil, selecionados de acordo com o
78 tamanho da sua progênie, visando a obtenção de uma maior representatividade da raça e
79 proporcionando, assim, uma avaliação da base genética existente atualmente no Brasil de
80 forma mais acurada.

81 Para constituir o grupo de referência, foram utilizadas raças de diferentes países
82 buscando avaliar a contribuição das mesmas para a formação do Senepol: bovinos europeus –
83 taurinos do leste, norte, centro e sul do continente; bovinos africanos – *Bos indicus* do leste e
84 *Bos taurus* do oeste continental; bovinos asiáticos – zebuínos provenientes da Índia; bovinos
85 das Américas – zebuínos e raças localmente adaptadas do Brasil (Quadro 1).

86 *Genotipagem e Controle de Qualidade de Genótipos e Amostras*

87 O DNA dos animais da raça Senepol foi extraído a partir de amostras de sêmen doadas
88 por criadores à Embrapa Gado de Corte e genotipados por meio do Illumina BovineHD
89 BeadChip (Illumina, I., 2010), painel de SNPs contendo por volta de 777.000 marcadores, em
90 empresa terceirizada. Os genótipos das demais raças, foram obtidos pelo uso da mesma
91 tecnologia, sendo cedidos por colaboradores.

92 O controle de qualidade foi realizado utilizando o software PLINK 1.9 e está descrito na
93 Tabela 1 (Purcell et al., 2007). Todas as amostras com *call rate* inferior a 90% foram
94 descartadas. Nesse controle foram removidas três amostras da raça Butana e uma Alentejana,
95 totalizando 294 amostras.

96 Foram considerados nas análises apenas os cromossomos autossômicos. Foram
97 descartados marcadores com *call rate* inferior a 95% e frequência alélica do alelo menor
98 (MAF) menor que 0,05, permanecendo 633.298 SNPs. Além desses parâmetros, foram
99 removidos aqueles marcadores com desequilíbrio de ligação $> 0,15$, analisados com uma
100 janela de 50 SNPs com deslocamento a cada 10, mantendo-se no banco de dados 51.496
101 marcadores.

102 *Análise de Componentes Principais (PCA) e Admixture*

103 Para determinar relações de raças baseadas diretamente nas frequências alélicas e
104 verificar o padrão de agrupamento dos genótipos foi utilizada a Análise de Componentes
105 Principais (PCA). A PCA foi calculada a partir da matriz de relação genômica e auxiliou na
106 determinação de grupos de indivíduos que podem ou não diferir dentro das raças. Foi utilizada
107 a função “-pca” do *software* PLINK 1.9 (Purcell et al., 2007).

108 Para estimar proporções genéticas individuais compartilhadas entre os indivíduos foi
109 utilizado o *software* ADMIXTURE 1.23 que estima os coeficientes da matriz de
110 ancestralidade através um método de máxima verossimilhança, sem informação prévia de
111 ascendência individual. O número de populações (k) variou de um a 22. O procedimento de
112 validação cruzada, presente no programa, foi usado para definir o melhor k, que deve
113 apresentar baixo erro quando comparado a outros valores de k (Alexander et al., 2009).

114

115 **Resultados**

116 Para caracterizar as diferentes raças aqui avaliadas, foram realizadas Análises de
117 Componentes Principais (Figura 1) para 633.298 marcadores localizados em cromossomos
118 autossômicos. A porcentagem de variância explicada (autovalores) pelo componente principal
119 1 foi maior do que os demais. Primeiro e segundo componentes principais (PC1 e PC2) foram
120 responsáveis por uma variação aproximada de 50,1% e 15,5%, respectivamente.

121 Ao contrastar o primeiro e segundo componentes podemos observar a formação de um
122 triângulo contendo taurinos europeus, taurinos africanos e zebuínos nos vértices. As raças
123 com algum grau de miscigenação encontram-se em posições intermediárias, sendo estas as
124 raças localmente adaptadas Pantaneira e Crioula Lageana e os zebuínos africanos. Os
125 autovetores do primeiro componente principal diferem os taurinos dos zebuínos e a
126 comparação relativa ao segundo componente principal separa as raças africanas das demais.

127 O Senepol encontra-se entre os taurinos europeus e as raças localmente adaptadas,
128 demonstrando a proximidade destas populações com a raça caribenha. Além disso,
129 observamos uma separação das raças zebuínas brasileiras e indianas.

130 Na Figura 2, encontram-se os erros de validação cruzada (CV) para k de um a vinte e
131 dois obtidos no *software* ADMIXTURE. As estimativas de CV diminuem com o aumento do
132 número de populações ancestrais definidas (K) de 1 a 22. Uma representação gráfica da
133 estrutura das populações é detalhada na Figura 3.

134 Para 51.496 marcadores localizados em cromossomos autossômicos, em k=3, os grupos
135 foram divididos em taurinos europeus, taurinos africanos e zebuínos. A raça Senepol
136 apresenta uma composição genética semelhante às raças localmente adaptadas brasileiras,
137 compõe-se, em média, de 86,1% (variando entre 79,7% e 91,3%), 12,5% (variando entre 8,7%
138 e 17,9%) e 1,5% (variando entre 0 e 3,2%) de ascendência taurina europeia, zebuína e taurina
139 africana, respectivamente.

140 Para k=4, as raças taurinas europeias apresentam-se agrupadas contribuindo para as
141 raças localmente adaptadas e o Senepol, que formam um subgrupo misto. Os taurinos
142 africanos mostram-se bem separados dos demais e compartilham alelos com as raças zebuínas
143 do mesmo continente, as quais apresentam compartilhamento alélico semelhante.

144 O Ongole e Gir indianos apresentam um compartilhamento de alelos, mas o Ongole
145 apresenta uma subestruturação populacional. A maior parte do compartilhamento alélico dos
146 zebuínos do Brasil refere-se a uma das subpopulações do Ongole sendo que podemos
147 observar uma taxa de compartilhamento de 68,7%, em média, para o Gir brasileiro e 86,6%
148 para o Nelore do mesmo continente. Tal distribuição pode ser observada no gráfico de PCA
149 1x2 (Figura 1).

150

151

152 **Discussão**

153 O presente estudo fornece uma primeira caracterização genética ao nível molecular da
154 raça Senepol por meio de uma comparação com outras raças representativas dos principais
155 grupos de raças de bovinos distribuídos mundialmente com o diferencial da inclusão de raças
156 localmente adaptadas brasileiras, que tem origem nas raças Ibéricas trazidas pelos
157 colonizadores e predominavam no continente americano na época da formação da raça
158 Senepol, já que não havia bovinos nas Américas em período anterior a colonização (Mariante
159 & Egito, 2002).

160 Em $K = 3$ e 4, observamos que os indivíduos da raça Senepol compartilham alelos
161 com zebuínos, taurinos africanos e, em maior proporção, taurinos europeus. Os resultados da
162 Análise de Componentes Principais também demonstram uma proximidade das raças
163 europeias abordadas no estudo. A predominância de elementos taurinos do continente europeu
164 foi observada em um estudo prévio acerca da ancestralidade Senepol, uma taxa média de 89%
165 do compartilhamento alélico (Flori et al., 2012).

166 A homogeneidade da raça Senepol pode ser aferida em todas as análises, onde não há
167 subestruturação da população e todos os animais mantem-se geneticamente próximos (PCA).
168 A população Senepol brasileira possui uma base fundadora estreita, devido a importação de
169 um pequeno número de animais inicialmente, os quais tiveram uma grande contribuição na
170 constituição do rebanho. Em estudo anterior, foi constatado que em torno de 50% da base
171 genética do rebanho Senepol brasileiro é oriunda de 10 indivíduos (Menezes et al., 2016). A
172 base genética estreita e o investimento em seleção favorecem a fixação de características e a
173 padronização racial (Ridley, 2006).

174 O compartilhamento alélico com a raça N'Dama é menor que as demais raças
175 envolvidas no trabalho, em média 2%. Fato também apontado por Flori et al. (2012) que
176 encontraram uma contribuição ainda menos expressiva, 0,6%. Conforme relatos (Hupp, 1978)
177 o rebanho da raça N'Dama levou nove anos para ser constituído, a partir importações e
178 cruzamentos com o gado local (crioulo) para aumento do plantel.

179 A hipótese lançada é que os cruzamentos absorventes com a população crioula tenham
180 ocorrido favorecendo a fixação de características destas últimas que, associada à seleção de
181 animais mochos oriundos do cruzamento realizado posteriormente com a raça Red Poll,
182 levaram a fixação e a um compartilhamento alélico maior com raças de origem taurina
183 europeia, em detrimento da raça senegalesa.

184 Em um trabalho recente (Ginja et al., 2019) verifica-se que algumas das raças crioulas
185 das Américas possuem uma distância genética menor com o gado africano, sendo que a raça
186 Senepol e a raça Siboney apresentam o menor distância genética observada. É possível que,
187 no momento da formação da raça Senepol, parte dos alelos de origem africana tenham se
188 perdido por deriva genética ou em função da contra seleção realizada para fixação do caráter
189 mocho da raça britânica.

190 A mutação causal para presença ou ausência de cornos caracteriza-se por se expressar
191 através da manifestação de um gene com dois alelos. O alelo dominante condiciona o caráter
192 mocho. Portanto, o fenótipo mocho corresponde ao heterozigoto e ao homozigoto com os dois
193 alelos dominantes. Sendo assim, os cruzamentos de N'Dama (aspados) x Red Poll
194 (completamente mochos) tem sua progênie mochos e com chifres, que provavelmente não
195 foram retidos como reprodutores, levando a uma seleção contrária de indivíduos portadores de
196 ancestralidade taurina africana (Drogemuller et al., 2005; Allais-Bonnet et al., 2013). Em
197 adição, um excesso sugestivo de ancestralidade taurina europeia foi observado nas assinaturas

198 de seleção encontradas nas regiões no cromossomo 1 de bovinos Senepol, onde se localizam o
199 gene para ausência/presença de chifre (Flori et al., 2012).

200 O padrão de compartilhamento alélico do Senepol com as demais raças, encontrado
201 nas análises de ADMIXTURE, é semelhante ao padrão das raças localmente adaptadas
202 brasileiras e nas Análises Componentes Principais, este conjunto, forma um grupo
203 geneticamente mais semelhante. Acredita-se que é mais provável que as raças crioulas de
204 origem Ibérica tenham feito parte da formação da raça Senepol, uma vez que não havia
205 bovinos no Continente Americano antes da colonização (Primo, 1993; Egito et al., 2007;
206 Felius et al., 2011). De Alba (1877) cita o cruzamento de bovinos Senepol com animais
207 crioulos que existiam em Saint Croix.

208 No dendograma gerado por Ginja et al., (2019) é possível observar o agrupamento das
209 raças bovinas de acordo com a sua distribuição continental. A raça Senepol agrupa-se com o
210 conjunto de raças crioulas das Américas (descendentes de raças da Península Ibérica), sendo
211 que este agrupamento se divide em dois subgrupos, os de origem hispânica e os de origem
212 portuguesa. A raça Senepol se enquadra no conjunto de bovinos descendentes da colonização
213 espanhola.

214 Presume-se que parte de sua adaptabilidade aos trópicos, atestada pelas distintas
215 características, possa ter origem ibérica, uma vez que os animais trazidos pelos colonizadores
216 passaram por um processo de seleção natural a partir de sua introdução nesta ilha tropical, ou
217 até mesmo de origem zebuína (Martinez et al., 2012).

218 Foram encontradas assinaturas de seleção no cromossomo 20, dentro do locus do Slick
219 Hair (Flori et al., 2012). Tal mutação confere pelos curtos e finos, permitindo melhor troca de
220 calor (Dikmen et al., 2012; Casas & Kehrlí, 2016). A mutação dos bovinos dessa raça, cuja

221 origem ainda não é totalmente conhecida, é semelhante à de Romosinuano e Criollo
222 Limonero, com isso acredita-se que é possível que tenha derivado de raças crioulas (Huson et
223 al., 2014).

224 Em K4 o Ongole apresenta uma subestruturação evidenciando a presença de
225 subpopulações dentro da raça indiana. Na Índia, os melhores animais de tração desta raça
226 foram desenvolvidos entre o Sul do Rio Krishna e Norte do Rio Penna e animais com melhor
227 produção de leite nos deltas do Rio Godavari (Gaur et al., 2002).

228 Esses grupos distintos podem apresentar diferentes composições genéticas,
229 evidenciadas nas análises de ADMIXTURE, seja pelas diferentes aptidões ou por
230 compartilharem diferentes alelos em função de sua distribuição geográfica ou seleção
231 realizada pelo criador, visto que as amostras utilizadas nas análises são provenientes de
232 diferentes rebanhos indianos.

233 Alguns animais da raça Gir da Índia apresentam alelos originários dessa subpopulação,
234 assim como os zebuínos brasileiros. Os dados sugerem que grande parte dos zebuínos que
235 chegaram às Américas, no início do século XX, é proveniente dessa subpopulação. Além
236 disso, mesmo com aptidão leiteira, o Nelore que chegou ao Brasil passou a ser selecionado
237 para características de corte, oposto do Gir que foi selecionado para caráter leiteiro, fixando
238 determinadas características que diferenciaram ambos.

239 Parte destes alelos zebuínos são compartilhados com a raça Senepol. Foi encontrada
240 uma proporção de até 15% de alelos zebuínos dentro da população Senepol estudada.
241 Resultado semelhante foi encontrado em estudos prévios que apontam uma ancestralidade
242 zebuína ao longo do genoma Senepol de 10,4% (Flori et al., 2012).

243 No mesmo trabalho que estudou a ancestralidade dos bovinos crioulos das Américas
244 foi observada uma importante influência de *Bos indicus*, especialmente em raças criadas em
245 áreas tropicais (Ginja et al., 2019). Esse trabalho enquadra o Senepol nesse grupo. Com isso,
246 sugere-se que essa introgressão tenha vindo de bovinos crioulos existentes na região no
247 momento da formação da raça.

248 O mesmo autor, em um trabalho anterior, cita que os crioulos retêm assinaturas
249 genéticas da sua ascendência ibérica e introgressões mais recentes de zebu e raças britânicas
250 (Ginja et al., 2010). Aventa-se também que pode existir uma possibilidade deste material de
251 origem zebuína também ter sido introduzido, de maneira ainda não evidente, por meio de
252 cruzamentos fora da Ilha de Saint Croix, por exemplo, com animais Brahmans nos Estados
253 Unidos.

254 **Conclusões**

255 A raça Senepol pode ser considerada um grupamento genético distinto, com características
256 particulares e apresenta uma forte contribuição genética de origem taurina europeia. Possui
257 introgressão de alelos de origem zebuína, demonstrando uma maior parcela compartilhada do
258 que a raça taurina africana N'Dama. A raça Senepol compartilha alelos com as raças de
259 origem ibérica evidenciando a existência de cruzamentos absorventes com bovinos crioulos
260 nativos da ilha de Saint Croix no momento da formação da raça.

261

262 **REFERÊNCIAS**

263 **Allais-Bonnet, A., Grohs, C., Medugorac, I., Krebs, S., Djari, A., Graf, A., ... & Bouet, S.**
264 2013. Novel insights into the bovine polled phenotype and horn ontogenesis in
265 Bovidae. PloS One, 8(5), e63512.

- 266 **Alexander, D.H., Novembre, J. and Lange. K.** 2009. Fast model-based estimation of
267 ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9), 1655-1664.
- 268 **Bovine HapMap Consortium.** 2009. Genome-wide survey of SNP variation uncovers the
269 genetic structure of cattle breeds. *Science*, 324(5926), 528-532.
- 270 **Casas, E., Kehrli, M. E. Jr.** 2016. A review of selected genes with known effects on
271 performance and health of cattle. *Front. Vet. Sci.* 3, 113.
- 272 **da Silva, A. L., Sato, G. Y. P., de Andrade Bordin, R., & Reis, H. M. G.** 2018. A Raça
273 Senepol como opção para Melhoramento Genético em Adaptabilidade ao Clima
274 Tropical. *Tekhne e Logos*, 9(1), 16-30.
- 275 **de Alba, J.** 1987 Criolo cattle of Latin America. In: Hodges J, ed. *Animal Genetic* 229
276 *Resources: Strategies for Improved Use and Conservation* FAO Animal Production
277 and 230 Health Paper 66 Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the
278 United Nations. 231, 17–40.
- 279 **Decker, J. E., McKay, S. D., Rolf, M. M., Kim, J., Alcalá, A. M., Sonstegard, T. S., ... &**
280 **Babar, M. E.** 2014. Worldwide patterns of ancestry, divergence, and admixture in
281 domesticated cattle. *PLoS genetics*, 10(3), e1004254.
- 282 **de Paula, D.; Corsi, F.; Corsi; M. H.** 2018. *Linhagens do Senepol. Os Genearcas da Raça –*
283 *de Saint Croix para o Brasil e do Brasil para o Mundo. 1ª ed. Uberlândia – MG, 2018.*
- 284 **Dikmen, S., Khan, F. A., Huson, H. J., Sonstegard, T. S., Moss, J. I., Dahl, G. E., et al.**
285 2014. The SLICK hair locus derived from Senepol cattle confers thermotolerance to
286 intensively managed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 97(12), 5508–5520.

- 287 **Drögemüller, C., Wöhlke, A., Mömke, S., & Distl, O.** 2005. Fine mapping of the polled
288 locus to a 1-Mb region on bovine chromosome 1q12. *Mammalian Genome*, 8(7), 613-
289 620.
- 290 **Egito, A. A., Paiva, S. R., Maria Do Socorro, M., Mariante, A. S., Almeida, L. D., Castro,**
291 **S. R., & Grattapaglia, D.** 2007. Microsatellite based genetic diversity and
292 relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. *BMC*
293 *Genetics*, 1, 83.
- 294 **Felius, M., Koolmees, P. A., Theunissen, B., Lenstra, J. A., & European Cattle Genetic**
295 **Diversity Consortium.** 2011. On the breeds of cattle—historic and current
296 classifications. *Diversity*, 4(32), 660-692.
- 297 **Flori, L., Gonzatti, M. I., Thevenon, S., Chantal, I., Pinto, J., Berthier, D., ... & Gautier,**
298 **M.** 2012. A quasi-exclusive European ancestry in the Senepol tropical cattle breed
299 highlights the importance of the slick locus in tropical adaptation. *PloS One*, 5,
300 e36133.
- 301 **Gaur, G. K., Kaushik, S. N., & Garg, R. C.** 2002. Ongole cattle status in India. *Animal*
302 *Genetic Resources*. 32(7), 27-34.
- 303 **Ginja, C., Penedo, M. C. T., Melucci, L., Quiroz, J., Martinez Lopez, O. R., Revidatti,**
304 **M. A., ... & Gama, L. T.** 2010. Origins and genetic diversity of New World Creole
305 cattle: inferences from mitochondrial and Y chromosome polymorphisms. *Animal*
306 *Genetics*, 41(13), 128-141.

- 307 **Ginja, C., Gama, L. T., Cortés, O., Burriel, I. M., Vega-Pla, J. L., Penedo, C., ... &**
308 **Alvarez, L. A.** 2019. The genetic ancestry of American creole cattle inferred from
309 uniparental and autosomal genetic markers. *Scientific Reports*, 1(15), 1-16.
- 310 **Hupp, H. D.** 1978. History and development of Senepol cattle Agricultural Experiment
311 Station, College of the Virgin Islands.
- 312 **Huson, H. J., Kim, E. S., Godfrey, R. W., Olson, T. A., McClure, M. C., Chase, C. C., ...**
313 **& Sonstegard, T. S.** 2014. Genome-wide association study and ancestral origins of
314 the slick-hair coat in tropically adapted cattle. *Frontiers in Genetics*, 5, 101.
- 315 **Illumina, I.** 2010. BovineHD Genotyping BeadChip. Data Sheet: Agrigenomics.
316 [https://support.illumina.com/array/array_kits/bovinesnp50-beadchip-](https://support.illumina.com/array/array_kits/bovinesnp50-beadchip-kit/documentation.html)
317 [kit/documentation.html](https://support.illumina.com/array/array_kits/bovinesnp50-beadchip-kit/documentation.html) [2 Julho 2019]
- 318 **Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., & Cunningham, P.** 1994.
319 Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National*
320 *Academy of Sciences*, 91(7), 2757-2761.
- 321 **Mariante, A. D. S., Egito, A. A.** 2002. Animal genetic resources in Brazil: result of five
322 centuries of natural selection. *Theriogenology*, 57(12), 223-235.
- 323 **Mariasegaram, M., Chase Jr, C. C., Chaparro, J. X., Olson, T. A., Brenneman, R. A., &**
324 **Niedz, R. P.** 2007. The slick hair coat locus maps to chromosome 20 in Senepol-
325 derived cattle. *Animal Genetics*, 38(1), 54-59.
- 326 **Martinez, A. M., Gama, L. T., Canon, J., Ginja, C., Delgado, J. V., Dunner, S., et al.**
327 2012. Genetic footprints of Iberian cattle in America 500 years after the arrival of
328 Columbus. *PLoS One*. 7, e49066.

- 329 **McTavish, E. J., Decker, J. E., Schnabel, R. D., Taylor, J. F., & Hillis, D. M.** 2013. New
330 World cattle show ancestry from multiple independent domestication events.
331 Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(15), E1398-E1406.
- 332 **Menezes, G.R.O.; Okamura, V.; Torres Junior, R. A. A.; Santana Junior, M. L.; Gondo,**
333 **A.; Silva, L. O. C.; Egito, A. A.; Rosa, A. N.; Nobre, P. R. C.** 2016. Variabilidade
334 genética da raça Senepol no Brasil. In: Menezes, G. R. O.; Nobre, P. R. C.; Torres
335 Junior, R. A. A.; Gondo, A.; Silva, L. O. C.; SILVA, L. N. (Ed.). Sumários Senepol
336 2016: sumário de touros Senepol Geneplus-Embrapa. Brasília, DF: Embrapa, n. 76.
- 337 **Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., ... &**
338 **Sham, P. C.** 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-
339 based linkage analyses. The American Journal of Human Genetics, 3(16), 559-575.
- 340 **Primo, A. T.** 1992. El ganado bovino ibérico en las Américas: 500 años después. Archivos de
341 Zootecnia, 41, 13.
- 342 **Ridley, M.** 2006. Evolução. 3th, p. 752. Artmed, Porto Alegre.
- 343 **Rouse, J.E.** 1977. The Criollo, Spanish Cattle in the Americas. University of Oklahoma
344 Press, Norman.
- 345
346
347
348
349
350
351
352

353

TABELAS, FIGURAS E GRÁFICOS

354

355 Tabela 1. Relação das raças bovinas avaliadas, suas origens, grupo genético, siglas adotadas,
356 número amostras (N) e origem dos genótipos (colaboradores).

Origem	Grupo	Raça	Siglas	N	Colaboradores
Brasil	Zebuíno	Nelore	NE	20	HapMap
Brasil	Zebuíno	Gir	GI	20	HapMap
Ásia	Zebuíno	Ongole	ON	15	Embrapa Gado de Leite
Ásia	Zebuíno	Gir	GI_I	15	Embrapa Gado de Leite
África	Zebuíno	Butana	BU	10	Olivier Hanotte
África	Zebuíno	Kenana	KN	10	Olivier Hanotte
África	Zebuíno	Sheko	SH	10	Olivier Hanotte
África	Zebuíno	Shorthorn Zebu	SZ	20	Olivier Hanotte
África	Taurino	N'Dama	ND	20	Olivier Hanotte
África	Taurino	Muturu	MT	20	Olivier Hanotte
Europa	Taurino	Braunvieh	BV	10	HapMap
Europa	Taurino	Simental	SI	10	HapMap
Europa	Taurino	Alentejana	AL	10	HapMap
Europa	Taurino	Charolês	CH	10	HapMap
Europa	Taurino	Norueguês Vermelho	NV	10	HapMap
Europa	Taurino	Red Poll	RP	10	HapMap
Europa	Taurino	Piemontês	PI	10	HapMap
Europa	Taurino	Romagnola	RO	10	HapMap
Brasil	Taurina Localmente Adaptada	Caracu	CA	10	Embrapa Gado de Leite
Brasil	Taurina Localmente Adaptada	Crioulo Lageano	CL	10	Embrapa Gado de Leite
Brasil	Taurina Localmente Adaptada	Pantaneiro	PA	10	Embrapa Gado de Leite
Brasil	Taurino	Senepol	SEN	20	Embrapa Gado de Corte

357

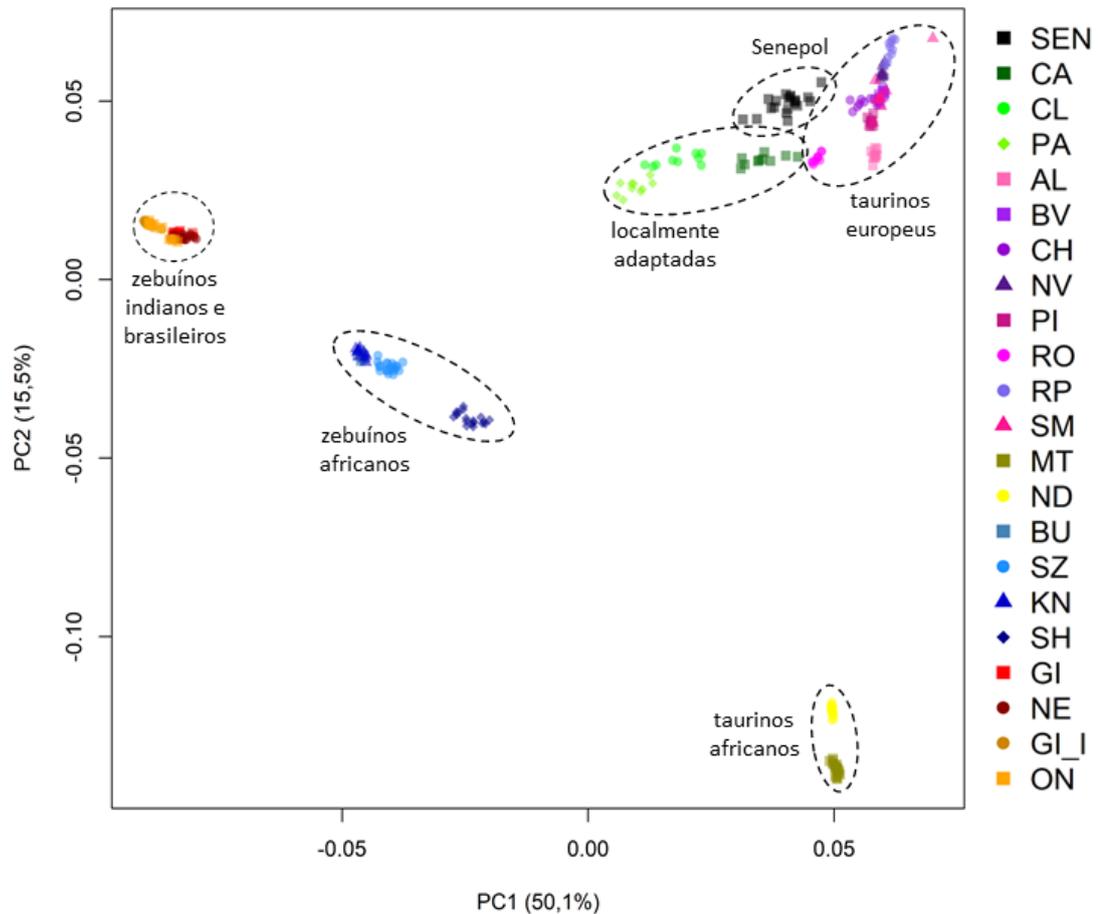
358

359

360

361

362



363

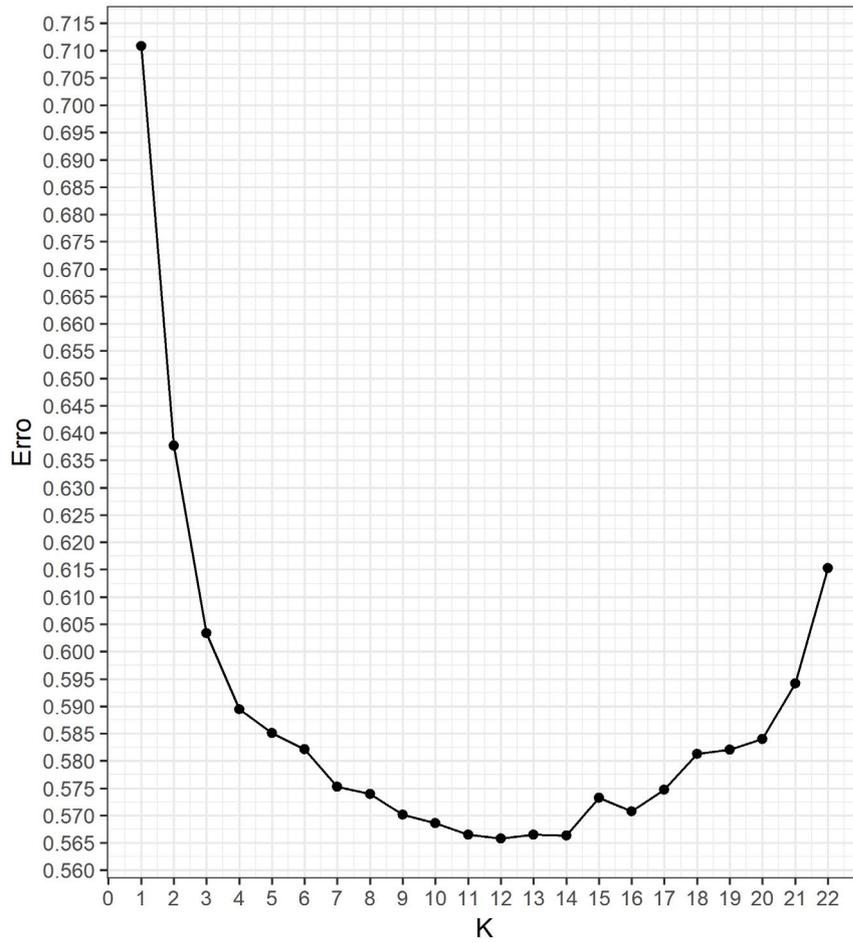
364 Figura 1. Gráfico dos dois primeiros componentes principais (PC) obtidos para as raças
 365 estudadas. SEN – Senepol; CA – Caracu; CL – Criolo Lageano; PA – Pantaneiro;
 366 AL – Alentejana; BV – Braunvieh; CH – Charolês; NV – Norueguês Vermelho; PI
 367 – Piemontês; RO – Romagnola; RP – Red Poll; SM – Simental; MT – Muturu; ND
 368 – N’Dama; BU – Butana; SZ – Shorthorn Zebu; KN – Kenana; SH – Sheko; GI –
 369 Gir brasileiro; NE – Nelore brasileiro; GI_I – Gir indiano e ON – Ongole.

370

371

372

373



374

375 Figura 2 – Análise do erro de validação cruzada: estimativa do erro de predição para avaliar o
376 melhor K nas análises de ADMIXTURE

377

378

379

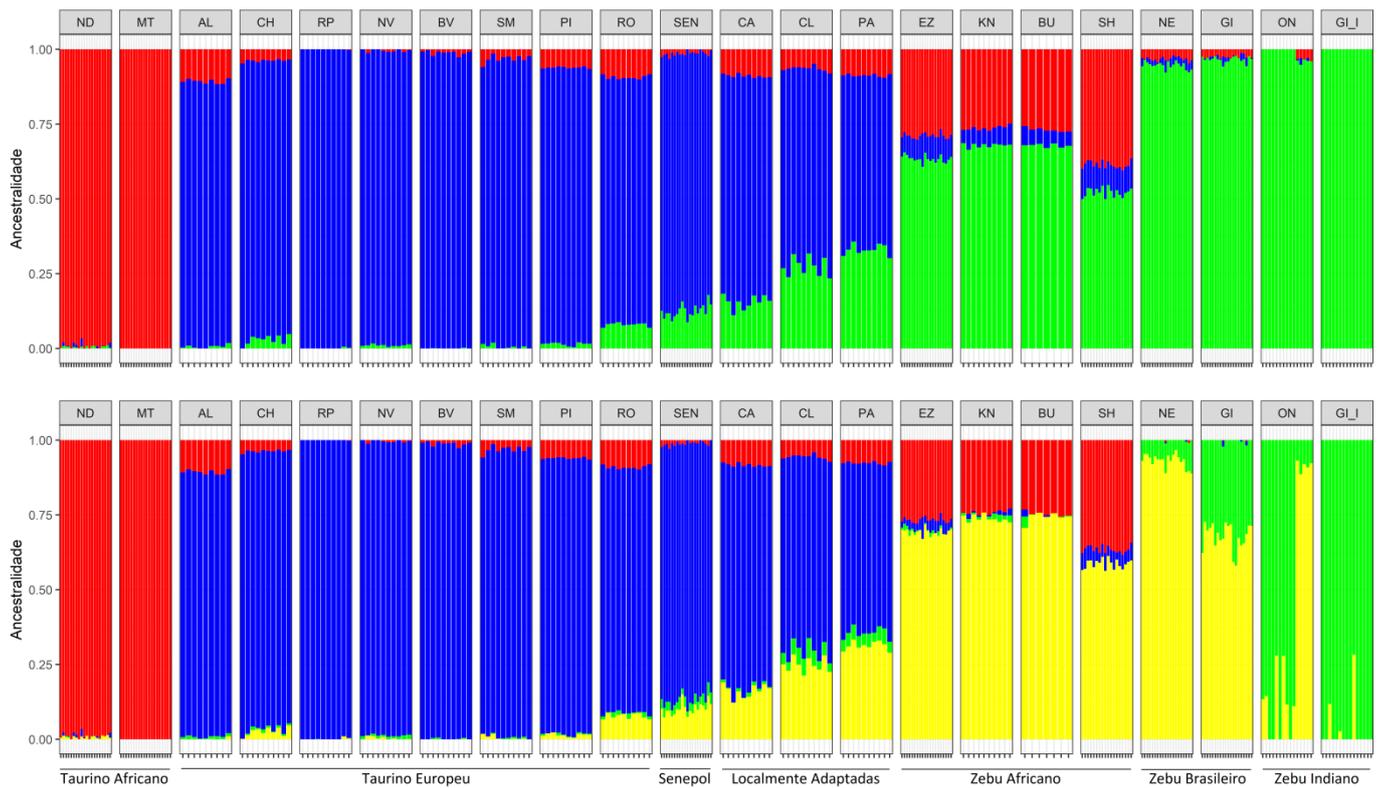
380

381

382

383

384



385

386 Figura 3. Agrupamento de 22 populações de gado com base em Análise de ADMIXTURE
 387 (Alexander et al., 2009) em valores de K iguais a 3 e 4. Cada indivíduo é
 388 representado por uma única linha vertical dividido em segmentos coloridos K, em
 389 que K é o número do agrupamento assumido ter comprimento proporcional a cada
 390 contribuição genética do grupo. SEN – Senepol; CA – Caracu; CL – Crioulo
 391 Lageano; PA – Pantaneiro; AL – Alentejana; BV – Braunvieh; CH – Charolês; NV
 392 – Norueguês Vermelho; PI – Piemontês; RO – Romagnola; RP – Red Poll; SM –
 393 Simental; MT – Muturu; ND – N’Dama; BU – Butana; SZ – Shorthorn Zebu; KN –
 394 Kenana; SH – Sheko; GI – Gir brasileiro; NE – Nelore brasileiro; GI_I – Gir
 395 indiano e ON – Ongole.

396

397