



UNIVERSIDADE
DE ÉVORA

Caracterização genética por marcadores genéticos da raça Bovina Garvonesa

2024

Caracterização genética por marcadores genéticos da raça bovina Garvonesa

Universidade de Évora, Departamento de Zootecnia

Membros da Equipa:

Andreia Amaral (investigadora responsável)

andrea.fonseca@uevora.pt

Fábio Teixeira

fabio.teixeira@uevora.pt

Carlos Bettencourt

CEBA - Herdade da Abobada

7830 Vila Nova de São Bento

PORTUGAL

Tel: (+351) 284549393

cmvb.abobada@drapal.min-agricultura.pt



Ana Rita Simões

Associação de Agricultores do Campo Branco

Av. Bombeiros Voluntários, nº13

7780-122 Castro Verde

PORTUGAL

Tel: 286 327293 fax: 286 328583

aacampobranco@sapo.pt



Caracterização genética por marcadores genéticos

Introdução

A caracterização genética por análise de marcadores genéticos foi realizada pelo Departamento de Zootecnia da Universidade de Évora. Esta avaliação teve como objetivo quantificar o nível de consanguinidade e diversidade genética da raça.

Métodos

Na última amostragem que decorreu entre mês 2024, foram recolhidas amostras de sangue de um total de 15 Machos e 311 fêmeas (Tabela 1). Após extração de DNA foi efetuada a genotipagem com sucesso em 91 amostras utilizando o painel de elevada densidade [aproximadamente ~770 mil SNPs (*single nucleotide polymorphisms*)] produzido pela Illumina e em 216 amostras utilizando o chip GGP100K produzido pela NeoGen. A genotipagem foi realizada por prestação de serviços da empresa Neogen. Foi efetuada a análise e filtragem dos dados genotípicos obtidos utilizando o software PLINK v.190b6.21. Utilizando o mesmo software foram estimados os seguintes parâmetros para estes dados e integrando os dados de genotipagem gerados em 2024 (ver relatório 2023): a) heterozigotia observada; b) heterozigotia esperada; c) deteção de segmentos em homozigotia e respetivo comprimento; d) distâncias genéticas e relação entre explorações; f) nível de consanguinidade.

Resultados

Após a verificação de pressupostos de qualidade para os genótipos dos vários animais, relativamente aos animais genotipados com o chip HD não foram removidas amostras, com o chip 100KGGP continuaram para análise 210. Resultando um total de 575,454 SNPs do chip HD e de um total de 77,879 SNPs do chip GGP100K que são polimórficos nesta raça, nesta amostragem.

Da amostragem de 2023, resultou a genotipagem de 124 animais para 540,503 SNPs polimórficos. Todos estes dados foram integrados para os resultados que são seguidamente apresentados.

Com base nas frequências alélicas foram estimadas distâncias genéticas e foi efetuada uma **análise de componentes principais** que permite visualizar a estrutura populacional (Figura 1). Os resultados mostram que para a maioria das explorações, tal como esperado os animais em cada exploração são mais semelhantes entre si geneticamente, com menores distâncias genéticas entre animais nas herdades com a marca PTWT09A e PTWT70M. Há explorações PTWV18A e PTWY1AB que apresentam maior variabilidade dentro da exploração. De destacar que os valores de variabilidade explicados pelas PC1 e PC2 são elevados, mostrando que dentro da raça existe variabilidade genética conservada e que a raça tem potencial para um plano de melhoramento.

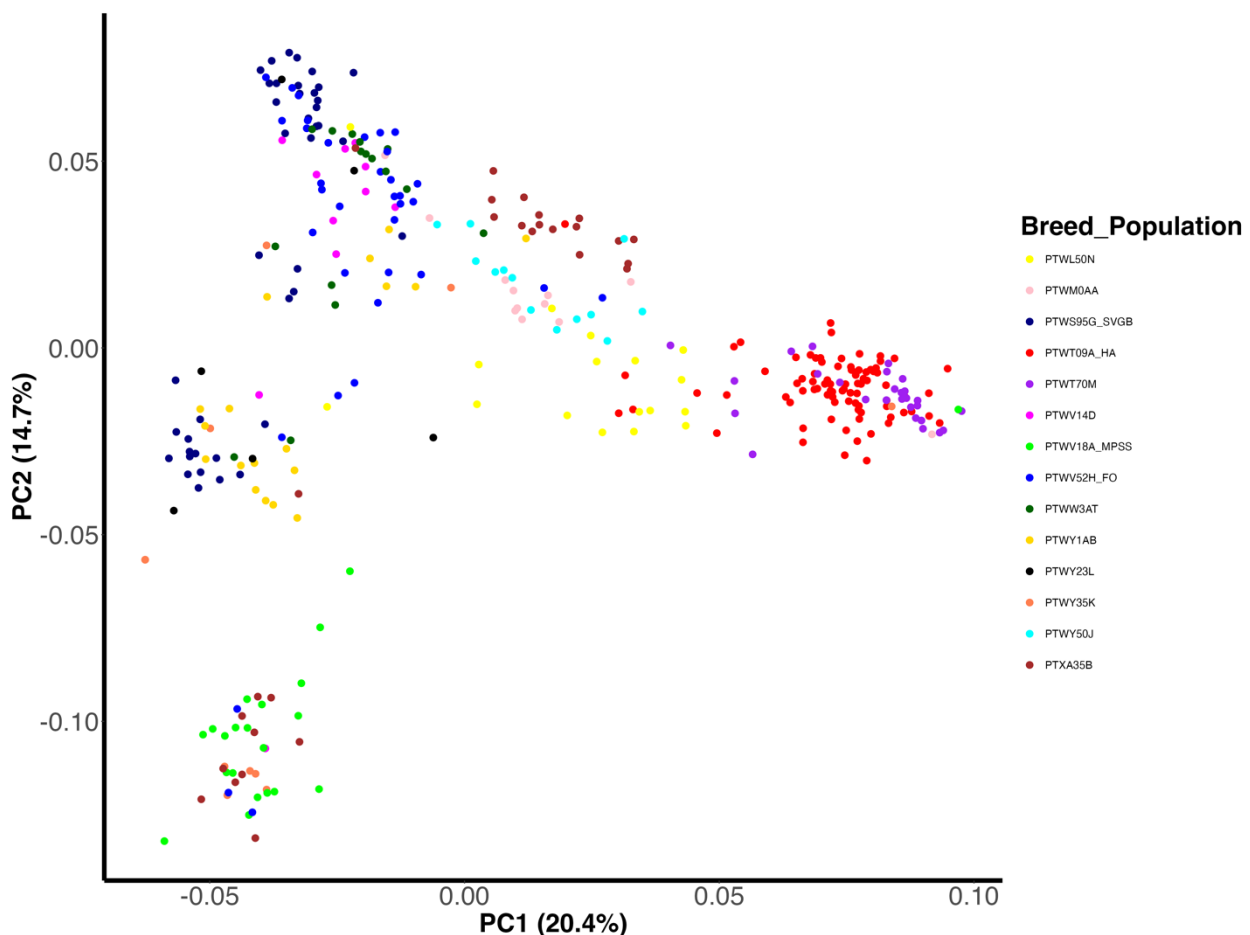


Figura 1- Análise de componentes principais. Esta análise foi efetuada com base em 540,503 genótipos de 124 animais amostrados em 5 explorações. AFO- Alcaria Formosa – Ourique; HA- Herdade da Abóbada; MPSS- Monte da Pipa - Santana da Serra; SVGB- Sesmarias Velhas do Guadiana – Baleizão; TSS- Tacanho- S. Serra.

Seguidamente, efetuou-se uma análise do nível de homozigotia observado para cada marcador genético em cada indivíduo (Tabela 2). Em média, aproximadamente 67.8% e 64.7% dos marcadores genotipados com o chip HD ou com o chip GGP100K estão em estado de homozigotia para cada animal, sendo esta calculada como a razão entre o número de marcadores em homozigotia relativamente ao número total de marcadores. Isto indica a existência de um baixo nível de heterozigotia e variabilidade genética na população amostrada.

Tabela 2- Número médio de marcadores observado e esperado (em equilíbrio de Hardy-Weinberg).

	O(HOM)	E(HOM)	N(NM)	%HOM
Média (Genotipagem chip HD)	388,457.72	386,822.11	572,646.42	67.8
Média (Genotipagem chip GGP100K)	45,455.84	44,846.09	70,277.51	64.7

A existência de homozigotia, ou seja, a ocorrência de dois alelos iguais num *locus*, pode ser devida ao acaso, ou ao facto de que um indivíduo herdou dois alelos iguais em consequência de os seus pais partilharem um (ou mais) ascendente comum. Quando os ascendentes comuns aos pais ocorreram em gerações recentes há acumulação de homozigotia em *loci* próximos. Desta forma foi efetuada uma análise de deteção de fragmentos do genoma em estado de homozigotia (ROH). A fração entre a extensão destes fragmentos e o comprimento total do genoma permite estimar de forma mais precisa o nível de consanguinidade genómica para cada animal e consequentemente para a população analisada. Os resultados desta análise (Figura 2) revelaram que a ocorrência destes fragmentos é elevada nos animais analisados e destaca-se no facto de que a frequência de segmentos mais longos é ligeiramente superior a 30% o que sugere a ocorrência de consanguinidade em gerações recentes (menos do que do 10).

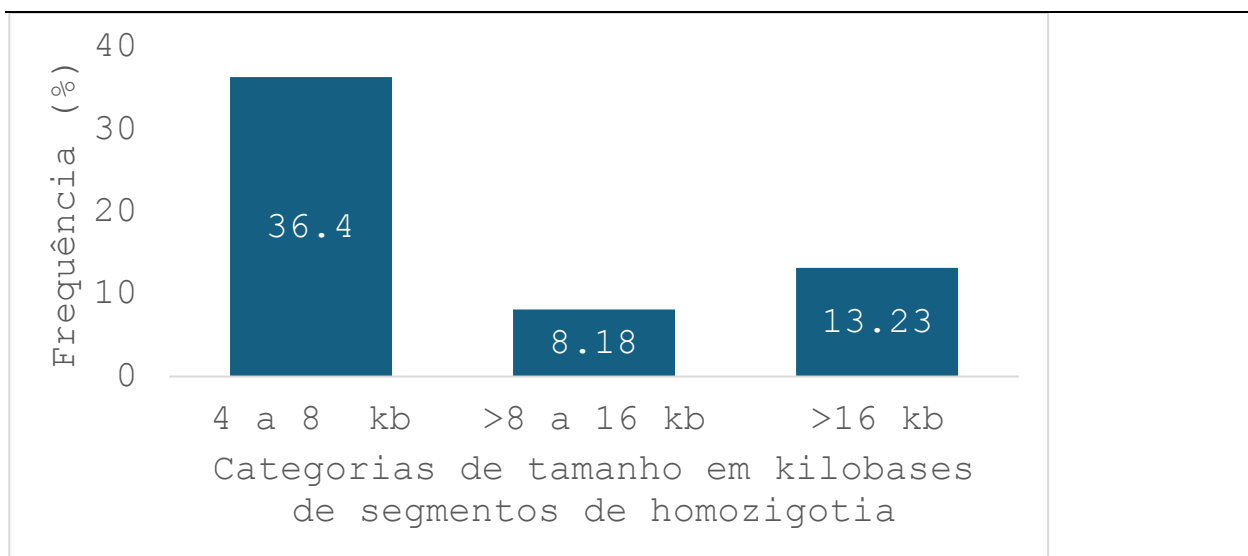


Figura 2- Frequência de segmentos homozigotia agrupados por categoria de comprimento no genoma (Kb). Valor mínimo considerado 4 Mb.

Na tabela 3 pode observa-se que os níveis de consanguinidade variam entre moderados a valores excessivamente elevados, dependendo dos animais (Tabela 3). Em comparação com a amostragem de 2023, observamos que com uma amostragem de 436, observamos uma diminuição do comprimento dos segmentos de homozigotia, mas apesar de uma ligeira diminuição do valor de consanguinidade estimado (F_{ROH}) de 0.16 para 0.15, esta realização de uma amostragem mais alargada resultou numa maior robustez da estimativa (o valor do desvio padrão mantém-se o mesmo). Nesta amostragem foram observados valores de $F_{ROH}=0$, o que significa sem consanguinidade. Estes resultados têm que ser averiguados.

Tabela 3- Sumário estatístico referente à análise de detecção de segmentos de homozigotia (ROH). Valor mínimo considerado 4 Mb.

Parâmetro	Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo
MN_ROH ^a	51.91	20.37	0	202
F _{ROH} ^b	0.15	0.08	0	0.46
L_ROH (Mb) ^c	7.9	2.1	0	17
SNPs ^d	1399.31	1291.57	151.00	5235.31

a- Número médio de fragmentos ROH observado/animal

b- Coeficiente de consanguinidade genômico estimado (F_{ROH}= fração do genoma coberto por fragmentos ROH)

c- Comprimento médio dos fragmentos ROH em Mb observados/animal (valor mínimo considerado 4 Mb).

d- Número de SNPs observados por fragmento de ROH

Estimativa de Tamanho efetivo da população

Os níveis elevados de consanguinidade encontrados, tanto genealógicos como moleculares, são coerentes com a redução do tamanho efetivo da população (Ne- número de animais que efetivamente transmitem informação genética para a geração seguinte). De acordo com a informação genômica obtida, estima-se que o Ne na raça Garvonesa tenha vindo a diminuir e que há 13 gerações atrás tenha sido constituída por um grupo muito reduzido de animais (N_e=47).

Tabela 4 – Estimativa de tamanho efetivo da população

Número de gerações passadas	Ne (2023)	Ne(2025)
13	47	
15	52	
17	59	

Considerações Finais

O estudo desenvolvido permitiu quantificar de forma precisa os níveis de consanguinidade numa amostra de animais da raça Garvonesa, assim como a relação genética entre os diferentes criadores. O nível de consanguinidade observado em alguns casos é preocupante. Verifica-se também que o fluxo genético entre explorações não parece ser elevado.

De futuro aconselha-se:

- a) a implementar de forma rotineira a genotipagem pelo menos dos animais reprodutores de forma a ter registos de pedigree fiáveis e manter a consanguinidade controlada.
- b) Estabelecer formas de aumentar fluxo genético entre explorações através da troca de reprodutores ou utilizando inseminação artificial
- c) Maximizar a contribuição genética de animais com menor grau de parentesco global, de forma a baixar o F_{ROH} e a aumentar o nível de heterozigotia na população.
- d) Em relação à conservação no banco de germoplasma aconselha-se a que sejam amostrados animais de um universo abrangente ao nível das explorações e dando primazia às explorações que apresentam maiores níveis de variabilidade genética de acordo com a análise de PCA.