

Estudo da Diversidade Genética da Raça Suína Bísara com Base em Dados Genealógicos

Susana Diegues Fernandes

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de
Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Mestre
em Tecnologia da Ciência Animal*

Orientado por

Vasco Augusto Pilão Cadavez

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri

**Bragança
2021**

Agradecimentos

Desejo expressar o meu profundo e sincero agradecimento a todos os que contribuíram e tornaram possível a realização deste trabalho, pelo que agradeço:

Ao Professor Doutor Vasco Augusto Pilão Cadavez, pela sua disponibilidade como coordenador deste trabalho, pela cedência de bibliografia, pela cuidadosa revisão do texto e pelos valiosos conselhos que enriqueceram este trabalho.

À ANCSUB – Associação Nacional de Criadores de Suínos de Raça Bísara, pela disponibilidade dos dados fornecidos para o tratamento estatístico.

À minha família: Marido, Pais, Irmã, Cunhado e aos meus queridos Afilhados, pelo apoio incondicional, compreensão e paciência que sempre me dedicaram.

Aos meus amigos e colegas e a todos aqueles que não referi, pelos bons momentos compartilhados e pela sua amizade.

A Todos, Muito Obrigado.

Resumo

Este trabalho teve como objectivo estudar a diversidade genética dos suínos de raça Bísara através da análise do pedigree. Os dados, relativos ao período de 1995 a 2020, foram colhidos na base de dados da Associação Nacional de Criadores de Suínos de Raça Bísara (ANCSUB). Foi avaliado o grau de preenchimento dos ficheiros de pedigree e da população activa. O número e a proporção de animais com ambos os pais conhecidos, com a mãe ou o pai conhecidos foram calculados recorrendo a um procedimento SQL. Os parâmetros de diversidade genética, do pedigree e da população activa que incluía os animais nascidos entre 2014 e 2020, foram calculados com o software PEDIG. O número efectivo de fundadores foi de 162,5 para os machos e 159,7 para as fêmeas. Uma elevada proporção (44,7%) dos animais da população activa são consanguíneos, e a sua consanguinidade média foi de 17,4%. Estes resultados sugerem que a população de suínos da raça Bísara necessita de monitorização de forma a evitar a perda de variabilidade genética.

Abstract

The objective of this work was to study the genetic diversity of the Portuguese autochthonous pig breed Bísara by pedigree analysis. Data of Bísara pigs breed was taken from the database of the Associação Nacional de Criadores de Suínos de Raça Bísara (ANCSUB) concerning the period from 1995 to 2020. For both, pedigree and active population files completeness was evaluated. The number and the proportion of animals with both parents known, sire known, and dam known were computed using a SQL procedure. Population genetic diversity parameters were computed, using the PEDIG software package, for the active population which included animals born from 2014 to 2020. The effective number of founders was 162.5 for boars and 159.7 for sows, while the number of ancestors contributed with 50% of the genes in the breed pool gene was 51.0 for boars and 53.0 for sows. A high proportion (42,1%) of animals in the active population are inbred, and the mean inbreeding coefficient was 17.4%. These results suggest that the Bísara pig population needs monitoring in order to avoid the loss of genetic variability.

Conteúdo

Agradecimentos	ii
Abstract	iii
Lista de Tabelas	viii
Lista de Figuras	ix
Capítulo 1 Revisão bibliográfica	1
1.1 Introdução	1
1.2 Características dos suínos da raça Bísara	6
1.2.1 Padrão da raça	7
1.2.2 Alguns dados produtivos	8
1.2.3 Sistema de produção	9
1.2.4 Área de distribuição da raça	10
1.3 Diversidade genética	12
1.3.1 Caracterização da diversidade genética	14
1.3.2 Métodos de estudo da variabilidade genética	16
1.3.2.1 Marcadores Morfológicos	17

1.3.2.2	Marcadores Bioquímicos	18
1.3.2.3	Polimorfismos de DNA	18
1.3.2.4	Polimorfismos do comprimento dos fragmentos de res- trição	19
1.3.2.5	Polimorfismos de DNA amplicados ao acaso	20
1.3.2.6	Polimorfismos do fragmentos amplicados	20
1.3.2.7	Microssatélites	20
1.3.3	Parâmetros de diversidade genética	23
1.3.3.1	Frequência alélica	24
1.3.3.2	Heterozigotia	24
1.3.3.3	Conteúdo de informação polimórfica	25
1.3.3.4	Distância Genética	26
1.4	Uso de dados genealógicos para estudar a diversidade genética	27
1.4.1	Qualidade do pedigree	28
1.4.2	Intervalo entre gerações	29
1.4.3	Tamanho efectivo da população	29
1.4.4	Número efectivo de fundadores	31
1.4.5	Número efectivo de ancestrais	31
1.4.6	Número efectivo de genomas fundadores	32
1.4.7	Coeficientes de consanguinidade e de parentesco	32
1.5	Referências bibliográficas	33
Capítulo 2 Trabalho experimental		39
2.1	Material e métodos	39

2.1.1	Dados	39
2.1.2	Construção do pedigree	40
2.1.3	Qualidade do pedigree	40
2.1.4	Consanguinidade e parentesco	40
2.1.5	Tamanho efectivo da população	41
2.1.6	Intervalo entre gerações	42
2.1.7	Diversidade genética	42
2.2	Resultados e discussão	45
2.2.1	Qualidade do pedigree	45
2.2.2	Consanguinidade	47
2.2.3	Intervalo entre gerações	50
2.2.4	Probabilidade de origem dos genes	51
2.3	Conclusões	53
2.4	Referências bibliográficas	53

Lista de Tabelas

2.1	Grau de preenchimento do pedigree e da população activa dos suínos da raça Bísaro	46
2.2	Classes de consaguinidade do pedigree e da população activa da raça Bísaro	48
2.3	Intervalo entre gerações para os quatro caminhos progenitor-descendente dos reprodutores que produzem descendentes reprodutores	51
2.4	Número de fundadores (f), número efectivo de fundadores (f_e), número efectivo de ancestrais (f_a), número efectivo de genomas (f_g), número de ancestrais que contribuíram com 50% dos genes presentes no pool de genes (N_{50}) da população activa e contribuição dos ancestrais mais importantes (C_{max}) da raça Bísara	52

Lista de Figuras

1.1	Exemplares macho (esquerda) e fêmea (direita) da raça Bísara	7
1.2	Região de Trás-os-Montes (Distritos de Bragança e de Vila Real), a área a cinzento representa os concelhos onde existem explorações de suínos de raça Bísara	10
1.3	Evolução do número de fêmeas reprodutoras e de varrascos de raça Bísara de 2005 a 2021	11
2.1	Grau de preenchimento do pedigree dos suínos da raça Bísara	47
2.2	Evolução e distribuição anual do coeficiente de consanguinidade (%) dos animais consanguíneos da população de suínos da raça Bísara	49

Nomenclatura

AFLPs Polimorfismos do comprimento do fragmento amplificado

ANCSUB Associação Nacional de Criadores de Suínos de Raça Bísara

d distância genética

DOP Denominação de Origem Protegida

F coeficiente de consanguinidade

f coeficiente de parentesco

fa número efectivo de ancestrais

fe número efectivo de fundadores

fg número efectivo de genomas fundadores

GMD ganho médio diário

$H_{\{e\}}$ heterozigotia esperada

$H_{\{o\}}$ heterozigotia observada

IGP Indicação Geográfica Protegida

-
- L intervalo entre gerações
- Ne tamanho efectivo da população
- NEGC número equivalente de gerações conhecidas
- PCR reacção em cadeia da polimerase
- PIC conteúdo de informação do polimórfica
- RA riqueza alélica ou número de alelos
- RAPDs ADN amplificado aleatoriamente
- RFLPs Polimorfismos do comprimento dos fragmentos de restrição
- RZ Registo Zootécnico
- SSR Repetições de sequências simples
- STRs Repetições em tandem de cadeias curtas

Capítulo 1

Revisão bibliográfica

1.1 Introdução

No primeiro recenseamento geral do efectivo pecuário realizado em Portugal (Direcção Geral do Commercio e Industria, 1870), o porco Bísaro foi definido como o “porco esgaldado pernalto e de orelhas pendentes criado nas províncias do centro e Norte do reino”. De facto, a criação de suínos da raça Bísara conheceu, em tempos passados, grande expressão em Trás-os-Montes, onde a batata e a castanha desempenhavam um importante papel na sua alimentação (Taborda, 1932). Nas décadas de 70 e 80, a intensificação da produção animal conduziu a uma diminuição, quase fatal, do efectivo da raça Bísara, os quais submetidos a cruzamentos sucessivos (Carvalho, 2014) com animais de raças exóticas, seleccionadas e melhoradas para a produção de carne, de crescimento rápido e com maior teor de carne magra na carcaça. Até aos anos de 1990, os animais desta raça foram criados essencialmente para autoconsumo, com efectivos de 1 a 3 fêmeas reprodutoras, estabulados permanentemente, integrados em sistemas

de produção agrícola extensivos, alimentados com subprodutos da exploração agrícola e restos de cozinha (Carvalho, 2014).

A sobrevivência do bísaro à evolução da agricultura e da suinicultura moderna deve-se à manutenção da agricultura tradicional e de subsistência que persistiu na região de Trás-os-Montes até à década de 1990. A criação de porcos desta raça manteve-se na região, pela sua docilidade, prolificidade, bom instinto maternal e pela excelente carne para a produção de fumeiro, tradição da região.

Desde a década de 1990, verificou-se um renovado interesse pela criação das raças autóctones, o que levou ao reconhecimento, em 1994 (Carvalho, 2014), pelo Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e Pescas, desta raça autóctone em vias de extinção. No mesmo ano, foi aprovado o Regulamento de Registo Zootécnico e no ano seguinte iniciaram-se as ações de registo de reprodutores. Actualmente, o efectivo reprodutor de suínos da raça Bísara é aproximadamente de 6900 animais inscritos no Registo Zootécnico (RZ) a cargo da Associação Nacional de Criadores de Suínos de Raça Bísara (ANCSUB).

Nas últimas décadas observou-se uma grande valorização da agricultura extensiva, associada à produção de produtos de elevada qualidade, que muito tem contribuído para a preservação do meio ambiente, do património cultural e do património genético animal, do qual o suíno de raça Bísara é parte integrante. Esta alteração de paradigma permitiu ao suíno de raça Bísara assumir importância determinante para o desenvolvimento rural de Trás-os-Montes, contribuindo para manter os produtos típicos da região, bem como os sistemas de produção tradicionais. De facto, as raças autóctones de animais zootécnicos são um reservatório de genes únicos, que interessa preservar pelas suas

características de resiliência a meios difíceis, bem como pelo seu valor cultural. Para tal, é fundamental proceder ao seu estudo e à sua caracterização para melhor definir as estratégias de conservação.

A diversidade genética é a base para a resposta individual às alterações ambientais, bem como para a resposta à selecção em programas de melhoramento genético. Actualmente, um elevado número de raças autóctones de animais zootécnicos apresentam populações pequenas, pelo que estão susceptíveis ao aumento rápido da consanguinidade, com a conseqüente perda de diversidade genética, que é essencial para a sua sobrevivência a longo prazo. É bem conhecida a diminuição da resiliência das populações animais em resultado dos efeitos negativos da depressão consanguínea, pelo que uma redução severa do tamanho das populações, fenómeno designado por gargalo de garrafa (bottleneck), aumenta o risco de extinção das populações (Narain, 2000).

A conservação das raças autóctones de animais zootécnicos assenta na manutenção da sua diversidade genética (Baumung and Sölkner, 2003), pelo que o manejo reprodutivo deve ser controlado de forma eficaz, pois só assim somos capazes de garantir a conservação da diversidade genética das raças ameaçadas. A conservação da diversidade genética deve ser um objectivo prioritário em todas as populações de animais zootécnicos, uma vez que esta é a essencial para o desenvolvimento de planos de conservação, mas também para o melhoramento genético das raças, quando o tamanho populacional o permita (Oldenbroek, 2007). A sobrevivência das raças com populações pequenas está, claramente, dependente da preservação da sua diversidade genética, mas as raças com elevados censos populacionais nas quais se utilize um reduzido número de machos reprodutores também requerem especial atenção (Nomura et al., 2001).

Numa primeira fase, os programas de conservação devem minimizar o aumento da taxa de consanguinidade para preservar a variabilidade genética dentro das raças (Baumung and Sölkner, 2003). A evolução da taxa de consanguinidade é, vulgarmente, utilizada para quantificar a taxa de deriva genética das populações. Todavia, Boichard et al. (1997) mostraram que, nos animais domésticos, este parâmetro pode ser pouco eficiente, pelo que estes autores propuseram como alternativa a utilização da análise da probabilidade de origem dos genes, estimando as contribuições genéticas dos animais fundadores para a população actual ou activa. O software PEDIG (Boichard et al., 1997) foi desenvolvido para realizar este tipo de análises, permitindo também ter em consideração a ocorrência de gargalos de garrafa no pedigree através do cálculo do número efectivo de ancestrais.

Em Portugal, grande parte das raças zootécnicas autóctones encontram-se ameaçadas, pois a especialização e o melhoramento genético de algumas raças exóticas conduziu a que, hoje, um reduzido número de raças sejam a base da produção de alimentos no mundo. Desta forma, um grande número de raças, nomeadamente as raças portuguesas, viu o seu efectivo diminuído, conduzindo-as ao estatuto de raças ameaçadas. Por outro lado, o cruzamento com raças mais produtivas tem diminuído a pureza das raças autóctones, o que contribuiu, também, para a erosão genética já que os genes das raças autóctones são substituídos pelos genes das raças exóticas. As raças autóctones representam um patrinónimo genético que interessa preservar, não só pelo seu valor cultural, mas também pelas suas características de resiliência a meios difíceis, pelo que é fundamental estudar, caracterizar e preservar a pureza genética destas raças que representam um reservatório de genes únicos que devemos garantir para as

gerações futuras.

Neste trabalho, estudámos a diversidade genética dos suínos da raça Bísara através da análise dos genealógicos. Pretendeu-se, também, que a informação produzida sobre a estrutura genética da população permita auxiliar a definição de uma estratégia de acasalamentos para minimizar o aumento da taxa de consanguinidade, a perda de diversidade genética e, desta forma, contribuir para a conservação desta importante e única raça de Suínos: O Bísaro.

Pretendemos também criar uma visão significativa da genética recente e do status atual da raça Bísara em relação às práticas de reprodução e ao tamanho efetivo da população.

1.2 Características dos suínos da raça Bísara

Desde sempre que, em Trás-os-Montes, a carne de porco Bísaro, o porco mais comum na região, representou uma importante reserva de alimentos para consumir ao longo do ano. O porco de raça Bísara são animais grandes (Figura 1.1), chegando a atingir mais de um metro de altura e 1,5 metros de comprimento, de pelagem preta, branca ou malhada, pele grossa e com cerdas compridas, grossas e abundantes. Miranda do Vale (1949) descreveu estes animais como pertencentes ao tronco Céltico, de perfil côncavo, longilíneos e eumétricos. No Recenseamento Geral de Gados no (Direcção Geral do Commercio e Industria, 1870) Continente do Reino de Portugal (1870), Bísaro ou Bísara é definido como “um nome que se dá ao porco esgaldado, mais ou menos pernalta, de orelhas frouxas para se distinguir do porco roliço e pernicurto do Alentejo”.

A cabeça é comprida e espessa, com orelhas compridas, largas e pendentes, face pouco desenvolvida e boca grande. O pescoço é comprido e regularmente musculado. O tronco é comprido, com dorso arqueado, tórax alto, achatado e pouco profundo, flanco largo e pouco descido, garupa estreita descaída e pouco musculada, ventre esgaldado. Os membros são compridos, ossudos e pouco musculados, tendo um regular aprumo. As coxas são de bom comprimento e deficiente espessura por serem pouco musculadas; os pés são bem desenvolvidos. A cauda é grossa e de inserção média. São animais de temperamento bastante dócil, vagarosos e com movimentos pouco graciosos. As porcas apresentam elevada prolificidade.

A carcaça do porco Bísaro tem uma proporção de músculo maior que de gordura, obtendo-se uma carne pouco atoucinhada mas muito entremeada, cujo sabor é melhorado com a alimentação a que estes animais são submetidos que é rica e variada.



Figura 1.1: Exemplos macho (esquerda) e fêmea (direita) da raça Bísara

1.2.1 Padrão da raça

As principais características morfológicas desta raça são as seguintes (Carvalho, 2015):

Cabeça: Grossa e de perfil côncavo; crista e occipital dirigidos para a frente; Focinho côncavo e comprido. Boca grande. Orelhas largas, longas e pendentes atingindo por vezes o terço inferior do focinho;

Pescoço: Comprido e regularmente musculado;

Tronco: Alto, alongado, achatado e pouco profundo com costelas compridas e pouco arqueadas. Dorso comprido, com a linha dorso-lombar convexa. Ventre esgalgado. Flanco largo e pouco descaído. Garupa de bom comprimento, mas estreita, descaída e pouco musculada. Coxas de bom comprimento, mas deficiente espessura e pouco musculadas. A cauda é grossa e de média inserção;

Sistema Mamário: Úbere de bom tamanho, bem proporcionado, com boa implantação e com um número de tetos sempre superior a doze;

Extremidades e Aprumos: Os membros são de regular aprumo, compridos, ossudos e pouco musculados. Os pés são bem desenvolvidos, mas brandos;

Pele e Pêlos: A pele é fina com coloração branca, preta ou malhada. As cerdas ou pelos são rijos e compridos. Todos os animais têm o corpo coberto de cerdas;

Tamanho: O esqueleto é forte e volumoso e, de uma forma geral, considerar-se que são animais de grande corpulência.

Dentro da raça Bísara, de acordo com o tipo de pelagem, foram distinguidas três variedades: Galega, Beirôa e Molarinhos (ANCSUB, 2021). Os animais da variedade Galega são de cor branca ou branca com malhas pretas, os da variedade Beirôa são de cor preta ou preta malhada. As duas variedades têm o corpo coberto com cerdas longas e rijas. A variedade Molarinhos, da qual já não existe nenhum exemplar, caracterizava-se por animais de pele fina e sem cerdas.

1.2.2 Alguns dados produtivos

Os dados do RZ indicam-nos (ANCSUB, 2021), quanto aos índices reprodutivos e produtivos da raça, os seguintes resultados:

Prolificidade: 12 leitões/parto

Taxa de fertilidade: 80%

Número de partos/porca/ano: 2,1 partos/ano

Taxa de mortalidade do nascimento ao desmame: 0,33%

Taxa mortalidade adulto: 0,03%

Produtividade numérica: 7,69 leitões/parto

No que diz respeito à velocidade de crescimento, apresentam valores de ganho médio diário (GMD) de 550 g/dia. Este baixo GMD está associado a baixa eficiência alimentar (3,8 Kg de PV por Kg de alimento ingerido).

1.2.3 Sistema de produção

O porco bísaro é criado num sistema semi-extensivo, todos os criadores possuem pocilgas licenciadas, com condições adequadas ao bem-estar dos animais. As pocilgas caracterizam-se pela utilização de áreas de terrenos limítrofes como parques, onde os animais permanecem a maior parte do tempo. O parto e o aleitamento é controlado em maternidades e alguns criadores utilizam o sistema ar livre (camping) em todo o ciclo produtivo, recorrendo ao uso de abrigos e de maternidades com isolamento térmico (ANCSUB, 2021).

O porco bísaro é explorado em quatro vertentes diferentes, ou seja, todas as explorações se dedicam em simultâneo à criação de porcas reprodutoras, de varrascos, de leitões e de porcos de engorda. O maneio alimentar é ajustado aos recursos disponíveis, provenientes da agricultura local, pelo que são alimentados principalmente com culturas da própria exploração. A dieta fornecida aos animais consiste num alimento base, geralmente alimento composto por uma mistura de cereais, complementado por uma grande diversidade de outros alimentos (tubérculos, produtos hortícolas e frutos). A utilização de alimentos compostos completos verifica-se apenas em alturas pontuais do ciclo, nomeadamente no desmame e durante a lactação. Actualmente, a carne de porco bísaro é valorizada como matéria-prima do fumeiro regional certificado (Carvalho, 2014, 2015), como o salpicão de Vinhais, a chouriça de carne de Vinhais ou a linguiça de Vinhais, o presunto, a alheira, o chouriço azedo, a chouriça doce e o butelo, todos eles com Indicação Geográfica Protegida (IGP) e a carne de bísaro transmontano com Denominação de Origem Protegida (DOP) (ANCSUB, 2021).

1.2.4 Área de distribuição da raça

A ANCSUB tem associados em todo o país, no entanto, a produção de porco Bísaro situa-se fundamentalmente na região transmontana (Figura 1.2), nomeadamente nos concelhos de: Alfândega da Fé, Bragança, Vila Flor, Chaves, Freixo de Espada à Cinta, Macedo de Cavaleiros, Miranda do Douro, Mogadouro, Moncorvo, Montalegre, Valpaços, São João da Pesqueira, Moimenta da Beira, Vila Real, Vimioso e Vinhais. Atualmente, o efetivo reprodutor inscrito no Livro Genealógico da raça Bísara é composto por 5916 fêmeas reprodutoras e 651 varrascos, distribuídos por 175 explorações (ANCSUB, 2021).



Figura 1.2: Região de Trás-os-Montes (Distritos de Bragança e de Vila Real), a área a cinzento representa os concelhos onde existem explorações de suínos de raça Bísara

No Gráfico 1.3 apresenta-se a evolução do número de fêmeas reprodutoras e de varrascos de raça Bísara de 2005 a 2021. Podemos observar um aumento do número de animais reprodutores de raça Bísara, com um aumento acentuado entre 2012 e 2016.

Desde 2016, o efectivo reprodutor manteve-se mais ou menos constante, com cerca de 6000 porcas reprodutoras e 650 varrascos.

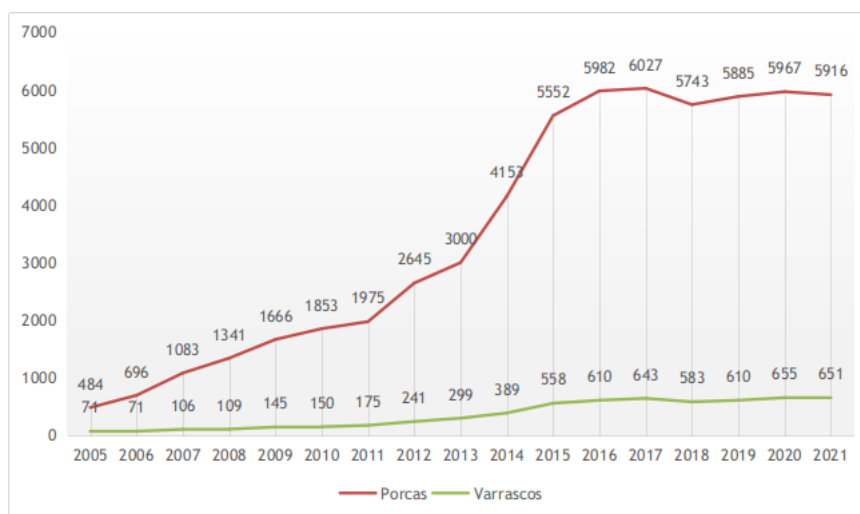


Figura 1.3: Evolução do número de fêmeas reprodutoras e de varrascos de raça Bísara de 2005 a 2021

1.3 Diversidade genética

Desde a sua domesticação, o homem aproveitou a diversidade genética das espécies domesticadas para melhorar o seu desempenho. Usando uma selecção empírica o homem produziu um elevado número de raças de animais zootécnicos com variadas aptidões produtivas. Todavia, nas últimas décadas, o incremento do conhecimento científico, associado ao desenvolvimento da informática e ao aumento da capacidade de processamento dos computadores, conduziu ao melhoramento genético extraordinário em algumas raças. Estas raças, submetidas a programas de selecção bem sucedidos, ganharam maior importância económica, provocando uma redução na utilização de um grande número de outras raças, que até então tinham o seu espaço nos diversos sistemas de agricultura. Estas últimas, sofreram uma grande redução nos seus efectivos, pelo que hoje, em virtude do reduzido número de animais, encontram-se ameaçadas de extinção.

A diversidade genética pode ser definida como o conjunto de genes (alelos) e, desta forma, genótipos, presentes numa determinada população, que se reflectem de forma directa nas variações morfológicas, fisiológicas e comportamentais dos indivíduos que compõem as raças ou populações (Frankham et al., 2002). Do ponto de vista funcional, Hedrick (2001) classificou a diversidade genética como neutral, letal ou adaptativa. As variantes neutras podem ser utilizadas para a conservação, mas os genes letais ou adaptativos são, também, importantes para a sobrevivência das populações e pela expressão de características economicamente importantes.

O conhecimento das características demográficas das populações é essencial para efectuar a gestão da sua diversidade genética, a qual é essencial para a sua preservação e utilização sustentável. A caracterização demográfica representa o primeiro passo para

a definição das estratégias de conservação e de melhoramento genético das populações de animais zootécnicos (FAO, 1999).

Na últimas décadas, o desenvolvimento da biologia molecular permitiu utilizar a diversidade alélica como um indicador da diversidade genética dos indivíduos e das populações, sendo mesmo considerada como a informação mais importante para os programas de conservação das populações de raças autóctones. De facto, um elevado número de alelos conduz a maior variação nos *loci*, mas o número de alelos presentes numa determinada população condiciona, também, a resposta à selecção quando a população é submetida a programas de melhoramento genético. Por outro lado, o número de alelos num determinado *locus* é mais sensível à ocorrência de bottlenecks do que a heterozigotia esperada (H_e), pelo que o número de alelos reflecte melhor as flutuações ocorridas no tamanho da população.

A genética das populações, ciência que descreve a estrutura genética das populações, bem como as leis que governam as suas alterações, é fundamental para o desenvolvimento de programas de conservação e/ou de melhoramento genético das raças de animais zootécnicos ameaçadas ou não. Dentro das populações, o parâmetro mais utilizado para medir a diversidade genética é a H_e , definida por Nei (1973) como a probabilidade de dois alelos, escolhidos ao acaso na população, serem diferentes. Nas populações de animais zootécnicos é usual dispor da informação genealógica, pelo que sempre que tal acontece é possível estimar a diversidade genética das populações como $1 - F$ (coeficiente de consanguinidade) ou $1 - f$ (coeficiente de parentesco), que representam a probabilidade de dois genes escolhidos ao acaso, no mesmo indivíduo ou em indivíduos diferentes, serem idênticos por descendência (Malécot, 1948).

A diversidade genética das populações pode ser estudada através de estimativas da variância genética dos caracteres quantitativos, da análise de dados genealógicos e através de genes e marcadores, tais como os microssatélites. Com a utilização de marcadores moleculares, podemos obter os parâmetros H_e e a heterozigotia observada (H_o), o que conduz aos mesmos resultados da teoria de Malécot (1948), substituindo os genes idênticos por descendência por genes idênticos em estado (Caballero and Toro, 2000).

A conservação da diversidade genética deve ser um objetivo prioritário do manejo das raças autóctones e o seu conhecimento é a base para desenhar programas de selecção e de conservação eficazes. Nas populações de animais zootécnicos a diversidade genética pode ser estimada através da análise da informação genealógica, pelo que estes são uma importante fonte de informação para caracterizar as populações zootécnicas, permitindo descrever a sua variabilidade genética, bem como avaliar a sua evolução ao longo do tempo.

1.3.1 Caracterização da diversidade genética

A variação genética quantitativa é a base das características produtivas e reprodutivas, pelo que apresenta grande interesse para biologia da conservação. A análise de dados genealógicos permite obter estimativas da variância genética aditiva ou heritabilidade para características poligénicas de interesse (Falconer and Mackay, 1996).

No meio científico, é unânime o reconhecimento da necessidade de caracterizar os recursos genéticos de animais domésticos, para poder implementar as medidas de conservação adequadas, bem como para identificar as raças prioritárias a preservar. Imple-

mentar programas de conservação requerem uma análise da estrutura demográfica das populações, para estimar os parâmetros demográficos: o tamanho efectivo da população, a contribuição genética de animais fundadores e a evolução da consanguinidade (Ginja, 2009). Consequentemente, a primeira etapa de um programa de conservação é avaliar a diversidade genética e a sua distribuição na população (Méndez et al., 2002), esta avaliação permitirá estimar a variabilidade, as características que diferenciam as diversas populações, bem como analisar as relações filogenéticas entre as mesmas (Oliveira et al., 2005).

As técnicas moleculares constituem um instrumento essencial para a caracterização da diversidade genética de raças de animais zootécnicos e para auxiliar na definição de medidas de conservação. O desafio que se coloca em termos de preservação dos recursos genéticos de animais é enorme pois implica considerar vários factores, como sejam as peculiaridades de cada raça, a sua contribuição para a diversidade genética global, o seu valor cultural e económico, estando no entanto condicionada pela disponibilidade de recursos financeiros e implicando o envolvimento de autoridades internacionais e locais (Ginja, 2009).

A caracterização genética, por técnicas moleculares, é importante para os programas de conservação de recursos genéticos animais (Ginja, 2009), pois permite avaliar a distância entre as populações e pode auxiliar na escolha dos animais a utilizar na conservação *ex situ* e *in situ*, mediante a estimativa de índices de similaridade dos indivíduos analisados. Estas técnicas possibilitam, também, a definição de acasalamentos ou cruzamentos que favorecem a manutenção da máxima variabilidade genética (Álvaro Spritze et al., 2003; Egito, 2007). Além da informação molecular, a caracterização deve

incluir a identificação, a descrição das raças e os sistemas de produção onde mesmas se desenvolveram. É também importante, avaliar o desempenho das raças, para assim orientar a tomada de decisões de conservação e/ou de melhoramento genético.

As raças classificadas como em risco de extinção devem ser incluídas em programas de conservação, contudo as limitações financeiras obrigam a definir prioridades, pelo que a decisão para conservar deve ser tomada com base nas distâncias genéticas, nas características de adaptação, no valor relativo para a alimentação e para a agricultura, bem como no valor histórico ou cultural das raças (FAO, 2007). O elevado número de raças em situação de risco e os limitados recursos financeiros disponíveis para a sua conservação obrigam a que se faça uma análise económica do valor dos recursos genéticos e das possíveis intervenções de manejo para orientar a tomada de decisões. Para a FAO (2007), entre as tarefas mais importantes estão as seguintes:

1. Definir a contribuição económica que os recursos genéticos animais dão aos vários sectores da sociedade;
2. Identificar os custos efectivos das actividades de conservação;
3. Criar incentivos económicos e convénios políticos/institucionais para promover a conservação por criadores individuais ou por comunidades.

1.3.2 Métodos de estudo da variabilidade genética

Por marcador molecular entende-se uma região do genoma que apresenta variação entre indivíduos (Satar, 2009). Estes marcadores abriram um novo capítulo na avaliação e na conservação dos recursos genéticos, fornecendo mais informação para estudar a variabilidade e para discriminar indivíduos dentro da população. Para além destas

aplicações, podem ainda ser utilizados no controlo de parentesco, na procura de regiões implicadas em determinados caracteres produtivos, bem como para sistemas de acasalamento utilizando a selecção assistida por marcadores (Correia Teresa, 2004). A reforçar esta ideia, de Alcochete (2005) refere que o uso de marcadores moleculares em genética de populações representa um grande avanço pela possibilidade de se identificar genótipos dos indivíduos que se pretendem estudar permitindo a estimativa de parâmetros genéticos para o estudo de populações. Nenhum sistema de marcadores preenche todos os requisitos, mas existem diversos marcadores, cada um com as suas aplicações e limitações (Awise, 1994).

1.3.2.1 Marcadores Morfológicos

Durante muitos anos, os marcadores utilizados eram unicamente caracteres responsáveis por modificações morfológicas, facilmente detectáveis. Hoje sabemos que só parte da variabilidade genética se expressa em termos de fenótipo (Correia Teresa, 2004). A variação que existe ao nível da sequência de DNA não é visível ao nível do fenótipo, uma vez que a maior parte das mutações que resultam na alteração da ordem dos nucleótidos são apenas mantidas durante a evolução se forem neutros (Lopes, 1999). O principal problema destes marcadores é assentarem, normalmente, sobre bases genéticas complexas e desconhecidas, não sendo raro estas características morfológicas serem influenciadas por mais do que um gene, para além destes poderem estar sujeitos a acções de epistasia ou pleiotropia. A estes problemas soma-se o facto de serem alvo de uma forte pressão de selecção, para além de poderem ser influenciados por factores ambientais (Correia Teresa, 2004).

1.3.2.2 Marcadores Bioquímicos

Com o evoluir dos tempos surgiram os marcadores moleculares bioquímicos e, assim, as isoenzimas tornam-se no primeiro tipo de estudo molecular amplamente difundido. O estudo das isoenzimas baseava-se numa separação electroforética, em gel de amido ou mais recentemente em géis de poliacrilamida, de diferentes alelos de um mesmo gene. O seu estudo genético consistia em detectar diferenças de mobilidade das diferentes formas da enzima, após se padronizar as condições electroforéticas. As diferenças de mobilidade dependem do comprimento e/ou carga da enzima. Contrariamente aos marcadores morfológicos, os marcadores bioquímicos possuem a vantagem de existirem em maior número, apresentarem uma neutralidade fenotípica e uma herança mendeliana, para além de manifestarem uma ausência quase completa de relações de epistasia e pleiotropia. O problema destes marcadores é que, apesar de serem em maior número do que os morfológicos, são relativamente escassos para cobrir todo o genoma, muitas vezes desconhece-se a sua localização cromossómica e alguns encontram-se ligados e não mostram um grande número de polimorfismos (Almeida, 2007; Satar, 2009).

1.3.2.3 Polimorfismos de DNA

No final dos anos 70, ocorreu uma grande mudança na utilização de marcadores genéticos, começaram-se a usar os marcadores de ADN e deixaram-se os proteicos, isto aliado à descoberta de uma série de métodos, que evidenciaram os polimorfismos de ADN. Esta mudança foi justificada pelo facto dos marcadores de ADN possuírem um maior potencial de “navegação” no genoma. Assim sendo, os polimorfismos de ADN permitem localizar genes em estudos de mapeamento de genomas ou serem simples-

mente usados como marcadores de identificação (Correia Teresa, 2004). Contudo, o êxito e o uso corrente de marcadores de ADN deve-se ao aparecimento de enzimas de restrição e, mais tarde, à descoberta da reacção em cadeia da polimerase (PCR) (Satar, 2009). Com o surgimento da PCR, foram desenvolvidos vários métodos moleculares de diagnóstico baseados nesta tecnologia, tais como os polimorfismos de ADN amplificado aleatoriamente (RAPDs), os Polimorfismos do comprimento do fragmento amplificado (AFLPs), as Repetições de sequências simples (SSR), entre muitos outros. Estes métodos permitem uma detecção eficiente dos fragmentos de ADN utilizando pequenas quantidades do mesmo. Estes marcadores moleculares possibilitaram a automatização, o que não era possível com a aplicação de Polimorfismos do comprimento dos fragmentos de restrição (RFLPs), conduzindo ao desenvolvimento de maiores investimentos nos campos da engenharia ao nível da biotecnologia. Até aos nossos dias, ocorreu um aumento exponencial de sistemas de marcadores, resultantes de pequenas variações dos anteriores, que podem ser utilizados nas análises genéticas (Lopes, 1999).

1.3.2.4 Polimorfismos do comprimento dos fragmentos de restrição

A técnica de RFLPs baseia-se em detectar sequências específicas de ADN, fragmentadas por meio de enzimas de restrição e separadas por electroforese, permitindo obter padrões específicos para cada locus. Constitui um marcador codominante que pode ser aplicado no mapeamento do genoma, na análise de variabilidade de genótipos e no diagnóstico de doenças hereditárias. A sua maior limitação é o facto de ser uma técnica morosa e dispendiosa (Satar, 2009).

1.3.2.5 Polimorfismos de DNA amplicados ao acaso

O marcadores moleculares RAPDs são baseados na amplificação aleatória por PCR de fragmentos de ADN, não requerendo qualquer conhecimento específico da sequência de ADN em estudo. É uma tecnologia bastante acessível, no entanto a principal limitação dos marcadores RAPDs é o baixo conteúdo de informação genética por locus e o facto de ser um método que depende de todos os factores inerentes à técnica de PCR, não sendo reprodutível de forma consistente (Satar, 2009).

1.3.2.6 Polimorfismos do fragmentos amplicados

A técnica de AFLPs é uma tecnologia recente que tem a capacidade de detectar polimorfismos, em diferentes regiões do genoma. A técnica de AFLP é baseada na amplificação de sequências de ADN previamente fragmentadas por enzimas de restrição. O AFLP é um marcador altamente sensível e tem sido aplicado na identificação de variabilidade genética, em testes de paternidade, em mapeamento genético e em genética das populações (Satar, 2009).

1.3.2.7 Microssatélites

Microssatélites são sequências de ADN curtas (5-20 pares de bases) repetidas em tandem, tendo a unidade de repetição entre 1-6 pares de bases. São marcadores abundantes que cobrem uma vasta extensão no genoma, encontrando-se em regiões codificantes e não codificantes. No entanto, é na região não codificante que existem com mais frequência (Satar, 2009). Os microssatélites, também, designados por Short Tandem Repeats (STRs) ou por Simple Sequence Repeats (SSRs), são marcadores moleculares

mais polimórficos, decorrentes das altas taxas de mutação, que variam entre 10^{-2} a 10^{-6} por geração.

O principal mecanismo de mutação dos microssatélites envolve o deslizamento da ADN polimerase. De acordo com o modelo de deslizamento, após o início da replicação ocorre a dissociação das cadeias. Quando a nova cadeia tenta o emparelhamento à cadeia molde, há muitas cópias idênticas à unidade de repetição, o que poderá levar ao emparelhamento incorrecto à cadeia molde com a eliminação ou inserção de unidades de repetição. Este tipo de mutação faz com que os microssatélites exibam um alto grau de polimorfismo. Há dois modelos principais de mutação que são utilizados como base de explicação da relação entre os alelos: modelo stepwise, em que cada mutação adiciona ou elimina uma única unidade repetitiva e o modelo infinite allele, em que cada mutação origina um novo alelo.

Para além da adição/deleção de unidades repetitivas, podem também ocorrer substituições, conduzindo a microssatélites imperfeitos. São microssatélites complexos quando a sequência repetitiva é interrompida por uma sequência de bases repetidas, mas diferentes das que compõem a unidade de repetição. Os microssatélites apresentam-se flanqueados por sequências, pelo que podem ser amplificados individualmente através da técnica de PCR. As técnicas de multiplexing permitem amplificar e genotipar vários loci ao mesmo tempo, reduzindo o tempo e os custos. Os diferentes alelos são detectados pela diferença de tamanhos durante a electroforese e as tecnologias de análise de fragmentos baseadas em detecção de fluorescência automática permitem também um processamento eficaz e rápido das amostras (Satar, 2009).

Os microssatélites quando comparados com outros marcadores apresentam inúmeras

vantagens:

1. São abundantes no genoma de eucariotas, permitindo uma representatividade elevada quando muitos loci são utilizados, pelo que são os marcadores de eleição no mapeamento genético e em estudos de associação com o fenótipo;
2. Sendo altamente polimórficos, permitem obter informação sobre pedigrees e sobre genética das populações;
3. São reproduzíveis, apesar de poder haver erros de genotipagem associados e que têm de ser tidos em conta;
4. São co-dominantes, o que permite avaliar os níveis de heterozigotia;
5. São em geral marcadores neutrais;
6. São de herança mendeliana simples;
7. São de grande precisão, para estimar o grau de variabilidade intra e inter-populacional;
8. Sendo baseados em amplificação por PCR com pequena quantidade de tecido consegue-se amplificar o DNA necessário para a aplicação da técnica;
9. As zonas flanqueadoras dos microssatélites são muitas vezes conservadas entre espécies próximas, pelo que os primers desenvolvidos para uma espécie podem ser aplicados noutras.

No entanto, apresentam como desvantagens:

1. O trabalho, o tempo e os custos necessários para o desenvolvimento deste tipo de marcador;

2. A sua análise é influenciada pelo número de *loci* estudados;
3. Ocorrência de homoplasia (alelos com idêntico tamanho mas com origem histórica diferente) conduzirá à subestimação de divergências genéticas entre populações afastadas;
4. A presença de alelos nulos (alelos que não amplificam por mutação na zona de ligação do primer usado na PCR) pode complicar a interpretação das frequências dos microssatélites.

1.3.3 Parâmetros de diversidade genética

O conhecimento da variabilidade genética apresenta grande importância para estabelecer programas de conservação, esta pode, actualmente, ser quantificada através de várias técnicas moleculares. A informação obtida é tratada de forma a obter alguns parâmetros que caracterizam a diversidade genética, nomeadamente:

1. A percentagem de *loci* polimórficos;
2. A riqueza alélica ou número de alelos (RA) presentes e sua frequência;
3. A heterozigotia observada (H_o);
4. A diversidade génica ou heterozigotia esperada (H_e).

Estes parâmetros são, normalmente utilizados para estudar a diversidade dentro das raças, bem como para comparar a diversidade entre raças. Destes parâmetros, destacamos o número médio de alelos por locus, ou seja a riqueza alélica (RA), pela sua importância para a diversidade genética e pelo facto de ser um critério para definir a

prioridade de conservação. No entanto, a existência de genes únicos deve também ser considerada para a definição das prioridades de conservação.

1.3.3.1 **Frequência alélica**

A frequência de um alelo numa população, designa-se por frequência génica ou alélica. Este parâmetro é importante para o estudo das populações, pelo que é essencial estimar as frequências alélicas das populações em estudo. Esta estimativa é obtida através da observação das frequências alélicas numa amostra representativa da população em estudo. Assim, quando existe informação sobre as frequências génicas de um grande número de loci, esta pode ser utilizada para calcular alguns indicadores de diversidade genética, nomeadamente:

1. Proporção de *loci* polimórficos;
2. Heterozigotia média dos *loci*.

1.3.3.2 **Heterozigotia**

A frequência de genótipos heterozigóticos é um importante indicador de diversidade genética. A heterozigotia pode ser expressa de duas formas:

1. Heterozigotia individual, que descreve a proporção de *loci* heterozigóticos num indivíduo; e
2. Heterozigotia média ou diversidade genética, que reflecte a proporção de indivíduos heterozigóticos por locus.

A heterozigotia média pode ser expressa de duas formas:

1. Heterozigotia observada (H_o), é a proporção de loci heterozigóticos numa amostra da população;
2. Heterozigotia esperada (H_e), definida como a probabilidade de dois alelos, escolhidos de forma aleatória numa população, serem diferentes.

A H_o é definida matematicamente por:

$$H_o = \frac{\sum_{i=1}^n (1 \text{ se } a_{i1} \neq a_{i2})}{n}$$

em que n é o número de indivíduos da população, a_{i1} e a_{i2} são os alelos do indivíduo i para o locus em estudo.

A H_e é definida matematicamente por:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^m (f_i)^2$$

em que m é o número de indivíduos da população e f_i é a frequência alélica do i^{th} alelo para o locus em estudo.

1.3.3.3 Conteúdo de informação polimórfica

O conteúdo de informação do polimórfica (PIC) é um indicador da qualidade dos marcadores em estudos genéticos. Este indicador é calculado da seguinte forma (Botstein et al., 1980):

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^k x_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2x_i^2 x_j^2$$

em que K é o número alelos, X_i é a frequência relativa do alelo i na amostra, X_j é a frequência relativa do alelo j na amostra.

PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, PIC com valores entre 0,25 e 0,50 são mediantemente informativos e PIC inferiores a 0,25 são pouco informativos (McManus et al., 2011).

1.3.3.4 Distância Genética

A distância genética (d) é usada para medir as diferenças genéticas entre populações. Este parâmetro é uma extensão da diferença génica (alélica) entre populações, sendo quantificada numericamente. Existem vários algoritmos para o cálculo de distâncias genéticas, que atendem ao tipo de informação disponível. Uma forma de cálculo da distância genética é (Nei, 1987):

$$d = -\ln(I)$$

com: I igual ao índice de identidade genética, calculado por

$$I = \frac{\sum_{i=1}^m (P_{ix}P_{iy})}{\left[\sum_{i=1}^m P_{ix}^2 \sum P_{iy}^2 \right]} \times 0,5$$

onde P_{ix} é a frequência do alelo i na população X , P_{iy} é a frequência do alelo i na população Y e m é o número de alelos por locus. A identidade genética (I) varia de 0 a 1, pelo que d varia de 0 a ∞ .

1.4 Uso de dados genealógicos para estudar a diversidade genética

Desde sempre que o pedigree tem sido utilizado pelos produtores para avaliar o valor genético dos animais. A implementação dos registos genealógicos foi o primeiro passo para obter informação sobre os ancestrais, já que os animais só podem herdar as características dos seus ancestrais.

O conceito parentesco entre indivíduos desempenha um papel fundamental nos programas de selecção para o melhoramento genético das populações animais. De facto, a estimativa dos parâmetros genéticos das populações baseia-se nos dados de desempenho e nas suas relações de parentesco (Toro et al., 2002). Por outro lado, o parentesco entre indivíduos é também utilizado para minimizar o aumento da consanguinidade de populações submetidas a programas de selecção e, não menos importante, para garantir a conservação de populações animais pequenas e, portanto, sujeitas aos efeitos negativos do aumento da consanguinidade na população.

O conhecimento do grau de parentesco entre animais auxilia a tomada de decisões sobre que animais devemos seleccionar e para planejar os acasalamentos que darão origem à próxima geração (Toro et al., 2002). No que diz respeito à primeira decisão, os animais reprodutores devem ser escolhidos de forma a minimizar o parentesco médio na próxima geração, já os acasalamentos devem ser planeado entre animais de mínimo parentesco (Caballero and Toro, 2000).

O pedigree não fornece toda a informação sobre o genótipo dos animais, no entanto esta informação pode ser utilizada para descrever a estrutura genética e a variabilidade

genética das populações animais (Lacy, 1989; Baumung and Sölkner, 2003).

Boichard et al. (1997) desenvolveram o software PEDIG (Boichard, 2002), com base na teoria de probabilidade de origem dos genes desenvolvida por (Lacy, 1989), para descrever a diversidade genética das populações de animais zootécnicos. Esta metodologia permite estimar as contribuições genéticas dos animais fundadores (animais com pais desconhecidos) para a população activa. O pedigree é, também, essencial para calcular os coeficiente de consanguinidade (F) e coeficiente de parentesco (f), bem como as contribuições genéticas dos fundadores tal como descrito por Djellali et al. (1994) em ovinos e por Boichard et al. (1996) e Bozzi et al. (2006) em bovinos. Estes parâmetros podem ser utilizados para corrigir práticas de manejo responsáveis pela perda de diversidade genética. Assim, a teoria desenvolvida por Lacy (1989) e implementada no software PEDIG por Boichard (2002) permite o cálculo de vários parâmetros que descrevemos seguidamente.

1.4.1 **Qualidade do pedigree**

A qualidade do pedigree é de extrema importância para estudar a estrutura genética de populações animais. De facto, a qualidade e a precisão das estimativas dos parâmetros dependem da qualidade do pedigree (Boichard et al., 1997), pelo que devemos evitar pedigrees com informação errada ou muito incompletos. A qualidade do pedigree pode inferir-se pelo cálculo da proporção de pais, avós e bis-avós conhecidos, pelo intervalo entre gerações (L) e pelo número equivalente de gerações conhecidas tal como proposto por Boichard et al. (1997).

O controlo da taxa de consanguinidade (ΔF) é essencial para evitar efeitos pre-

judiciais da depressão consanguínea, que é responsável pela redução da fertilidade e do desempenho nas características produtivas (Miglior, 2000). Registos genealógicos incompletos são frequentes nos livros genealógicos das raças autóctones de animais zootécnicos e o baixo grau de preenchimento dos pedigrees coloca elevadas dificuldades na interpretação da informação genealógica.

1.4.2 Intervalo entre gerações

O intervalo entre gerações é definido como a idade média dos pais aquando do nascimento dos seus primeiros filhos, ou seja é a sua idade média quando se tornam pais. Desta forma, este parâmetro é calculado, apenas, para os animais que são pais de reprodutores. O L pode ser calculado para quatro direcções: pai-filho, pai-filha, mãe-filho e mãe-filha. O intervalo entre gerações médio é calculado como a média ponderada pelo número de animais em cada uma das quatro vias. Este parâmetro fornece uma boa indicação sobre a fiabilidade de registos genealógicos, pelo que pode ser utilizado como uma indicação do grau de preenchimento do pedigree.

1.4.3 Tamanho efectivo da população

O controlo de programas de conservação, a taxa de variação da diversidade genética ou taxa de variação da consanguinidade é o parâmetro chave, com o qual o tamanho efectivo da população (N_e) se relaciona inversamente. O N_e define-se como o número de animais reprodutores que produziria o aumento da consanguinidade (ΔF) observado caso estes tivessem igual contribuição para a próxima geração (Wright, 1922). Wright (1922) propôs do tamanho efectivo da população como: $N_e = 1/2 \Delta F$, onde ΔF

representa o aumento relativo, por geração, da consanguinidade. O N_e é um parâmetro importante para definir a situação de risco das populações de animais, pelo que o seu conhecimento é fundamental para os programas de conservação de raças de animais zootécnicos. Este parâmetro é, também, um bom indicador da diversidade genética das populações animais, a sua relação com o aumento da taxa de consanguinidade transforma-o num indicador da deriva genética a que as populações estão sujeitas.

Todavia, em populações reais, esta fórmula produz uma sobre-estimativa do tamanho efectivo da população actual, especialmente quando o pedigree é pouco preenchido. Por outro lado, a utilização da fórmula $N_e = 1/2 \Delta F$, obriga ao conhecimento do pedigree dos indivíduos, o que, frequentemente, não acontece. Quando tal acontece, o N_e pode, também, ser calculado pelo número de machos e fêmeas reprodutores da população em estudo, da seguinte forma (Falconer and Mackay, 1996):

$$N_e = \frac{4N_m \times N_f}{N_m + N_f}$$

em que N_m é o número de machos e N_f é o número de fêmeas.

$$N_e = \frac{1}{2 \times \Delta F \times L}$$

onde ΔF é a taxa anual de consanguinidade na população e L é o intervalo entre gerações.

1.4.4 Número efectivo de fundadores

O número efectivo de fundadores (f_e) foi definido por Lacy (1989) como o número de fundadores com contribuições equivalentes que produziriam a diversidade genética igual à presente na população em estudo. Este parâmetro é calculado como:

$$f_e = 1/\sum_{k=1}^f q_k^2$$

com q_k igual à probabilidade de origem do gene do fundador k e f_e é o número real de fundadores.

1.4.5 Número efectivo de ancestrais

O número efectivo de ancestrais (f_a) foi definido por Boichard et al. (1997) como o número mínimo de ancestrais, não necessariamente fundadores, que explicam a diversidade genética da população actual. É importante notar que este parâmetro não tem em consideração a perda de genes, desde os ancestrais fundadores até à população actual, resultante da deriva genética. Todavia, complementa a informação fornecida pelo f_e para explicar as perdas de diversidade genética resultantes da ocorrência de bottlenecks (gargalos de garrafa). Este parâmetro é calculado como:

$$f_a = 1/\sum(p_i^2)$$

com p_i igual à proporção de alelos da população de referência provenientes do fundador i (Boichard et al., 1997).

1.4.6 Número efectivo de genomas fundadores

O número efectivo de genomas fundadores (f_g) foi definido por Boichard et al. (1997) como o número de fundadores que produziriam a diversidade genética presente na população em consideração, caso todos os fundadores estivessem igualmente representados e na ausência de perdas de alelos. Assim, este parâmetro tem em consideração todas as causas possíveis de provocar a perda de genes, sendo a menor dos três últimos parâmetros e o seu cálculo foi descrito por Boichard et al. (1997) e Caballero and Toro (2000) propuseram o seu cálculo como o dobro da inversa da coascendência média dos indivíduos incluídos na população.

1.4.7 Coeficientes de consanguinidade e de parentesco

O coeficiente de consanguinidade de um indivíduo (F) é a probabilidade de este transportar dois genes idênticos por descendência, ou seja: dois genes que ambos são cópia de um mesmo gene de um ancestral comum aos seus pais. Assim, a consanguinidade resulta do acasalamento de animais cujo parentesco entre si é superior ao parentesco médio esperado caso estes sejam escolhidos na população de forma aleatória (Lush, 1945). Dois parâmetros relacionados são, usualmente, utilizados para medir a consanguinidade das populações animais: o coeficiente de parentesco (F_{XY}) e o coeficiente de consanguinidade (F).

O F de um determinado indivíduo é definido como a probabilidade de o animal possuir dois genes idênticos por descendência (Wright, 1922, 1931). De forma equivalente, o F_{XY} entre dois animais X e Y define-se como a probabilidade de dois genes homólogos, escolhidos ao acaso de cada um dos animais, serem idênticos por descendência

(Lush, 1945). O coeficiente de consanguinidade (F) de um determinado animal é igual a metade do coeficiente de parentesco (F_{XY}) dos seus pais (X e Y). O aumento da consanguinidade conduz a um aumento da homozigotia nas populações animais, pelo aumento dos genes idênticos por descendência nos indivíduos. O cálculo deste parâmetro é muito sensível à qualidade do pedigree, pelo que a confiança na sua estimativa está condicionada pela qualidade do mesmo.

1.5 Referências bibliográficas

Paulo António Russo Almeida. *Diversidade genética e diferenciação das raças portuguesas de ovinos com base em marcadores de DNA - microssatélites: perspectiva de conservação*. PhD thesis, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2007.

ANCSUB. Raça bísara, 2021. URL <https://www.porcobisaro.net/>.

Jonh C. Avise. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman & Hall, 1994.

R. Baumung and J. Sölkner. Pedigree and marker information requirements to monitor genetic variability. *Genetics Selection Evolution*, 35:369–383, 2003.

D. Boichard. Pedig : a fortran package for pedigree analysis suited to large populations. In *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, pages paper 28–13, Montpellier, 19-23 Août 2002.

D. Boichard, L. Maignel, and É. Verrier. Analyse généalogique des races bovines laitières francaises. *INRA Productions Animales*, 9(5):323–335, 1996.

- D. Boichard, L. Maignel, and É. Verrier. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genetic Selection and Evolution*, 29:5–23, 1997.
- D. Botstein, R. L. White, M. Skolnick, and R. W. Davis. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32(3):314–331, May 1980.
- R. Bozzi, O. Franci, F. Forabosco, C. Pugliese, A. Crovetto, and F. Filippini. Genetic variability in three italian beef cattle breeds derived from pedigree information. *Italian Journal of Animal Science*, 2006.
- A. Caballero and M. A. Toro. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genetical Research*, 75(03):331–343, 2000.
- Marieta Amélia Martins de Carvalho. Produção agroecológica de suínos da raça bísara, 2014.
- Marieta Amélia Martins de Carvalho. Os suínos da raça bísara e sustentabilidade do mundo rural, 2015.
- M. M. A. A Correia Teresa. *Estudo da variabilidade e relações genéticas em raças caprinas autóctones mediante microssatélites*. PhD thesis, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2004.
- António Alberto Neves de Alcochete. *Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termosensível (TGMS) do genoma de arroz (Oryza sativa L.)*. PhD thesis, Universidade de Brasília, 2005.

Direcção Geral do Commercio e Industria. Recenseamento geral dos gados no continente do reino de portugal. In *1as Jornadas de Leitaria Tropical*, page 1–569, Lisboa, 1870. MINISTERIO DAS OBRAS PUBLICAS, COMMERCIO E INDUSTRIA, Imprensa Nacional.

A. Djellali, J. Vu Tien Khang, H. Rochambeau, and E. de Verrier. Bilan génétique des programmes de conservation des races ovines solognote et mérinos précoce. *Genetic Selection and Evolution*, 26(suppl. 1):255–265, 1994.

Andréa Alves Egito. *Diversidade genética, ancestralidade individual e miscigenação nas raças bovinas no brasil com base em microssatélites e halótipos de DNA mitocondrial: Subsídios para a conservação*. PhD thesis, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

DS Falconer and TFC Mackay. *Introduction to quantitaive genetics*. Pearson Prentice Hall, fourth edition edition, 1996.

FAO. *The Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999.

FAO. *Situação Mundial dos Recursos Genéticos Animais Para Agricultura e Alimentação*. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), 2007.

S. D. Fernandes, S. Malovrh, and Vasco Kovac, M.and Cadavez. Study of genetic diversity of bisaro pigs breed by pedigree analysis. *Lucrări Ştiinţifice*, 53(15): 326–330, 2010.

R. Frankham, D.A. Briscoe, and J.D. Ballou. *Introduction to conservation gene-*

- tics*. Cambridge Univ Pr, 2002.
- Catarina Jorge Ginja. *Influência das raças bovinas Ibéricas na estrutura genética das populações de bovinos Crioulos da América Latina*. PhD thesis, Universidade Tecnica de Lisboa - Instituto Superior de Agronomia, 2009.
- G. Grothendieck. *sqldf: Manipulate R Data Frames Using SQL*, 2017. URL <https://CRAN.R-project.org/package=sqldf>. R package version 0.4-11.
- P.W. Hedrick. Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11):629–636, 2001.
- R. C. Lacy. Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalentes and founder genome equivalentes. *Zoo Biol*, page 111–123, 1989. Não tenho este artigo.
- Paula Lopes. *Estudos moleculares da genética da tolerância ao alumínio em trigos*. PhD thesis, Universidade do Minho e Trás-os-Montes, 1999.
- J.L. Lush. Animal breeding plans. *Animal breeding plans.*, 1945.
- G. Malécot. *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson and Cie, Paris, 1948.
- C. McManus, S. Paiva, P. S. Corrêa, I. Seixas, and C. B. de Melo. Estatísticas para descrever a genética de populações. on-line, Janeiro 2011. URL http://animal.unb.br/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=87&Itemid=68.
- F. Miglior. Impact of inbreeding - managing a declining holstein gene pool. In *10h World Holstein Friesian Federation Conference*, page 108–113, Sydney, NEW, Australia, 30 April - 3 May 2000.

- J. Miranda do Vale. *Gado bissulco: suínos, bovinos, arietinos, caprinos*. Sá da Costa, 1949.
- José Aranguren Méndez, Jordi Jordana, Rosa Avellanet, and Miguel Torrens. Estudio de la variabilidad genética en la raza mallorquina para propósito de conservación. *Revista científica, FCV-LUZ*, 12(5):358–366, 2002.
- P. Narain. Genetic diversity - conservation and assessment. *Current Science*, 79(2):170–175, 2000.
- M. Nei. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12):3321, 1973.
- M. Nei. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia Univ Pr, 1987.
- T. Nomura, T. Honda, and F. Mukai. Inbreeding and effective population size of japanese black cattle. *Journal of Animal Science*, 79(2):366, 2001.
- K. Oldenbroek. *Utilisation and conservation of farm animal genetic resources*. Wageningen Academic Publishers, 2007.
- C. Oliveira, B. Gutiérrez-Gil, S. Pedrosa, E. Barbosa, R. Dantas, J. V. Leite, N. V. Brito, J. J. Arranz, and Y. Bayón. Caracterização genética das raças ovinas bordaleira de entre douro e minho e serra da estrela: Dna nuclear e mitocondrial. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100:175–180, 2005.
- Y.V. Ontiveros, J.A. Méndez, R. Román, W. Isea, G. Contreras, S. Zambrano, and J. Jordana. Pedigree analysis in criollo limonero. *Revista Científica*, 18(3), 2009.
- R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R

- Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. URL <https://www.R-project.org/>.
- Inês Madeira Satar. CaracterizaÇÃo de microssatÉlites em espÉcies de ambientes humanizados. Master's thesis, UNIVERSIDADE DE LISBOA, 2009.
- Vergilio Taborda. Alto trás-os-montes: Estudo geográfico. Coimbra: Imprensa da Universidade, Coimbra, 1932.
- M. Toro, C. Barragán, C. Ovilo, J. Rodrigañez, C. Rodriguez, and L. Silió. Estimation of coancestry in iberian pigs using molecular markers. *Conservation Genetics*, 3(3):309–320, 2002.
- P. M. VanRaden. Accounting for inbreeding and crossbreeding in genetic evaluation for large populations. *Journal of Dairy Science*, 75:3136–3144, 1992.
- S. Wright. Coefficients of inbreeding and relationship. *Am. Nat.*, 645:330–338, 1922. Não tenho.
- S. Wright. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, 16(2):97, 1931.
- Álvaro Spritze, Andréa Alves de Egito, Arthur Silva da Mariante, and Concepta McManus. Caracterização genética da raça bovina crioulo lageano por marcadores moleculares rapd. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(10):1157–1164, 2003.

Capítulo 2

Trabalho experimental

2.1 Material e métodos

2.1.1 Dados

Neste trabalho foram utilizados os dados genealógicos dos suínos da raça Bísara, cedidos pela Associação Nacional de Criadores de Suínos de Raça Bísara (ANCSUB). A partir base de dados do livro genealógico da ANCSUB foi construído um ficheiro de dados com um total de 320049 registos de animais nascidos entre 1995 e 2020, com a seguinte informação: números de identificação do animal, do pai e da mãe, o sexo e a data de nascimento de cada um dos animais. Os registos genealógicos foram editados e verificados para a consistência lógica utilizando a linguagem “Structured query language” (SQL) implementada na livraria sqldf (Grothendieck, 2017) do software R (R Core Team, 2020).

2.1.2 Construção do pedigree

A partir do ficheiro de dados genealógicos, foi construído um ficheiro contendo a população activa à data de 15 de outubro de 2020. Este continha 6899 animais, dos quais 634 varrascos e 6265 porcas. A partir dos animais da população activa foi construído o pedigree, incrementado todos progenitores conhecidos, através de um procedimento de SQL da livraria sqldf (Grothendieck, 2017). O pedigree final continha 9432 animais, 1311 varrascos e 8121 porcas, pertencentes a 13 gerações e com um total de 1612 animais base.

2.1.3 Qualidade do pedigree

O pedigree fornece informação que pode ser utilizada para descrever a estrutura e a variabilidade genética das populações animais (Lacy, 1989; Baumung and Sölkner, 2003). A qualidade do pedigree foi avaliada pelo grau de preenchimento do pedigree e da população de referência, assim foi calculado o número e a proporção de animais com ambos os progenitores conhecidos, com apenas o pai conhecido e com apenas a mãe conhecida. O software PEDIG (Boichard, 2002) foi utilizado para calcular o número equivalente de gerações conhecidas (NEGC). O grau de preenchimento do pedigree foi descrito pela percentagem de animais com pais, avós e bisavós conhecidos e através da estimativas do NEGC.

2.1.4 Consanguinidade e parentesco

O coeficiente de consanguinidade individual (F) representa a probabilidade de dois alelos pertencentes ao mesmo locus serem iguais por descendência. Ou seja, F representa a

probabilidade de dois alelos serem cópias de um alelo de presente num ancestral comum aos dois progenitores do animal consaguineo. Da mesma forma, o grau de parentesco entre indivíduos (f_{ij}) representa probabilidade dos animais i e j transportarem alelos idênticos por descendência (Wright, 1922). Assim, o F foi calculado através do método proposto por (VanRaden, 1992) e implementado no software PEDIG (Boichard, 2002). Os coeficientes de consanguinidade dos animais presentes no pedigree e na população activa foram agrupados em classes, para obter uma distribuição da consanguinidade individual na população.

A F resulta do acasalamento entre animais aparentados, mas não explica as razões desse acasalamento. O parentesco médio (\bar{f}_{ij}) de todos os animais na população tende a aumentar quando todos os animais da população são altamente aparentados, pelo que não há hipóteses de realizar acasalamentos entre indivíduos não aparentados ou pouco aparentados. Mas, um \bar{f}_{ij} médio a baixo conjugado com uma F média a alta sugere uma grande utilização de acasalamentos dentro dos rebanhos. O \bar{f}_{ij} é também um bom indicador para a hipótese de recuperar uma raça, uma vez que também leva em conta os coeficientes de parentesco dos animais da mesma geração, mas também dos animais de gerações anteriores com potencial genético interessante de preservar.

2.1.5 Tamanho efectivo da população

O tamanho efetivo de uma população (N_e) é definido como o tamanho de uma população ideal que daria origem à mesma taxa de consanguinidade (ΔF). O ΔF foi definido por Wright (1922) como:

$$N_e = \frac{1}{2 \times \Delta F}$$

onde ΔF é o aumento relativo da consanguinidade por geração. Todavia, este método de cálculo é pouco adequado às populações reais, sobreestimando o tamanho efetivo da população real, especialmente quando o grau de preenchimento do pedigree é baixo.

2.1.6 Intervalo entre gerações

O intervalo de gerações (L), é definido como a idade média dos progenitores aquando do nascimento do primeiro filho, foi calculado para os quatro caminhos: pai-pai (L_{pp}), pai-mãe (L_{pm}), mãe-mãe (L_{mm}) e mãe-pai (L_{mp}); a média destes quatro caminhos foi utilizado como o intervalo entre gerações médio (L_m).

2.1.7 Diversidade genética

A diversidade genética da população foi estudada pela teoria desenvolvida por Lacy (1989) e implementada no software PEDIG por (Boichard et al., 1997; Boichard, 2002). Este software foi utilizado calcular os parâmetros que descrevemos seguidamente, utilizando como população de referência os animais da população activa nascidos entre 2014 e 2020, a qual era composta por um total de 6587 animais (689 varrascos e 5898 porcas). Os parâmetros calculados foram:

1. número efectivo de fundadores (f_e);

2. número efectivo de ancestrais (f_a);
3. número efectivo de genomas fundadores (f_g).

O número efectivo de fundadores (f_e) representa o número de animais fundadores (f) que, com igual contribuição, produziriam a variabilidade genética presente na população de referência (no nosso caso animais nascidos entre 2014 e 2020). Este parâmetro é calculado como:

$$f_e = 1 / \sum_{k=1}^f p_k^2$$

onde p_k é a proporção de alelos presentes na população de referência atribuídos ao fundador k (Boichard et al., 1997). Assim, os animais fundadores são todos aqueles com ambos progenitores desconhecidos.

O número efectivo de ancestrais (f_a) representa o número de ancestrais (fundadores ou não fundadores) necessários para explicar a variabilidade genética presente na população de referência, caso todos os ancestrais tivessem a mesma contribuição. Este parâmetro é obtido calculando a contribuição marginal de cada ancestral (Boichard et al., 1997) da seguinte forma:

$$f_a = 1 / \sum_{k=1} p_k^2$$

onde p_k^2 é a contribuição marginal do ancestral k . Um ancestral pode não ser animal fundador, todavia pode partilhar genes com outros ancestrais, pelo que a sua contribuição para a população pode ser redundante e apresentar valores superiores a 1. Desta forma, a avaliação da contribuição de um ancestral na população de referência deve

utilizar, apenas, a contribuição marginal de cada um dos ancestrais em estudo.

O número efectivo de genomas fundadores (f_g) representa o número de animais fundadores, com igual contribuição, que conduziria à diversidade genética presente na população de activa sem provocar a perda de alelos resultante da ocorrência de deriva genética. O f_g foi calculado como:

$$f_g = 1 / \sum p_k^2 / r_k$$

onde r_k é a proporção de alelos do fundador k que permanece na população de referência e p_k é a proporção de alelos que o fundador k contribuiu para a população de referência. Este parâmetro foi calculado através da simulação de 500 segregações para os varrascos e para as porcas.

2.2 Resultados e discussão

No ano de 2010, foi elaborado o primeiro estudo demográfico da população de suínos da raça Bísara (Fernandes et al., 2010), no qual o pedigree construído a partir de uma população activa de 1986 animais, continha 3160 animais. Após 12 anos, a população activa de suínos de raça Bísara subiu para 6899 animais (à data da realização deste estudo), pelo que a população da raça Bísara aumentou de 3,5 vezes, o que mostra a vitalidade da actividade em Trás-os-Montes.

2.2.1 Qualidade do pedigree

Na tabela 2.1 apresenta-se a informação relativa ao grau de preenchimento do pedigree e da população activa. O pedigree continha 9432 animais (8121 porcas e 1311 varrascos), dos quais 7580 possuíam ambos os progenitores conhecidos. A população activa era composta por 6899 animais (6265 porcas e 634 varrascos), dos quais 5552 possuíam ambos os progenitores conhecidos. Ambos os ficheiros, pedigree e população activa, apresentaram cerca de 80% dos animais com ambos os progenitores conhecidos. Todavia, estes resultados estão associados a um pedigree pouco profundo, pelo que torna a interpretação dos resultados obtidos difícil.

Na Figura 2.1 apresenta-se a percentagem de gerações conhecidas para 16 gerações da população. O grau de preenchimento do pedigree fornece informação sobre o número médio de gerações com ancestrais conhecidos. As gerações conhecidas foram de 100% para os animais da primeira geração (Geração 0) e manteve-se bom nas primeiras três gerações, após o qual descrece de forma acentuada com o aumento do número de gerações. A percentagem de gerações conhecidas diminuiu para valores inferiores a

Tabela 2.1: Grau de preenchimento do pedigree e da população activa dos suínos da raça Bísaro

	Pedigree		População activa	
	Número	Proporção (%)	Número	Proporção (%)
Animais	9432	100	6899	100
Ambos os pais conhecidos	7580	80,4	5552	80,5
Ambos os pais desconhecidos	1612	17,1	1275	18,5
Apenas o pai conhecido	187	1,98	567	8,21
Apenas a mãe conhecida	767	8,13	520	7,54

50% na 5^a geração e foi cerca de 20% na 7^a geração (Figura 2.1), o que mostra um padrão semelhante aos resultados encontrados em 2010 por Fernandes et al. (2010), no primeiro estudo demográfico da população de suínos da raça Bísara.

Importa referir que o controlo da genealogia dos animais é determinante para realizar a gestão da diversidade genética (minimização do incremento da consanguinidade na população), através da organização dos acasalamentos para minimizar o incremento do coeficiente de consanguinidade, o qual se consegue através do acasalamento de animais com grau de parentesco mínimo. Por outro lado, a manutenção da variabilidade genética é determinante para a implementação de planos de selecção e de melhoramento genético.

É importante salientar que, comparativamente ao estudo realizado em 2010 (Fernandes et al., 2010), observamos que na quarta geração o número de gerações conhecidas subiu de cerca 50% para cerca de 70%, o que mostra um trabalho muito positivo da ANCSUB no que diz respeito ao controlo dos dados genealógicos da população de suínos da raça Bísara. O decréscimo acentuado no grau de preenchimento do pedigree, a partir da quinta geração, mostra claramente que são necessários esforços para melhorar a qualidade dos registos genealógicos da raça Bísara. Esta informação é essencial para o estabelecimento de ligações genéticas entre animais não contemporâneos e entre

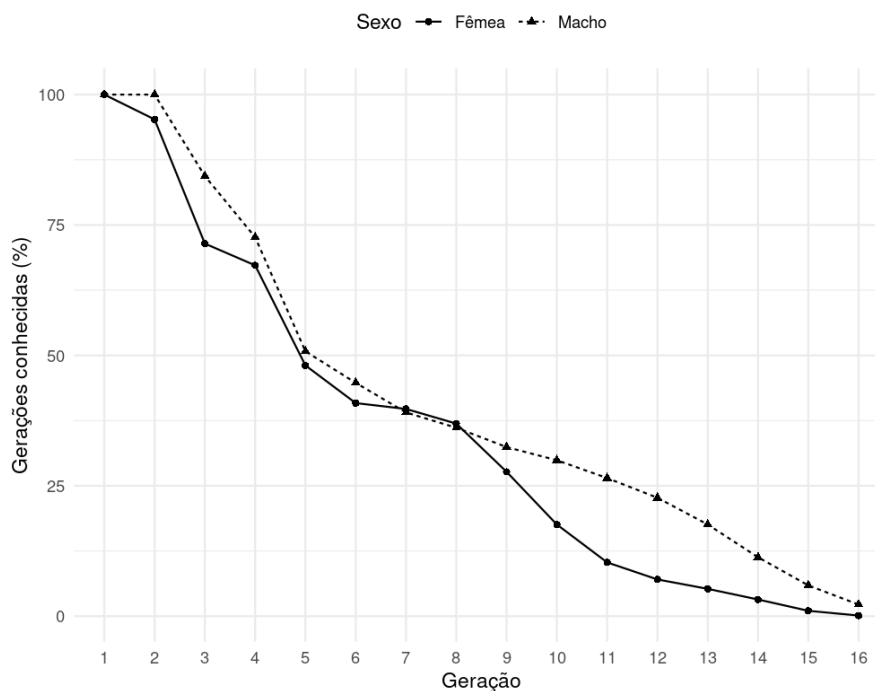


Figura 2.1: Grau de preenchimento do pedigree dos suínos da raça Bísara

explorações, as quais são fundamentais para o melhoramento genético da raça, mas também para o desenvolvimento de programas de conservação da diversidade genética e para o controlo da consanguinidade individual e populacional.

2.2.2 Consanguinidade

Na Tabela 2.2 apresentamos o número e a distribuição dos animais consanguíneos do pedigree e da população activa. Uma elevada proporção dos animais do pedigree (47,7%) e da população activa (42,1%) são consanguíneos. Na população activa, aproximadamente 39,0% dos animais apresentaram um coeficiente de consanguinidade elevado e superior a 20%. O aumento do grau de parentesco médio das populações aumenta a probabilidade de acasalamento entre animais aparentados (Ontiveros et al., 2009), pelo que é essencial, no curto prazo, dar vantagem reprodutiva aos animais menos

Tabela 2.2: Classes de consanguinidade do pedigree e da população activa da raça Bísaro

Classe de consanguinidade	Pedigree		População activa	
	Número	Proporção (%)	Número	Proporção (%)
0-5	1095	26,0	755	26,0
5-10	460	10,9	311	10,7
10-15	594	14,1	392	13,5
15-20	476	11,3	314	10,8
20-25	229	5,43	291	10,0
25-30	572	13,6	278	9,58
30-35	272	6,45	197	6,79
35-40	205	4,86	147	5,06
40-45	107	2,54	76	2,62
45-50	80	1,89	62	2,14
50-55	77	1,83	60	2,07
55-60	21	0,50	5	0,17
60-65	17	0,0	10	0,34
65-70	7	0,17	4	0,14
70-75	1	0,02	1	0,03
75-80	1	0,02	-	-
Consanguinidade média	17,2 (máximo 75,0)		17,4 (máximo 73,1)	
Animais consanguíneos	4214	44,7	2903	42,1

aparentados e, portanto, representado uma maior número de animais fundadores.

Os animais consanguíneos da população activa (cerca de 42%) apresentaram um coeficiente de consanguinidade médio de 17,4%, resultados ligeiramente inferiores aos reportados por Fernandes et al. (2010), cujos valores encontrados foram 52,4% de animais consanguíneos com uma consanguinidade média de 22,9%. Estes resultados mostram uma tendência positiva na diminuição do coeficiente de consanguinidade individual dos animais da raça. Todavia, os resultados deste trabalho mostram, ainda, a necessidade de estabelecer um programa de acasalamentos estratégico para evitar o acasalamento de animais aparentados. Para tal, a informação contida no pedigree é essencial para estabelecer acasalamentos orientados para minimizar o aumento da taxa de consanguinidade na população de suínos da raça Bísara.

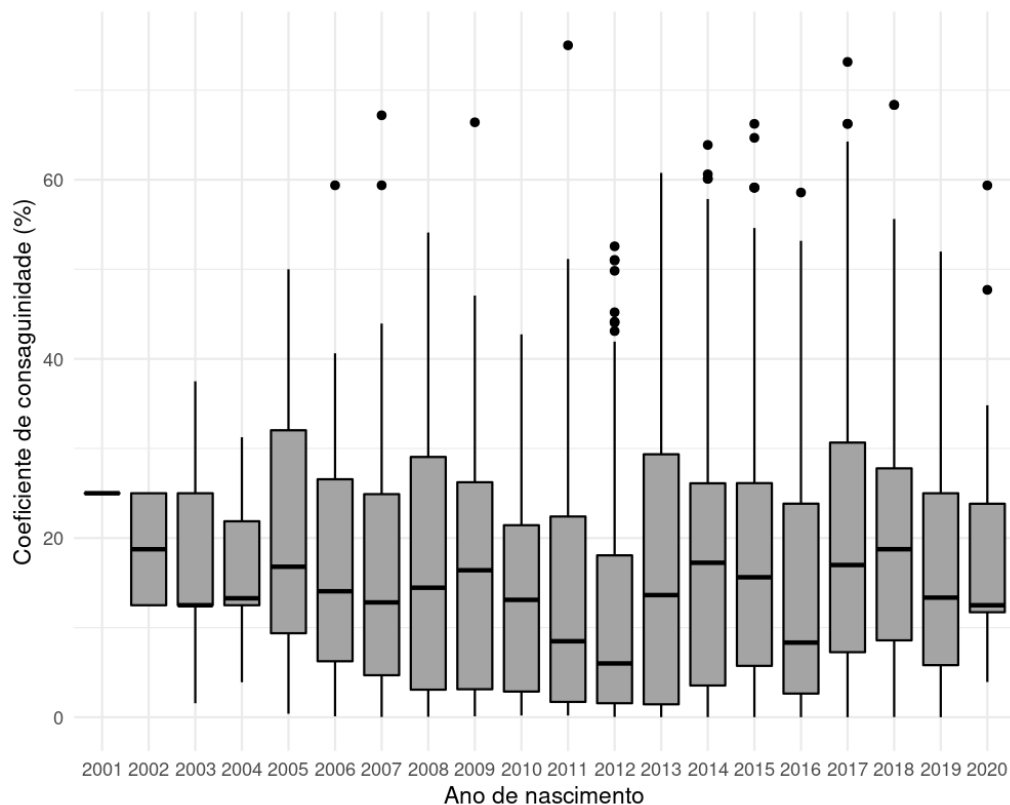


Figura 2.2: Evolução e distribuição anual do coeficiente de consanguinidade (%) dos animais consanguíneos da população de suínos da raça Bísara

Na Figura 2.2 apresentamos a evolução e a distribuição anual do coeficiente de consanguinidade (%) dos animais consanguíneos da população de suínos da raça Bísara. Podemos observar que apesar de a consanguinidade individual oscilar entre anos, mas nos últimos anos (de 2012 a 2020) observa-se uma tendência para esta aumentar. Por outro lado, observa-se também a existência de animais com coeficientes de consanguinidade muito elevados (superior a 40%), pelo que estes resultados são um alerta que a ANCSUB deve tomar em consideração para a ajustar a estratégia de acasalamentos de forma a minimizar, caso não seja possível evitar o aumento da consanguinidade.

Populações com informação genealógica pouco profunda, tal como acontece na raça Bísara, a homozigotia é subestimada, pelo que no curto prazo é essencial melhorar a qualidade do pedigree da raça, para que o controlo do aumento da taxa de consanguini-

nidade seja bem sucedido. Baumung and Sölkner (2003) mostraram que a informação extra obtida pela utilização de mais de 5 gerações de pedigree conduz, apenas, a melhorias marginais na previsão dos coeficientes de consanguinidade e de homozigotia das populações. Todavia, a presença de falsos progenitores superior a 20% representa um problema mais grave para a identificação dos animais homozigóticos do que pedigrees incompletos ou pouco profundos. Assim, deve ser dada especial atenção ao correcto registo de paternidades, já que um registo errado é mais grave do que a não existência do registo.

2.2.3 Intervalo entre gerações

Na Tabela 2.3 apresentamos o intervalo entre gerações para os quatro caminhos progenitor-descendente dos reprodutores que produziram descendentes reprodutores. Geralmente, os varrascos iniciam a sua actividade reprodutiva mais cedo que as porcas, especialmente quando se recorre à inseminação artificial. No entanto, o caminho Pai-Filho apresentou um intervalo entre gerações ligeiramente inferior aos três caminhos alternativos. De 1997 a 2008, todos os caminhos do L apresentaram um aumento, esta tendência pode ser explicada pela redução na utilização da inseminação artificial, mas a reduzida profundidade do pedigree pode também por problemas à estimativa destes parâmetros. É também claro o aumento do intervalo entre gerações nos quatro caminhos alternativos, estes resultados podem também sofrer de enviesamento resultante da reduzida profundidade do pedigree. Mas devem, contudo, ser analisados pelos técnicos da ANCSUB para tentar perceber o motivo por este aumento do intervalo entre gerações nos quatro caminhos.

Tabela 2.3: Intervalo entre gerações para os quatro caminhos progenitor-descendente dos reprodutores que produzem descendentes reprodutores

Período	Pai-Filho	Pai-Filha	Mãe-Filho	Mãe-Filha
2010	2,02	2,00	2,29	2,01
2011	2,12	2,20	1,98	2,14
2012	2,58	2,30	2,50	2,55
2013	2,41	2,18	2,11	2,09
2014	2,51	2,54	2,57	2,32
2015	2,06	2,10	1,91	1,88
2016	2,72	2,58	2,18	2,27
2017	2,36	3,27	2,43	2,62
2018	2,52	2,71	2,75	2,95

2.2.4 Probabilidade de origem dos genes

Na Tabela 2.4 apresentamos o número efectivo de fundadores (f_f), o número efectivo de ancestrais (f_a), o número efectivo de genomas fundadores (f_g), o número de ancestrais que contribuíram com 50% dos genes presentes no pool de genes (N_{50}) da população activa da raça Bísara e a contribuição dos ancestrais mais importantes (C_{max}). O número efectivo de fundadores foi de 163 varrascos e 159 porcas, pelo que cerca de 322 ancestrais fundadores contribuem com 100% dos alelos presentes na população activa. Todavia, o número efectivo de ancestrais (f_a) é muito inferior (49 varrascos e 57 porcas), pelo que cerca de 106 animais fundadores ou não representam a variabilidade genética total aobservada na população activa (animais nascidos entre 2014 e 2020).

Cerca de 53 porcas e 51 varrascos explicaram 50% do pool de genes (N_{50}) presentes nos animais da população activa nascidos entre 2014 e 2020. Apesar do elevado número de animais consanguíneos, a contribuição máxima individual dos animais para a população activa foi baixa, cerca de 2,75% para os varrascos e 3,87% para as fêmeas.

A contribuição das 50 porcas com maior contribuição para os animais da população activa, nascidos entre 2014 e 2020, explicou 48,3% dos genes presentes nas fêmeas.

Tabela 2.4: Número de fundadores (f), número efectivo de fundadores (f_e), número efectivo de ancestrais (f_a), número efectivo de genomas (f_g), número de ancestrais que contribuíram com 50% dos genes presentes no pool de genes (N_{50}) da população activa e contribuição dos ancestrais mais importantes (C_{max}) da raça Bísara

Parâmetros	Machos	Fêmeas
f	454	770
f_e	162,5	159,7
f_a	48,9	57,5
f_g	48,2	52,1
N_{50}	51,0	53,0
C_{max}	2,75	3,87

Da mesma forma, os 50 varrascos com maior contribuição para os machos presentes na população activa, nascidos entre 2014 e 2020, explicaram 52,1% dos genes presentes nos varrascos. A razão f_e/f_a dá-nos a magnitude da perda de genes resultante da ocorrência de bottlenecks (Ontiveros et al., 2009), este rácio foi de 3,3 para os varrascos e 2,8 para as porcas, o que mostra que a raça Bísara sofreu perdas de variabilidade genética em resultado da ocorrência de bottlenecks.

Estes resultados corroboram os encontrados por Fernandes et al. (2010), mais uma vez salientamos que estes resultado são difíceis de explicar. De facto, a reduzida profundidade do pedigree obriga-nos a ter precauções na extracção de conclusões dos resultados obtidos. O coeficiente de consaguinidade médio pode ser afectado por vários factores, nomeadamente: o tamanho da população, a qualidade dos dados genealógicos e pela estratégia reprodutiva em uso. Dos três, o grau de preenchimento do pedigree, quando baixo, dificulta a interpretação dos resultados obtidos. Assim, é clara a necessidade de trabalhar na melhoria dos dados genealógicos da população de suínos da raça Bísara. Todavia, devemos salientar que os resultados aqui apresentados são manifestamente melhores que os encontrados por Fernandes et al. (2010) no seu estudo demográfico da raça Bísara.

2.3 Conclusões

Apesar do elevado número de animais registados na base de dados genealógica, o pedigree é pouco profundo e limita a interpretação dos resultados obtidos neste trabalho, uma vez que a teoria aplicada apresenta algumas fraquezas quando o pedigree é pouco informativo. No entanto, estes resultados mostram que a população da raça Bísara esteve sujeita a um gargalo de garrafa, pelo que sofreu perdas de diversidade genética. É pois essencial definir um plano de acasalamentos dirigidos tendo em vista minimizar o aumento da taxa de consanguinidade na população.

Este trabalho mostra que são necessários esforços por parte da ANCSUB para aumentar a qualidade do pedigree da raça Bísara. Só uma melhoria substancial da qualidade do pedigree poderá apoiar a manutenção da diversidade genética da raça Bísara, a qual é determinante para a sua conservação, para evitar a perda de genes, mas também para a implementação de eventuais planos de melhoramento genético da raça.

2.4 Referências bibliográficas

Paulo António Russo Almeida. *Diversidade genética e diferenciação das raças portuguesas de ovinos com base em marcadores de DNA - microssatélites: perspectiva de conservação*. PhD thesis, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2007.

ANCSUB. Raça bísara, 2021. URL <https://www.porcobisaro.net/>.

Jonh C. Avise. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman & Hall,

- 1994.
- R. Baumung and J. Sölkner. Pedigree and marker information requirements to monitor genetic variability. *Genetics Selection Evolution*, 35:369–383, 2003.
- D. Boichard. Pedig : a fortran package for pedigree analysis suited to large populations. In *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, pages paper 28–13, Montpellier, 19-23 Août 2002.
- D. Boichard, L. Maignel, and É. Verrier. Analyse généalogique des races bovines laitières francaises. *INRA Productions Animales*, 9(5):323–335, 1996.
- D. Boichard, L. Maignel, and É. Verrier. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genetic Selection and Evolution*, 29:5–23, 1997.
- D. Botstein, R. L. White, M. Skolnick, and R. W. Davis. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32(3):314–331, May 1980.
- R. Bozzi, O. Franci, F. Forabosco, C. Pugliese, A. Crovetto, and F. Filippini. Genetic variability in three italian beef cattle breeds derived from pedigree information. *Italian Journal of Animal Science*, 2006.
- A. Caballero and M. A. Toro. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genetical Research*, 75(03):331–343, 2000.
- Marieta Amélia Martins de Carvalho. Produção agroecológica de suínos da raça bísara, 2014.

Marieta Amélia Martins de Carvalho. Os suínos da raça bísara e sustentabilidade do mundo rural, 2015.

M. M. A. A Correia Teresa. *Estudo da variabilidade e relações genéticas em raças caprinas autóctones mediante microssatélites*. PhD thesis, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2004.

António Alberto Neves de Alcochete. *Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termosensível (TGMS) do genoma de arroz (Oryza sativa L.)*. PhD thesis, Universidade de Brasília, 2005.

Direcção Geral do Commercio e Industria. Recenseamento geral dos gados no continente do reino de portugal. In *1as Jornadas de Leitaria Tropical*, page 1–569, Lisboa, 1870. MINISTERIO DAS OBRAS PUBLICAS, COMMERCIO E INDUSTRIA, Imprensa Nacional.

A. Djellali, J. Vu Tien Khang, H. Rochambeau, and E. de Verrier. Bilan génétique des programmes de conservation des races ovines solognote et mérinos précoce. *Genetic Selection and Evolution*, 26(suppl. 1):255–265, 1994.

Andréa Alves Egito. *Diversidade genética, ancestralidade individual e miscigenação nas raças bovinas no brasil com base em microssatélites e halótipos de DNA mitocondrial: Subsídios para a conservação*. PhD thesis, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

DS Falconer and TFC Mackay. *Introduction to quantitative genetics*. Pearson Prentice Hall, fourth edition edition, 1996.

FAO. *The Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources*.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999.
- FAO. *Situação Mundial dos Recursos Genéticos Animais Para Agricultura e Alimentação*. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), 2007.
- S. D. Fernandes, S. Malovrh, and Vasco Kovac, M. and Cadavez. Study of genetic diversity of bisaro pigs breed by pedigree analysis. *Lucrări Științifice*, 53(15): 326–330, 2010.
- R. Frankham, D.A. Briscoe, and J.D. Ballou. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge Univ Pr, 2002.
- Catarina Jorge Ginja. *Influência das raças bovinas Ibéricas na estrutura genética das populações de bovinos Crioulos da América Latina*. PhD thesis, Universidade Tecnica de Lisboa - Instituto Superior de Agronomia, 2009.
- G. Grothendieck. *sqldf: Manipulate R Data Frames Using SQL*, 2017. URL <https://CRAN.R-project.org/package=sqldf>. R package version 0.4-11.
- P.W. Hedrick. Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11):629–636, 2001.
- R. C. Lacy. Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol*, page 111–123, 1989. Não tenho este artigo.
- Paula Lopes. *Estudos moleculares da genética da tolerância ao alumínio em trigos*. PhD thesis, Universidade do Minho e Trás-os-Montes, 1999.
- J.L. Lush. Animal breeding plans. *Animal breeding plans.*, 1945.

- G. Malécot. *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson and Cie, Paris, 1948.
- C. McManus, S. Paiva, P. S. Corrêa, I. Seixas, and C. B. de Melo. Estatísticas para descrever a genética de populações. on-line, Janeiro 2011. URL http://animal.unb.br/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=87&Itemid=68.
- F. Miglior. Impact of inbreeding - managing a declining holstein gene pool. In *10th World Holstein Friesian Federation Conference*, page 108–113, Sydney, NEW, Australia, 30 April - 3 May 2000.
- J. Miranda do Vale. *Gado bissulco: suínos, bovinos, arietinos, caprinos*. Sá da Costa, 1949.
- José Aranguren Méndez, Jordi Jordana, Rosa Avellanet, and Miguel Torrens. Estudio de la variabilidad genética en la raza mallorquina para propósito de conservación. *Revista científica, FCV-LUZ*, 12(5):358–366, 2002.
- P. Narain. Genetic diversity - conservation and assessment. *Current Science*, 79(2):170–175, 2000.
- M. Nei. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12):3321, 1973.
- M. Nei. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia Univ Pr, 1987.
- T. Nomura, T. Honda, and F. Mukai. Inbreeding and effective population size of japanese black cattle. *Journal of Animal Science*, 79(2):366, 2001.
- K. Oldenbroek. *Utilisation and conservation of farm animal genetic resources*. Wageningen Academic Publishers, 2007.

- C. Oliveira, B. Gutiérrez-Gil, S. Pedrosa, E. Barbosa, R. Dantas, J. V. Leite, N. V. Brito, J. J. Arranz, and Y. Bayón. Caracterização genética das raças ovinas bordaleira de entre douro e minho e serra da estrela: Dna nuclear e mitocondrial. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100:175–180, 2005.
- Y.V. Ontiveros, J.A. Méndez, R. Román, W. Isea, G. Contreras, S. Zambrano, and J. Jordana. Pedigree analysis in criollo limonero. *Revista Científica*, 18(3), 2009.
- R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. URL <https://www.R-project.org/>.
- Inês Madeira Satar. CaracterizaÇÃo de microssatÉlites em espÉcies de ambientes humanizados. Master’s thesis, UNIVERSIDADE DE LISBOA, 2009.
- Vergilio Taborda. Alto trás-os-montes: Estudo geográfico. Coimbra: Imprensa da Universidade, Coimbra, 1932.
- M. Toro, C. Barragán, C. Ovilo, J. Rodrigañez, C. Rodriguez, and L. Silió. Estimation of coancestry in iberian pigs using molecular markers. *Conservation Genetics*, 3(3):309–320, 2002.
- P. M. VanRaden. Accounting for inbreeding and crossbreeding in genetic evaluation for large populations. *Journal of Dairy Science*, 75:3136–3144, 1992.
- S. Wright. Coefficients of inbreeding and relationship. *Am. Nat.*, 645:330–338, 1922. Não tenho.
- S. Wright. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, 16(2):97, 1931.

Álvaro Spritze, Andréa Alves de Egito, Arthur Silva da Mariante, and Concepta McManus. Caracterização genética da raça bovina crioulo lageano por marcadores moleculares rapd. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(10):1157–1164, 2003.