

NOTABREVE

ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES OVINAS CHURRAS PORTUGUESAS

ANALYSIS OF GENETIC STRUCTURE OF PORTUGUESE SHEEP POPULATIONS FROM CHURRO BRANCH

Santos-Silva, F.¹, R. Ivo^{1†}, M.C. Sousa¹, A. Vicente², I. Carolino¹, N. Carolino e L.T. Gama^{1,3}

¹Estação Zootécnica Nacional - INRB. 2005-048 Vale de Santarém. Portugal.

²Escola Superior Agrária de Santarém. Quinta do Galinheiro. Apart. 310. 2001-904 Santarém. Portugal.

³Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa. 1300-477 Lisboa. Portugal.

PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Microsatélites.

ADDITIONAL KEYWORDS

Microsatellites.

RESUMO

A diversidade e estrutura genética foram estudadas em seis raças portuguesas do grupo Churro (Badana, Galega Bragançana, Galega Mirandesa, Mondegueira, Churra da Terra Quente e Algarvia), e na raça exótica Assaf, com um conjunto de 20 microsatélites. Os dados foram analisados com a metodologia bayesiana implementada pelo software STRUCTURE. A variabilidade genética observada sugere a existência de quatro populações ancestrais na sua origem. As raças Assaf e Algarvia estão bem identificadas com populações ancestrais distintas, o que resultará do seu distanciamento geográfico relativamente às restantes raças. As outras raças Churras, cuja área de exploração é o Norte de Portugal, mostram um grau de diferenciação reduzido, e resultam de duas populações ancestrais que contribuem em maior ou menor proporção para cada raça, o que indica que provavelmente terá existido fluxo de genes entre estas raças.

SUMMARY

Genetic diversity and STRUCTURE were studied in six breeds of the Churro group (Badana, Galega Bragançana, Galega Mirandesa, Mondegueira, Churra da Terra Quente e Churra Algarvia),

Trabajo financiado por los proyectos INIA SC99-039 y RTA2005-00163-00-00.

and in the exotic Assaf breed, with a set of 20 microsatellite markers. Data were analyzed using the bayesian procedures implemented through the Structure software. The genetic variability observed suggests the existence of four ancestral populations which have originated them. The Assaf and Algarvia breeds are well identified with different ancestral populations, which is a result of their geographic distance relative to the other breeds. The remaining Churra breeds, which are exploited mostly in northern Portugal, show a low level of differentiation, and result from two ancestral populations which have contributed in some extent to each breed, indicating that probably some gene flow may have existed among them.

INTRODUÇÃO

Em Portugal estão reconhecidas 15 raças autóctones de ovinos, classificadas consoante o seu tipo de lã em Merino (lã fina), Bordaleiro (lã média) ou Churro (lã grosseira). O grupo Churro inclui as raças Algarvia (AL), Badana (BA), Galega Bragançana (GB), Galega Mirandesa (GM), Mondegueira (MO), Churra da Terra Quente (TQ) e de reconhecimento recente, a Churra do Minho (CM) e a Churra do Campo (CC). A maioria é criada no Norte do País (BA, GB, GM, MO, TQ e CM) uma no Centro (CC) e

Recibido: 8-9-08. Aceptado: 30-1-09.

Arch. Zootec. 58 (Supl. 1): 493-496. 2009.

uma no Sul (AL). O número de fêmeas registadas varia entre 100 (CC) e 27000 (TQ) mas, à excepção da TQ e da GB, todas têm efectivos em declínio e estão em risco de extinção.

A Assaf (AS), é uma raça de elevada produção leiteira de Israel, com grande expansão em Portugal, sobretudo no centro com o mesmo tipo de lã dos ovinos churros.

A necessidade de preservar os recursos genéticos tornou-se uma prioridade a nível global e os dados referidos mostram a necessidade de tomar medidas adequadas sua conservação que tenham em conta as fontes de variabilidade genética intra e entre raças e a estrutura das populações a estudar.

Os microssatélites, foram considerados pela FAO os marcadores moleculares de eleição para este tipo de estudos.

O objectivo deste trabalho foi reanalisar parte dos dados de um trabalho anterior (Santos-Silva *et al.*, 2008) com recurso à abordagem bayesiana de Pritchard *et al.* (2000), para avaliar a estrutura e grau de mistura das principais raças do grupo Churro (AL, BA, GB, GM, MO e TQ) tendo como referência a raça exótica AS.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dados de vinte microssatélites, OarFCB304, HSC, OarCP49, MCM140, CSR247, OarFCB20, OarFCB48, MAF214, MAF65, BM8125, OarVH72, INRA 23, MCM527, OarJMP29, MAF209, ILST005, CSSM66, OarFCB193, ILST11 e INRA0063, em 30 animais por raça (Santos-Silva *et al.*, 2008). A análise foi realizada com o STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) que implementa um algoritmo, baseado na cadeia de Monte Carlo (MCMC) para verificar a presença de estrutura nas raças e alocar os indivíduos a agrupamentos, em função dos seus genótipos em múltiplos *loci*. O método estima o logaritmo $[\ln \Pr (X|K)]$ da probabilidade dos genótipos observados (X), de acordo com o número de clusters (K)

subjacente aos dados em estudo. A estimativa e um indicador da probabilidade posterior de um K, dadas as observações genóticas (Druml *et al.*, 2007). Por comparação das probabilidades posteriores para o número de populações putativas o método permite inferir o número de populações com estrutura definida (K) (Manel *et al.*, 2005), considerando como mais verosímil o K para o qual $[\ln \Pr (X|K)]$ é máximo. Permite também determinar a fracção do genoma do indivíduo que deriva de cada população ancestral.

Na análise utilizou-se o *admixture model* com as frequências alélicas correlacionadas (Falush *et al.*, 2003).

O primeiro passo consistiu na determinação do K mais adequado à estrutura de dados. Foram realizadas três séries de corridas com diferentes períodos de burning (10^4 , 10^5 e 10^6) e repetições MCMC (3×10^4 , 3×10^5 e 3×10^6) e testados valores de K de 1 a 8, com cinco simulações para cada K. A estabilidade foi avaliada através da evolução das principais estatísticas e parâmetros e pela consistência dos resultados para o mesmo valor de K.

Depois estimou-se a contribuição dos diferentes clusters para as raças estudadas, (*membership coefficients*) de Pritchard, 2000), que se representou graficamente utilizando o software DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

RESULTADOS

Os resultados de $\ln \Pr (X|K)$ obtidos nas diferentes séries de corridas para os valores de K avaliados (1 a 8) apresentam-se na **figura 1**.

A figura mostra que os valores de $\ln \Pr (X|K)$ aumentam para K entre 1 e 4, e mostram uma variabilidade muito baixa entre corridas para o mesmo valor de K. A partir deste ponto, verifica-se uma flutuação nos valores médios de $\ln \Pr (X|K)$ e uma elevada dispersão dos valores para o mesmo K. O aumento dos parâmetros iniciais do modelo

ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES OVINAS

não se traduziu por uma melhoria da estabilidade.

Em função destes resultados, considerou-se 4 o número mais apropriado de populações ancestrais, por corresponder ao valor médio de $\ln \Pr(X|K)$ mais elevado, e com menor variância entre corridas.

Os resultados da contribuição das populações ancestrais apresentam-se na **figura 2**, que representa os indivíduos por linhas verticais divididas em K segmentos, proporcionais à fracção do seu genótipo atribuível a cada uma das K populações inferidas (Pritchard *et al.*, 2007).

A figura mostra 2 clusters distintos quando $K=2$, separando-se a raça AS de todas as raças autóctones. Quando $K=3$, é a AL que se separa das restantes Churrasde populações ancestrais, verifica-se que as cinco raças Churras, do Norte parecem resultar de apenas duas populações ancestrais, que contribuem em diferentes proporções para quase todos os animais daquelas raças.

Na **tabela I**, apresentam-se os resultados da contribuição proporcional de cada

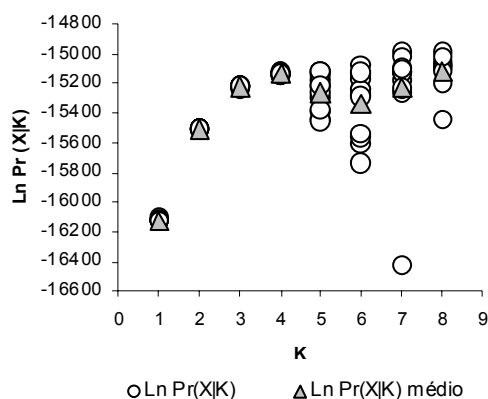


Figura 1. Valores independentes de $\ln \Pr(X|K)$ por corrida e valor médio de cinco corridas para cada K, em função do número de clusters (K). ($\ln \Pr(X|K)$ values of independent runs and mean value of five runs for each K, versus the number of clusters (K)).

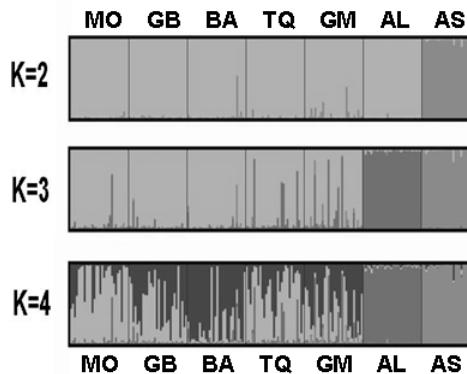


Figura 2. Contribuição proporcional das diferentes populações ancestrais para cada um dos indivíduos das diferentes raças (MO, GB, BA, TQ, GM, AL e AS), considerando valores de K entre 2 e 4. (Proportional contribution of the different ancestral populations for each individual of population studied (MO, GB, BA, TQ, GM, AL e AS), considering K values from 2 to 4).

um dos quatro clusters inferidos, para as raças em estudo.

Os resultados da **tabela I** mostram que as raças AS e AL se identificam claramente com as populações ancestrais (clusters) 2 e 3 respectivamente, das quais recebem uma fracção superior a 0,96 para o seu genoma. Além disso as contribuições dominantes

Tabela I. Contribuição proporcional dos quatro clusters inferidos para as diferentes raças estudadas. (Proportional contribution of the four inferred clusters to the different breeds studied).

Raças	Populações inferidas			
	1	2	3	4
MO	0,744	0,010	0,039	0,207
GB	0,452	0,011	0,027	0,511
BA	0,197	0,027	0,022	0,754
TQ	0,608	0,014	0,094	0,284
GM	0,330	0,043	0,118	0,509
AL	0,017	0,007	0,962	0,014
AS	0,011	0,963	0,008	0,018

destes clusters são essencialmente apenas para estas raças, e desprezáveis (inferiores a 0,12) para as outras. Os clusters 1 e 4 contribuem de forma dispersa para quase todas as populações em estudo. Destaca-se a contribuição do cluster 4 para a raça BA, superior a 0,75, e em menor proporção para as GMe GB, (cerca de 0,50) e MO e TQ (entre 0,21 e 0,28). O cluster 1, contribui essencialmente para a MO (0,74) e TQ (0,60) e, em menor grau, para a GB (0,45) e GM (0,33).

DISCUSSÃO

Os resultados actuais apoiam os obtidos anteriormente com um conjunto maior de microssatélites e outros métodos de análise (Santos-Silva *et al.*, 2008), confirmam que a diversidade genética, avaliada por microssatélites, sugere uma reduzida diferenciação nas raças ovinas Churras Portuguesas. A maior contribuição para a diferenciação entre raças provém da raça exótica AS e, em menor escala, da raça AL, que se encontra geograficamente distante das outras Churras. Considerando apenas as raças do Norte, os níveis de diferenciação são extremamente baixos, sendo a BA a que denota alguma separação das restantes. Esta resulta

provavelmente do fluxo de genes entre populações geograficamente próximas e possivelmente com origem comum, seleccionadas essencialmente para caracteres morfológicos associados a padrões raciais.

A maior diferenciação da raça AS compreende-se dada a sua introdução recente no País, sem relação com as raças autóctones. A diferenciação da AL das restantes raças autóctones pode explicar-se pela sua localização no Sul do País, o que terá limitado o fluxo de genes com outras raças Churras.

CONCLUSÃO

Um conjunto de quatro populações ancestrais parece descrever adequadamente a variabilidade genética encontrada nas sete raças Churras estudadas. Nas raças geograficamente próximas, o nível de diferenciação tende a ser pequeno e o fluxo de genes entre raças parece evidente, conduzindo a uma certa similaridade entre as raças Churras do Norte do País. Contudo, a raça exótica AS, assim como a AL, revelam uma estrutura genética clara, identificando-se de forma bastante próxima com populações ancestrais distintas.

BIBLIOGRAFIA

- Druml, T., I. Curik, R. Baumung, K. Aberle, O. Distl and J. Sölkner. 2007. Individual-based assessment of population structure and admixture in Austrian, Croatian and German draught horses. *Heredity*, 98: 114-122.
- Falush, D., M. Stephens and J.K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using Multilocus Genotype Data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164: 1567-1587.
- Manel, S., O.E. Gaggiotti and R.S. Waples. 2005. Assignment methods: matching biological questions techniques with appropriate. *Trends Ecol. Evol.*, 20: 136-142.
- Pritchard, J.K., M. Stephens and P.J. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multi-locus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Pritchard, J.K., X. Wen and D. Falush. 2007. Documentation for structure software: version 2.2. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure22/readme.pdf>. Acesso em: 21 de Julho 2008.
- Rosenberg, N.A. 2004. Distruct: A program for the graphical display of population structure. *Mol. Eco. Notes*, 4: 137-138. (<http://rosenberglab.bioinformatics.med.umich.edu/distruct.html>). Acesso em: 16 de Setembro 2008.
- Santos-Silva, F., R.S. Ivo, M.C.O. Sousa, M.I. Carolino, C. Ginja and L.T. Gama. 2008. Assessing genetic diversity and differentiation in Portuguese coarse-wool sheep breeds with microsatellite markers. *Small Ruminant Res.*, 78: 32-40.