

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA – UFBA  
PROGRAMA DE DOUTORADO EM ZOOTECNIA**

**DNA MITOCONDRIAL COMO FERRAMENTA PARA ESTIMAR  
DIVERSIDADE GENÉTICA DE EQUÍDEOS E ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO  
GENÔMICA NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

**JACKELINE SANTOS ALVES**

**SALVADOR – BAHIA  
JULHO – 2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA – UFBA  
PROGRAMA DE DOUTORADO EM ZOOTECNIA**

**DNA MITOCONDRIAL COMO FERRAMENTA PARA ESTIMAR  
DIVERSIDADE GENÉTICA DE EQUÍDEOS E ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO  
GENÔMICA NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

**JACKELINE SANTOS ALVES**

Bióloga

**SALVADOR – BAHIA  
JULHO – 2021**

**JACKELINE SANTOS ALVES**

**DNA MITOCONDRIAL COMO FERRAMENTA PARA ESTIMAR  
DIVERSIDADE GENÉTICA DE EQUÍDEOS E ESTUDOS DE  
ASSOCIAÇÃO GENÔMICA NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

Tese apresentada ao Programa de  
Doutorado em Zootecnia, da Universidade  
Federal da Bahia, como requisito parcial  
para obtenção do título de Doutora em  
Zootecnia.

Área de Concentração: Melhoramento  
Animal

Orientador: Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo

Coorientador: Prof. Dr. Raphael Bernal Costa

**SALVADOR – BA  
JULHO – 2021**

## Sistemas de Bibliotecas – UFBA

Alves, Jackeline Santos.

DNA mitocondrial como ferramenta para estimar diversidade genética de equídeos e estudos de associação genômica na reprodução de bovinos / Jackeline Santos Alves. - 2021.

121 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo.

Coorientador: Prof. Dr. Raphael Bernal Costa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2021.

1. Zootecnia. 2. Bovinos - Criação. 3. Cavalos - Criação. 4. Bovinos - Melhoramento genético. 5. Cavalos - Melhoramento genético. 6. Genômica. I. Camargo, Gregório Miguel Ferreira de. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.082

CDU - 636.082

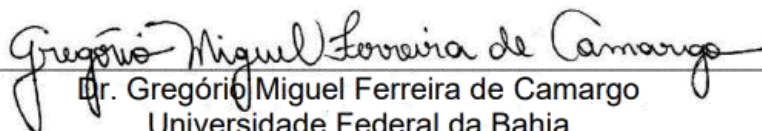
**DNA MITOCONDRIAL COMO FERRAMENTA PARA ESTIMAR  
DIVERSIDADE GENÉTICA DE EQUÍDEOS E ESTUDOS DE  
ASSOCIAÇÃO GENÔMICA NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

**Jackeline Santos Alves**

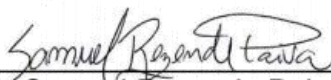
**Tese defendida e aprovada para obtenção do grau de Doutora em  
Zootecnia.**

**Salvador, 12 de julho de 2021.**

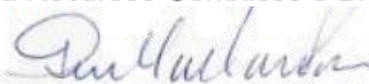
**Comissão Examinadora:**



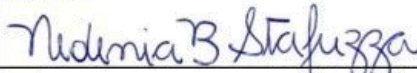
Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo  
Universidade Federal da Bahia  
Orientador / Presidente



Dr. Samuel Rezende Paiva  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



Dr. Guilherme Luís Pereira  
Universidade Estadual Paulista



Dra. Nedenia Bonvino Stafuzza  
Instituto de Zootecnia



Dr. Diercles Francisco Cardoso  
Universidade de Guelph

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JACKELINE SANTOS ALVES - filha de Jason Alves da Silva e Rita de Cássia de Jesus Santos, nasceu na cidade de Itapetinga, Bahia, em 12 de abril de 1991. Em 2010, ingressou no curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, *campus* Itapetinga. Em fevereiro de 2015 formou-se Bióloga. Neste mesmo ano, ingressou no curso de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Jequié, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Luiz Souza Carneiro, sendo bolsista FAPESB/CAPES e desenvolvendo trabalho na área de Biologia Molecular e Morfometria Geométrica. Em abril de 2017 formou-se mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação. Em maio deste mesmo ano, iniciou os estudos de Doutorado em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, na área de Melhoramento Animal, sob orientação do Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo, submetendo-se à defesa de tese em julho de 2021.

“Tudo quanto te vier à mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças, porque no além, para onde tu vais, não há obra, nem projetos, nem conhecimento, nem sabedoria alguma.”

Eclesiastes 9:10

“Tudo o que fizerdes, fazei-o de todo o coração, como para o Senhor, e não para os homens!”

Colossenses 3:23

“Combati o bom combate, completei a carreira e guardei a fé!”

2 Timóteo 4:7

A Deus, por seu amor, fidelidade e misericórdia.  
A minha melhor amiga e avó Tereza Maria (*In memoriam*).  
A todas as pessoas que contribuíram para este momento.

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu **Deus**, pela sua infinita misericórdia e por todo zelo. Durante toda minha trajetória, sentir o cuidado de Deus, Ele cuidou de cada detalhe. Sou grata por todas as bênçãos, sonhos realizados e por sua companhia em todos os momentos da minha vida.

À minha querida avó **Tereza** (*in memoriam*) que ajudou forjar o meu caráter, minha melhor amiga (teria sido mais fácil se ela ainda estivesse aqui).

Por todo apoio, paciência, amor e incentivo, agradeço ao meu companheiro **Paulo Maurício**. Obrigada pôr vivenciar cada minuto desses sete anos comigo.

Ao meu avô **Djalma**, à minha mãe **Rita**, minha “tia-mãe” **Nelzita**, as minhas irmãs **Adrielle** e **Rafaela** e ao meu sobrinho **Levy**, por sempre estarem comigo, orando, dando-me forças e por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Ao meu orientador **Gregório** por toda a sua dedicação, paciência, ensinamentos e entusiasmo. Eu só tenho muito que te agradecer, por ser essa pessoa e profissional excelente. Por ter acreditado no nosso trabalho, obrigada por ser tão acessível e por todas as oportunidades. Sou grata, pelos conselhos, ideias e correções.

Agradeço ao Prof. Dr. **Raphael** pela coorientação, pelo conhecimento transmitido, atenção e por agir com leveza e transmitir confiança em diversas situações.

À **Marcinha** pela amizade e conhecimentos compartilhados. Obrigada por ter me ajudado nas longas, cansativas e prazerosas análises.

Aos amigos que o doutorado me deu, **Louise**, **Marisa** e **Madian** vocês tornaram esta etapa mais divertida e prazerosa. Obrigada pela convivência agradável e por sempre estarem disponíveis para me ajudar. Sou grata por todos os momentos vividos com vocês, muitos deles recheados com um cafezinho e boas risadas.

Aos meus amigos e minhas amigas agradeço imensamente pelo carinho, atenção, orações e obrigada por sempre entenderem as minhas ausências nesse período.

À Waléria, Mônica e Sabrina, técnicas de laboratórios, sempre atenciosas e dispostas a ajudar.

A Iara, Valdecy, Fabieli, aos colegas e demais membros do **GEMA** e do **Laboratório Multifuncional**, meu muito obrigada. Grande parte do sucesso desta pesquisa fora devido a contribuição de vocês.

À **Universidade Federal da Bahia**, em especial ao **Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ)**, pela estrutura e apoio.



Aos órgãos de fomento (**FAPESB** e **CNPq**) pela concessão da bolsa de estudo e financiamento da pesquisa.

A todos os professores, produtores, associações de criadores e a EMBRAPA pela colaboração, meu muito obrigada.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

#### Análises de variabilidade da linhagem materna de equinos e asininos

	Página
Figura 1. Rede de haplótipos relacionada com 301 sequências de indivíduos pertencentes a espécie <i>Equus caballus</i> , baseada em 533 pb de <i>D-loop</i> do DNA mitocondrial.....	45
Figura 2. Rede de haplótipos relacionada com 31 sequências de indivíduos pertencentes a espécie <i>Equus asinus</i> , baseada em um fragmento de 379 pb de <i>D-loop</i> do DNA mitocondrial.....	48
Figura 3. (a) Mapa mostrando as localizações geográficas das regiões de formação/origem das raças no Brasil. (b) Topologia recuperada por Inferência Bayesiana e máxima verossimilhança (IB e ML) a partir de 14 haplótipos.....	51

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

#### Análises de variabilidade da linhagem materna de equinos e asininos

	Página
Tabela 1. Dados das sequências ( <i>D-loop</i> ) de asininos e equinos geradas no presente estudo e números de acesso do GenBank.....	37
Tabela 2. Variação genética de fragmento do gene <i>D-loop</i> (mtDNA) de 40 raças/ecótipos de <i>Equus asinus</i> e <i>Equus caballus</i> analisadas..	44
Tabela 3. Análise hierárquica da AMOVA entre 40 raças/ecótipos de asininos e equinos.....	48

### Capítulo 2

#### O efeito dos polimorfismos do DNA mitocondrial na reprodução de bovinos

	Página
Tabela 1. Estatística descritiva e herdabilidade para as características indicadoras de precocidade sexual em fêmeas Nelore.....	96
Tabela 2. Identificação dos genes relacionados com as características idade ao primeiro parto e a ocorrência de prenhez precoce em fêmeas da raça Nelore, presentes nas janelas de maiores efeitos, localizadas no genoma mitocondrial.....	98

## LISTA DE SIGLAS

AMOVA - Análise de Variância Molecular  
D-loop - região controle (*displacement loop*)  
DNA - Ácido Desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic Acid*)  
dNTP - Desoxirribonucleotídeos Fosfatados  
EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (*Food and Agriculture Organization*)  
F<sub>ST</sub> - Índice de Fixação Populacional  
GCs - Grupos de Contemporâneos  
GWAS – Estudos de associação genômica ampla (*Genome-Wide Association Study*)  
h<sup>2</sup> - Herdabilidade  
Hd – Diversidade haplotípica  
IPP - Idade ao Primeiro Parto  
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
mtDNA – DNA mitocondrial  
MgCl<sub>2</sub> - Cloreto de Magnésio  
NCBI - *National Center for Biotechnology Information*  
PCR - Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)  
P16 - Prenhez precoce  
SNP - Polimorfismos de base única (*Single Nucleotide Polymorphism*)

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>DNA mitocondrial como ferramenta para estimar diversidade genética de equídeos e estudos de associação genômica na reprodução de bovinos</b>	
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO DE LITERATURA GERAL.....	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12

### Capítulo 1

	<b>Página</b>
<b>Análises de variabilidade da linhagem materna de equinos e asininos</b>	
Resumo.....	30
Abstract.....	32
1. Introdução.....	33
2. Material e métodos.....	35
3. Resultados.....	42
4. Discussão.....	51
5. Conclusões.....	60
Agradecimentos.....	60
Dados suplementares.....	62
Referências.....	83

### Capítulo 2

	<b>Página</b>
<b>O efeito dos polimorfismos do DNA mitocondrial na reprodução de bovinos</b>	
Resumo.....	92
Abstract.....	93
Introdução.....	94
Material e métodos.....	94

Resultados e discussão.....	97
Conclusão.....	99
Financiamento.....	99
Aprovação de ética.....	100
Referências.....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS.....	104

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O processo de domesticação e outras ações do homem, tais como rotas migratórias, colonização das mais diversas regiões e seleção de rebanhos, permitiram e favoreceram a expansão e evolução dos animais domésticos (LARSON e FULLER, 2014; GILBERT et al., 2018). Dentre os animais domésticos de produção, os asininos, bovinos e equinos foram de fundamental importância para o processo de formação da civilização humana. Esses animais, durante a domesticação, passaram por um longo processo de adaptação que lhes conferiram características específicas de cada grupo genético (raças) (MARIANTE e CAVALCANTE, 2006; VIGNE, 2011; LARSON e FULLER, 2014). Ressalta-se que, quando os portugueses e espanhóis colonizaram o continente americano, eles trouxeram diversas raças exóticas, que foram criadas neste ambiente e desenvolveram características adaptativas aos mais diferentes habitats (PRIMO, 2004; MARIANTE e CAVALCANTE, 2006).

Com isso, o Brasil abriga várias raças de animais domésticos, sendo muitas dessas resultantes de cruzamentos entre raças trazidas para o Brasil no início da colonização. Tais cruzamentos permitiram o desenvolvimento das raças brasileiras, também conhecidas como “naturalizadas” (MARIANTE e EGITO, 2002). As raças sofrem ameaça de extinção, principalmente devido a substituição por raças exóticas (MARIANTE et al., 2008), assim como, relatado para raças de animais domésticos em todo o mundo (SIGNORELLO e PAPPALARDO, 2003; ZHANG et al., 2018). O estudo genético-molecular do DNA nuclear e de organelas dos animais domésticos de produção é importante tanto para a conservação e caracterização genética das raças, bem como para utilização de dados genético moleculares para futuros experimentos de seleção e melhoramento genético (ZHANG et al., 2018).

A caracterização da variabilidade genética de populações de *Equus caballus* e *Equus asinus* em criadouros no território brasileiro pode disponibilizar informações importantes no entendimento da diversidade genética destas espécies, permitindo a compreensão de como a variabilidade genética destes grupos estão organizadas (COZZI et al., 2018; IANELLA et al., 2017). Neste contexto, fica evidente a necessidade de

ações de pesquisa que visem, ainda que indiretamente, contribuir para o desenvolvimento de estratégias mais conscientes de manejo e conservação de *E. caballus* e *E. asinus*.

Atentando, para a produção de bovinos corte, animais da raça Nelore se caracterizam por serem mais adaptados e por suas potencialidades produtivas (PEREIRA, 2012). Para essa raça, há intenso trabalho de avaliação e melhoramento genético. Estudos de associação genômica ampla (GWAS) com características reprodutivas em bovinos Nelore são vários (COSTA et al., 2015; STAFUZZA et al., 2020). Todavia, estudos que consideram cromossomos sexuais e DNA mitocondrial são escassos (CARVALHO et al., 2019; DIAZ et al., 2020). Assim, trabalhos que visem avaliar a contribuição do genoma mitocondrial na expressão das características reprodutivas da raça Nelore são interessantes de serem feitos. Visto que o uso de marcadores não-autossômicos pode contribuir para o melhoramento genético e aumento da acurácia de seleção de características reprodutivas em bovinos da raça Nelore (DIAZ et al., 2020).

Neste contexto, objetivou-se caracterizar a diversidade genética materna de equídeos brasileiros. Bem como avaliar a contribuição do DNA mitocondrial na expressão das características idade ao primeiro parto e ocorrência de prenhez precoce de fêmeas da raça Nelore.

A estrutura da Tese está em conformidade com as normas do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). A tese está estruturada da seguinte forma: Parte introdutória, constituída pela Introdução Geral e Revisão de Literatura Geral, nesta são abordados temas pertinentes à proposta da pesquisa; Capítulo I, referente ao artigo – *Variability analyses of the maternal lineage of horses and donkeys*, publicado e elaborado com base nas normas do periódico *Gene* (ISSN 0378-1119); e Capítulo II, constituído pelo artigo - *The effect of mitochondrial DNA polymorphisms on cattle reproduction*, publicado e elaborado com base nas normas do Periódico *Molecular Biology Reports* (ISSN 0301-4851). Na parte final, importância, as principais implicações relacionadas à utilização e relevância dos resultados obtidos neste estudo são apresentadas nas Considerações Finais.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA GERAL

### 2.1 CLASSIFICAÇÃO, ORIGEM E DOMESTICAÇÃO ANIMAL

Na história da humanidade, o processo de domesticação caracteriza-se como um passo de fundamental importância. A domesticação animal teve início há pelo menos 15.000 anos, com a domesticação do cão (*Canis lupus familiaris*) (SAVOLAINEN et al., 2002; LARSON et al., 2012) e a partir de então várias outras espécies de animais foram domesticadas. Assim, a seleção artificial tanto ocasionou alterações biológicas e fisiológicas nesses animais, como impactaram no modo de vida da espécie humana, principalmente no que diz respeito a alimentação e transporte (DIAMOND, 2002; VIGNE, 2011; LARSON e FULLER, 2014).

No processo de domesticação, evidências arqueológicas sugerem que os bovinos foram domesticados no Crescente Fértil há aproximadamente 10.000 anos (AJMONE-MARSAN et al., 2010), enquanto os equinos foram domesticados na Eurásia por volta de 6.000 anos (WARMUTH et al., 2012; CINTRA, 2018) e os asininos, inicialmente, na África nesse mesmo período (BLENCH, 2000; BEJA-PEREIRA et al., 2004).

#### 2.1.1 *Bos taurus indicus* - RAÇA NELORE

A subfamília Bovinae, diferenciou-se há aproximadamente 25 milhões de anos, resultando em seus representantes atuais os bovinos e os bubalinos. Os bovinos atuais pertencem a espécie *Bos taurus*, esta é dividida em duas subespécies *Bos taurus taurus*, denominados popularmente de taurinos, e *Bos taurus indicus*, que são conhecidos popularmente como zebuínos (MACHUGH, 1996). Adicionalmente, os animais pertencentes a subespécie *B. taurus indicus* caracterizam-se por apresentarem giba ou cupim e barbeta abundante, pele pigmentada e pelos curtos (SANTIAGO, 1987; JORGE, 2013) e a domesticação dessa subespécie ocorreu no Vale do Indo (LOFTUS et al., 1994).

O Brasil possui uma das maiores populações de bovinos comerciais do mundo, cerca de 80% dessa população pertencem à subespécie *Bos taurus indicus* (PEREIRA,

2012; FAOFAST, 2020; USDA, 2020). Dentre as raças pertencente a subespécie *Bos taurus indicus* tem-se a raça Nelore. Os animais pertencentes a essa raça, caracterizam-se por serem resistentes ao clima tropical e à parasitas (OLIVEIRA et al., 2013; MELO COSTA et al., 2018; MAIORANO et al., 2019). Ressalta-se que a raça Nelore, apresenta a maior população de bovinos no território nacional, consistindo-se assim, a principal raça utilizada na produção de carne (FERRAZ e DE FELÍCIO, 2010; PEREIRA, 2012).

A introdução do Nelore no Brasil começou no século XIX, quando animais eram importados da Índia (Ongole). O nome da raça surgiu, devido ao local de armazenamento dos animais que tinham como destino o Brasil, esses ficavam separados na província Nelore enquanto não eram embarcados em navios (SANTOS, 1999; AJMONE-MARSAN et al., 2010).

Desde a introdução do Nelore no Brasil, esses animais atraem a atenção tanto de produtores (pequenos e grandes) como de pesquisadores e indústrias. Muitos estudos científicos são realizados com a raça Nelore, desde estudos de caracterização da diversidade genética (CARNEIRO et al., 2007; BRASIL et al., 2013; SANTANA et al., 2016), qualidade de produtos (GORDO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2021; CAPPELLOZZA et al., 2020), adaptação (HOOPER et al., 2019), fisiologia (BARCA JUNIOR et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; ZACARIAS et al., 2018) até as ciências ômicas (COSTA et al., 2019; da COSTA et al., 2020; POLETI et al., 2020).

### 2.1.2 EQUÍDEOS

A família Equidae é formada por um único gênero, *Equus*, com oito espécies reconhecidas, a saber: (i) *Equus caballus* (cavalo doméstico,  $2n=64$ ), (ii) *Equus przewalskii* (cavalo selvagem de Przewalskii,  $2n=66$ ), (iii) *Equus kiang* (Kiang,  $2n = 52$ ), (iv) *Equus hemionus* (asno asiático,  $2n=56$ ), (v) *Equus asinus* (Burro selvagem Africano,  $2n=62$ ), (vi) *Equus zebra* (zebra da montanha,  $2n=32$ ), (vii) *Equus burchelli* (zebra de Burchelli,  $2n=44$ ) e (viii) *Equus grevyi* (zebra de Grevyi,  $2n = 46$ ) (RYDER et al., 1978; STEINER et al., 2012).

Via de regra, pode-se inferir que os atuais representantes da família Equidae possuem um longo registro de levantamentos moleculares. Quando comparados com os jumentos e zebras, sugere-se que os cavalo doméstico e cavalo selvagem de Przewalski divergiram precocemente (WALLNER et al., 2003; ORLANDO et al., 2009; STEINER et al., 2012).

### *Equus caballus*

A espécie *Equus caballus* abriga mamíferos conhecidos popularmente como cavalos / equinos, essa espécie tem origem remetente a América do Norte, há cerca de 55 milhões de anos (HULBERT, 1996; MACFADDEN, 2005). O ancestral mais antigo dos equinos atuais é o *Eohippus*, esse animal assemelhava-se a uma raposa (MACFADEN, 2005). Os registros fósseis evidenciam o processo evolutivo de *E. caballus* desde esse ancestral, devido a fatores como especiação, diversificação, adaptações e extinção (MACFADEN, 2005). Com essa evolução, destaca-se que os cavalos desenvolveram coroas dentárias altas e tornaram-se monodáctilos (BENNETT, 2008). Dentre as principais características dos cavalos destacam-se as estruturas dos dentes e dígitos e tamanho do corpo (CINTRA, 2018).

Do continente americano, os equídeos se espalharam por todas as partes do mundo, com exceção da Austrália, de Madagascar e das ilhas japonesas (MARIANTE e CAVALCANTE, 2006). Quanto ao processo de domesticação, os cavalos que desapareceram do Novo Mundo durante o Quaternário foram domesticados na Eurásia por volta de 3000 a.C. (WARMUTH et al, 2012) devido a sua utilidade para o homem. Os equinos se destacaram pois, por um longo período tiveram papel fundamental em trabalhos agrícolas, transporte, guerra e na religião (CINTRA, 2018; FRANTZ et al., 2020). Atualmente os equinos ganharam novas funções para a sociedade na prática de esportes, lazer, atividades terapêuticas e educacionais (BRACHER, 2000; WELKER, 2018; BARRETO et al., 2019).

Assim, com base nessas funções, os cavalos podem ser agrupados em dois grandes grupos: O primeiro é tipo sela, caracterizados por serem animais leves, energéticos, de ossatura fina, tendões e articulações bem definidas, destinados à lida

com o gado, para viagens e diversos tipos de esportes. O segundo tipo é o pesado com animais maciços, largos, de ossatura forte e musculatura abundante, que são utilizados em serviços e transportes pesados, e quase sempre andam a passo (BRAGA, 2000; CINTRA, 2018).

### *Equus asinus*

Os integrantes da espécie *Equus asinus* (LINNAEUS, 1758) são conhecidos popularmente como asininos ou jumentos. Essa espécie, assim como *Equus caballus* pertence à ordem Perissodactyla, a família Equidae e ao gênero *Equus* (RYDER et al., 1978). Segundo Darwin (1859), os asininos tiveram origem a partir de um único ancestral africano, o jumento selvagem africano (*Equus africanus*) (ROSSEL et al., 2008) foi domesticado, há aproximadamente 6.000 anos, primeiramente na África (ARANGUREN-MENDEZ et al., 2004; MARIANTE e CAVALCANTE, 2006). Ressalta-se que existem algumas incongruências quanto à origem dos asininos domésticos, possivelmente para esta espécie ocorreram vários eventos de domesticação (ROSSEL et al., 2008). Duas origens maternas foram propostas para os jumentos modernos, sendo elas o jumento selvagem da Núbia (*Equus africanus africanus*) e o jumento selvagem da Somália (*Equus africanus somaliensis*) (BEJA-PEREIRA et al., 2004).

Os animais da espécie *E. asinus* caracterizam-se por possuir uma cabeça mais grosseira, com orelhas longas, largas e grossas, já o lábio superior é um pouco pontudo e a face larga e plana. Esses animais apresentam ainda uma linha dorso-lombar reta, longa e horizontal, geralmente com uma linha de pelos mais escuros (TORRES e JARDIM, 1987).

A domesticação e criação desses animais está atrelada a sua utilização, e revelam-se úteis na agricultura, no transporte, em eventos culturais, a exemplo de exposições e corridas (MARSHALL, 2007; AEPGA, 2014). Também são intensamente utilizados para produção de híbridos (muare).

Tanto os asininos quanto os equinos, foram introduzidos no Brasil por colonizadores portugueses e espanhóis por volta de 1.534 (PRIMO, 2004; CORTÉS et

al., 2017). Após a introdução esses equídeos foram amplamente dispersos e utilizados. Permitindo que esses animais se adaptassem a diferentes condições de ambiente, doenças e manejo. Os equídeos possuem ampla distribuição no território brasileiro, sendo encontradas diversas raças naturalizadas e cosmopolitas (MARIANTE e CAVALCANTE, 2006).

## **2.2 DIVERSIDADE E ANÁLISES FILOGENÉTICAS A PARTIR DO DNA MITOCONDRIAL**

O desenvolvimento das técnicas de reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) e sequenciamento de DNA alavancou o conhecimento genético a partir de marcadores moleculares (MULLIS, 1990; SANGER et al., 1977), sendo que a utilização de marcadores moleculares varia com o objetivo da pesquisa. Geralmente, realizam-se esses estudos a partir de informações contidas no genoma nuclear, porém o genoma mitocondrial é uma excelente fonte de informações para estudos taxonômicos e populacionais, devido a suas características a exemplo, padrão de herança não mendeliana, herança materna, o DNA mitocondrial evolui muito mais rápido que o DNA nuclear de uma maneira geral (GILES et al., 1980; OLIVO et al., 1983; BROWN, 1985; KOCHER et al., 1989).

Na maioria dos organismos, o genoma mitocondrial apresenta-se como uma molécula de dupla fita circular, possuindo um tamanho de aproximadamente 16,5 kb, os genes do DNA mitocondrial (mtDNA) tendem a ser conservado entre os eucariotos (GRAY et al., 2020; ANDERSON et al., 1981).

O mtDNA pode ser dividido em duas regiões, uma região codificante com 37 genes que são responsáveis pela produção de proteínas e RNAs, estes estão envolvidos no metabolismo energético da mitocôndria e uma outra região não codificante, chamada de região controle “D-loop” que recebeu este nome por conter os promotores da transcrição e a origem de replicação (TIAN et al., 2021).

O DNA mitocondrial tem sido utilizado em estudos de diversas áreas, como por exemplo, genética, fisiologia, reprodução entre outros. Segundo Darr et al. (2017) o mtDNA pode ser um indicador importante da saúde do esperma. Sendo que esses

autores verificaram que o aumento do número de cópias de mtDNA está associado à diminuição da motilidade total dos espermatozoides nos garanhões. Complementa-se que alterações na expressão de genes relacionados à mitocôndria, ao metabolismo e à fosforilação oxidativa foram verificadas por McGivney et al. (2010) em cavalos submetidos a treinamentos físicos. Em estudos com humanos, verificou-se que mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como por exemplo acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio (UMBRIA et al., 2020). Em camundongos, foi verificada relação do número de cópias do mtDNA com o potencial de desenvolvimento embrionário em camundongos (GE et al., 2012).

Adicionalmente, o mtDNA é utilizado na investigação da diversidade, origem e relações filogenéticas de várias espécies de animais, sendo que as regiões desse genoma mais utilizadas como marcadores são o citocromo B e a região controle (*displacement loop*), provavelmente por serem as regiões mais variáveis do mtDNA (OLIVO et al., 1983; TAMURA e NEI, 1993; FARIAS et al., 2001; BADHAN et al., 2015; MOUSTAFA et al., 2017).

Segundo Meyer (1994) estudos baseados na região controle pode fornecer mais informações sobre a estrutura populacional e contém mais informações filogenéticas que outras regiões gênicas do DNA mitocondrial. Assim, os marcadores *D-loop*, são considerados ferramentas úteis para a determinação da variabilidade genética populacional. Essa região recebeu este nome por conter o “*displacement loop*”, com aproximadamente 800 pares de bases que contém os promotores da transcrição das cadeias leve e pesada, assim como, a origem de replicação da cadeia pesada, acrescido a isso essa região tem uma alta taxa de mutação e é informativa para análises sobre as relações filogenéticas (WALBERG e CLAYTON, 1981; CLAYTON, 1984; ROSLI et al., 2011).

A região controle (*D-loop*) tem sido utilizada em estudos genético-moleculares, com raças de diferentes espécies, a exemplo dos estudos realizados por Xia et al., (2019) e Li et al., (2018) em bovinos, por Guo et al., (2017) e Teinlek et al., (2018) em aves domésticas, por Dudu et al., (2016) em ovinos e por Gvozdanović et al., (2019) em suínos. A diversidade genética também foi investigada usando *D-loop* em raças de

asininos (COZZI et al., 2018) e equinos (LOPES et al., 2005; LEI et al., 2009; ALMARZOOK et al., 2017).

Sabe-se que estudos de diversidade populacional e filogenéticos são incipientes para os ecótipos/raças naturalizadas de equídeos do Brasil, mesmo com a importância desses recursos para o patrimônio genético brasileiro (IANELLA et al., 2017). Portanto, pesquisas que visem investigar a diversidade genética e a estrutura populacional através de marcadores moleculares em genomas nuclear e mitocondrial são fundamentais. Ressalta-se que entre os estudos pioneiros para algumas raças naturalizadas fazendo uso de *primers* microssatélites, *D-LOOP* e SNP já foram realizados (ALMEIDA, 2009; IANELLA et al., 2017; IANELLA et al., 2018). Esses estudos apresentam algumas características genéticas das raças de equídeos brasileiras. Segundo Almeida (2009), foi possível verificar, pelo estudo do mtDNA, que as raças asininas brasileiras foram agrupadas com as raças asiáticas e europeias. Ainda segundo Almeida (2009) a análise do DNA genômico por meio de marcadores microssatélites demonstrou que as três raças de *E. asinus* brasileiras podem ser consideradas entidades genéticas distintas. Enquanto, Ianella *et al.* (2017) ressaltam a importância de estratégias de manejo para a conservação das raças naturalizadas de *E. caballus*, visto que foi detectado baixa variabilidade genética.

### **2.3 CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS EM PROGRAMAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO**

A domesticação promoveu diversos tipos de produção animal, dentre elas, avicultura, suinocultura, bovinocultura entre outras. E nesses diversos segmentos de atividades pecuárias tem-se o interesse em obter um retorno econômico. Com isso, alguns produtores passaram a ter interesse por informações mais detalhadas sobre seus rebanhos (PEREIRA, 2012). Dentre as diversas ações possíveis para aumentar o retorno econômico, destaca-se o melhoramento genético que de maneira geral se ocupa de alcançar melhores índices produtivos e/ou qualidade do produto por ferramentas genéticas (ROSA et al., 2013).

Menor ênfase é dada para as características reprodutivas nos programas de melhoramento de bovinos de corte no Brasil, uma vez que a prioridade nesses programas são as características de desenvolvimento ponderal (PEREIRA et al., 2001). Contudo, no que diz respeito ao retorno econômico, a eficiência reprodutiva é de grande importância na produção de bovinos de corte (BOLIGON e ALBUQUERQUE, 2011; COSTA et al., 2020).

Dentre as características indicadoras de precocidade sexual, que recentemente são estudadas e incorporadas em programas de melhoramento de bovinos tem-se a idade na puberdade (STAFUZZA et al., 2020), idade do primeiro parto (COSTA et al., 2015), ocorrência de prenhez precoce (IRANO et al., 2016), circunferência escrotal (CHIAIA et al., 2015), intervalo de partos (GROSSI ET AL., 2016) e qualidade do sêmen (OLIVEIRA, et al., 2021). E algumas peculiaridades são apresentadas por essas características indicadoras de precocidade sexual, como por exemplo, baixa herdabilidade e expressão em apenas um dos sexos (ROBINSON et al., 2006).

A adição de informação genômica nos estudos podem melhorar a acurácia de predição. Dessa maneira, para se estimar quais possíveis regiões são responsáveis pela expressão das características de importância econômica e se são passíveis de inclusão em avaliação genômica, são realizados estudos de associação genômica ampla (*Genome-wide Association Study* - GWAS), utilizando os polimorfismos de nucleotídeo único SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*). Adicionalmente, com a informação dos genótipos é possível estimar os valores genômicos e realizar a seleção genômica, levando assim à seleção precoce de animais por diminuir o intervalo de gerações e conseqüentemente aumentar a acurácia de predição dos valores genéticos (MEUWISSEN et al., 2001).

GWAS tem sido utilizado na subespécie *Bos taurus indicus* (gado zebu), a maioria destes estudos genômicos focam em variações nucleares autossômicas e negligenciam o genoma mitocondrial e os cromossomos sexuais (BRUFORD et al., 2015). *B. taurus indicus* é reconhecida pela sua maior adaptabilidade às condições tropicais, tanto relacionadas a altas temperaturas quanto à resistência a parasitas (FERRAZ e DE FELÍCIO, 2010; de MELO COSTA et al., 2018; MAIORANO et al., 2019). No entanto, as fêmeas zebuínas são consideradas como sexualmente tardias quando comparadas com as fêmeas da subespécie *Bos taurus taurus*



(ABEYGUNAWARDENA e DEMATAWEWA, 2004), o que interfere no retorno econômico.

Estudar o genoma mitocondrial utilizando marcadores moleculares, tais como os SNPs em estudos de associação genômica ampla, empregando o método *Single-step* que se caracteriza por incluir nas análises, simultaneamente, todas as informações disponíveis (fenótipos, pedigree e SNPs) (LEGARRA et al., 2009; LOURENCO et al., 2020), pode revelar a contribuição do DNA mitocondrial na expressão de características reprodutivas em bovinos, com a vantagem de usar um modelo que absorve toda a informação disponível concomitantemente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYGUNAWARDENA, H.; DEMATAWEWA, C. M. B. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v.82, p.373-387, 2004.

AEPGA. Associação para o Estudo e Proteção do gado Asinino. Disponível em: <<http://www.aepga.pt/>>. Acesso em 18 de novembro de 2020.

AJMONE-MARSAN, P.; GARCIA, J. F.; LENSTRA, J. A. On the origin of cattle: how aurochs became cattle and colonized the world. **Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews**, v. 19, n.4, p. 148-157, 2010.

ALMARZOOK, S.; REISSMANN, M.; BROCKMANN, G. A. Diversity of mitochondrial DNA in three Arabian horse strains. **Journal of Applied Genetics**, v.58, n.2, p.273-276, 2017.

ALMEIDA, L.D. **Diversidade genética de raças asininas criadas no Brasil, baseada na análise de locos microsatélites e DNA mitocondrial**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Dissertação de Mestrado, p.83, 2009.

ANDERSON, S.; BANKIER, A. T.; BARRELL, B. G.; DE BRUIJN, M. H. L.; COULSON, A. R.; DROUIN, J.; EPERON, I. C.; NIERLICH, D. P.; ROE, B.A.; SANGER, F.; SCHREIER, P. H.; SMITH, A. J. H.; STADEN, R.; YOUNG, I. G. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, v.290, p.457-465, 1981.

ARANGUREN-MÉNDEZ, J.A.; BEJA-PEREIRA, A.; AVELLANET, R.; DZAMA, K.; JORDANA, J. Mitochondrial DNA variation and genetic relationships in Spanish donkey breeds (*Equus asinus*). **Journal Animal Breeding Genetics**, v.121, n.5, p.319-330, 2004.

BADHAN, A., EICHSTAEDT, C. A.; ALMOND, N. M.; KNAPP, L. A.; ROSE, N. J. Analysis of full - length mitochondrial DNA D-loop sequences from *Macaca fascicularis* of different geographical origin reveals novel haplotypes. **Journal of Medical Primatology**, v.44, n.3, p.125-136, 2015.

BARCA JUNIOR, F. A.; JUNIOR, C. K.; FÁVARO, P. C.; PEREIRA, G. R.; MOROTTI, F.; MENEGASSI, S. R. O.; BARCELLOS, J. O. J.; SENEDA, M. M. Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology**, v.118, p. 16-21, 2018.

BARRETO, I.M.L.G.; RANGEL, A.H.N.; URBANO, S.A.; BEZERRA, J.S.; OLIVEIRA, C.A.A. Equine milk and its potential use in the human diet. **Food Science and Technology**, v.39, 2019.

BEJA-PEREIRA, A., ENGLAND, P. R., FERRAND N. et al. African origins of the domestic donkey. **American Association for the Advancement of Science**, v. 304, p. 1781-1781, 2004.

BENNETT, D. The evolution of the Horse: History and Techniques of study. **The Elsevier World Animal Science Encyclopedia**, p. 1-37, 2008.

BLENCH, R. M. **A history of donkeys, wild asses and mules in Africa**. In: BLENCH R.; M.; MacDonald K.C, editors. The origins and development of African livestock: Archaeology, genetics, linguistics and ethnography. London: UCL; p. 339–354, 2000.

BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G. D. Genetic parameters and relationships of heifer pregnancy and age at first calving with weight gain, yearling and mature weight in Nelore cattle. **Livestock Science**, v.141, p.12-16, 2011.

BRACHER, M. Therapeutic Horse Riding: What Has This to Do with Occupational Therapists? **British Journal of Occupational Therapy**, v.63, p.277–282, 2000.

BRAGA, R.M. **Cavalo Lavradeiro em Roraima**. Brasília: Embrapa, 2000.

BRASIL, B. S. A. F.; COELHO, E. G. A.; DRUMMOND, M. G.; OLIVEIRA, D. A. A. Genetic diversity and differentiation of exotic and American commercial cattle breeds raised in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.12, n.4, p.5516-5526, 2013.

BROWN, W. M. The mitochondrial genome of animals, In: MACINTYRE, R. J. (ed.). *Molecular Evolutionary Genetics*, Plenum Press, New York, p.95-130, 1985.

BRUFORD, M. W.; GINJA, C.; HOFFMANN, I.; JOOST, S.; OROZCO-TERWENGEL, P.; ALBERTO, F. J.; ... ZHAN, X. Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015-2025. **Frontiers in Genetics**, v.6, n.314, 2015.

CAPPELLOZZA, B. I.; BASTOS, J. P.; COOKE, R. F. Administration of an appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle improves performance after weaning and carcass pH. **Livestock Science**, 2020, 104067.

CARNEIRO, T. X.; GONÇALVES, E. C.; SCHNEIDER, M. P. C.; SILVA, A. Diversidade genética e eficiência de DNA microssatélites para o controle genealógico da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1257-1262, 2007.

CARVALHO, C.V.D.; HERMISDORFF, I.C.; SOUZA, I.S.; JUNQUEIRA, G.S.B.; MAGALHÃES, A.F.B.; FONSECA, L.F.S.; ALBUQUERQUE, L.G.; TONHATI, H.; CARVALHEIRO, R.; CAMARGO, G.M.F.; COSTA, R.B. Influence of X-chromosome markers on reproductive traits of beef cattle. **Livestock Science**, v.220, p.152-157, 2019.

CHIAIA, H. L. J.; LEMOS, M. V. A.; VENTURINI, G. C.; ABOUJAOUDE, C.; BERTON, M. P.; FEITOSA, F. B.; CARVALHEIRO, R.; ALBUQUERQUE, L. G.; OLIVEIRA, H. N.; BALDI, F. Genotype x environment interaction for age at first

calving, scrotal circumference, and yearling weight in Nellore cattle using reaction norms in multitrait random regression models. **Journal of Animal Science**, v.93, n.4, p.1503-1510, 2015.

CINTRA, A. D. C. **O cavalo: características, manejo e alimentação**. São Paulo: Roca, 364p, 2018.

CLAYTON, D. A. Replication of the animal mitochondrial DNA. **Cell**, v.28, n.4, p.639-705, 1984.

CORTÉS, O.; DUNNER, S.; GAMA, L. T.; MARTÍNEZ, A. M.; DELGADO, J. V.; GINJA, C.; JIMÉNEZ, L. M.; JORDANA, J.; LUIS, C.; OOM, M. M.; et al. The legacy of Columbus in American horse populations as sensed by microsatellite markers. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.134, n.4, p.340-350, 2017.

COSTA, R. B.; CAMARGO, G. M.; DIAZ, I. D.; IRANO, N.; DIAS, M. M.; CARVALHEIRO, R.; BOLIGON, A.A.; BALDI, F.; OLIVEIRA, H. N.; TONHATI, H.; ALBUQUERQUE, L. G. Genome-wide association study of reproductive traits in Nellore heifers using Bayesian inference. **Genetics Selection Evolution**, v.47, n.67, 2015.

COSTA, R. B.; IRANO, N.; DIAZ, I. D. P. S.; TAKADA, L.; HERMISDORFF, I. C.; CARVALHEIRO, R.; BALDI, F.; OLIVEIRA, H. N. TONHATI, H.; Albuquerque, L. G. (2019). Prediction of genomic breeding values for reproductive traits in Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 125, p. 12-17, 2019.

COSTA, E. V.; VENTURA, H. T.; VERONEZE, R.; SILVA, F.F.; PEREIRA, M. A.; LOPES, P.S. Estimated genetic associations among reproductive traits in Nellore cattle using Bayesian analysis. **Animal Reproduction Science**, v.214, 2020.

COZZI, M. C.; VALIATI, P.; CHERCHI, R.; GORLA, E.; PRINSEN, R. T. M. M.; LONGERI, M.; BAGNATO, A.; STRILLACCI, M. G. Mitochondrial DNA genetic

diversity in six Italian donkey breeds (*Equus asinus*). **Mitochondrial DNA Part A**, v.29, n.3, p.409-418, 2018.

da COSTA, M. B.; CÔNSOLO, N. R. B.; SILVA, J.; BUARQUE, V. L. M.; PADILLA, A. R. H., COUTINHO, I. D.; BARBOSA, L. C. G. S.; COLNAGO, L.A.; SILVA, S. L.; Netto, A. S. Performance, carcass traits and serum metabolomic profile of Nellore males with different genetic potential for post-weaning growth. **Animal**, v. 14, n. 4, p. 873-880, 2020.

DARR, C.R.; MORAES, L.E.; CONNON, RE.; LOVE, C.C.; TEAGUE, S.; VARNER, D.D.; MEYERS, S.A. The relationship between mitochondrial DNA copy number and stallion sperm function. **Theriogenology**, v.94, p.94-99, 2017.

DARWIN, C. **A origem das espécies e a seleção natural**. Tradução E. N. Fonseca. Curitiba: Ed. Hemus/Novo Seculo, 2000 [1859], 786 p.

DIAMOND, J. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. **Nature**, v. 418, p. 700–707, 2002.

DIAZ, I.D.P.S.; de CAMARGO, G.M.F.; CRUZ, V.A.R.D.; HERMISDORFF, I.D.C.; CARVALHO, C.V.D.; de ALBUQUERQUE, L.G.; COSTA, R.B. Mapping genomic regions for reproductive traits in beef cattle: Inclusion of the X chromosome. **Reproduction in Domestic Animals**, v.55, p.1650–1654, 2020.

DUDU, A.; GHIȚĂ, E.; COSTACHE, M.; GEORGESCU, S. E. Origin and genetic diversity of Romanian Racka sheep using mitochondrial markers. **Small Ruminant Research**, v.144, p.276-282, 2016.

ESCUDEIRO, A.; FERREIRA, D.; MENDES-DA-SILVA, A.; HESLOP-HARRISON, J. S.; ADEGA, F.; CHAVES, R. Bovine satellite DNAs—a history of the evolution of complexity and its impact in the Bovidae family. **The European Zoological Journal**, v. 86, n. 1, p. 20-37, 2019.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 102p, 2007.

FALEIRO, F. G.; AMABILE, R. F.; SILVA, C. B. M. C. **Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético de plantas**. In: AMABILE, R. F.; VILELA, M. S.; PEIXOTO, J. R. Melhoramento de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado. Brasília, DF: Proimpress; Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, p.51, 2018.

FAOFAST, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <[www.fao.org/faostat/](http://www.fao.org/faostat/)>. Acesso em 17 de agosto de 2020.

FARIAS, I. P.; ORTÍ, G.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H.; MEYER, A. The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. **Journal of Molecular Evolution**, v.53, n.2, p.89-103, 2001.

FERNÁNDEZ, M. H.; VRBA, E. S. A complete estimate of the phylogenetic relationships in Ruminantia: a dated species-level supertree of the extant ruminants. **Biological Reviews**, v. 80, n. 2, p. 269-302, 2005.

FERRAZ, J. B. S.; DE FELÍCIO, P. E. Production systems—An example from Brazil. **Meat Science**, v.84, p.238-243, 2010.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 220 p, 1998.

FRANTZ, L. A.; BRADLEY, D. G.; LARSON, G.; ORLANDO, L. (2020). Animal domestication in the era of ancient genomics. **Nature Reviews Genetics**, v.21, p.449-460, 2020.

GE, H.; TOLLNER, T. L.; HU, Z.; DAI, M.; LI, X.; GUAN, H.; SHAN, D.; ZHANG, X.; LV, J.; HUANG, C.; DONG, Q. The importance of mitochondrial metabolic activity and mitochondrial DNA replication during oocyte maturation in vitro on oocyte quality and subsequent embryo developmental competence. **Molecular Reproduction and Development**, v.79, p.392-401, 2012.

GILBERT, M.; NICOLAS, G.; CINARDI, G.; VAN BOECKEL, T. P.; VANWAMBEKE, S. O.; WINT, G. W.; ROBINSON, T. P. Global distribution data for cattle, buffaloes, horses, sheep, goats, pigs, chickens and ducks in 2010. **Scientific Data**, v.5, n.1, p.1-11, 2018.

GILES, R. E.; BLANC, H.; CANN, H. M.; WALLACE, D. C. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences** v.77, n.11, p.6715–6719, 1980.

GORDO, D. G. M.; ESPIGOLAN, R.; BRESOLIN, T.; FERNANDES JÚNIOR, G. A.; MAGALHÃES, A. F. B.; BRAZ, C. U.; FERNANDES, W. B.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic analysis of carcass and meat quality traits in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v.96, n.9, p.3558-3564, 2018.

GRAY, M. W.; BURGER, G.; DERELLE, R.; KLIMEŠ, V.; LEGER, M. M.; SARRASIN, M.; VLČEK, C.; ROGER, A. J.; ELIÁŠ, M.; LANG, B. F. The draft nuclear genome sequence and predicted mitochondrial proteome of *Andalucia godoyi*, a protist with the most gene-rich and bacteria-like mitochondrial genome. **BMC biology**, v.18, n.22, p.1-35, 2020.

GROSSI, D.A; BERTON, M.P.; BUZANSKAS, M.E.; CHUD, T.C.S.; GRUPIONI, N.V.; PAZ, C.C.P.; LÔBO, R.B.; MUNARI, D.P. Genetic analysis on accumulated



productivity and calving intervals in Nelore cattle. **Tropical animal health and production**, v.48, n.1, p.207-210, 2016.

GUO, H. W., LI, C.; WANG, X. N.; LI, Z. J.; SUN, G. R.; LI, G. X.; LIU, X. J.; KANG, X. T.; HAN, R. L. Genetic diversity of mtDNA D-loop sequences in four native Chinese chicken breeds. **British Poultry Science**, v.58, n.5, p.490-497, 2017.

GVOZDANOVIĆ, K.; MARGETA, V.; MARGETA, P.; DJURKIN KUŠEC, I.; GALOVIĆ, D.; DOVČ, P.; KUŠEC, G. Genetic diversity of autochthonous pig breeds analyzed by microsatellite markers and mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. **Animal Biotechnology**, v.30, n.3, p.242-251, 2019.

HOOOPER, H. B.; TITTO, C. G.; Gonella-Diaza, A. M.; Henrique, F. L.; Pulido-Rodríguez, L. F.; Longo, A. L. S.; LEME-DOS-SANTOS, T. M. C.; GERALDO, A. C. A. P. M.; PEREIRA, A. M. F.; BINELLI, M.; BALIEIRO, J. C. C. TITTO, E. A. L. Heat loss efficiency and HSPs gene expression of Nelore cows in tropical climate conditions. **International Journal of Biometeorology**, v. 63, n. 11, p.1475-1486, 2019.

HULBERT, R. J. **The ancestry of the horse. In: Olsen, S. (Ed.), Horses Through Time.** Roberts Rinchart, Boulder, CO, p.11-34, 1996.

IANELLA, P.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; PAIVA, S.R.; EGITO, A.A.; ALMEIDA, L.D.; SERENO, F.T.P.S.; CARVALHO, L.F.R.; MARIANTE, A.S.; McMANUS, C.M. D-loop haplotype diversity in Brazilian horse breeds. **Genetics and Molecular Biology**, v.40, n.3, p.604-609, 2017.

IANELLA, P.; MAUÉS, M.S.A.; CAETANO, A.R.; BIAZIO, G.R.; PAIVA, S. R.; NEPOMUCENO, A.R.; CARVALHO, L.F.R.; MCMANUS, C.M. Genetic diversity and Population Structure of locally adapted horse breeds in Brazil. **Proceedings of the World Congresson Genetics Applied to Livestock Production**, p.11-60, 2018.

IRANO, N.; DE CAMARGO, G. M. F.; COSTA, R. B.; TERAKADO, A. P. N.; MAGALHÃES, A. F. B.; SILVA, R. M. D. O.; DIAS, M. M.; BIGNARDI, A. B.; BALDI, F.; CARVALHEIRO, R.; OLIVEIRA, H. N.; ALBUQUERQUE, L. G. Genome-wide association study for indicator traits of sexual precocity in Nellore cattle. **PLoS One**, v.11, n.8, e0159502, 2016.

JANECEK, L. L., HONEYCUTT, R. L., ADKINS, R. M., DAVIS, S. K. Mitochondrial gene sequences and the molecular systematics of the artiodactyl subfamily Bovinae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 6, n. 1, p.107-119, 1996.

JORGE, W. A genômica bovina-origem e evolução de taurinos e zebuínos. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, n.2, p.217-237, 2013.

KOCHER, T. D.; THOMAS, W. K.; MEYER, A.; EDWARDS, S. V.; PÄÄBO, S.; VILLABLANCA, F. X.; WILSON, A. C. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.86, n.16, p.6196-6200, 1989.

LARSON, G., KARLSSON, E. K., PERRI, A., et al. Rethinking dog domestication by integrating genetics, archeology, and biogeography. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 23, p. 8878-8883, 2012.

LARSON, G.; FULLER, D. Q. The evolution of animal domestication. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 45, p. 115-136, 2014.

LEGARRA, A.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.9, p.4656-4663, 2009.

LEI, C. Z.; SU, R.; BOWER, M. A.; EDWARDS, C. J.; WANG, X. B.; WEINING, S.; LIU, L.; XIE, W. M.; LI, F.; LIU, R. Y.; ZHANG, Y. S.; ZHANG, C. M.; CHEN, H.

Multiple maternal origins of native modern and ancient horse populations in China. **Animal Genetics**, v.40, n.6, p.933-944, 2009.

LOPES, M. S., MENDONÇA, D., CYMBRON, T., VALERA, M., DA COSTA - FERREIRA, J., & DA CÂMARA MACHADO, A. The Lusitano horse maternal lineage based on mitochondrial D-loop sequence variation. **Animal Genetics**, v.36, n.3, p.196-202, 2005.

LI, R.; LI, C.; LIU, H., ZENG, B.; XIAO, H.; CHEN, S. Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of native cattle breeds from Yunnan, Southwestern China. **Livestock Science**, v.214, p.129-134, 2018.

LOFTUS, R. T., MACHUGH, D. E., BRADLEY, D. G., SHARP, P. M., CUNNINGHAM, P. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proceedings of the National Academy of Sciences U S A**, v. 91, p. 2757– 2761, 1994.

LOURENCO, D.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; MASUDA, Y.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I. Single-Step Genomic Evaluations from Theory to Practice: Using SNP Chips and Sequence Data in BLUPF90. **Genes**, v.11, n.790, 2020.

MACFADDEN, B.J. Fossil horses - evidence for evolution. **Science**, v.307, p.1728-1730, 2005.

MACHUGH, D. E. **Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle**. University of Dublin, Dublin, Tese de doutorado, p. 258, 1996.

MAIORANO, A. M.; GIGLIOTI, R.; OLIVEIRA MCS, OLIVEIRA, H. N.; CYRILLO, J. N. S. G.; MERCADANTE, M. E. Z.; SILVA, J. A. I. I. V. Resistance to the tick *Rhipicephalus microplus* and *Babesia bovis* infection levels in beef heifers raised in an endemic area of Sao Paulo state, Brazil. **Animal Production Science**, v. 59, p.938-944, 2019.

MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v.57, n.1, p.223-235, 2002.

MARIANTE, A.S.; CAVALCANTE, N. **Animais do Descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 274p, 2006.

MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; PAIVA, S.R.; RAMOS, A.F. Managing genetic diversity and society needs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, suplemento especial p.127-136, 2008.

MARSHALL, F. **African pastoral perspectives on domestication of the donkey: a first synthesis**. Rethinking agriculture: archaeological and ethnoarchaeological perspectives, p.371-407, 2007.

MCGIVNEY, B. A.; MCGETTIGAN, P. A.; BROWNE, J. A.; EVANS, A. C.; FONSECA, R. G.; LOFTUS, B. J.; LOHAN, A.; MACHUGH, D. E.; MURPHY, B. A.; KATZ, L. M.; HILL, E. W. Characterization of the equine skeletal muscle transcriptome identifies novel functional responses to exercise training. **BMC Genomics**, v.11, n.398, 2010.

MELO COSTA, C. C.; MAIA, A. S. C.; BROWN-BRANDL T. M.; NETO, M. C.; FONSÊCA, V. D. F. C. Thermal equilibrium of Nelore cattle in tropical conditions: an investigation of circadian pattern. **Journal of thermal biology**, v.74, p.317-324, 2018.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, v.157, n.4, p.1819-1829, 2001.

MEYER, A. **Molecular phylogenetic studies of fish**. In: BEAUMONT, A.R (ed.) *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*, Chapman & Hall, London, p.220-248, 1994.

MOUSTAFA, G. G.; ABD-ELHAKIM, Y. M.; EL SHARKAWY, N. I. Genetic profiling of equid hybrids using PCR-RFLP and partial sequence analysis of cytochrome b gene: forensic implication. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.54, p.37-41, 2017.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, v.262, n.4, p.56-65, 1990.

OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; GIGLIOTI, R.; BERALDO, M. C. D.; ANÍBAL, F. F.; CORREIA, R. O.; BOSCHINI, L.; CHAGAS, A. C. S.; BILHASSI, T. B.; OLIVEIRA, H. N. Resistance of beef cattle of two genetic groups to ectoparasites and gastrointestinal nematodes in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.197, n.1-2, p.168-175, 2013.

OLIVEIRA, G.B.; REGITANO, L.C.; CESAR, A.S.M.; REECY, J.M., DEGAKI, K.Y., POLETI, M.D.; FELÍCIO, A.M.; KOLTES, J.E.; COUTINHO, L.L. Integrative analysis of microRNAs and mRNAs revealed regulation of composition and metabolism in Nelore cattle. **BMC Genomics**, v.19, n.126, 2018.

OLIVEIRA, P. R. O.; OLIVEIRA, M. V. M.; BONIN, M. N.; ÁVALO, S. P.; CANCIO, P. F.; NASCIMENTO, J. D.; FERRAZ, A. L. J.; SURITA, L. M. A.; PIAZZON, C. J.; GALHARDO, A. G.; OLIVEIRA, D. M. Carcass and meat characteristics of feedlot finished nelore cattle and their crossbreeds in the Brazilian Pantanal. **Livestock Science**, v.244, 104360, 2021.

OLIVEIRA, T.V.V.B.; SILVA, H. T.; CARVALHO FILHO, I.; RAMOS, P.V.B.; SANTANA, T.E.Z.; GUIMARÃES, J.D.; GUIMARÃES, S.E.F.; LOPES, P.S.; SILVA, F.F.; VERONEZE, R. Alternative bayesian models for genetic evaluation of biometrical, physical, and morphological reproductive traits in nelore bulls. **Livestock Science**, v.244, 104313, 2021.

OLIVO, P. D.; VAN DE WALLE, M. J.; LAIPIS, P. J.; HAUSWIRTH, W. W. Nucleotide sequence evidence for rapid genotypic shifts in the bovine mitochondrial DNA D-loop. **Nature**, v.306, p.400- 402, 1983.

ORLANDO, L.; METCALF, J.L.; ALBERDI, M.T.; TELLES-ANTUNES, M.; BONJEAN, D.; OTTE, M.; MARTIN, F.; EISENMANN, V.; MASHKOUR, M.; MORELLO, F.; PRADO, J.L.; SALAS-GISMONDI, R.; SHOCKEY, B.J., WRINN, P.J., VASIL'EV, S.K., OVODOV, N.D., CHERRY, M.I., HOPWOOD, B.; MALE, D.; AUSTIN, J.J.; HÄNNI, C.; COOPER, A. Revising the recent evolutionary history of equids using ancient DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v.106, n.51, p.21754-21759, 2009.

PEREIRA, E.; ELER, J.P.; FERRAZ, J.B.S. Análise genética de algumas características reprodutivas e suas relações com o desempenho ponderal na raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.720-727, 2001.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 6. Ed. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 758p, 2012.

POLETI, M.D.; REGITANO, L.C.A.; SOUZA, G.H.M.F.; CESAR, A.S.M.; SIMAS, R.C.; SILVA-VIGNATO, B.; MONTENEGRO, H.; PÉRTILLE F.; BALIEIRO, J.C.C.; CAMERON, L.C.; ELER, J.P.; COUTINHO, L.L. Proteome alterations associated with the oleic acid and cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content in bovine skeletal muscle. **Journal of Proteomics**, v. 222, 2020.

PRIMO, A. **Conquista e Colonização: A Fantástica História dos Conquistadores Ibéricos e Seus Animais na Era dos Descobrimentos**. Editora Movimento, Porto Alegre, p.184, 2004.

ROBINSON, J. J.; ASHWORTH, C. J.; ROOKE, J. A.; MITCHELL, L. M.; MCEVOY, T. G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, n.3-4, p.259-276, 2006.

ROSA, A. D. N.; MARTINS, E. N.; MENEZES, G. D. O.; da SILVA, L. O. C.

**Melhoramento genético aplicado em gado de corte: Programa Genepplus-Embrapa.** Brasília-DF, Embrapa Gado de Corte-Livro científico (ALICE), 256p. 2013.

ROSLI, M. K. A.; ZAKARIA, S. S.; SYED-SHABTHAR, S. M. F.; ZAINAL, Z. Z.; SHUKOR, M. N.; MAHANI, M. C.; ABAS-MAZNI, O.; Md-Zain, B. M. Phylogenetic relationships of Malayan gaur with other species of the genus *Bos* based on cytochrome b gene DNA sequences. **Genetics and Molecular Research**, v.10, n.1, p.482-493, 2011.

ROSSEL, S.; MARSHALL, F.; PETERS, J.; PILGRAM, T.; ADAMS, M.D.; O'CONNOR, D. Domesticação do burro: tempo, processos e indicadores. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, n.10, p.3715-3720, 2008.

RYDER, O.A.; EPEL, N.C.; BENIRSCHKE, K. Chromosome banding studies of the Equidae. **Cytogenetic and Genome Research**, v.20, p.323–350, 1978.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the national academy of sciences**, v.74, n.12, p.5463-5467, 1977.

SANTANA JR, M. L.; PEREIRA, R. J.; BIGNARDI, A. B.; AYRES, D. R.; MENEZES, G. D. O.; SILVA, L. O. C.; LEROY, C. H. C.; JOSAHKIAN, L. G.; ALBUQUERQUE, L. G. Structure and genetic diversity of Brazilian Zebu cattle breeds assessed by pedigree analysis. **Livestock Science**, v.187, p.6-15, 2016.

SANTIAGO, A.A. **A raça Nelore. In: Gado Nelore: 100 anos de seleção.** São Paulo: Ed. Dos Criadores, 1987, 594p.

SANTOS, R. **Os Cruzamentos na Pecuária Tropical. Livro de edição comemorativa de 100 anos de pesquisas oficiais sobre cruzamentos (1899-1999).** Ed. Agropecuária Tropical: Uberaba, MG, 672p, 1999.

- SAVOLAINEN, P.; ZHANG, Y.P.; LUO, J.; LUNDEBERG, J.; LEITNER, T. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. **Science**, v.298, n.5598, p.1610-1613, 2002.
- SIGNORELLO, G.; PAPPALARDO, G. Domestic animal biodiversity conservation: a case study of rural development plans in the European Union. **Ecological Economics**, v.45, n.3, p.487-499, 2003.
- STAFUZZA, N. B.; COSTA E SILVA, E. V.; SILVA, R. M. O.; COSTA FILHO, L. C. C.; BARBOSA, F. B.; MACEDO, G. G.; LOBO, R. B.; BALDI, F. Genome - wide association study for age at puberty in young Nelore bulls. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.137, n.2, p.234-244, 2020.
- STEINER, C. C.; MITELBERG, A.; TURSI, R.; RYDER, O. A. Molecular phylogeny of extant equids and effects of ancestral polymorphism in resolving species-level phylogenies. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.65, p.573-581, 2012.
- TAMURA, K.; NEI, M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. **Molecular Biology and Evolution**, v.10, n.3, p.512– 526, 1993.
- TEINLEK, P.; SIRIPATTARAPRAVAT, K.; TIRAWATTANAWANICH, C. Genetic diversity analysis of Thai indigenous chickens based on complete sequences of mitochondrial DNA D-loop region. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.31, n.6, p.804-811, 2018.
- TIAN, J.; DU, J.; HAN, J.; LI, D.; SONG, X. Complete Mitochondrial Genome of the South American Fur Seal *Arctocephalus australis* (Carnivora: Otariidae) and Its Phylogenetic Implications. **Russian Journal of Genetics**, v.57, n.5, p.582-590, 2021.



TORRES, A.D.P.; JARDIM, W.R. **Criação do cavalo e de outros equinos**. São Paulo, Nobel, 1987.

UMBRIA, M.; RAMOS, A.; ALUJA, M. P.; SANTOS, C. The role of control region mitochondrial DNA mutations in cardiovascular disease: stroke and myocardial infarction. **Scientific Reports**, v.10, n.1, 2020.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. 2020. Disponível em: [https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock\\_poultry.pdf](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf). Acesso em 12 de julho de 2021.

VIGNE, J.D. The origins of animal domestication and husbandry: a major change in the history of humanity and the biosphere. **Comptes rendus biologies**, v.334, n.3, p.171-181, 2011.

WALBERG, M. W.; CLAYTON, D. A. Sequence and properties of the human KB cell and mouse L cell D-loop regions of mitochondrial DNA. **Nucleic Acids Research**, v.9, n.20, p.5411-5421, 1981.

WALLNER, B.; BREM, G.; MULLER, M.; ACHMANN, R. Fixed nucleotide differences on the Y chromosome indicate clear divergence between *Equus przewalskii* and *Equus caballus*. **Animal Genetics**, v.34, p.453-456, 2003.

WARMUTH, V.; ERIKSSON, A.; BOWER, M.A.; BARKER, G.; BARRETT, E.; HANKS, B.K.; LI, S.; LOMITASHVILI, D.; OCHIR-GORYAEVA, M.; SIZONOV, G.V.; SOYONOV, V.; MANICA, A. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.109, p.8202–8206, 2012.

WELKER, V.; STOCK, K. F.; SCHÖPKE, K.; SWALVE, H. H. Genetic parameters of new comprehensive performance traits for dressage and show jumping competitions performance of German riding horses. **Livestock Science**, v.212, p.93-98, 2018.

XIA, X.; QU, K.; ZHANG, G.; JIA, Y.; MA, Z.; ZHAO, X.; HUANG, Y.; CHEN, H.; LEI, C. Comprehensive analysis of the mitochondrial DNA diversity in Chinese cattle. **Animal Genetics**, v.50, n.1, p.70-73, 2019.

ZACARIAS, T. A.; Kawamoto, T. S.; JÚNIOR, J. R. S.; GUIMARÃES, A. L. S.; FRANCO, M. M.; FIGUEIREDO, R. A. Hormonal stimulation in 4 to 7 months old Nelore (*Bos taurus indicus*) females improved ovarian follicular responses but not the in vitro embryo production. **Theriogenology**, v.118, p.130-136, 2018.

ZHANG, M.; PENG, W. F.; HU, X. J.; ZHAO, Y. X.; LV, F. H.; YANG, J. Global genomic diversity and conservation priorities for domestic animals are associated with the economies of their regions of origin. **Scientific Reports**, v.8, n.1, 2018.

## CAPÍTULO 1

---

### **Análises de variabilidade da linhagem materna de equinos e asininos**

Publicado: Periódico *Gene*, 769 (2021) 145231 (ISSN: 0378-1119)  
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145231>



24 manejo de recursos de conservação de grupos adaptados, bem como para orientação de  
25 acasalamento de associações de raças. Alguns ecótipos brasileiros requerem atenção  
26 devido à sua baixa variabilidade genética.

27

28 **Palavras-chave:** *D-loop*, Distância genética, Equídeos, mtDNA, Variabilidade genética

29

30                   **Variability analyses of the maternal lineage of horses and donkeys**

31   **ABSTRACT**

32   Equid breeds originating from the Iberian Peninsula and North Africa are believed to  
33   have genetically contributed to the formation of breeds and ecotypes from Brazil. The  
34   country has numerous breeds and ecotypes of horses and donkeys but there are no  
35   extensive studies on maternal genetic diversity and their origins. This study reports the  
36   results of the first genetic analysis of all horse and donkey breeds/ecotypes from Brazil  
37   based on sequences of the mitochondrial DNA control region (*D-loop*) whose main  
38   objective was to characterize the genetic variation in these animals. These analyses will  
39   contribute to the understanding of the current population structure and diversity of  
40   breeds/ecotypes of horses and donkeys raised in the Brazil. We analyzed 310 *D-loop*  
41   sequences representing 41 breeds/ecotypes of *Equus caballus* and *Equus asinus*,  
42   including 14 naturalized horse breeds/ecotypes, 3 naturalized donkey breeds/ecotypes  
43   and 24 cosmopolite horse breeds. The results revealed that the breeds are well structured  
44   genetically and that they comprise different groups. A total of 80 and 14 haplotypes  
45   were identified for horses and donkeys, respectively. Most of the horse mtDNA  
46   haplotypes were shared by many breeds, whereas donkey mtDNA haplotypes seemed to  
47   be more group-specific. Some groups presented a low intrabreed distance and/or a low  
48   haplotype/nucleotide diversity such as Lavradeiro, Crioulo, Piquira and Percheron  
49   horses and Brazilian donkey. Thus, specific actions must be designed for each  
50   population. The different levels of genetic diversity provided important information for  
51   conservation resource management of adapted groups as well as for mating orientation

52 of breed associations. Some brazilians ecotypes require attention because of their low  
53 genetic variability.

54 **Keywords:** *D-loop*, Equids, Genetic variability, Genetic distance, mtDNA

55

## 56 **1. Introdução**

57 Diversos interesses favoreceram para a domesticação dos equinos (Eurásia)  
58 (Warmuth et al., 2012) e dos jumentos (noroeste da África) (Blench, 2000, Beja-Pereira  
59 et al., 2004). Inicialmente, era para o transporte de pessoas e mercadorias, mas esses  
60 animais também foram usados para diversos fins, como alimentação, trabalhos  
61 agrícolas, guerra e religião (Levine, 2005). Atualmente, os equinos também executam  
62 novas funções, como a prática de esportes, lazer, atividades terapêuticas e educacionais  
63 e produção de leite (Bracher, 2000, Welker et al., 2018, Barreto et al., 2019). A seleção  
64 artificial e natural deu origem a diversas raças, com suas especificidades, funções  
65 selecionadas e adaptação a diversos ambientes. Acredita-se que existam mais de 540  
66 grupos genéticos entre raças e ecótipos equinos no mundo (Rousseau, 2014, Cintra,  
67 2018) e alguns estão em grande declínio. Portanto, é importante definir estratégias para  
68 a conservação de grupos adaptados com características específicas (de Camargo, 2018).

69 O primeiro relato da chegada de asininos e equinos ao Brasil é por volta de 1534  
70 (introduzidos pelos colonizadores portugueses) e as atuais raças brasileiras que  
71 apresentam características adaptativas são oriundas desses animais (Primo, 2004,  
72 Mariante e Cavalcante, 2006, Cortés et al., 2017). O Brasil ocupa posição de destaque  
73 no cenário mundial em termos de populações dessas espécies. Em 2018, o país era o

74 terceiro maior produtor de cavalos no mundo (FAOSTAT, 2020). Em todo território  
75 brasileiro, há cerca de 15 grupos de equídeos entre raças e ecótipos, sendo que alguns  
76 deles estão sob foco de conservação (Albuquerque e Ianella, 2016).

77 O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o órgão que  
78 regulamenta o registro genealógico de raças de animais domésticos de produção no  
79 Brasil (Anexo I do Decreto Nº 9.667, de 2 de janeiro de 2019). A lista completa com  
80 informações adicionais a respeito das raças e ecótipos, suas características adaptativas,  
81 aptidões, participação em programas de conservação e regiões de origem, estão  
82 disponíveis no Apêndice S1. As populações das raças de equídeos locais estão presentes  
83 nas cinco regiões geográficas do país. Além das associações de raças brasileiras, o  
84 Brasil possui outras 12 associações de criadores que registram uma ou mais raças de  
85 equinos cosmopolitas.

86 As raças/ecótipos locais do Brasil apresentam características adaptativas  
87 singulares no que diz respeito as condições de clima, solo, temperatura, resistência a  
88 doenças e parasitas, características fisiológicas e uso de recursos alimentares (Mariante  
89 e Egito, 2002, Mariante e Cavalcante, 2006). Além disso, as iniciativas de investigação  
90 da filogenia genética e variabilidade de equídeos domésticos criados no território  
91 brasileiro são regionais e a maioria dos estudos envolve poucos grupos genéticos (Luís  
92 et al., 2006, Ianella et al., 2017, Sild et al., 2019, Tezuka et al., 2019, Tozaki et al.,  
93 2019, Xia et al., 2019).

94 Assim, esse estudo teve o objetivo de investigar a variabilidade genética de todas  
95 as 17 raças/ecótipos naturalizados do Brasil de equinos e asininos em conjunto com 24  
96 raças cosmopolitas de equinos usando o sequenciamento do DNA mitocondrial (*D-*



97 *loop*). Até onde sabemos, este é o primeiro estudo da linhagem materna envolvendo  
98 todos os grupos locais do país e o maior número de raças cosmopolitas. O objetivo foi  
99 fornecer dados fundamentais que possam ser usados para desenhar estratégias de  
100 conservação, manejo e produção e identificar as origens históricas da formação das  
101 raças de asininos e equinos, além de gerar sequências públicas de DNA para estudos  
102 futuros.

103

## 104 **2. Material e métodos**

### 105 **2.1. Coleta de amostra**

106 A coleta de material biológico das amostras foi aprovada pelo Comitê de Ética  
107 no Uso de Animais da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
108 Federal da Bahia (Parecer nº 08/2019CEUA).

109 Foram coletados folículos pilosos de 310 equídeos pertencentes a 40 grupos  
110 genéticos, sendo dez raças brasileiras de equídeos [nove raças de equinos (Crioulo,  
111 Mangalarga, Mangalarga Marchador, Pantaneiro, Campolina, Piquira, Campeiro,  
112 Brasileiro de Hipismo e Pônei Brasileiro) e uma de asinino (Pêga)]; sete ecótipos  
113 brasileiros de equídeos [cinco ecótipos de equinos (Baixadeiro, Nordesteiro, Marajoara,  
114 Puruca e Lavradeiro) e dois ecótipos de asininos (Nordestino e Brasileiro), e 23 raças de  
115 equinos cosmopolitas criadas no Brasil (Bretão, Friesian, Gypsy, Percheron, Árabe,  
116 Puro Sangue Inglês, Quarto de Milha – linhagens trabalho e corrida, Appaloosa, Paint  
117 Horse, Mini Horse, Fjord, Anglo-Árabe, Sela Francesa, Sela Sueca, Sela Holandesa,

- 118 Sela Belga, Holsteiner, Hanoveriano, Zangersheide, Bérbere, Lusitano e Paso Peruano)
- 119 ] (Tabela 1).

120

121 Tabela 1. Dados das sequências (*D-loop*) de asininos e equinos geradas no presente estudo e números de acesso do GenBank.

	<b>Localização geográfica/origem</b>	<b>Espécie</b>	<b>Raça/Ecótipo</b>	<b>Aptidão/Função</b>	<b>Número de amostras*</b>	<b>N GenBank</b>	<b>Número de acesso</b>	<b>Referência</b>
	Brasil - São Paulo	<i>E. caballus</i>	Brasileiro de Hipismo	Sela – Adestramento e Salto	10		MT552687-96	Este estudo
	Brasil	<i>E. caballus</i>	Pônei Brasileiro	Sela	10		MT552892- MT552901	Este estudo
	Brasil - Rio Grande do Sul	<i>E. caballus</i>	Crioulo	Sela - Trote	10		MT552727-36	Este estudo
<b>Raças brasileiras</b>	Brasil - São Paulo	<i>E. caballus</i>	Mangalarga	Sela Marcha	10		MT552810-19	Este estudo
	Brasil - Santa Catarina	<i>E. caballus</i>	Campeiro	Sela Marcha	10		MT552707-16	Este estudo
	Brasil - Minas Gerais	<i>E. caballus</i>	Campolina	Sela Marcha	10		MT552717-26	Este estudo
	Brasil - Minas Gerais	<i>E. caballus</i>	Mangalarga Marchador	Sela Marcha	10		MT552820-29	Este estudo
	Brasil - Minas Gerais	<i>E. caballus</i>	Piquira	Sela Marcha	10		MT552882-91	Este estudo
	Brasil - Mato Grosso	<i>E. caballus</i>	Pantaneiro	Sela	10		MT552860-69	Este estudo
	Brasil - Minas Gerais	<i>E. asinus</i>	Pêga	Sela Marcha	10		MT552657-66	Este estudo
		Brasil - Pará	<i>E. caballus</i>	Marajoara	Sela	10		MT552830-39
	Brasil - Pará	<i>E. caballus</i>	Puruca	Sela	10		MT552912-21	Este estudo
<b>Ecótipos brasileiros</b>	Brasil - Roraima	<i>E. caballus</i>	Lavradeiro	Sela	10		MT552790-99	Este estudo
	Brasil - Maranhão	<i>E. caballus</i>	Baixadeiro	Sela	10		MT552770-79	Este estudo
	Brasil - Nordeste	<i>E. caballus</i>	Cavalo Nordestino	Sela	10		MT552780-89	Este estudo
	Brasil - Nordeste	<i>E. asinus</i>	Jumento Nordestino	Sela /Tração	10		MT552647-56	Este estudo
	Brasil - São Paulo	<i>E. asinus</i>	Jumento Brasileiro	Sela	9		MT552638-46	Este estudo
<b>Raças</b>	França - Região da	<i>E. caballus</i>	Bretão	Tração	10		MT552697-	Este estudo

<b>cosmopolitas</b>							MT552706	
	Bretanha							
	Frísia - Holanda	<i>E. caballus</i>	Friesian	Tração	10	1	JN398438; MT552747-56	Achilli et al. 2012; Este estudo
	Irlanda	<i>E. caballus</i>	Gypsy	Tração	10		MT552757-66	Este estudo
	França - Perche	<i>E. caballus</i>	Percheron	Tração	10		MT552872-81	Este estudo
	Oriente Médio - Península Árábica	<i>E. caballus</i>	Árabe	Sela - Corrida	10	6	JN398380, JN398392, JN398406, JN398412, JN398434, JN398448; MT552676 -85	Achilli et al. 2012; Este estudo
	Inglaterra	<i>E. caballus</i>	Puro Sangue Inglês	Sela - Corrida	10		MT552902-11	Este estudo
	Estados Unidos da América	<i>E. caballus</i>	Quarto de Milha - corrida	Sela - Corrida	6		MT552922-27	Este estudo
	Estados Unidos da América	<i>E. caballus</i>	Quarto de Milha - trabalho	Sela – Trote	10		MT552928-37	Este estudo
	Estados Unidos da América	<i>E. caballus</i>	Appaloosa	Sela – Trote	6		MT552670-75	Este estudo
	Estados Unidos da América	<i>E. caballus</i>	American Paint Horse	Sela – Trote	10	1	JN398421; MT552850-59	Achilli et al. 2012; Este estudo
	Estados Unidos da América	<i>E. caballus</i>	Mini Horse	Sela	10		MT552840-49	Este estudo
	Noruega	<i>E. caballus</i>	Fjord	Sela	10		MT552737-46	Este estudo
	França	<i>E. caballus</i>	Anglo-Árabe	Sela – Adestramento e Salto	3		MT552667-69	Este estudo
	França	<i>E. caballus</i>	Sela Francesa	Sela – Adestramento e Salto	1		MT552939	Este estudo
	Suécia / Stromsholm	<i>E. caballus</i>	Sela Sueca	Sela – Adestramento e Salto	1		MT552945	Este estudo
	Países Baixos	<i>E. caballus</i>	Sela Holandesa	Sela – Adestramento e Salto	5		MT552940-44	Este estudo
	Bélgica	<i>E. caballus</i>	Sela Belga	Sela – Adestramento e Salto	1		MT552938	Este estudo
	Alemanha / Holstein	<i>E. caballus</i>	Holsteiner	Sela – Adestramento e Salto	2		MT552767-68	Este estudo

Alemanha	<i>E. caballus</i>	Hanoveriano	Sela – Adestramento e Salto	1	MT552769	Este estudo	
Alemanha / Lanaken	<i>E. caballus</i>	Zangersheide	Sela – Adestramento e Salto	2	MT552946-47	Este estudo	
Norte da África	<i>E. caballus</i>	Bérbere	Sela	1	MT552686	Este estudo	
Portugal	<i>E. caballus</i>	Lusitano	Sela – Adestramento	10	MT552800-09	Este estudo	
Peru	<i>E. caballus</i>	Paso Peruano	Sela - Marcha	2	MT552870-71	Este estudo	
Leste Asiático	<i>E. caballus</i>	Cavalos chineses			12	GU734774-85	Ning et al. 2014
-	<i>E. asinus</i>	Sequência referência Jumento			1	NC_001788	Xu et al. 1996
			Total	310		21	

122 \*gerado pelo presente estudo.

123

124

125 No presente estudo, considerou-se como raça brasileira todos os grupos  
126 genéticos que possuem associação de criadores registrada no MAPA (Decreto nº  
127 58.984, de 3 de agosto de 1966). Os demais grupos foram considerados como ecótipos.

128

## 129 **2.2. Extração de DNA**

130 A extração de DNA mitocondrial foi realizada a partir de amostras de bulbo,  
131 coletado da vassoura da cauda, utilizando kit de extração de DNA NucleoSpin® Tissue  
132 (*Macherey-Nagel*). Foram escolhidos indivíduos que não possuíam a mesma  
133 ancestralidade materna.

134 Os *primers* (eqGeMa-F: ATCATTTCAGTCAACACGC e eqGeMa-R:  
135 TTTTGGGGTTTGGCAAGATT) foram desenhados com base na sequência  
136 NC\_001640.1 (Xu & Árnason, 1994) e foram utilizados para amplificar sequências  
137 parciais da região de controle de DNA mitocondrial (*D-loop*). A reação de PCR  
138 continha de 9 a 15 ng de DNA, 0,5 µl de cada primer (10 mM) e 6,6 µl de Taq mix  
139 (dNTP, tampão, MgCl<sub>2</sub> e Taq polimerase). As amplificações começaram com um passo  
140 de desnaturação inicial de 94 ° C durante 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 1 min a 94  
141 °C, 54 °C por 1 min de anelamento, 72 °C por 1 min, mais uma extensão final a 72 °C  
142 por 5 min. Os produtos de PCR foram purificados com solução de polietilenoglicol  
143 (PEG) a 20% (Sambrook et al. 1989) e sequenciados usando o kit de sequenciamento  
144 BigDye v3.1 (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA) em um sequenciador de DNA  
145 ABI 3130 (*Applied Biosystems*) de acordo com as instruções do fabricante.

146

### 147 2.3. Análise molecular

148 Além das 310 sequências obtidas no presente estudo, foram adicionadas 21  
149 sequências públicas depositadas no GenBank (Tabela 1). Equinos de raças chinesas  
150 também foram incluídos. Todas as sequências de mtDNA de asininos e equinos geradas  
151 neste estudo foram depositadas no GenBank (MT552638-MT552947) (Tabela 1). As  
152 sequências dos ecótipos cavalo Baixadeiro e do Jumento Brasileiro foram obtidas a  
153 partir de amostras de DNA gentilmente cedidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa  
154 Agropecuária (EMBRAPA) em um acordo de transferência de material  
155 (23066.043532/2019-91).

156 As sequências obtidas foram editadas utilizando o *software* BioEdit v.7.0.9.0  
157 (Hall, 1999) e alinhadas utilizando o algoritmo *ClustalW Multiple alignment*  
158 implementado no BioEdit (Hall, 1999, Thompson et al., 2002). O *software* MEGA  
159 v.7.0.14 (Kumar et al., 2016) foi utilizado para estimar as matrizes de distância para a  
160 análise de divergências intra e interespecíficas. A seleção do modelo evolutivo mais  
161 adequado aos dados foi feita utilizando o *software* MrModeltest v. 2.2 (Nylander,  
162 2004), com base no *Akaike Information Criterion* (AIC), em conjunto com o PAUP\*  
163 (Swofford, 1998). Para estimar o índice de saturação de substituição (Iss) descrito por  
164 Xia et al. (2003) e Xia e Lemey, (2009) foi utilizado o *software* DAMBE v. 7.0.68 (Xia,  
165 2013).

166 A diversidade haplotípica ( $Hd$ ), diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e o número de sítios  
167 polimórficos ( $S$ ) foram calculados pelo *software* DnaSP v.5.10.01 (Librado e Rozas,  
168 2009). A estrutura genética também foi verificada através da rede de haplótipos por

169 meio do método *Median Joining Network* (Bandelt et al., 1999) utilizando o *software*  
170 *PopART 1.7 (Population Analysis with Reticulate Trees)* (Leigh e Bryant, 2015).

171 A análise de variância molecular (AMOVA), foi realizada para avaliar a  
172 diferenciação genética das populações em pares ( $F_{ST}$ ) e o número médio de diferenças  
173 em pares dentro e entre populações utilizando o *software* Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier e  
174 Lischer, 2010).

175 Na reconstrução das relações filogenéticas para verificar os agrupamentos e o  
176 grau de confiabilidade entre raças/ecótipos de equinos e asininos foram utilizados os  
177 métodos de Inferência bayesiana (IB) e Máxima verossimilhança (ML), a partir dos  
178 *softwares* MrBayes v. 3.2.6 (Ronquist et al., 2012) e RAxML (Stamatakis, 2014),  
179 respectivamente. Para IB, foram realizadas duas corridas independentes de 20 milhões  
180 de interações, com quatro cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) cada uma. As  
181 árvores foram salvas a cada 500 iterações. A convergência das cadeias (tamanho efetivo  
182 da amostra – valores de ESS > 200) foi verificada usando o *software* Tracer v.1.5.1  
183 (Rambaut et al., 2009). O fator de redução de escala potencial também foi utilizado para  
184 verificar a convergência da cadeia e *burn-in* (Gelman e Rubin, 1992). Para ML, foram  
185 utilizadas 1000 réplicas de bootstrap. As análises no MrBayes e RAxML foram  
186 realizadas remotamente através do CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010)  
187 utilizando o modelo evolutivo (GTR + GAMA).

188

### 189 **3. Resultados**



190 As sequências obtidas das 310 amostras somadas as sequências do GenBank  
191 resultaram, após o controle de qualidade, em duas matrizes da região *D-loop* do mtDNA  
192 de 544 pares de bases (pb) e 383 pb, para equinos e asininos respectivamente. A Tabela  
193 1 mostra o número de sequências geradas para cada raça/ecótipo, quantidade de  
194 sequências do GenBank utilizadas, aptidão e a origem dos grupos genéticos.

195

### 196 **3.1. Diversidade genética**

197 A análise da matriz de distâncias inter-racial mostrou que a diversidade genética  
198 entre raças/ecótipos equinos apresentou variação entre 0,0 a 0,035. No grupo de  
199 asininos, a distância genética variou de 0,008 a 0,025. Nas comparações entre as duas  
200 espécies, as distâncias variaram de 0,109 a 0,171 (Tabela S1).

201 Com base na matriz de distância intraespecífica (dentro de raças), a menor  
202 diversidade genética das raças equinas foi observada para Paso peruano (0,0),  
203 Lavradeiro (0,0041) e Crioula (0,0046), e as maiores variações intraespecíficas foram  
204 encontradas para a linhagem Quarto de Milha – linhagem trabalho (0,03), Zangersheide  
205 (0,0262) e Mangalarga Marchador (0,0201). Já entre os asininos, a menor distância  
206 intraespecífica foi na raça Jumento Brasileiro (0,005) e a maior foi na raça Jumento  
207 Nordestino (0,017) (Tabela S2).

208

### 209 **3.2. Estrutura Genética**

210 Foram encontrados 80 haplótipos de mtDNA resultantes de 83 sítios  
 211 polimórficos, sendo 63 parcimoniosamente informativos e 20 mutações únicas  
 212 (*singletons*) (Tabela S3) em 301 equinos pertencentes a 38 raças/ecótipos diferentes  
 213 (amostras do presente estudo mais sequências GenBank - Tabela 1). O haplótipo  
 214 predominante EH6 (presente em 79 de 301 indivíduos) foi encontrado em 28 raças  
 215 equinas, seguido pelo haplótipo EH8 que foi encontrado em 25 equinos de 16 raças  
 216 diferentes (Fig. 1, Tabela 2).

217

218 **Tabela 2.** Variação genética de fragmento do gene *D-loop* (mtDNA) de 40  
 219 raças/ecótipos de *Equus asinus* e *Equus caballus* analisadas.

Grupos	<i>N</i>	<i>H</i>	<i>Hd</i> ± <i>s.d.</i>	<i>S</i>	$\pi$ ± <i>s.d.</i>	<i>F<sub>ST</sub></i>
<b>Raças de equinos - Brasil</b>						
Campeiro	10	5	0,8222 ± 0,097	18	0,01019 ± 0,00313	0,16878*
Campolina	10	5	0,7556 ± 0,130	20	0,01476 ± 0,00273	0,13042*
Crioulo	10	4	0,7111 ± 0,117	11	0,00425 ± 0,00234	0,21782*
Mangalarga	10	6	0,7778 ± 0,137	13	0,00993 ± 0,00169	0,17746*
Mangalarga Marchador	10	8	0,9556 ± 0,059	31	0,01966 ± 0,00159	0,08806*
Pantaneiro	10	5	0,7556 ± 0,130	19	0,01187 ± 0,00305	0,15577*
Piquira	10	3	0,3778 ± 0,181	20	0,00901 ± 0,00432	0,18146*
Brasileiro de Hipismo	10	8	0,9556 ± 0,059	29	0,01645 ± 0,00286	0,11541*
Pônei Brasileiro	10	6	0,7778 ± 0,137	22	0,01255 ± 0,00315	0,15744*
<b>Ecótipos de equinos - Brasil</b>						
Baixadeiro	10	7	0,9111 ± 0,077	23	0,01715 ± 0,00211	0,11541*
Cavalo Nordestino	10	5	0,8222 ± 0,097	17	0,01450 ± 0,00213	0,13342*
Lavradeiro	10	2	0,2000 ± 0,154	11	0,00394 ± 0,00304	0,22182*
Marajoara	10	5	0,8222 ± 0,097	21	0,01684 ± 0,00224	0,11541*
Puruca	10	3	0,6444 ± 0,101	18	0,01188 ± 0,00262	0,16211*
<b>Raças de equinos cosmopolitas</b>						
Bretão	10	5	0,8222 ± 0,097	17	0,00951 ± 0,00207	0,17679*

Friesian	11	6	0,8727 ± 0,071	25	0,01596 ± 0,00182	0,11149*
Gypsy	10	6	0,8889 ± 0,075	15	0,01138 ± 0,00123	0,16545*
Percheron	10	4	0,5333 ± 0,180	24	0,01245 ± 0,00424	0,14510*
Árabe	16	11	0,9083 ± 0,063	27	0,01445 ± 0,00157	0,12428*
Puro Sangue Inglês	10	8	0,9333 ± 0,077	22	0,01578 ± 0,00258	0,13109*
Quarto de Milha - corrida	6	5	0,9333 ± 0,122	21	0,01586 ± 0,00343	0,13532*
Quarto de Milha - trabalho	10	6	0,8444 ± 0,103	40	0,02920 ± 0,00391	0,01300*
Paint Horse	11	9	0,9636 ± 0,051	26	0,01629 ± 0,00220	0,11921
Appaloosa	6	5	0,9333 ± 0,122	19	0,01498 ± 0,00353	0,14273*
Fjord	10	5	0,8000 ± 0,100	22	0,01428 ± 0,00264	0,14877*
Mini Horse	10	4	0,7778 ± 0,091	12	0,01043 ± 0,00154	0,17312*
Anglo-Árabe	3	3	1,0000 ± 0,272	13	0,01529 ± 0,00615	0,15848*
Holsteiner	2	2	1,0000 ± 0,500	9	0,01536 ± 0,00768	0,18813*
Hanoveriano	1	1	-	-	-	0,25485*
Sela Belga	1	1	-	-	-	0,25485*
Sela Francesa	1	1	-	-	-	0,25485*
Sela Holandesa	5	4	0,9000 ± 0,161	22	0,01796 ± 0,00341	0,12408
Sela Sueca	1	1	-	-	-	0,25485*
Zangersheide	2	2	1,0000 ± 0,500	15	0,02573 ± 0,01286	0,13809*
Bérbere	1	1	-	-	-	0,25485*
Lusitano	10	7	0,8667 ± 0,107	31	0,01741 ± 0,00310	0,11107*
Paso Peruano	2	1	0,0000 ± 0,000	0	0,0000 ± 0,0000	0,25485*
<b>Jumentos</b>						
Jumento Brasileiro	9	6	0,8333 ± 0,127	8	0,00493 ± 0,00159	0,48574*
Jumento Nordestino	10	7	0,9111 ± 0,077	19	0,01637 ± 0,00391	0,43628*
Pêga	10	5	0,8222 ± 0,097	13	0,00917 ± 0,00318	0,45325*

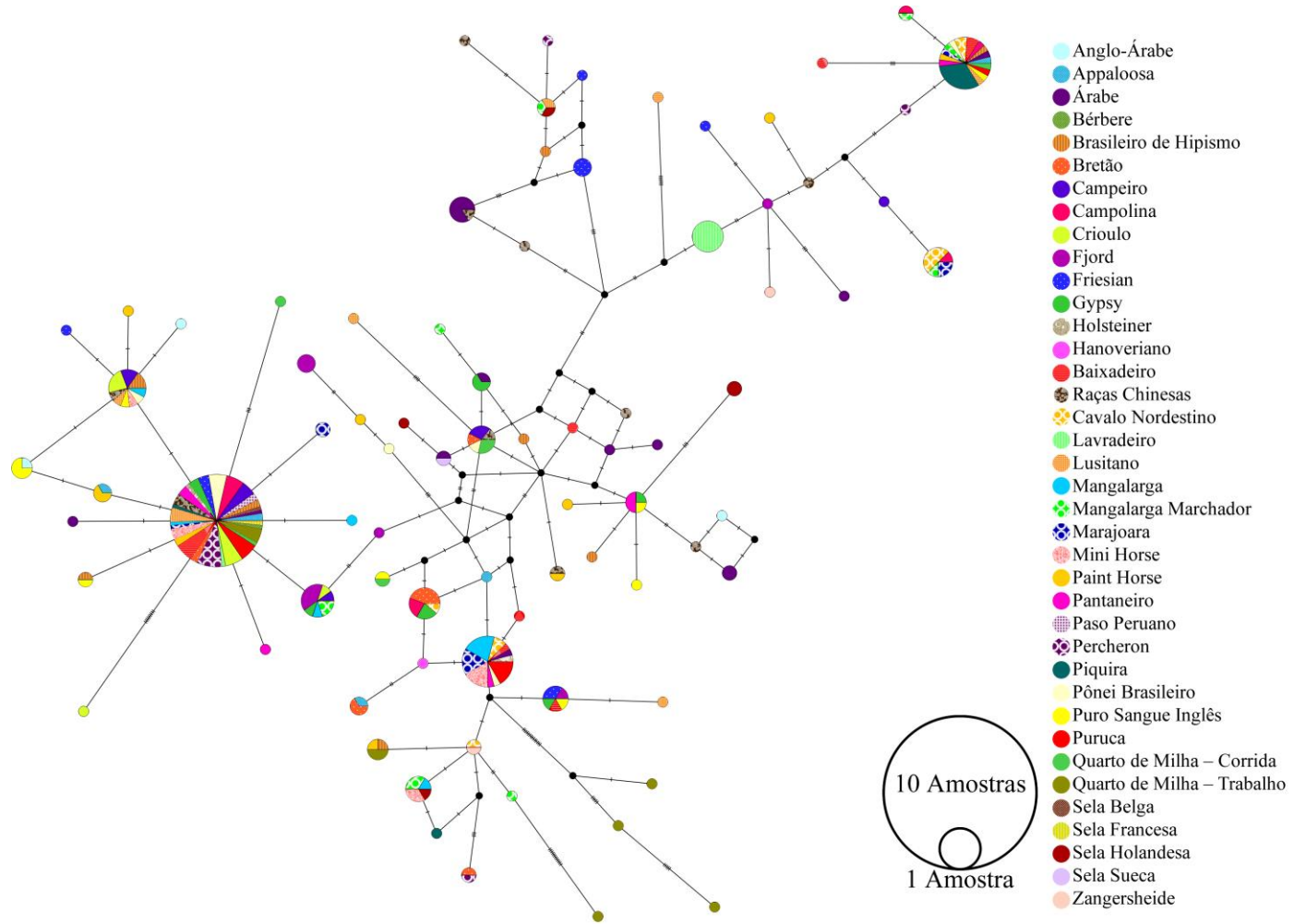
220 N, número de animais; H, número de haplótipos; *Hd*, diversidade haplotípica; S, número de sítios

221 variáveis;  $\pi$ , diversidade nucleotídica; *s.d.*, desvio padrão; FST, índice de fixação. \* $p < 0,05$

222

223 **Figura 1.** Rede de haplótipos relacionada com 301 sequências de indivíduos  
 224 pertencentes a espécie *Equus caballus*, baseada em 533 pb de *D-loop* do DNA  
 225 mitocondrial. Cada círculo corresponde a um haplótipo e o tamanho é proporcional à  
 226 frequência; os traços indicam os passos mutacionais entre haplótipos. As cores  
 227 representam as raças como aparecem na legenda.

228  
229  
230  
231  
232  
233  
234  
235  
236  
237  
238



239 Dos 80 haplótipos identificados, 55 foram exclusivos de algumas raças: Árabe e  
240 raças chinesas com cinco haplótipos cada; Friesian, Paint Horse e Quarto de Milha  
241 (linhagem trabalho) com quatro haplótipos; Brasileiro de Hipismo, Baixadeiro, Fjord e  
242 Lusitano com três haplótipos cada; Mangalarga Marchador, Percheron e Sela Holandesa  
243 com dois haplótipos; e Anglo-Árabe, Campeiro, Crioulo, Mangalarga, Sela Holandesa  
244 Pantaneiro, Piquira, Pônei Brasileiro, Appaloosa, Hanoveriano, Puro Sangue Inglês,  
245 Quarto de Milha (linhagem corrida) e Zangersheide com um haplótipo cada.

246 O índice de diversidade haplotípica ( $Hd$ ) (Tabela 2) foi baixo para a raça Paso  
247 do Peru (0,0000) e para o ecótipo Lavradeiro (0,2000) e mais alto para as raças Anglo-  
248 Árabe, Holsteiner e Zangersheide (1,0000). As menores diversidades nucleotídicas ( $\pi$ )  
249 também foram observadas em Paso peruano (0,000) e Lavradeiro (0,00394) e as  
250 maiores diversidades nucleotídicas foram nas raças Quarto de Milha (linhagem  
251 trabalho) (0,0292) e na raça Zangersheide (0,02573).

252 A análise de variância molecular (AMOVA) de equinos revelou que a variância  
253 entre as populações (raças) foi de 14,46%. Essa variância foi significativa ( $p < 0,05$ ),  
254 com um  $F_{ST}$  de 0,14456 (Tabela 3). Os  $F_{ST}$  das raças de equinos variaram de 0,013 a  
255 0,25485 e foram todos significativas (Tabela 2), indicando um nível de estruturação e  
256 diferenciação moderada entre raças.

257

258

259

260 **Tabela 3.** Análise hierárquica da AMOVA entre 40 raças/ecótipos de asininos e  
 261 equinos.

<b>Espécie</b>	<b>Fonte de variação</b>	<b>d.f.</b>	<b>Porcentagem de variação</b>
<b>Asininos</b>	Entre populações	2	45,75*
	Dentro das populações	26	54,25
	$F_{ST}=0,45748$		
<b>Equinos</b>	Entre populações	36	14,46*
	Dentro das populações	252	85,54
	$F_{ST}=0,14456$		

262 \* Variação entre populações e  $F_{ST}$ : significativo ( $p<0,05$ )

263 d.f. = graus de liberdade

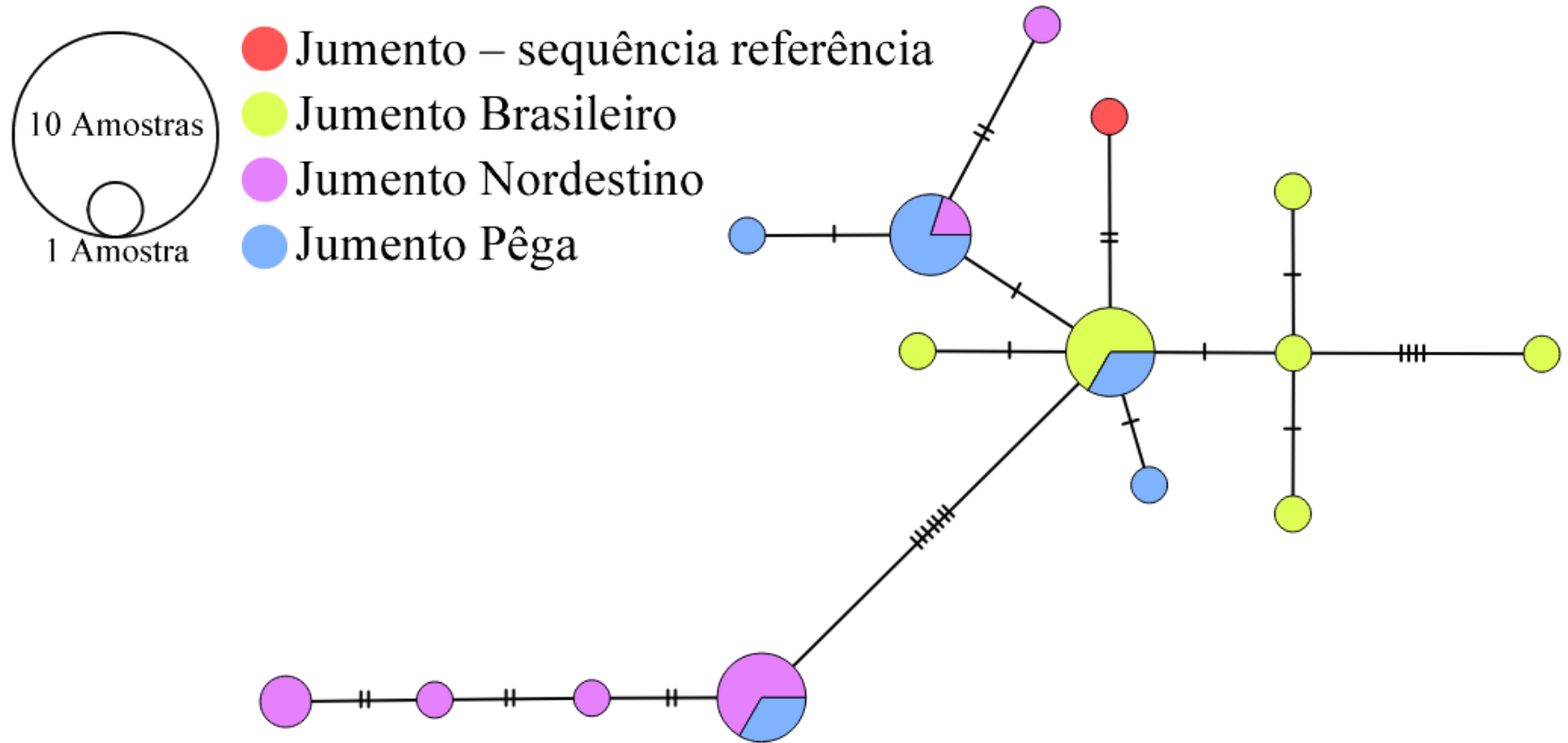
264

265 Nos asininos, nas três raças/ecótipos, foram encontrados 14 haplótipos de  
 266 mtDNA resultantes de 21 sítios polimórficos, sendo 14 parcimoniosamente  
 267 informativos e 6 mutações únicas (*singletons*) (Tabela S4). Os haplótipos  
 268 predominantes foram DH4 e DH8 com seis indivíduos cada. Cada haplótipo estava  
 269 presente em duas raças. O índice de diversidade haplotípica (Hd) foi de 0,906 e a  
 270 diversidade nucleotídica foi de 0,01488 (Fig. 2, Tabela 2). Dos 14 haplótipos  
 271 identificados, 11 eram exclusivos para grupos: Jumento Brasileiro com cinco, Jumento  
 272 Nordestino com quatro e Pêga com dois haplótipos cada.

273

274 **Figura 2.** Rede de haplótipos relacionada com 31 sequências de indivíduos pertencentes  
 275 a espécie *Equus asinus*, baseada em um fragmento de 379 pb de *D-loop* do DNA  
 276 mitocondrial. Cada círculo corresponde a um haplótipo e o tamanho é proporcional à  
 277 frequência; os traços indicam os passos mutacionais entre os haplótipos. As cores  
 278 representam as raças conforme indicado na legenda.

279



280

281

282 Para os asininos, a variação entre populações foi de 45,75% e também  
283 significativa, com valores de  $F_{ST}$  de 0,45748 (Tabela 3). Os  $F_{ST}$  das raças de asininos  
284 variaram de 0,43628 a 0,48574 e foram todos significativos (Tabela 2), indicando um  
285 nível de estruturação e diferenciação grande entre as raças.

286

### 287 3.3. Relações filogenéticas

288 O índice  $I_{ss}$  foi significativamente menor que o  $I_{ss.c}$  (índice de saturação de  
289 substituição crítica), indicando que não há saturação nas transições e transversões nas  
290 topologias assimétricas ( $I_{ss.cAsym}$ ) e simétricas ( $I_{ss.cSym}$ ). A ausência de saturação  
291 permite verificar que as sequências de DNA são informativas para as análises  
292 filogenéticas. O modelo de evolução mais adequado foi estimado pelo MrModeltest  
293 para todas as matrizes de dados (conjunto de dados de equinos com e sem asininos) foi  
294 GTR + GAMA. Este é o modelo que melhor ajustou a matriz de dados genômicos para  
295 à evolução observada e esperada.

296 As topologias recuperadas pelas análises de IB e ML com base no conjunto de  
297 dados foram semelhantes para todos os agrupamentos de *E. asinus* e *E. caballus*. Uma  
298 mistura de todas as raças foi observada entre os equinos sem definição de agrupamentos  
299 principais (dados não mostrados).

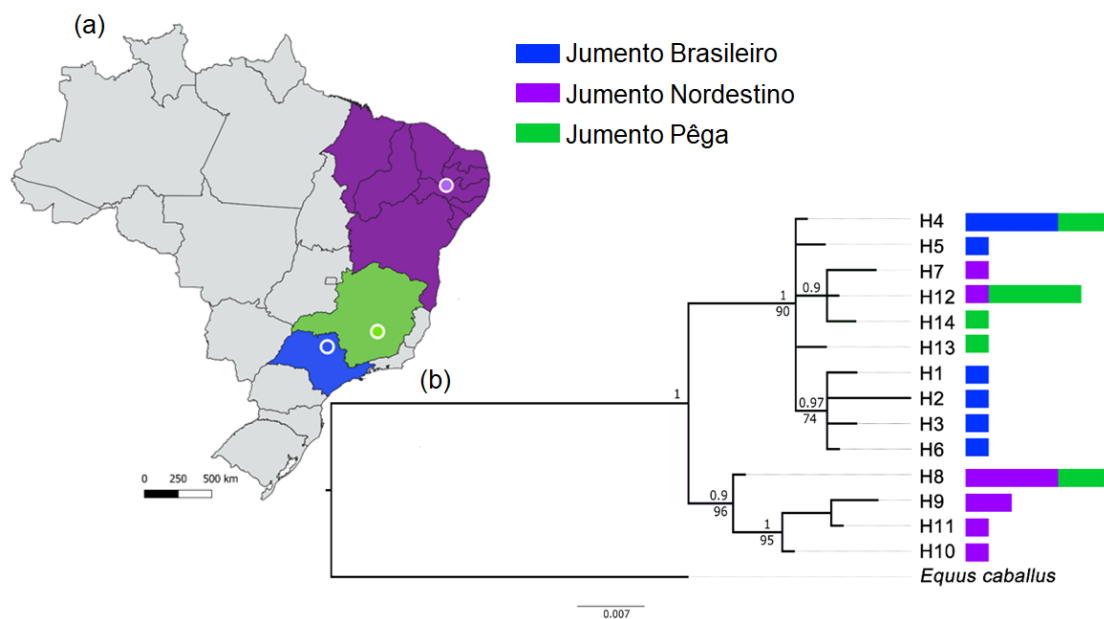
300 Já para os asininos, a IB (Figura 3b), enraizada por *Equus caballus*, apresenta  
301 dois ramos principais, um ramo abrange indivíduos das três raças/ecótipos de asininos  
302 brasileiros e o outro, majoritariamente asininos Jumento Nordestino. As raças/ecótipos  
303 de asininos brasileiros, foram recuperadas em dois clusters com suporte máximo (1,0)



304 usando BI e ML (Figura 3b), o Jumento Nordestino está mais bem estruturado e isolado.  
 305 Essa diferenciação está de acordo com a distribuição geográfica das regiões de  
 306 formação das raças (Figura 3a).

307

308 **Figura 3.** (a) Mapa mostrando as localizações geográficas das regiões de  
 309 formação/origem das raças no Brasil. (b) Topologia recuperada por Inferência  
 310 Bayesiana e máxima verossimilhança (IB e ML) a partir de 14 haplótipos.



311

#### 312 4. Discussão

313 Apresentamos aqui, a análise da diversidade genética de 41 raças/ecótipos de  
 314 equinos e asininos, com disponibilização de sequências do marcador mitocondrial (*D-*  
 315 *loop*). Até onde sabemos, este é o primeiro estudo envolvendo todas as raças/ecótipos

316 naturalizados do Brasil, além das raças cosmopolitas, que compararam as relações e a  
317 variabilidade populacional. É o estudo de diversidade da linha materna realizado com o  
318 maior número de grupos genéticos de equídeos.

319         As análises genéticas das populações de todos os grupos de equinos e asininos  
320 revelaram que a distância genética materna desses equídeos é baixa. A variação da  
321 distância genética entre raças das espécies equina e asinina é pequena (dentro das  
322 espécies), assim como a distância entre as espécies (Tabela S1). Essa pequena distância  
323 genética entre raças de uma mesma espécie é observada de maneira fenotípica pela  
324 maior dificuldade de diferenciação de raças dessas espécies em comparação com outros  
325 animais domésticos. A proximidade genética entre as espécies também é explicada pelo  
326 fato de o cruzamento delas produzir híbridos (mula e bardoto).

327         A pequena distância genética na linhagem materna das raças de equídeos é  
328 provavelmente resultado de um processo histórico que não adotou a prática de seleção  
329 intensa das fêmeas durante a formação das raças. É comum no histórico de formação de  
330 diversas raças, a aparecimento do nome dos garanhões fundadores e o relato dos  
331 acasalamentos deles com éguas locais. Esses relatos ficam claramente evidenciados a  
332 partir dos resultados aqui apresentados. Wallner et al. (2004), utilizando marcadores  
333 microssatélites do cromossomo Y em 49 equinos (*Equus caballus*) pertencentes s 32  
334 raças distintas de continentes diferentes, relataram a presença de um único haplótipo no  
335 cavalo doméstico e sugeriram que as estratégias intensivas de criação priorizam a  
336 seleção de poucos garanhões acasalados com muitas éguas. O compartilhamento de  
337 muitos haplótipos entre raças corrobora as pequenas distâncias observadas (Figura 1).

338 Em outras palavras, éguas de raças diferentes compartilharam mais variantes do mtDNA  
339 exatamente por causa da falta de intensa seleção de fêmeas.

340 Esperava-se descobrir que raças com a mesma aptidão exibiam maior  
341 proximidade genética, mas isso não foi confirmado. Por exemplo, equinos Bretão e  
342 Percheron são raças de tração que possuem uma distância genética de 0,014. Essas raças  
343 são mais distantes entre si do que o Bretão e a raça local do Brasil Mangalarga (0,010),  
344 que se formou posteriormente e que possui outra aptidão (sela), enquanto a distância  
345 genética entre Mangalarga e o Piquira é de 0,021. Considerando que as duas últimas  
346 raças são locais do Brasil, com aptidão de sela, e que, em tese, possuem origem, comum  
347 mais próxima entre si do que com uma raça de tração estrangeira, os resultados são  
348 controversos, pois parece que a raça Mangalarga está mais próxima do Bretão do que do  
349 Piquira. Todavia, isso é um indicativo da pequena seleção de fêmeas na formação de  
350 raças equinas, evidenciado pela grande quantidade de haplótipos de mtDNA  
351 compartilhados entre raças (Figura 1). De acordo com Cieslak et al. (2010), os equinos  
352 são a espécie doméstica menos estruturada filogenética e filogeograficamente para  
353 mtDNA e estudos recentes usando mtDNA de raças de equinos da Estônia e Finlândia  
354 não fizeram cálculo das distâncias genéticas (Kvist et al., 2019; Sild et al., 2019),  
355 preferindo outras análises também realizadas aqui. Esse pode ser um indicativo de que  
356 as distâncias genéticas interespecíficas não são tão confiáveis para o mtDNA na espécie  
357 como são para outras espécies.

358 Apesar disso, para alguns grupos de raças, os resultados de distâncias genéticas  
359 parecem fazer mais sentido. Para raças de origem norte-americana, (Quarto de Milha –  
360 linhagens trabalho e corrida, Paint Horse e Appaloosa), por exemplo, observa-se um

361 fato curioso, as linhagens de Quarto de Milha são mais distantes geneticamente entre si  
362 do que das outras raças americanas (Tabela S1). Isso pode ser explicado, em parte, pela  
363 prática das associações de criadores dessas raças, no Brasil. Por exemplo, na ABCPaint  
364 (2019), registram-se animais cujos pais são cavalos Paint Horse, ou se seu pai ou mãe  
365 forem devidamente registrados na Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo  
366 Quarto de Milha (ABQM) ou na Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo de  
367 Corrida (<http://www.abcpaint.com.br/>). Prática semelhante também é adotada pela  
368 *American Paint Horse Association* dos Estados Unidos (<https://apha.com/>). Assim  
369 como, a ABQM, que a partir de 2016, passou a aceitar o registro de animais cujo um  
370 dos pais apresente branco “além dos limites” delimitados pela associação, desde que  
371 esse animal seja cruzado com um animal Quarto de Milha de pelagem sólida. A  
372 ABCCAppaloosa (2019) aceita registro de animais puros controlados, que são animais  
373 com até 15/16 de composição racial, sendo provenientes do cruzamento de animais  
374 Appaloosa puro de origem com animais puros Quarto de Milha. Além disso, as raças  
375 Paint Horse e Appaloosa são mais próximas do tipo de corrida da raça Quarto de Milha  
376 do que da linhagem trabalho. Isso sugere que os animais QM corrida são usados com  
377 mais frequência para a formação dessas raças.

378         Em uma outra perspectiva de análise dos resultados de distâncias genéticas entre  
379 as raças, é que o tamanho populacional da raça parece influenciar substancialmente nas  
380 distâncias inter-raciais calculadas. As raças Quarto de Milha e Mangalarga Marchador  
381 são as raças de maior população no Brasil (MAPA, 2016). A linhagem trabalho do  
382 Quarto de Milha e Mangalarga Marchador apresentaram as maiores distâncias para as  
383 outras raças (Tabela S1). Todavia, isso não se deve ao fato de que elas são mais  
384 distantes das demais, mas sim porque possuem maior população, que é um dos fatores

385 que afeta a variabilidade genética. Consequentemente, apesar do mesmo tamanho  
386 amostral por raça, existe maior possibilidade de captar haplótipos diferentes nas raças  
387 com maior população. Este fato é claramente observado pela quantidade de haplótipos  
388 exclusivos da linhagem trabalho do Quarto de Milha (Figura 1), que além de serem  
389 exclusivos, são mais distantes dos demais haplótipos equinos. Essa variação resulta em  
390 maiores distâncias interespecíficas calculadas, mas claramente influenciada pelo  
391 tamanho populacional das raças. Ressalta-se que esse fato pode estar influenciando as  
392 descrições das raças norte-americanas acima citadas.

393           Para as distâncias inter-raciais (dentro de raças), o ecótipo adaptado local  
394 Lavradeiro apresentou a menor variabilidade. Isso se deve principalmente pelo  
395 isolamento geográfico desse grupo de equinos selvagens. Este ecótipo faz parte de um  
396 programa de conservação e o direcionamento dos acasalamentos precisam estar entre as  
397 políticas de conservação a fim de manter a variabilidade desse grupo. A raça Crioulo  
398 também apresentou pequena variabilidade. Apesar de os níveis de endogamia estarem  
399 sob controle na raça (Maciel et al., 2014), convém cuidado nas estratégias de criação.

400           Por outro lado, as raças com as maiores variabilidades intrapopulacionais são a  
401 linhagem de trabalho do Cavalo Quarto de Milha e da raça brasileira Mangalarga  
402 Marchador. Esses dados estão de acordo com estudos que investigaram a estrutura  
403 populacional dessas raças. Costa et al. (2005) relataram coeficiente médio de endogamia  
404 para Mangalarga Marchador e encontraram uma tendência de decréscimo nos níveis de  
405 endogamia individuais. Marchiori et al. (2019) relataram número efetivo populacional  
406 de 60 para o Quarto de Milha trabalho no Brasil, não estando em situação crítica. A raça

407 Zangersheide apresentou alta variabilidade, mas como o número amostral foi menor, é  
408 preciso maior cautela na interpretação dos resultados.

409 No que diz respeito a variabilidade haplotípica e nucleotídica, os resultados da  
410 maioria das raças estudadas estão de acordo com outros estudos sobre a região *D-loop*  
411 para equinos que relataram uma diversidade haplotípica superior a ~0,80 e a diversidade  
412 nucleotídica superior a ~0,010 (Jimenez et al., 2012, Zhang et al., 2012, Devi & Ghosh,  
413 2013, Bigi et al., 2014, Ianella et al., 2017, Othman et al., 2017, Csizmár et al., 2018,  
414 Yang et al., 2018, Kvist et al., 2019, Sild et al., 2019). Entretanto, alguns grupos  
415 apresentaram valores de menor variabilidade haplotípica, como o ecótipo naturalizado  
416 Lavradeiro, a raça brasileira Piquira e a raça especializada Percheron, além de menor  
417 variabilidade de nucleotídeos como o Lavradeiro e a raça brasileira Crioulo. O ecótipo  
418 Lavradeiro apresentou a menor variabilidade e foi sinalizado nos dois parâmetros. Os  
419 mesmos resultados foram encontrados por Ianella et al. (2017). Esse grupo está sendo  
420 monitorado por um núcleo de conservação e medidas de direcionamento de  
421 acasalamentos precisam ser conduzidas a fim de manter a variabilidade na linhagem  
422 materna e preservar o ecótipo. Os resultados obtidos para as raças locais Piquira e  
423 Crioula e para a raça cosmopolita Percheron sugerem que a necessidade de orientações  
424 nos acasalamentos por parte das respectivas associações das raças a fim de evitar  
425 endogamia. Ianella et al. (2017) relataram variabilidade de nucleotídeos semelhante para  
426 a raça Crioulo. A raça Percheron merece atenção devido ao pequeno número de  
427 indivíduos e criadores da raça no país. Felizmente, os grupos naturalizados da raça  
428 Campeiro e do ecótipo Baixadeiro para os quais Ianella et al. (2017) relataram que  
429 variabilidades de haplótipos e nucleotídeos intermediários exibiram variabilidades mais

430 altas no presente estudo. Este achado pode ser um indicativo de melhor manejo e  
431 orientação da raça e núcleo de conservação, respectivamente, ou melhor amostragem.

432 Os resultados da AMOVA mostram variação significativa entre as raças de  
433 equinos (Tabela 3), e valores  $F_{ST}$  também significativos para todas as raças/ecótipos  
434 (Tabela 2). O fato de todos os valores de  $F_{ST}$  serem significativos, mostra que as raças  
435 de equinos estudadas diferem umas das outras, isso é um indicativo que os grupos  
436 genéticos são diferentes. Esses resultados destacam a importância da participação de  
437 alguns grupos locais em programas de conservação para a manutenção do fluxo gênico  
438 intrapopulacional para que as características adaptativas não sejam perdidas. Os achados  
439 também indicam que, embora as raças do Brasil tenham se formado a partir de outras  
440 raças, elas são estruturadas e diferentes umas das outras. Neste contexto, o papel das  
441 associações de raças é manter as especificidades e qualificações de cada raça,  
442 garantindo e direcionando a seleção e acasalamentos de acordo com objetivos claros e  
443 bem definidos. Outros estudos usando mtDNA em equinos calcularam  $F_{ST}$  entre raças  
444 (Devi e Ghosh, 2013, Bigi et al., 2014, Kvist et al., 2019), sendo possível identificar  
445 diferenças entre algumas raças.

446 Para asininos, as maiores distâncias genéticas entre grupos foram observadas  
447 para o Jumento Brasileiro e o Jumento Nordestino e as menores distâncias entre Pêga e  
448 Jumento Brasileiro. Essas distâncias estão de acordo com a distribuição geográfica das  
449 regiões de formação das raças, pois as mais distantes geneticamente são também as mais  
450 distantes geograficamente (Apêndice S1). Em relação à variabilidade intrapopulacional,  
451 o Jumento Brasileiro apresentou o menor valor. Atenção deve ser dada à manutenção da  
452 variabilidade desse ecótipo para fins de conservação.

453 As variabilidades haplotípica e nucleotídica estão de acordo com os resultados  
454 relatados para diferentes raças de asininos ao redor do mundo (Kefena et al., 2014, Chen  
455 et al., 2006, Stanisic et al., 2017, Xia et al., 2019). Para o Jumento Nordestino, há alta  
456 variabilidade haplotípica e nucleotídica, para o ecótipo Jumento Brasileiro, há maior  
457 variabilidade haplotípica do que nucleotídica conforme relatado para algumas raças em  
458 outros estudos (Kefena et al., 2014, Chen et al., 2006, Xia et al., 2019), cabendo maior  
459 atenção dos núcleos de conservação. Xia et al. (2019) também relataram uma maior  
460 diversidade de haplótipos do Jumento Nordestino. Infere-se que essa maior diversidade  
461 no ecótipo Jumento Nordestino possa ser devido a menor atuação da seleção artificial.  
462 Não há associação da raça, muitos desses animais perderam a função de transporte,  
463 houve redução drástica na população, muitos foram abandonados, e a reprodução  
464 acontece de maneira indiscriminada, assim como o abate (Carneiro et al., 2018).

465 Os resultados de AMOVA obtidos para asininos mostram variação significativa  
466 entre as raças (Tabela 3) e altos valores de  $F_{ST}$  (Tabela 2), indicando grande  
467 estruturação e diferenciação entre os grupos que pode ser explicado pelas possíveis  
468 diferentes origens dos animais fundadores das raças e isolamento geográfico dos grupos  
469 (Mariante e Cavalcante, 2006, McManus et al., 2010). A grande variação entre os  
470 grupos é explicada por haver compartilhamento de somente três haplótipos entre as  
471 raças (Figura 2), situação diferente da observada para equinos. Variações significativas  
472 entre as raças asininas também foram relatadas por Kefena et al. (2014), Stanisic et al.  
473 (2017), Xia et al. (2019). Os três grupos asininos brasileiro são provavelmente de  
474 diferentes clados descritos por Beja-Pereira et al. (2004). Xia et al. (2019) descobriram  
475 que aproximadamente 70% dos Jumentos Nordestinos constituíam o clado II. No  
476 entanto, as sequências aqui geradas não se alinham com as sequências de estudos



477 anteriores, uma vez que a região do mtDNA estudada é diferente. Portanto, os clados  
478 não puderam ser identificados. Outras regiões genômicas devem ser estudadas a fim de  
479 fornecer melhores informações para discuti-lo.

480 Os resultados aqui apresentados mostram que o mtDNA sozinho não é o  
481 marcador mais adequado para estudos de distâncias entre raças de equinos, conforme  
482 relatado por Cieslak et al. (2010), indicando que os processos históricos de formação de  
483 raças serão melhor contados com a adição de marcadores do cromossomo Y e nucleares.  
484 Entretanto, os resultados relativos à diversidade e estrutura populacional são relevantes,  
485 pois indicam estruturação e diferenciação das raças equinas. Isso contribuiu de  
486 sobremaneira para os programas de conservação ao indicar a existência de grupos  
487 genéticos definidos e na constatação de variabilidade para direcionamento das  
488 estratégias de acasalamento.

489 A ampla variação verificada dentro das raças, revela baixa estruturação (embora  
490 significativa) e permite inferir que a maior variação intra-raça, em geral, está  
491 relacionada com a ocorrência de fluxo gênico. Segundo Vilà et al. (2001), a alta  
492 diversidade de sequências de mtDNA dos cavalos implica em uma integração sem  
493 precedentes e generalizada de descendentes matrilineares e uma ampla utilização e  
494 domesticação de cavalos selvagens. Ainda segundo esses autores o fluxo genético  
495 materno dominou a troca genética entre raças e/ou que o tamanho efetivo da população  
496 de fêmeas dentro das raças é maior que a dos machos. A grande variação genética  
497 também pode ser explicada pela menor intensidade da seleção de fêmeas na formação  
498 de raças.

499           Em relação aos asininos, o mtDNA é mais informativo e confiável em todas as  
500 análises realizadas. Há maior estruturação das raças que provavelmente deve estar  
501 relacionada à formação e isolamento das raças e ecótipos adaptados do Brasil, fato  
502 também observado para alguns outros grupos genéticos da espécie (Kefena et al., 2014,  
503 Stanisic et al., 2017, Xia et al., 2019). Vale a ressalva de que os ecótipos Brasileiro e  
504 Nordeste apresentaram redução populacional, com este último sofrendo abate  
505 indiscriminado (Carneiro et al., 2018). Se houver interesse em manter a estrutura e  
506 variabilidade encontrada nesses grupos genéticos e suas características adaptativas,  
507 medidas de conservação precisam ser estrategicamente definidas por órgãos  
508 governamentais ou não governamentais.

509

## 510 **5. Conclusões**

511           Os 41 grupos genéticos de equídeos aqui estudados apresentam-se estruturados,  
512 indicando diferenciação genética. Medidas de conservação e melhoramento devem ser  
513 adotadas a fim de preservar as características adaptativas de alguns grupos. Este é o  
514 primeiro estudo envolvendo todas as raças/ecótipos de equinos e asininos do Brasil,  
515 permitindo conhecer a diversidade genética mitocondrial e variabilidade existente. A  
516 utilização de marcadores de origem paterna e/ou nucleares contribuirá para a construção  
517 de relações entre raças e inferir sobre suas formações históricas.

518

## 519 **Agradecimentos**

520           Agradecemos aos produtores e associações de criadores, por gentilmente  
521 ceder/permitir a coleta de algumas das amostras de folículos capilares utilizadas neste  
522 estudo. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela  
523 concessão da bolsa de estudos (Nº BOL2262/2017). Agradecemos também à  
524 EMBRAPA pela doação das amostras de DNA já extraído dos ecótipos Cavalo  
525 Baixadeiro e Jumento Brasileiro (acordo de transferência de material nº  
526 23066.043532/2019-91).

527

528

529



Raça/Ecótipo	Descrição das características adaptativas e ambientes
<b>Baixadeiro</b>	<p><b>Ecótipo.</b> Aptidão para sela. Restrito e adaptado as condições ambientais da Baixada Maranhense, grandes planícies baixas totalmente inundáveis durante o período chuvoso (janeiro a julho), possui menor incidência de laminite, fato que pode estar relacionado com a arquitetura da úngula destes animais (seleção natural). Participa de programa de conservação. Localização: Maranhão, região Nordeste do Brasil.</p>
<b>Brasileiro de Hipismo</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão para sela. Adestramento e salto. Única raça brasileira desenvolvida para a prática do hipismo. Formada a partir do cruzamento de outras raças de origem europeia com funções semelhantes. Possui associação de raça.</p>
<b>Jumento Brasileiro</b>	<p><b>Ecótipo.</b> Aptidão para sela. Formada a partir do cruzamento de várias raças. É conhecido por suportar o trabalho duro nos campos e grandes caminhadas. Criado com o objetivo de produzir muares. Origem: São Paulo, região Sudeste do Brasil</p>
<b>Pônei Brasileiro</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão de Tração/Sela. Selecionada inicialmente para o trabalho na extração mineral em grutas, são animais fortes e pequenos. Resultado do cruzamento de várias raças de pôneis. Possui associação de raça.</p>
<b>Campeiro</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão para sela. Marcha. É também conhecida como Marchador das Araucárias, devido ao andamento e porque habitavam a região dos pinheirais do Brasil, vegetação típica de clima subtropical, onde está o Planalto Catarinense. Adaptado a longas caminhadas e usado na lida com o gado. Possui associação de raça. Localização: Santa Catarina, região Sul do Brasil.</p>
<b>Campolina</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão de sela. Marcha. Cavalos de grande porte com altura de cernelha mínima de 1,58m para machos e 1,52m para fêmeas. Seleção fenotípica para aumento da altura da cernelha. Possui associação de raça. Origem: Minas Gerais, região Sudeste do Brasil.</p>
<b>Crioulo</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão de sela. Trote. Suporta condições climáticas extremas do calor ao frio, e é utilizada por criadores de gado desta região devido a sua resistência em grandes distâncias e rusticidade (seleção natural). Provas equestres específica da raça “Freio de Ouro”. Possui associação de raça. Origem: Rio Grande do Sul, região Sul do Brasil.</p>
<b>Lavradeiro</b>	<p><b>Ecótipo.</b> Aptidão para sela. Possui características de rusticidade e resistência a doenças e parasitas (seleção natural). Cavalos asselvajados criados soltos na região do Lavrado. Participa de programa de conservação. Localização: Roraima, região Norte do Brasil.</p>
<b>Mangalarga</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão sela. Marcha. Desenvolvida para o trabalho nas fazendas (lida com o gado) e para o esporte (na época, para caçada), são dóceis, resistentes e andamento cômodo. Possui associação de raça. Origem: São Paulo, região Sudeste do Brasil.</p>
<b>Mangalarga Marchador</b>	<p><b>Raça.</b> Aptidão sela. Marcha. Caracterizada pelo andamento tipo marcha (batida ou picada) é muito utilizada em provas de conformação, marcha, enduro e cavalgada. Originada a partir da raça Mangalarga. Possui associação de raça. Origem: Minas Gerais, região Sudeste do Brasil.</p>
<b>Marajoara</b>	<p><b>Ecótipo.</b> Aptidão para sela. Adaptado as condições climáticas e relevo plano e alagado da Ilha de Marajó (Pará) e resistente a doenças (seleção natural). Participa de programa de conservação.</p>

---

	Localização: Pará, região Norte do Brasil.
<b>Cavalo Nordestino</b>	<b>Ecótipo.</b> Aptidão para sela. Adaptado a região do semiárido. Possui o casco das patas adaptado ao terreno pedregoso e quente desta região (seleção natural). Localização: região Nordeste do Brasil.
<b>Jumento Nordestino</b>	<b>Ecótipo.</b> Aptidão Tração/Sela. Adaptado às condições adversas da região semiárido (seleção natural). É geralmente utilizado nos serviços de carga e também como animal de sela. Localização: região Nordeste do Brasil.
<b>Pantaneiro</b>	<b>Raça.</b> Aptidão de sela. Resistência dos cascos à alta umidade dos solos (regiões de pântano), tolerância a doenças, tolerância ao calor, entre outras características (seleção natural). Possui associação de raça. Participa de programa de conservação. Localização: Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), região Centro-Oeste do Brasil.
<b>Jumento Pêga</b>	<b>Raça.</b> Aptidão de sela. Marcha. São os asininos preferencialmente utilizados na produção de muares no Brasil. Possui associação de raça. Origem: Minas Gerais, região Sudeste do Brasil.
<b>Piquira</b>	<b>Raça.</b> Aptidão de sela. Marcha. Considerada o menor dos marchadores (marcha batida ou picada). Altura máximas de 1,30m (macho) e 1,28m (fêmea) e mínima de 1,15m. Utilização no aprendizado de equitação por crianças. Possui associação de raça. Origem: Minas Gerais, região Sudeste do Brasil.
<b>Puruca</b>	<b>Ecótipo.</b> Aptidão para sela. Resultado do cruzamento de equinos do ecótipo Marajoara com pôneis da raça Shetland. Objetivo foi diminuir a altura da cernelha (1,18m). Características adaptativas semelhantes à do Marajoara (seleção natural). Participa de programa de conservação. Localização: Pará, região Norte do Brasil.

---

540

541

542 **Tabela S1.** Estimativa da distância genética interespecífica de fragmento do gene *D-*  
543 *loop* (mtDNA) de 40 raças/ecótipos de *Equus asinus* e *Equus caballus* analisadas.

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556

557

558

Raça/Ecótipo	Baixadeiro	Campeiro	Campolina	Crioulo
Baixadeiro		0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Campeiro	0,015 ± 0,003		0,013 ± 0,003	0,008 ± 0,002
Campolina	0,016 ± 0,003	0,013 ± 0,003		0,012 ± 0,003
Crioulo	0,016 ± 0,003	0,008 ± 0,002	0,012 ± 0,003	
Lavradeiro	0,016 ± 0,004	0,017 ± 0,005	0,016 ± 0,004	0,021 ± 0,006
Mangalarga	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,018 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,021 ± 0,004
Marajoara	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,016 ± 0,004
Cavalo Nordestino	0,017 ± 0,004	0,020 ± 0,005	0,018 ± 0,004	0,024 ± 0,005
Pantaneiro	0,015 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Bretão	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,004
Friesian	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Gypsy	0,015 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Percheron	0,016 ± 0,003	0,011 ± 0,002	0,014 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Árabe	0,017 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Quarto de Milha - corrida	0,016 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,028 ± 0,004	0,025 ± 0,004	0,027 ± 0,004	0,025 ± 0,004
Paint Horse	0,016 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Appaloosa	0,015 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Pônei Brasileiro	0,015 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Fjord	0,016 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Mini Horse	0,015 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Piquira	0,017 ± 0,004	0,021 ± 0,005	0,018 ± 0,004	0,024 ± 0,006
Puruca	0,014 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,011 ± 0,003
Brasileiro de Hipismo	0,017 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Anglo-Árabe	0,016 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Holsteiner	0,014 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,003
Hanoveriano	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,004	0,015 ± 0,004	0,016 ± 0,005
Sela Belga	0,014 ± 0,003	0,006 ± 0,002	0,010 ± 0,003	0,002 ± 0,001
Sela Holandesa	0,020 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,022 ± 0,004	0,023 ± 0,005
Sela Francesa	0,014 ± 0,003	0,006 ± 0,002	0,010 ± 0,003	0,002 ± 0,001
Sela Sueca	0,015 ± 0,004	0,012 ± 0,004	0,015 ± 0,004	0,015 ± 0,005
Zangersheide	0,017 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,020 ± 0,005
Bérbere	0,014 ± 0,003	0,006 ± 0,002	0,010 ± 0,003	0,002 ± 0,001
Lusitano	0,017 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Paso Peruano	0,014 ± 0,003	0,006 ± 0,002	0,010 ± 0,003	0,002 ± 0,001
Jumento Brasileiro	0,162 ± 0,015	0,166 ± 0,016	0,165 ± 0,016	0,169 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,113 ± 0,014	0,116 ± 0,015	0,115 ± 0,014	0,120 ± 0,015
Pêga	0,163 ± 0,015	0,166 ± 0,015	0,165 ± 0,015	0,169 ± 0,016



Raça/Ecótipo	Lavradeiro	Mangalarga	Mangalarga Marchador	Marajoara
Baixadeiro	0,016 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Campeiro	0,017 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Campolina	0,016 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,016 ± 0,003
Crioulo	0,021 ± 0,006	0,012 ± 0,003	0,021 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Lavradeiro		0,019 ± 0,005	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Mangalarga	0,019 ± 0,005		0,017 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,018 ± 0,004	0,017 ± 0,003		0,018 ± 0,003
Marajoara	0,016 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,003	
Cavalo Nordestino	0,014 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Pantaneiro	0,018 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Breton	0,016 ± 0,004	0,010 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Friesian	0,016 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Gypsy	0,017 ± 0,005	0,010 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Percheron	0,018 ± 0,005	0,013 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,016 ± 0,003
Árabe	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,018 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Quarto de Milha - corrida	0,016 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Quarto de Milha - trabalho	0,031 ± 0,006	0,022 ± 0,004	0,029 ± 0,004	0,027 ± 0,004
Paint Horse	0,018 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,016 ± 0,003
Appaloosa	0,016 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Pônei Brasileiro	0,018 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Fjord	0,020 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,003
Mini Horse	0,019 ± 0,005	0,009 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Piquira	0,013 ± 0,004	0,021 ± 0,005	0,018 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Puruca	0,017 ± 0,005	0,010 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Brasileiro de Hipismo	0,018 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Anglo-Árabe	0,018 ± 0,005	0,013 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Holsteiner	0,018 ± 0,005	0,008 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Hanoveriano	0,015 ± 0,005	0,007 ± 0,002	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Sela Belga	0,019 ± 0,006	0,010 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Sela Holandesa	0,021 ± 0,005	0,017 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,020 ± 0,004
Sela Francesa	0,019 ± 0,006	0,010 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Sela Sueca	0,015 ± 0,005	0,012 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Zangersheide	0,014 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Bérbere	0,019 ± 0,006	0,010 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Lusitano	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,017 ± 0,003
Paso Peruano	0,019 ± 0,006	0,010 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Jumento Brasileiro	0,156 ± 0,015	0,163 ± 0,016	0,160 ± 0,015	0,161 ± 0,015
Jumento Nordestino	0,107 ± 0,014	0,112 ± 0,014	0,112 ± 0,014	0,113 ± 0,014
Pêga	0,157 ± 0,015	0,162 ± 0,015	0,162 ± 0,015	0,162 ± 0,015

Raça/ECótipo	Cavalo Nordestino	Pantaneiro	Bretão	Friesian
Baixadeiro	0,017 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Campeiro	0,020 ± 0,005	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Campolina	0,018 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,003
Crioulo	0,024 ± 0,005	0,010 ± 0,002	0,014 ± 0,004	0,016 ± 0,003
Lavradeiro	0,014 ± 0,004	0,018 ± 0,005	0,016 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Mangalarga	0,018 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,017 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,017 ± 0,003	0,020 ± 0,004
Marajoara	0,016 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Cavalo Nordestino		0,020 ± 0,005	0,018 ± 0,004	0,020 ± 0,004
Pantaneiro	0,020 ± 0,005		0,013 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Bretão	0,018 ± 0,004	0,013 ± 0,003		0,015 ± 0,003
Friesian	0,020 ± 0,004	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	
Gypsy	0,019 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Percheron	0,021 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Árabe	0,019 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Puro Sangue Inglês	0,020 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,004
Quarto de Milha - corrida	0,018 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,031 ± 0,005	0,025 ± 0,004	0,023 ± 0,004	0,028 ± 0,004
Paint Horse	0,019 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Appaloosa	0,018 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Pônei Brasileiro	0,020 ± 0,004	0,011 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Fjord	0,020 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,017 ± 0,004
Mini Horse	0,018 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Piquira	0,013 ± 0,003	0,021 ± 0,005	0,021 ± 0,005	0,022 ± 0,005
Puruca	0,018 ± 0,004	0,011 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Brazilian Sport Horse	0,020 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,003
Anglo-Árabe	0,021 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,017 ± 0,004
Holsteiner	0,019 ± 0,004	0,010 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Hanoveriano	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,004	0,006 ± 0,002	0,014 ± 0,003
Sela Belga	0,022 ± 0,005	0,008 ± 0,002	0,012 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Sela Holandesa	0,022 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,020 ± 0,004
Sela Francesa	0,022 ± 0,005	0,008 ± 0,002	0,012 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Sela Sueca	0,017 ± 0,005	0,013 ± 0,004	0,012 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Zangersheide	0,015 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Bérbere	0,022 ± 0,005	0,008 ± 0,002	0,012 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Lusitano	0,020 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,003
Paso Peruano	0,022 ± 0,005	0,008 ± 0,002	0,012 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Jumento Brasileiro	0,158 ± 0,015	0,165 ± 0,016	0,163 ± 0,016	0,163 ± 0,015
Jumento Nordestino	0,111 ± 0,014	0,115 ± 0,014	0,111 ± 0,014	0,112 ± 0,014
Pêga	0,160 ± 0,015	0,165 ± 0,015	0,163 ± 0,015	0,163 ± 0,015

Raça/ECótipo	Gypsy	Percheron	Árabe	Puro Sangue Inglês
Baixadeiro	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,016 ± 0,004
Campeiro	0,011 ± 0,003	0,011 ± 0,002	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Campolina	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Crioulo	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,002	0,018 ± 0,004	0,012 ± 0,003
Lavradeiro	0,017 ± 0,005	0,018 ± 0,005	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Mangalarga	0,010 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,018 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,019 ± 0,004
Marajoara	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Cavalo Nordestino	0,019 ± 0,004	0,021 ± 0,005	0,019 ± 0,004	0,020 ± 0,004
Pantaneiro	0,012 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Bretão	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Friesian	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,017 ± 0,004
Gypsy		0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Percheron	0,013 ± 0,003		0,017 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Árabe	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,004		0,018 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,013 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004	
Quarto de Milha - corrida	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,024 ± 0,004	0,026 ± 0,004	0,029 ± 0,004	0,027 ± 0,004
Paint Horse	0,014 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Appaloosa	0,013 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Pônei Brasileiro	0,011 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Fjord	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Mini Horse	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Piquira	0,022 ± 0,005	0,021 ± 0,005	0,020 ± 0,004	0,021 ± 0,005
Puruca	0,011 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Brasileiro de Hipismo	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Anglo Árabe	0,013 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Holsteiner	0,010 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,015 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Hanoveriano	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,004
Sela Belga	0,009 ± 0,003	0,007 ± 0,002	0,016 ± 0,004	0,011 ± 0,003
Sela Holandesa	0,017 ± 0,003	0,021 ± 0,004	0,018 ± 0,003	0,020 ± 0,004
Sela Francesa	0,009 ± 0,003	0,007 ± 0,002	0,016 ± 0,004	0,011 ± 0,003
Sela Sueca	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,004
Zangersheide	0,016 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Bérbere	0,009 ± 0,003	0,007 ± 0,002	0,016 ± 0,004	0,011 ± 0,003
Lusitano	0,014 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Paso Peruano	0,009 ± 0,003	0,007 ± 0,002	0,016 ± 0,004	0,011 ± 0,003
Jumento Brasileiro	0,164 ± 0,016	0,168 ± 0,016	0,159 ± 0,015	0,164 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,112 ± 0,014	0,118 ± 0,015	0,109 ± 0,014	0,116 ± 0,014
Pêga	0,164 ± 0,015	0,168 ± 0,015	0,160 ± 0,015	0,165 ± 0,015

Raça/Ecótipo	Quarto de Milha - corrida	Quarto de Milha - trabalho	Paint Horse	Appaloosa
Baixadeiro	0,016 ± 0,003	0,028 ± 0,004	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Campeiro	0,013 ± 0,003	0,025 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Campolina	0,015 ± 0,003	0,027 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Crioulo	0,014 ± 0,003	0,025 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Lavradeiro	0,016 ± 0,004	0,031 ± 0,006	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Mangalarga	0,014 ± 0,003	0,022 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,018 ± 0,004	0,029 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Marajoara	0,016 ± 0,004	0,027 ± 0,004	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Nordestino Horse	0,018 ± 0,004	0,031 ± 0,005	0,019 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Pantaneiro	0,014 ± 0,003	0,025 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Bretão	0,014 ± 0,003	0,023 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Friesian	0,017 ± 0,003	0,028 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,003
Gypsy	0,013 ± 0,003	0,024 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Percheron	0,015 ± 0,003	0,026 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Árabe	0,016 ± 0,003	0,029 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,015 ± 0,003	0,027 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Quarto de Milha - corrida		0,027 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,027 ± 0,004		0,027 ± 0,004	0,026 ± 0,004
American Paint Horse	0,015 ± 0,003	0,027 ± 0,004		0,014 ± 0,003
Appaloosa	0,014 ± 0,003	0,026 ± 0,004	0,014 ± 0,003	
Pônei Brasileiro	0,013 ± 0,003	0,025 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Fjord	0,015 ± 0,003	0,025 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Mini Horse	0,014 ± 0,003	0,022 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Piquira	0,019 ± 0,005	0,035 ± 0,006	0,020 ± 0,004	0,019 ± 0,005
Puruca	0,013 ± 0,003	0,024 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Brasileiro de Hipismo	0,015 ± 0,003	0,027 ± 0,004	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Anglo-Árabe	0,015 ± 0,003	0,026 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Holsteiner	0,013 ± 0,003	0,022 ± 0,004	0,013 ± 0,003	0,011 ± 0,003
Hanoveriano	0,013 ± 0,004	0,021 ± 0,003	0,015 ± 0,004	0,012 ± 0,003
Sela Belga	0,012 ± 0,003	0,023 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Sela Holandesa	0,019 ± 0,003	0,030 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,021 ± 0,004
Sela Francesa	0,012 ± 0,003	0,023 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Sela Sueca	0,011 ± 0,003	0,025 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,004
Zangersheide	0,017 ± 0,004	0,028 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Bérbere	0,012 ± 0,003	0,023 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Lusitano	0,016 ± 0,003	0,028 ± 0,004	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Paso Peruano	0,012 ± 0,003	0,023 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,002
Jumento Brasileiro	0,162 ± 0,016	0,154 ± 0,015	0,163 ± 0,016	0,164 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,110 ± 0,014	0,107 ± 0,013	0,115 ± 0,014	0,115 ± 0,014
Pêga	0,162 ± 0,015	0,154 ± 0,014	0,164 ± 0,015	0,165 ± 0,015

Raça/Ecótipo	Pônei Brasileiro	Fjord	Mini Horse	Piquira
Baixadeiro	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,004
Campeiro	0,010 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Campolina	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Crioulo	0,010 ± 0,002	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,024 ± 0,006
Lavradeiro	0,018 ± 0,005	0,020 ± 0,005	0,019 ± 0,005	0,013 ± 0,004
Mangalarga	0,012 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,009 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Mangalarga Marchador	0,018 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,017 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Marajoara	0,015 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004
Cavalo Nordestino	0,020 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Pantaneiro	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Bretão	0,012 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Friesian	0,016 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,015 ± 0,003	0,022 ± 0,005
Gypsy	0,011 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,022 ± 0,005
Percheron	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Árabe	0,016 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,020 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Quarto de Milha - corrida	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,019 ± 0,005
Quarto de Milha - trabalho	0,025 ± 0,004	0,025 ± 0,004	0,022 ± 0,004	0,035 ± 0,006
American Paint Horse	0,014 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,020 ± 0,004
Appaloosa	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,019 ± 0,005
Pônei Brasileiro		0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,005	0,021 ± 0,005
Fjord	0,013 ± 0,003		0,012 ± 0,003	0,022 ± 0,005
Mini Horse	0,012 ± 0,005	0,012 ± 0,003		0,022 ± 0,005
Piquira	0,021 ± 0,005	0,022 ± 0,005	0,022 ± 0,005	
Puruca	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,020 ± 0,005
Brasileiro de Hipismo	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Anglo-Árabe	0,012 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,022 ± 0,005
Holsteiner	0,010 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,009 ± 0,003	0,022 ± 0,005
Hanoveriano	0,013 ± 0,004	0,013 ± 0,004	0,008 ± 0,002	0,022 ± 0,006
Sela Belga	0,007 ± 0,002	0,011 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,023 ± 0,006
Sela Holandesa	0,020 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,025 ± 0,005
Sela Francesa	0,007 ± 0,002	0,011 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,023 ± 0,006
Sela Sueca	0,012 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,012 ± 0,004	0,019 ± 0,005
Zangersheide	0,017 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Bérbere	0,007 ± 0,002	0,011 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,023 ± 0,006
Lusitano	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,021 ± 0,005
Paso Peruano	0,007 ± 0,002	0,011 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,023 ± 0,006
Jumento Brasileiro	0,166 ± 0,016	0,165 ± 0,016	0,163 ± 0,016	0,158 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,116 ± 0,015	0,114 ± 0,014	0,113 ± 0,014	0,113 ± 0,020
Pêga	0,166 ± 0,015	0,166 ± 0,015	0,163 ± 0,015	0,160 ± 0,015

Raça/Ecótipo	Puruca	Brasileiro de Hipismo	Anglo-Árabe	Holsteiner
Baixadeiro	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Campeiro	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,003
Campolina	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Crioulo	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,002	0,010 ± 0,003
Lavradeiro	0,017 ± 0,005	0,018 ± 0,004	0,018 ± 0,005	0,018 ± 0,005
Mangalarga	0,010 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,008 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,017 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Marajoara	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,013 ± 0,003
Nordestino Horse	0,018 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,021 ± 0,005	0,019 ± 0,004
Pantaneiro	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,003
Breton	0,011 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,003
Friesian	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Gypsy	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,003
Percheron	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Árabe	0,016 ± 0,004	0,017 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Quarto de Milha - corrida	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,024 ± 0,004	0,027 ± 0,004	0,026 ± 0,004	0,022 ± 0,004
Paint Horse	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Appaloosa	0,012 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,011 ± 0,003
Pônei Brasileiro	0,011 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,003
Fjord	0,013 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,011 ± 0,003
Mini Horse	0,010 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,009 ± 0,003
Piquira	0,020 ± 0,005	0,021 ± 0,005	0,022 ± 0,005	0,022 ± 0,005
Puruca		0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,009 ± 0,003
Brazilian Sport Horse	0,014 ± 0,003		0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,003
Anglo-Árabe	0,013 ± 0,003	0,014 ± 0,003		0,012 ± 0,003
Holsteiner	0,009 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003	
Hanoveriano	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,004	0,013 ± 0,004	0,007 ± 0,003
Sela Belga	0,009 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,009 ± 0,002	0,007 ± 0,003
Sela Holandesa	0,019 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,021 ± 0,004	0,017 ± 0,004
Sela Francesa	0,009 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,009 ± 0,002	0,007 ± 0,003
Sela Sueca	0,012 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,004	0,011 ± 0,004
Zangersheide	0,016 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,016 ± 0,004
Bérbere	0,009 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,009 ± 0,002	0,007 ± 0,003
Lusitano	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,003	0,015 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Paso Peruano	0,009 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,009 ± 0,002	0,007 ± 0,003
Jumento Brasileiro	0,164 ± 0,016	0,165 ± 0,016	0,163 ± 0,016	0,164 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,114 ± 0,014	0,115 ± 0,014	0,117 ± 0,015	0,113 ± 0,014
Pêga	0,164 ± 0,015	0,165 ± 0,015	0,164 ± 0,015	0,164 ± 0,015

Raça/ECótipo	Hanoveriano	Sela Belga	Sela Holandesa	Sela Francesa
Baixadeiro	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Campeiro	0,014 ± 0,004	0,006 ± 0,002	0,020 ± 0,004	0,006 ± 0,002
Campolina	0,015 ± 0,004	0,010 ± 0,003	0,022 ± 0,004	0,010 ± 0,003
Crioulo	0,016 ± 0,005	0,002 ± 0,001	0,023 ± 0,005	0,002 ± 0,001
Lavradeiro	0,015 ± 0,005	0,019 ± 0,006	0,021 ± 0,005	0,019 ± 0,006
Mangalarga	0,007 ± 0,002	0,010 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,010 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,016 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,019 ± 0,004
Marajoara	0,013 ± 0,003	0,015 ± 0,004	0,020 ± 0,004	0,015 ± 0,004
Cavalo Nordestino	0,016 ± 0,004	0,022 ± 0,005	0,022 ± 0,004	0,022 ± 0,005
Pantaneiro	0,013 ± 0,004	0,008 ± 0,002	0,019 ± 0,004	0,008 ± 0,002
Bretão	0,006 ± 0,002	0,012 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,012 ± 0,004
Friesian	0,014 ± 0,003	0,014 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,014 ± 0,003
Gypsy	0,010 ± 0,003	0,009 ± 0,003	0,017 ± 0,003	0,009 ± 0,003
Percheron	0,015 ± 0,004	0,007 ± 0,002	0,021 ± 0,004	0,007 ± 0,002
Árabe	0,014 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,018 ± 0,003	0,016 ± 0,004
Puro Sangue Inglês	0,014 ± 0,004	0,011 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,011 ± 0,003
Quarto de Milha - corrida	0,013 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,019 ± 0,003	0,012 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,021 ± 0,003	0,023 ± 0,004	0,030 ± 0,004	0,023 ± 0,004
Paint Horse	0,015 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,012 ± 0,003
Appaloosa	0,012 ± 0,003	0,010 ± 0,002	0,021 ± 0,004	0,010 ± 0,002
Pônei Brasileiro	0,013 ± 0,004	0,007 ± 0,002	0,020 ± 0,004	0,007 ± 0,002
Fjord	0,013 ± 0,004	0,011 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,011 ± 0,003
Mini Horse	0,008 ± 0,002	0,010 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,010 ± 0,003
Piquira	0,022 ± 0,006	0,023 ± 0,006	0,025 ± 0,005	0,023 ± 0,006
Puruca	0,010 ± 0,003	0,009 ± 0,002	0,019 ± 0,004	0,009 ± 0,002
Brasileiro de Hipismo	0,015 ± 0,004	0,011 ± 0,002	0,020 ± 0,004	0,011 ± 0,002
Anglo-Árabe	0,013 ± 0,004	0,009 ± 0,002	0,021 ± 0,004	0,009 ± 0,002
Holsteiner	0,007 ± 0,003	0,007 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,007 ± 0,003
Hanoveriano		0,013 ± 0,005	0,015 ± 0,004	0,013 ± 0,005
Sela Belga	0,013 ± 0,005		0,021 ± 0,005	0,000 ± 0,000
Sela Holandesa	0,015 ± 0,004	0,021 ± 0,005		0,021 ± 0,005
Sela Francesa	0,013 ± 0,005	0,000 ± 0,000	0,021 ± 0,005	
Sela Sueca	0,011 ± 0,005	0,013 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,013 ± 0,005
Zangersheide	0,013 ± 0,004	0,019 ± 0,005	0,020 ± 0,004	0,019 ± 0,005
Bérbere	0,013 ± 0,005	0,000 ± 0,000	0,021 ± 0,005	0,000 ± 0,000
Lusitano	0,016 ± 0,004	0,011 ± 0,002	0,021 ± 0,004	0,011 ± 0,002
Paso Peruano	0,013 ± 0,005	0,000 ± 0,000	0,021 ± 0,005	0,000 ± 0,000
Jumento Brasileiro	0,160 ± 0,016	0,171 ± 0,016	0,160 ± 0,016	0,171 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,108 ± 0,014	0,120 ± 0,015	0,108 ± 0,014	0,120 ± 0,015
Pêga	0,160 ± 0,015	0,170 ± 0,016	0,160 ± 0,015	0,170 ± 0,016

Raça/Ecótipo	Sela Sueca	Zangersheide	Bérbere	Lusitano
Baixadeiro	0,015 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,003
Campeiro	0,012 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,006 ± 0,002	0,013 ± 0,003
Campolina	0,015 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Crioulo	0,015 ± 0,005	0,020 ± 0,005	0,002 ± 0,001	0,013 ± 0,003
Lavradeiro	0,015 ± 0,005	0,014 ± 0,004	0,019 ± 0,006	0,018 ± 0,004
Mangalarga	0,012 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Mangalarga Marchador	0,016 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,020 ± 0,004
Marajoara	0,015 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,015 ± 0,004	0,017 ± 0,003
Nordestino Horse	0,017 ± 0,005	0,015 ± 0,004	0,022 ± 0,005	0,020 ± 0,004
Pantaneiro	0,013 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,008 ± 0,002	0,014 ± 0,003
Bretão	0,012 ± 0,004	0,015 ± 0,004	0,012 ± 0,004	0,015 ± 0,003
Friesian	0,015 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,003
Gypsy	0,010 ± 0,003	0,016 ± 0,004	0,009 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Percheron	0,015 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,007 ± 0,002	0,015 ± 0,003
Árabe	0,012 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,017 ± 0,003
Puro Sangue Inglês	0,014 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,011 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Quarto de Milha - corrida	0,011 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Quarto de Milha - trabalho	0,025 ± 0,004	0,028 ± 0,004	0,023 ± 0,004	0,028 ± 0,004
Paint Horse	0,014 ± 0,003	0,017 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Appaloosa	0,014 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,010 ± 0,002	0,015 ± 0,003
Pônei Brasileiro	0,012 ± 0,004	0,017 ± 0,004	0,007 ± 0,002	0,014 ± 0,003
Fjord	0,012 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,011 ± 0,003	0,016 ± 0,003
Mini Horse	0,012 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,010 ± 0,003	0,015 ± 0,003
Piquira	0,019 ± 0,005	0,017 ± 0,004	0,023 ± 0,006	0,021 ± 0,005
Puruca	0,012 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,009 ± 0,002	0,014 ± 0,003
Brasileiro de Hipismo	0,014 ± 0,003	0,018 ± 0,004	0,011 ± 0,002	0,016 ± 0,003
Anglo-Árabe	0,014 ± 0,004	0,018 ± 0,004	0,009 ± 0,002	0,015 ± 0,003
Holsteiner	0,011 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,007 ± 0,003	0,014 ± 0,003
Hanoveriano	0,011 ± 0,005	0,013 ± 0,004	0,013 ± 0,005	0,016 ± 0,004
Sela Belga	0,013 ± 0,005	0,019 ± 0,005	0,000 ± 0,000	0,011 ± 0,002
Sela Holandesa	0,012 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,021 ± 0,005	0,021 ± 0,004
Sela Francesa	0,013 ± 0,005	0,019 ± 0,005	0,000 ± 0,000	0,011 ± 0,002
Sela Sueca		0,015 ± 0,004	0,013 ± 0,005	0,015 ± 0,004
Zangersheide	0,015 ± 0,004		0,019 ± 0,005	0,019 ± 0,004
Bérbere	0,013 ± 0,005	0,019 ± 0,005		0,011 ± 0,002
Lusitano	0,015 ± 0,004	0,019 ± 0,004	0,011 ± 0,002	
Paso Peruano	0,013 ± 0,005	0,019 ± 0,005	0,000 ± 0,000	0,011 ± 0,002
Jumento Brasileiro	0,160 ± 0,016	0,159 ± 0,015	0,171 ± 0,016	0,165 ± 0,016
Jumento Nordestino	0,104 ± 0,014	0,111 ± 0,014	0,120 ± 0,015	0,116 ± 0,014
Pêga	0,159 ± 0,015	0,160 ± 0,015	0,170 ± 0,016	0,165 ± 0,015



Raça/Ecótipo	Paso Peruano	Jumento Brasileiro	Jumento Nordestino	Pêga
Baixadeiro	0,014 ± 0,003	0,162 ± 0,015	0,113 ± 0,014	0,163 ± 0,015
Campeiro	0,006 ± 0,002	0,166 ± 0,016	0,116 ± 0,015	0,166 ± 0,015
Campolina	0,010 ± 0,003	0,165 ± 0,016	0,115 ± 0,014	0,165 ± 0,015
Crioulo	0,002 ± 0,001	0,169 ± 0,016	0,120 ± 0,015	0,169 ± 0,016
Lavradeiro	0,019 ± 0,006	0,156 ± 0,015	0,107 ± 0,014	0,157 ± 0,015
Mangalarga	0,010 ± 0,003	0,163 ± 0,016	0,112 ± 0,014	0,163 ± 0,015
Mangalarga Marchador	0,019 ± 0,004	0,160 ± 0,015	0,112 ± 0,014	0,162 ± 0,015
Marajoara	0,015 ± 0,004	0,161 ± 0,015	0,113 ± 0,014	0,162 ± 0,015
Cavalo Nordestino	0,022 ± 0,005	0,158 ± 0,015	0,111 ± 0,014	0,160 ± 0,015
Pantaneiro	0,008 ± 0,002	0,165 ± 0,016	0,115 ± 0,014	0,165 ± 0,015
Bretão	0,012 ± 0,004	0,163 ± 0,016	0,111 ± 0,014	0,163 ± 0,015
Friesian	0,014 ± 0,003	0,163 ± 0,015	0,112 ± 0,014	0,163 ± 0,015
Gypsy	0,009 ± 0,003	0,164 ± 0,016	0,112 ± 0,014	0,164 ± 0,015
Percheron	0,007 ± 0,002	0,168 ± 0,016	0,118 ± 0,015	0,168 ± 0,015
Árabe	0,016 ± 0,004	0,159 ± 0,015	0,109 ± 0,014	0,160 ± 0,015
Puro Sangue Inglês	0,011 ± 0,003	0,164 ± 0,016	0,116 ± 0,014	0,165 ± 0,015
Quarto de Milha - corrida	0,012 ± 0,003	0,162 ± 0,016	0,110 ± 0,014	0,162 ± 0,015
Quarto de Milha - trabalho	0,023 ± 0,004	0,154 ± 0,015	0,107 ± 0,013	0,154 ± 0,014
Paint Horse	0,012 ± 0,003	0,163 ± 0,016	0,115 ± 0,014	0,164 ± 0,015
Appaloosa	0,010 ± 0,002	0,164 ± 0,016	0,115 ± 0,014	0,165 ± 0,015
Pônei Brasileiro	0,007 ± 0,002	0,166 ± 0,016	0,116 ± 0,015	0,166 ± 0,015
Fjord	0,011 ± 0,003	0,165 ± 0,016	0,114 ± 0,014	0,166 ± 0,015
Mini Horse	0,010 ± 0,003	0,163 ± 0,016	0,113 ± 0,014	0,163 ± 0,015
Piquira	0,023 ± 0,006	0,158 ± 0,016	0,113 ± 0,020	0,160 ± 0,015
Puruca	0,009 ± 0,002	0,164 ± 0,016	0,114 ± 0,014	0,164 ± 0,015
Brasileiro de Hipismo	0,011 ± 0,002	0,165 ± 0,016	0,115 ± 0,014	0,165 ± 0,015
Anglo-Árabe	0,009 ± 0,002	0,163 ± 0,016	0,117 ± 0,015	0,164 ± 0,015
Holsteiner	0,007 ± 0,003	0,164 ± 0,016	0,113 ± 0,014	0,164 ± 0,015
Hanoveriano	0,013 ± 0,005	0,160 ± 0,016	0,108 ± 0,014	0,160 ± 0,015
Sela Belga	0,000 ± 0,000	0,171 ± 0,016	0,120 ± 0,015	0,170 ± 0,016
Sela Holandesa	0,021 ± 0,005	0,160 ± 0,016	0,108 ± 0,014	0,160 ± 0,015
Sela Francesa	0,000 ± 0,000	0,171 ± 0,016	0,120 ± 0,015	0,170 ± 0,016
Sela Sueca	0,013 ± 0,005	0,160 ± 0,016	0,104 ± 0,014	0,159 ± 0,015
Zangersheide	0,019 ± 0,005	0,159 ± 0,015	0,111 ± 0,014	0,160 ± 0,015
Bérbere	0,000 ± 0,000	0,171 ± 0,016	0,120 ± 0,015	0,170 ± 0,016
Lusitano	0,011 ± 0,002	0,165 ± 0,016	0,116 ± 0,014	0,165 ± 0,015
Paso Peruano		0,171 ± 0,016	0,120 ± 0,015	0,170 ± 0,016
Jumento Brasileiro	0,171 ± 0,016		0,025 ± 0,006	0,008 ± 0,002
Jumento Nordestino	0,120 ± 0,015	0,025 ± 0,006		0,023 ± 0,005
Pêga	0,170 ± 0,016	0,008 ± 0,002	0,023 ± 0,005	

569 **Tabela S2.** Estimativa da distância genética intraespecífica de fragmento do gene *D-*  
 570 *loop* (mtDNA) de 40 raças/ecótipos de *Equus asinus* e *Equus caballus* analisadas.

<b>Raça/ECótipo</b>	<b>Distância</b>	<b>Desvio padrão</b>
Paso Peruano	0,0	0,0
Lavradeiro	0,0041	0,0012
Crioulo	0,0046	0,0015
Jumento Brasileiro	0,0051	0,0017
Piquira	0,0092	0,0022
Pêga	0,0095	0,0026
Breton	0,0097	0,0025
Mangalarga	0,0097	0,0028
Mini Horse	0,0102	0,003
Campeiro	0,0104	0,0027
Gypsy	0,0112	0,003
Puruca	0,0116	0,003
Pônei Brasileiro	0,0122	0,0029
Pantaneiro	0,0124	0,003
Fjord	0,0132	0,0032
Percheron	0,0133	0,0028
Cavalo Nordestino	0,0141	0,0036
Árabe	0,0148	0,0029
Holsteiner	0,015	0,0051
Appaloosa	0,0151	0,0036
Campolina	0,0151	0,0035
Puro Sangue Inglês	0,0154	0,0036
Quarto de Milha - corrida	0,0161	0,0038
Anglo-Árabe	0,0162	0,0044
Marajoara	0,0167	0,0037
Paint Horse	0,0168	0,0035
Friesian	0,0168	0,0036
Brazilian Sport Horse	0,017	0,0034
Jumento Nordestino	0,0171	0,0037
Baixadeiro	0,0174	0,0038
Sela Holandesa	0,0176	0,0036
Lusitano	0,0176	0,0035
Mangalarga Marchador	0,0201	0,0039
Zangersheide	0,0262	0,0071
Quarto de Milha - trabalho	0,0302	0,0046
Bérbere	n/c	n/c
Sela Belga	n/c	n/c
Sela Francesa	n/c	n/c
Hanoveriano	n/c	n/c
Sela Sueca	n/c	n/c

571 **Tabela S3.** Estrutura e sítios polimórficos de haplótipos de mtDNA (*D-loop*) de  
572 equinos.

573

574

575

576



587

588 **Tabela S4.** Estrutura e sítios polimórficos de haplótipos de mtDNA (*D-loop*) de jumentos.

NC_001788	Posição das substituições de nucleotídeo em relação a sequência de referência NC_001788 do GenBank																				Raça/Ecótipo			
	C	G	G	G	A	C	T	C	G	G	G	T	G	G	G	T	A	A	A	C	Brazilian	Nordestino	Pêga	
DH1	.	T	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	1			
DH2	.	.	.	T	.	.	.	A	.	A	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	1			
DH3	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	C	G	.	.	.	.	1			
DH4	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4		2	
DH5	.	.	.	.	T	A	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1			
DH6	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	1			
DH7	.	.	.	.	.	T	A	T	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.		1		
DH8	T	A	A	.	.	.	A	.	.	A	A	C	.	.	.	.	G	.	G	.		4	2	
DH9	T	A	A	.	.	.	A	.	A	A	A	C	A	C	T	C	.	G	.	G	A		2	
DH10	T	A	A	.	.	.	A	.	A	A	A	C	.	.	.	C	.	G	.	G	.		1	
DH11	T	A	A	.	.	.	A	.	A	A	A	C	A	.	T	C	.	G	.	G	.		1	
DH12	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		1	4
DH13	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.			1
DH14	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A			1

589

590

591 **Tabela S5.** Lista de haplótipos dos equinos (EH) e o número de animais por raça.

Haplótipo	Raças/ECótipos
EH1	EAA (1).
EH2	EAA (1); EPSI (3).
EH3	EAA (1).
EH4	EAP (1).
EH5	EAP (1); EPH (2).
EH6	EAP (2); EAR (1); EBE (1); EBH (2); EBR (2); ECO (4); ECA (5); ECR (5); EFR (3); EGY (3); EHO (1); EBA (3); ECH (3); ELA (1); ELU (4); EML (1); EMJ (1); EMH (3); EPH (2); EPT (5); EPP (2); EPE (7); EPI (1); EPB (5); EPR (5); EQMC (1); EQMT (4); ESB (1); ESF (1).
EH7	EAP (1); EBR (2).
EH8	EAP (1); EAR (1); EBH (1); ECA (N-1); EBA (2); ECN (2); ELU (1); EMM (1); EMJ (1); EPH (1); EPT (1); EPI (8); EPB (1); EPSI (1) EPR (1); EQMC (1).
EH9	EAR (2).
EH10	EAR (5); ECH (1).
EH11	EAR (1).
EH12	EAR (1).
EH13	EAR (1); EHO (1); EBA (1); ECN (2); EML (5); EMJ (4); EMH (4); EPT (1); EPB (1); EPR (4).
EH14	EAR (1).
EH15	EAR (1); EGY (2).
EH16	EAR (1); ESS (1).
EH17	EAR (1).
EH18	EBH (1).
EH19	EBH (1); EPH (1); EQMT (2).
EH20	EBH (1); EPSI (1).
EH21	EBH (1).
EH22	EBH (1).
EH23	EBH (2); ECO (2); ECR (3); ECH (1); ELU (1); EML (1); EMH (1); EPB (1); EPSI (1).
EH24	EBR (1); ECO (2); ECH (1); EPB (1); EQMC (2).
EH25	EBR (1); EPE (1).
EH26	EBR (4); ECA (2); EGY (2); ECN (1).
EH27	ECO (1).
EH28	ECO (1); ECR (1); EFJ (4); EGY (1); EML (1); EMM (2).
EH29	ECA (1); EMM (1).
EH30	ECA (1); ECN (4); EMM (1); EMJ (2).
EH31	ECR (1).
EH32	EFJ (1).
EH33	EFJ (1).
EH34	EFJ (3).
EH35	EFJ (1); EFR (2); EGY (1); EBA (1); EPSI (1).

---

EH36	EFR (3).
EH37	EFR (1).
EH38	EFR (1).
EH39	EFR (1).
EH40	EGY (1); EPT (2); EPSI (1).
EH41	EHA (1).
EH42	EBA (1).
EH43	EBA (1).
EH44	EBA (1).
EH45	ECH (1).
EH46	ECH (1).
EH47	ECH (1).
EH48	ECH (1).
EH49	ECH (1).
EH50	ECH (1); EPH (1).
EH51	ECN (1); EZG (1).
EH52	ELA (9).
EH53	ELU (1).
EH54	ELU (1).
EH55	ELU (1).
EH56	ELU (1); EMM (1); ESH (1).
EH57	EML (1); EMM (2); EMH (2); ESH (1).
EH58	EML (1).
EH59	EMM (1).
EH60	EMM (1).
EH61	EMJ (2).
EH62	EPH (1).
EH63	EPH (1).
EH64	EPH (1).
EH65	EPH (1).
EH66	EPT (1).
EH67	EPE (1).
EH68	EPE (1).
EH69	EPI (1).
EH70	EPB (1).
EH71	EPSI (1).
EH72	EPSI (1); EQMC (1).
EH73	EQMC (1).
EH74	EQMT (1).
EH75	EQMT (1).
EH76	EQMT (1).
EH77	EQMT (1).
EH78	ESH (2).
EH79	ESH (1).
EH80	EZG (1).

---

593 EAA – Anglo-Árabe; EAP – Appaloosa; EAR – Árabe; EBE – Bérbere; EBA – Baixadeiro;  
594 EBH – Brasileiro de Hipismo; EBR – Bretão; ECO – Campeiro; ECA – Campolina; ECN –  
595 Cavalo Nordestino; ECH – Chinesa; ECR – Crioulo; EFJ – Fjord; EFR – Friesian; EGY –  
596 Gypsy; EHA – Hanoveriano; EHO – Holsteiner; ELA – Lavradeiro; ELU – Lusitano; EML –  
597 Mangalarga; EMM – Mangalarga Marchador; EMJ – Marajoara; EMH – Mini Horse; EPH –  
598 Paint Horse; EPT – Pantaneiro; EPP – Paso Peruano; EPE – Percheron; EPI – Piquira; EPB –  
599 Pônei Brasileiro; EPSI – Puro Sangue Inglês; EPR – Puruca; EQMC – Quarto de Milha -  
600 corrida; EQMT – Quarto de Milha - trabalho; ESB – Sela Belga; ESF – Sela Francesa; ESH –  
601 Sela Holandesa; ESS – Sela Sueca; EZG – Zangersheide.

602

603

604

605



606 **Referências**

- 607 ABCCAppaloosa, 2019. Associação brasileira de criadores de cavalo Appaloosa.  
608 Disponível em: <http://www.appaloosa.com.br/> (Acesso: 10 de abril de 2020).
- 609 ABCPaint, 2019. Associação brasileira do cavalo Paint. Disponível em:  
610 <http://www.abcpaint.com.br/abcpaint/pt/index.php/> (Acesso: 10 de abril de 2020).
- 611 Achilli, A., Olivieri, A., Soares, P. et al., 2012. Mitochondrial genomes from modern  
612 horses reveal the major haplogroups that underwent domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 2449–2454.  
613
- 614 Albuquerque, M. do S.M., Ianella, P., 2016. Inventário de recursos genéticos animais da  
615 Embrapa. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Livro técnico (INFOTECA-E)*.  
616 E).
- 617 Bandelt, H., Forster, P., Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring  
618 intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16, 37–48.
- 619 Barreto, I.M.L.G., Rangel, A.H.N., Urbano, S.A., Bezerra, J.S., Oliveira, C.A.A., 2019.  
620 Equine milk and its potential use in the human diet. *Food Sci. Technol.* 39, 1–7.
- 621 Beja-Pereira, A., England, P.R., Ferrand N., et al., 2004. African origins of the domestic  
622 donkey. *Am. Assoc. Advancement Sci.* 304, 1781.
- 623 Bigi, D., Perrotta, G., Zambonelli, P., 2014. Genetic analysis of seven Italian horse  
624 breeds based on mitochondrial DNA D-loop variation. *Anim. Genet.* 45, 593–595.

- 625 Blench, R.M., 2000. A history of donkeys, wild asses and mules in Africa. In: Blench,  
626 R.M., MacDonald, K.C., (Eds.), *The origins and development of African livestock:  
627 Archaeology, Genetics, Linguistics and Ethnography*. UCL, London, pp. 339–354.
- 628 Bracher, M., 2000. Therapeutic Horse Riding: What Has This to Do with Occupational  
629 Therapists? *Br. J. Occup. Ther.* 63, 277–282.
- 630 Carneiro, G.F., Lucena, J.E.C., Barros L.O., 2018. The Current Situation and Trend of  
631 the Donkey Industry in South America. *J. Equine Veterinary Sci.* 65, 106–110.
- 632 Chen, S.Y., Zhou, F., Xiao, H., Sha, T., Wu, S.F., Zhang, Y.P., 2006. Mitochondrial  
633 DNA diversity and population structure of four Chinese donkey breeds. *Anim.  
634 Genet.* 37, 427–429.
- 635 Cieslak, M., Pruvost, M., Benecke, N., Hofreiter, M., Morales, A., Reissmann, M.,  
636 Ludwig, A., 2010. Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic  
637 horses. *PLoS One* 5, e15311.
- 638 Cintra, A.D.C., 2018. *O cavalo: características, manejo e alimentação*. São Paulo.
- 639 Cortés, O., Dunner, S., Gama, L.T., et al., 2017. The legacy of Columbus in American  
640 horse populations assessed by microsatellite markers. *J. Anim. Breed. Genet.* 134,  
641 340-350.
- 642 Costa, M.D., Bergmann, J.A.G., Resende, A.S.C., Fonseca, C.G., 2005. Inbreeding and  
643 effective population size of the Brazilian Mangalarga Marchador horse breed.  
644 *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57, 112-119.

- 645 Csizmár, N., Mihók, S., Jávora, A., Kusza, S., 2018. Genetic analysis of the Hungarian  
646 draft horse population using partial mitochondrial DNA D-loop sequencing. *PeerJ* 6,  
647 1–17.
- 648 de Camargo, G.M.F., 2018. The role of molecular genetics in livestock production.  
649 *Anim. Prod. Sci.* 59, 201-206.
- 650 Devi, K.M., Ghosh, S.K., 2013. Molecular phylogeny of Indian horse breeds with  
651 special reference to Manipuri pony based on mitochondrial D-loop. *Mol. Biol. Rep.*  
652 40, 5861–5867.
- 653 Excoffier, L., Lischer, H.E.L., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to  
654 perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Rep.* 10,  
655 564–567.
- 656 FAOSTAT, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations.  
657 Disponível: <http://www.fao.org/faostat/> (Acessado em 17 de abril 2020).
- 658 Gelman, A., Rubin, D.B., 1992. Inference from iterative simulation using multiple  
659 sequences. *Statistical Science*.
- 660 Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and  
661 analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser. (Oxf)* 41, 95–98.
- 662 Ianella, P., Albuquerque, M. do S.M., Paiva, S.R. et al., 2017. D-loop haplotype  
663 diversity in Brazilian horse breeds. *Genet. Mol. Biol.* 40, 604–609.
- 664 Jimenez, L.M., Mendez, S., Dunner, S., Cañón, J., Cortés Ó., 2012. Colombian Creole  
665 horse breeds: Same origin but different diversity. *Genet. Mol. Biol.* 35, 790–796.

- 666 Kefena, E., Dessie, T., Tegegne, A., Beja-Pereira, A., Yusuf Kurtu, M., Rosenbom, S.,  
667 Han, J.L., 2014. Genetic diversity and matrilineal genetic signature of native  
668 Ethiopian donkeys (*Equus asinus*) inferred from mitochondrial DNA sequence  
669 polymorphism. *Livestock Sci.* 167, 73–79.
- 670 Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics  
671 Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33, 1870–1874.
- 672 Kvist, L., Niskanen, M., Mannermaa, K., Wutke, S., Aspi, J., 2019. Genetic variability  
673 and history of a native Finnish horse breed. *Genet. Selection Evol.* 51, 1–14.
- 674 Leigh, J.W., Bryant, D., 2015. POPART: full-feature software for haplotype network  
675 construction. *Methods Ecol. Evol.* 6, 1110–1116.
- 676 Levine, M.A., 2005. Domestication and early history of the horse. In: Mills, D.S.,  
677 McDonnell, S.M., (Eds.), *The Domestication of horse: the origins, development and*  
678 *management of its Behaviour*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 5–22.
- 679 Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA  
680 polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451–1452.
- 681 Luís, C., Bastos-Silveira, C., Cothran, E.G., Oom, M., 2006. Iberian Origins of New  
682 World Horse Breeds. *J. Hered.* 97, 107–113.
- 683 Maciel, F.C., Bertoli, C.D., Braccini Neto, J., Cobuci, J.A., Paiva, S.R., McManus,  
684 C.M. 2014. Population structure and genealogical analysis of the Brazilian Crioula  
685 Horse. *Anim. Genet. Resour.* 54, 115–125.

- 686 MAPA, 2016. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Revisão do  
687 Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavallo. Disponível em:  
688 <http://www.agricultura.gov.br>. Acessado em 21 de maio de 2020.
- 689 Marchiori, C.M., Pereira, G.L., Maiorano, A.M. et al., 2019. Linkage disequilibrium  
690 and population structure characterization in the cutting and racing lines of Quarter  
691 Horses bred in Brazil. *Livestock Sci.* 219, 45–51.
- 692 Mariante, A.S., Cavalcante, N., 2006. Animais do Descobrimento: raças domésticas da  
693 história do Brasil. Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,  
694 Brasília.
- 695 Mariante, A.S., Egito, A.A., 2002. Animal genetic resources in Brazil: result of five  
696 centuries of natural selection. *Theriogenology*, 57, 223–235.
- 697 McManus, C., Paiva, S., Louvandini, H., Melo, C., Seixas L., 2010. Jumentos no Brasil.  
698 INCT: Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira. (Série Técnica:  
699 Genética).
- 700 Miller, M., et al., 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large  
701 phylogenetic trees. *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)* 1–8.
- 702 Ning, T., Li, J., Lin, K. et al., 2014. Complex evolutionary patterns revealed by  
703 mitochondrial genomes of the domestic horse. *Curr. Mol. Med.* 14, 1286–1298.
- 704 Nylander, J.A.A., 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author.  
705 Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.

- 706 Othman O.E., Mahrous K.F., Shafey, H.I., 2017. Mitochondrial DNA genetic variations  
707 among four horse populations in Egypt. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 15, 469–474.
- 708 Primo, A., 2004. *Conquista e Colonização: A Fantástica História dos Conquistadores*  
709 *Ibéricos e Seus Animais na Era dos Descobrimentos.* Editora Movimento, Porto  
710 Alegre.
- 711 Rambaut, A., et al., 2009. Tracer [computer program], version 1.5.
- 712 Ronquist, et al., 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and  
713 Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology.*
- 714 Rousseau, E., 2014. *Tous les Chevaux du Monde: pres de 570 races et types décrits et*  
715 *ilustres.* Delachaux Et Niestle, France.
- 716 Sambrook, J., Fritschi, E.F., Maniatis, T., 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*  
717 *Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.*
- 718 Sild, E., Väriv, S., Kaart, T., Kantanen, J., Popov, R., Viinalass, H., Maternal and  
719 paternal genetic variation in Estonian local horse breeds in the context of  
720 geographically adjacent and distant Eurasian breeds. *Anim. Genet.* 50, 757–760.
- 721 Stamatakis, A., 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic analysis and post-  
722 analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.*
- 723 Stanisic, L.J., Aleksic, J.M., Dimitrijevic, V., Simeunovic, P., Glavinic, U., Stevanovic  
724 J., Stanimirovic, Z., 2017. New insights into the origin and the genetic status of the  
725 Balkan donkey from Serbia. *Anim. Genet.* 48, 580–590.

- 726 Swofford, D.L., 1998. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other  
727 Methods). Version 4.0. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- 728 Tezuka, A., Takasu, M., Tozaki, T., Nagano, A.J., 2019. Genetic analysis of Taishu  
729 horses on and off Tsushima Island: Implications for conservation. *J. Equine Sci.* 30,  
730 33–40.
- 731 Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G., 2002. Multiple Sequence Alignment  
732 Using ClustalW and ClustalX. *Current Protocols Bioinf.* 2.3.1-2.3.22.
- 733 Tozaki, T., Kikuchi, M., Kakoi, H. et al., 2019. Genetic diversity and relationships  
734 among native Japanese horse breeds, the Japanese Thoroughbred and horses outside  
735 of Japan using genome-wide SNP data. *Anim. Genet.* 50, 449–459.
- 736 Vilà, C., Leonard, J.A., Gotherstrom, A., et al., 2001. Widespread origins of domestic  
737 horse lineages. *Science*, 291, 474–477.
- 738 Wallner, B., Piumi, F., Brem, G., Muller, M., Achmann, R., 2004. Isolation of Y  
739 chromosome-specific microsatellites in the horse and cross-species amplification in  
740 the genus *Equus*. *J. Hered.* 95, 158–164.
- 741 Warmuth, V., Eriksson, A., Bower, M.A., et al., 2012. Reconstructing the origin and  
742 spread of horse domestication in the Eurasian steppe. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109,  
743 8202–8206.
- 744 Welker, V., Stock, K.F., Schöpke, K., Swalve, H.H., 2018. Genetic parameters of new  
745 comprehensive performance traits for dressage and show jumping competitions  
746 performance of German riding horses. *Livestock Sci*, 212, 93–98.

- 747 Xia, X., 2013. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in  
748 molecular biology and evolution. *Mol. Biol. Evol.* 30, 1720-1728.
- 749 Xia X., Lemey P., 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. In: Lemey, P.,  
750 Salemi, M., Vandamme, A.M., (Eds.), *The Phylogenetic Handbook: A Practical*  
751 *Approach to DNA and Protein Phylogeny*. University Press, Cambridge.
- 752 Xia, X., Xie, Z., Salemi, M., Chen, L., Wang, Y., 2003. An index of substitution  
753 saturation and its application. *Mol. Phylogenet. Evol.* 26, 1–7.
- 754 Xia, X., Yu, J., Zhao, X., et al., 2019. Genetic diversity and maternal origin of Northeast  
755 African and South American donkey populations. *Anim. Genet.* 50, 266–270.
- 756 Xu, X., Árnason, U., 1994. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse,  
757 *Equus caballus*: Extensive heteroplasmy of the control region. *Gene* 148, 357–362.
- 758 Xu, X., Gullberg, A., Arnason, U., 1996. The complete mitochondrial DNA (mtDNA)  
759 of the donkey and mtDNA comparisons among four closely related mammalian  
760 species-pairs. *J. Mol. Evol.* 43, 438–446.
- 761 Yang, L., Kong, X., Yang, S., Dong, X., Yang, J., Gou, X., Zhang, H., 2018. Haplotype  
762 diversity in mitochondrial DNA reveals the multiple origins of Tibetan horse. *PLoS*  
763 *One*, 13, e0201564.
- 764 Zhang, T., Lu, H., Chen, C., Jiang, H., Wu, S., 2012. Genetic Diversity of mtDNA D-  
765 loop and Maternal Origin of Three Chinese Native Horse Breeds. *Asian-Aust. J.*  
766 *Anim. Sci.* 25, 921–926.
- 767



## **CAPÍTULO 2**

---

### **O efeito dos polimorfismos do DNA mitocondrial na reprodução de bovinos**

Publicado: Periódico *Molecular Biology Reports* (ISSN 0301-4851)  
<https://doi.org/10.1007/s11033-020-06068-0>

## O efeito dos polimorfismos do DNA mitocondrial na reprodução de bovinos

### Resumo

**Introdução:** O objetivo deste estudo foi identificar SNPs localizados no DNA mitocondrial que estão associados a características reprodutivas em fêmeas zebuínas.

**Métodos:** Um total de 1.999 fêmeas Nelore genotipadas com o um painel de SNPs de alta densidade *Illumina Bovine HD BeadChip* (*Illumina Inc.*, San Diego, CA, EUA) foram usadas para estudar a associação de variantes do DNA mitocondrial com características reprodutivas usando a metodologia do *Single-step*.

**Resultados:** Em uma análise preliminar, os presentes resultados indicam uma pequena participação do mitogenoma na expressão de características reprodutivas em fêmeas zebuínas.

**Conclusões:** No entanto, possíveis dificuldades relacionadas às características biológicas do DNA mitocondrial e sua herança e aos fenótipos disponíveis no banco de dados estudado também podem explicar os resultados.

Palavras-chave: *Bos taurus indicus*. Fertilidade. Nelore. Precocidade sexual. SNP.

## The effect of mitochondrial DNA polymorphisms on cattle reproduction

### Abstract

**Background:** The aim of this study was to identify SNPs located in mitochondrial DNA that are associated with reproductive traits in beef cows. **Methods:** A total of 1,999 Nelore females genotyped with the high-density Illumina BovineHD BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) were used to study the association of mitochondrial DNA variants with reproductive traits using a single-step procedure. **Results:** In a preliminary analysis, the present results indicate a small participation of the mitogenome in the expression of reproductive traits in beef cattle. **Conclusions:** However, possible difficulties related to the biological characteristics of mitochondrial DNA and its inheritance, genotyping, and annotation of the phenotypes studied may also explain the results.

Keywords: *Bos taurus indicus*. Fertility. Nelore. Sexual precocity. SNP.

## Introdução

As fêmeas zebuínas (*Bos taurus indicus*) são consideradas sexualmente tardias quando comparadas com as fêmeas da subespécie *Bos taurus taurus* [1]. Uma vez que a eficiência reprodutiva é um dos fatores que mais interfere no retorno econômico da produção de gado de corte, se faz de suma importância avaliar características indicadoras de precocidade sexual, como a ocorrência de gravidez precoce (P16) e a idade ao primeiro parto (IPP) [2-4]. Há alguns estudos de associação genômica ampla (GWAS) que sinalizam as principais regiões genômicas responsáveis pela expressão de características reprodutivas em bovinos de corte zebuínos [5-10].

A herança não autossômica é pouco utilizada em estudos genômicos [11]. Algumas poucas iniciativas começaram a surgir com cromossomos sexuais [10, 12-13], mas, pouco se sabe sobre a influência do DNA mitocondrial (mtDNA) na expressão de características reprodutivas de animais domésticos. Muitos estudos GWAS foram executados com o conjunto de dados aqui usado [5-6, 8-10, 13]. No entanto, todos eles desconsideraram o mtDNA.

O mtDNA geralmente possui a herança materna [14-15], embora já tenha sido descrita herança paterna do mtDNA para aves e mamíferos [16-17]. A importância da mitocôndria é evidente em diversos processos biológicos. Em bovinos, Hayashi et al. [18] relataram que a diminuição da função mitocondrial e integridade do mtDNA dos embriões ocasiona uma redução no desenvolvimento embrionário. Isso pode estar diretamente relacionado ao desempenho reprodutivo. Evidências sugerem estreita relação entre a mitocôndria e desenvolvimento embrionário, sendo que esta relação vai muito além do papel dessas organelas na produção de ATP [19-21]. Levando-se em consideração a potencial importância das mitocôndrias na reprodução, objetivou-se associar SNPs localizados no mtDNA presentes em chips comerciais com as características de idade ao primeiro parto (IPP) e Prenhez precoce (P16) de bovinos da raça Nelore.

## Material e Métodos

### *Dados fenotípicos*

Os dados utilizados neste estudo foram obtidos em duas fazendas localizadas nas regiões sudeste e nordeste do Brasil, que integram o programa de melhoramento genético da DeltaGen®.

A estação de monta dura aproximadamente 70 dias. Para as novilhas expostas precocemente, com idade variando entre 14 e 18 meses, uma estação de monta antecipada é realizada entre fevereiro e abril, com duração de aproximadamente 60 dias. Todas as novilhas são expostas à reprodução, independentemente do peso e da condição corporal. Os sistemas de acasalamento utilizados são: inseminação artificial, acasalamento controlado e acasalamento de reprodutor múltiplo (relação touro: vaca de 1:50). As novilhas são avaliadas quanto à prenhez por palpação retal, aproximadamente 60 dias após o término da estação de monta antecipada. Novilhas que não concebem na estação de monta antecipada são expostas novamente aos dois anos de idade. A principal razão para o descarte/abate de fêmeas nos rebanhos é a falha reprodutiva.

As características associadas à precocidade sexual das novilhas utilizadas neste estudo foram a ocorrência de prenhez precoce (P16) e a idade ao primeiro parto (IPP) em dias. P16 é definida com base na concepção e parição da novilha, visto que o animal entrou na estação de monta com idade média de 16 meses de idade. Às novilhas que pariram com menos de 31 meses de idade foi atribuído o valor 1 (sucesso) e, o valor 0 (fracasso) às novilhas que falharam, ou seja, que pariram após 31 meses de idade. A idade ao primeiro parto (IPP), medida em dias, foi obtida com a diferença entre a data do primeiro parto e a data de nascimento da fêmea.

Inicialmente fez-se a edição, consistência de dados e formação de grupos contemporâneos (GCs) utilizando o programa SAS 9.2 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Foram necessárias as seguintes restrições: formação de estações de nascimento (1, dezembro a fevereiro; 2, março a maio; 3, junho a agosto; 4, setembro a novembro) e exclusão de registros que ultrapassassem a média  $\pm 3$  desvios-padrão para IPP. Os GCs foram formados pela concatenação de fazenda, estação de nascimento, grupo de manejo ao desmame e grupo de manejo ao sobreano. Grupos de contemporâneos com menos de três animais foram retirados da análise.

Nas análises univariada de IPP e P16, os componentes genéticos aditivos e residuais foram incluídos no modelo como efeitos aleatórios e o GC como efeito fixo. O total de 109.524 animais foram utilizados na matriz de relacionamento (até 11 gerações). A Tabela 1 apresenta a estatística descritiva das características estudadas. Dados fenotípicos de 76.845 e 76.700 animais foram usados para P16 e IPP, respectivamente.

**Tabela 1.** Estatística descritiva e herdabilidade para as características indicadoras de precocidade sexual em fêmeas Nelore.

<b>Característica</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>Média</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>h<sup>2</sup>*</b>
P16 (%)	76.845	21,6% **	-	-	0,46
IPP (dias)	76.700	1.038,44	700	1.200	0,15

P16: prenhez aos 16 meses; IPP: idade ao primeiro parto; h<sup>2</sup>: herdabilidade.

\* Incluindo dados genômicos.

\*\*Porcentagem de novilhas prenhas aos 16 meses.

#### *Dados de genótipo*

Os dados genotípicos consistiram em informações de 2.017 fêmeas nascidas entre 2007 e 2009 com resultado positivo no exame diagnóstico de prenhez. Esses animais foram genotipados com o chip SNP de alta densidade *Illumina (Bovine HD Assay, Illumina, San Diego, CA, EUA)* contendo 777.962 SNPs. Os critérios adotados para o controle de qualidade dos SNPs foram uma frequência de alelo menor <0,05 e uma taxa de chamada <0,90. SNPs localizados em autossomos, no cromossomo X e no DNA mitocondrial foram considerados. Após a aplicação dos controles de qualidade adotados, dados de 1.999 animais e 466.205 SNPs foram utilizados para análise. Todos os SNPs foram usados nas análises, mas apenas os resultados do DNA mitocondrial são relatados, que é o objetivo do presente estudo. Especificamente em relação ao mtDNA, havia inicialmente 343 SNPs no chip e restaram 243 SNPs após a limpeza na análise da característica IPP e 209 na característica P16. A diferença no número de SNPs para cada característica se deve à variabilidade dentro do grupo contemporâneo.

A estimação dos parâmetros genéticos, obtenção dos valores genômicos, identificação dos genes, modelo estático, *softwares* e métodos empregados são os mesmos utilizados por Carvalho et al. [13]. Os seguintes genomas mitocondrial e nuclear foram usados como referência de tamanho: genoma nuclear bovino: ARS-UCD1.2, genoma mitocondrial bovino: GenBank: NC005971 [22].

## **Resultados e discussão**

Este é o primeiro estudo que estima o efeito dos SNPs do mtDNA, presentes em chips comerciais, em características de fêmeas zebuínas. Para cada uma das características estudadas, foram encontradas duas janelas no mtDNA. Para IPP, a janela principal tem posição de 5256 pb e final de 11786 pb e para P16, a janela principal tem posição de 6803 pb a 13356 pb (Tabela 2). Cada janela continha 150 SNPs e explicava somente 0,001% das variâncias genéticas aditivas das características. Nenhum SNP foi significativo de todo o genoma mitocondrial em ambas as características. O genoma mitocondrial representa 0,006% do tamanho do genoma nuclear (pares de bases), a quantidade de SNPs do mtDNA corresponde a 0,04-0,05% do número de SNPs do genoma nuclear (no chip) antes e depois do controle de qualidade. À primeira vista, o mtDNA parece ter uma contribuição muito menor do que o genoma nuclear em termos de tamanho, variantes genéticas e variâncias explicadas.

Todavia, alguma atenção extra deve ser dada ao mtDNA. Wu et al [23] relataram níveis maiores de erros de genotipagem reportados para o mtDNA quando comparado com cromossomos autossomos e sexuais. Um fato biológico é que cada animal tem uma única cópia do alelo para cada SNP já que a herança mtDNA é exclusivamente materna. Isso influencia a genotipagem pois, pode gerar um viés no segundo alelo. Ainda há o fato biológico que o mtDNA pode ter heteroplasmia que também pode gerar erros potenciais de genotipagem [23].

**Tabela 2.** Identificação dos genes relacionados com as características idade ao primeiro parto e a ocorrência de prenhez precoce em fêmeas da raça Nelore, presente nas janelas de maiores efeitos, localizados no cromossomo mitocondrial.

Gene	ID NCBI	Posição	Descrição	Característica
<i>COX2</i>	3283880	NC_006853.1 (7374..8057)	<i>Cytochrome c oxidase subunit II</i>	IPP, P16
<i>COX1</i>	3283879	NC_006853.1 (5687..7231)	<i>Cytochrome c oxidase subunit I</i>	IPP, P16
<i>COX3</i>	3283883	NC_006853.1 (8970..9750)	<i>Cytochrome c oxidase subunit III</i>	IPP, P16
<i>ATP6</i>	3283882	NC_006853.1 (8290..8970)	<i>ATP synthase F0 subunit 6</i>	IPP, P16
<i>ND5</i>	3283887	NC_006853.1 (12109..13929)	<i>NADH dehydrogenase subunit 5</i>	P16
<i>ND2</i>	3283878	NC_006853.1 (4266..5307)	<i>NADH dehydrogenase subunit 2</i>	IPP
<i>ND3</i>	3283884	NC_006853.1 (9823..10168)	<i>NADH dehydrogenase subunit 3</i>	IPP, P16
<i>ATP8</i>	3283881	NC_006853.1 (8129..8329)	<i>ATP synthase F0 subunit 8</i>	IPP, P16
<i>ND4</i>	3283886	NC_006853.1 (10529..11906)	<i>NADH dehydrogenase subunit 4</i>	IPP, P16
<i>ND4L</i>	3283885	NC_006853.1 (10239..10535)	<i>NADH dehydrogenase subunit 4L</i>	IPP, P16

IPP: idade ao primeiro parto; P16: ocorrência de prenhez precoce.



Em se tratando de efeito da amostra, a raça estudada é zebuína, isso também pode influenciar os resultados, uma vez que os polimorfismos do mtDNA diferem de acordo com a subespécie bovina [24]. Apesar de o chip de SNPs, usado no estudo, contar com a participação de raças zebuínas, elas são em menor proporção quando comparada com as raças taurinas. Assim, SNPs segregantes na subespécie zebuína pode não ter sido inseridos no chip. Isso é potencializado no estudo em questão porque o mitogenoma tem uma taxa mutacional maior do que o genoma nuclear [26]. Portanto, a probabilidade de haver SNPs específicos no mtDNA para as subespécies é maior que quando comparado o DNA nuclear.

As baixas variâncias explicadas ainda podem estar relacionadas ao fato de que para a anotação dos fenótipos, as fêmeas estavam prenhas. Os relatos de participação da mitocôndria na reprodução estão relacionados ao desenvolvimento embrionário [18, 25]. Muitas falhas de prenhez são ocasionadas por perda embrionária. Assim, alguns SNPs podem ter sido eliminados pelo simples fato de que as fêmeas, que não emprenharam, não tiveram os fenótipos relacionados a perda fetal anotados.

## **Conclusão**

Num primeiro momento e da maneira como pode ser avaliada, parece-nos que o mitogenoma exerce pouca aditividade na expressão das características reprodutivas de bovinos de corte. Todavia, genotipagens de número maior de animais e com chips exclusivamente zebuínos, melhor seleção de fenótipos para composição dos bancos de dados são pontos a serem aprimorados a fim de melhor avaliar o efeito e a inclusão de variações do mtDNA na avaliação genômica.

## **Financiamento**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (422799/2016-5); Fundação de

Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2009/16118-5, 2017/10630-2, 2018/20026-8).

### **Aprovação de ética**

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Estadual Paulista (Unesp) (18.340 / 16).

### **Referências**

1. Abeygunawardena H, Dematawewa CMB (2004) Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 373-387. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.006>
2. Boligon AA, Albuquerque LGD (2011) Genetic parameters and relationships of heifer pregnancy and age at first calving with weight gain, yearling and mature weight in Nelore cattle. *Livestock Science* 141: 12-16. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.04.009>
3. Eler JP, Bignardi AB, Ferraz JBS, Santana JML (2014) Genetic relationships among traits related to reproduction and growth of Nelore females. *Theriogenology* 82: 708-714. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.06.001>
4. Costa EV, Ventura HT, Veroneze R, Silva FF, Pereira MA, Lopes PS (2020) Estimated genetic associations among reproductive traits in Nelore cattle using Bayesian analysis. *Animal Reproduction Science* 214: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106305>
5. Costa RB, Camargo GMF, Diaz IDPS, Irano N, Dias MM, Carvalheiro R, Boligon AA, Baldi F, Oliveira HN, Tonhati H, Albuquerque LG (2015) Genome-wide association study of reproductive traits in Nelore heifers using Bayesian inference. *Genetics Selection Evolution* 47(67): 1-9. <http://dx.doi.org/10.1186/s12711-015-0150-4>

6. Irano N, de Camargo GMF, Costa RB, Terakado APN, Magalhães AFB, Silva RMO, Dias MM, Bignardi AB, Baldi F, Carneiro R, Oliveira HN, Albuquerque LG (2016) Genome-wide association study for indicator traits of sexual precocity in Nellore cattle. *PLoS One*, 11(8): e0159502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159502>
7. Melo TP, De Camargo GMF, De Albuquerque LG, Carneiro R (2017) Genome-wide association study provides strong evidence of genes affecting the reproductive performance of Nellore beef cows. *PLoS One* 12(5): e0178551. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178551>
8. Regatieri IC, Boligon AA, Costa RB, de Souza FRP, Baldi F, Takada L, Venturini GC, Camargo GMF, Fernandes Junior GA, Tonhati H, Oliveira HN, Albuquerque LG (2017) Association between single nucleotide polymorphisms and sexual precocity in Nellore heifers. *Animal reproduction science* 177: 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.12.009>
9. Takada L, Barbero MMD, Oliveira HN et al (2018) Genomic association for sexual precocity in beef heifers using pre-selection of genes and haplotype reconstruction. *PLoS one*, 13(1), e0190197. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190197>
10. Diaz IDPS, de Camargo GMF, Cruz VARD, Hermisdorff IDC, Carvalho CVD, de Albuquerque LG, Costa RB (2020) Mapping genomic regions for reproductive traits in beef cattle: Inclusion of the X chromosome. *Reproduction in Domestic Animals*. DOI: 10.1111/rda.13810
11. Bruford MW, Ginja C, Hoffmann I (2015) Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015-2025. *Frontiers in genetics* 6(314): 1-11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00314>
12. de Camargo GMF, Porto-Neto LR, Kelly MJ, Bunch RJ, McWilliam SM, Tonhati H, Lehnert SA, Fortes MRS, Moore SS (2015) Non-synonymous mutations mapped to chromosome X associated with andrological and growth traits in beef cattle. *BMC Genomics* 16(384): 1-10. DOI 10.1186/s12864-015-1595-0.
13. Carvalho CVD, Hermisdorff IC, Souza IS, Junqueira GSB, Magalhães AFB, Fonseca LFS, Albuquerque LG, Tonhati H, Carneiro R, Camargo GMF, Costa

- RB (2019) Influence of X-chromosome markers on reproductive traits of beef cattle. *Livestock Science* 220: 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.12.021>
14. Birky CW (1995) Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(25):11331-11338. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.25.11331>
15. Wallace DC (2007) Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine. *Annual Review of Biochemistry* 76: 781-821. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.081205.150955>
16. Gyllensten U, Wharton D, Josefsson A, Wilson AC (1991) Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature* 352: 255-257. <https://doi.org/10.1038/352255a0>
17. Alexander M, Ho SYW, Molak M et al (2015). Mitogenomic analysis of a 50-generation chicken pedigree reveals a rapid rate of mitochondrial evolution and evidence for paternal mtDNA inheritance. *Biology letters* 11: 20150561. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2015.0561>
18. Hayashi T, Kansaku K, Abe T, Ueda S, Iwata H (2019) Effects of resveratrol treatment on mitochondria and subsequent embryonic development of bovine blastocysts cryopreserved by slow freezing. *Animal Science Journal* 90(7): 849-856. <https://doi.org/10.1111/asj.13219>
19. Van Blerkom J (2009) Mitochondria in early mammalian development. *Semin Cell Dev Biol* 20(3): 354-364. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2008.12.005>
20. Zhuang XJ, Huang Y, Duan YP, Zhang M, Lu YQ, Lu KH (2012) Translocation of active mitochondria during buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes in vitro maturation, fertilization and preimplantation embryo development. *Reproduction in domestic animals* 47(3): 443-448. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01900.x>
21. Roth Z (2018) Symposium review: Reduction in oocyte developmental competence by stress is associated with alterations in mitochondrial function. *Journal of dairy science* 101(4): 3642-3654. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13389>

22. Canavez FC, Luche DD, Stothard P, Leite KRM, Sousa-Canavez JM, Plastow G, Meidanis J, Souza MA, Feijão P, Moore SS, Camara-Lopes LH (2012) Genome sequence and assembly of *Bos indicus*. *Journal of Heredity* 103(3): 342-348. <https://doi.org/10.1093/jhered/esr153>
23. Wu XL, Xu J, Li H, Ferretti R, He J, Qiu J, Xiao Q, Simpson B, Michell T, Kachman SD, Tait Jr RG, Bauck S (2019) Evaluation of genotyping concordance for commercial bovine SNP arrays using quality - assurance samples. *Animal Genetics* 50(4): 367-371. DOI: 10.1111/age.12800
24. Hiendleder S, Lewalski H, Janke A (2008) Complete mitochondrial genomes of *Bos taurus* and *Bos indicus* provide new insights into intra-species variation, taxonomy and domestication. *Cytogenetic and Genome Research* 120: 150-156. DOI: 10.1159/000118756
25. Srirattana K, John JCS (2018) Additional mitochondrial DNA influences the interactions between the nuclear and mitochondrial genomes in a bovine embryo model of nuclear transfer. *Scientific reports* 8(7246): 1-17. DOI: 10.1038/s41598-018-25516-3
26. Ballard JWO, Whitlock MC (2004) The incomplete natural history of mitochondria. *Mol Ecol.* 13:729–744. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2003.02063.x

## CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS

Esse estudo permitiu aprofundar os conhecimentos sobre a variabilidade genética com base na região *D-loop* do DNA mitocondrial de todos os grupos genéticos de asininos e equinos brasileiros. A partir das análises moleculares em *Equus asinus* e *Equus caballus* pode-se inferir que todas as raças e ecótipos de equídeos naturalizados do Brasil além de mais de vinte raças cosmopolitas avaliadas nesse estudo são próximas geneticamente, considerando a linhagem materna.

Todavia, os resultados revelam informações importantes sobre a linhagem materna desses grupos, por exemplo os asininos brasileiros apresentam indicativo de diferenciação, a exemplo o jumento Nordestino diferenciando mais dos demais asininos brasileiros (Brasileiro e Pêga). Essa diferenciação é importantíssima para a implantação de estratégias iniciais para a conservação. A baixa variabilidade intra-raça e baixa variedade haplotípica e nucleotídica apresentada por algumas raças/ecótipos de equinos é um indicativo de que acasalamentos entre indivíduos menos aparentados a fim de se evitar endogamia, são aconselháveis.

O estudo tinha como objetivo estabelecer distâncias genéticas entre raças, mas os marcadores genéticos de DNA mitocondrial não se mostraram efetivos para isso. Porém, este estudo possibilitou o surgimento de novas perspectivas para investigações mais específicas que possibilitem inferir sobre a formação histórica das raças brasileiras, assim, futuros estudos com marcadores nucleares e do cromossomo Y, seriam essenciais.

No que diz respeito a contribuição do DNA mitocondrial na expressão das características reprodutivas idade ao primeiro parto (IPP) e ocorrência de prenhez precoce (P16) em fêmeas da raça Nelore, não foram encontrados SNPs significativos no genoma mitocondrial de *Bos taurus indicus*.

Apesar de os resultados encontrados no presente estudo indicar pouca influência do genoma mitocondrial nas características reprodutivas de fêmeas zebuínas. Verifica-se a necessidade de aprimoramento na coleta de dados fenotípicos, para que outras características relacionadas a reprodução de bovinos possam ser estudadas e também uso de maior quantitativo de animais. Tais ações poderão garantir que em estudos futuros o conhecimento detalhado sobre o efeito do mtDNA na expressão de características reprodutivas em bovinos sejam melhor estimados e tais informações possam ser incorporadas na avaliação genômica.

## ANEXOS

Gene 769 (2021) 145231



Contents lists available at ScienceDirect

Gene

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/gene](http://www.elsevier.com/locate/gene)

Research paper

## Variability analyses of the maternal lineage of horses and donkeys

Jackeline Santos Alves<sup>a</sup>, Marcia da Silva Anjos<sup>b</sup>, Marisa Silva Bastos<sup>a</sup>,  
 Louise Sarmiento Martins de Oliveira<sup>a</sup>, Ingrid Pereira Pinto Oliveira<sup>a</sup>,  
 Luis Fernando Batista Pinto<sup>a</sup>, Chiara Albano de Araújo de Oliveira<sup>a</sup>, Raphael Bernal Costa<sup>a</sup>,  
 Gregório Miguel Ferreira de Camargo<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, (UFBA), Salvador, BA, Brazil<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução da UFBA, Salvador, BA, Brazil

## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
*D-loop*  
 Equids  
 Genetic variability  
 Genetic distance  
 mtDNA

## ABSTRACT

Equid breeds originating from the Iberian Peninsula and North Africa are believed to have genetically contributed to the formation of breeds and ecotypes from Brazil. The country has numerous breeds and ecotypes of horses and donkeys but there are no extensive studies on maternal genetic diversity and their origins. This study reports the results of the first genetic analysis of all horse and donkey breeds/ecotypes from Brazil based on sequences of the mitochondrial DNA control region (*D-loop*) whose main objective was to characterize the genetic variation in these animals. These analyses will contribute to the understanding of the current population structure and diversity of breeds/ecotypes of horses and donkeys raised in the Brazil. We analyzed 310 *D-loop* sequences representing 41 breeds/ecotypes of *Equus caballus* and *Equus asinus*, including 14 native horse breeds/ecotypes, 3 native donkey breeds/ecotypes and 24 cosmopolite horse breeds. The results revealed that the breeds are well structured genetically and that they comprise different groups. A total of 80 and 14 haplotypes were identified for horses and donkeys, respectively. Most of the horse mtDNA haplotypes were shared by many breeds, whereas donkey mtDNA haplotypes seemed to be more group-specific. Some groups presented a low intrabreed distance and/or a low haplotype/nucleotide diversity such as Lavradeiro, Crioulo, Piquira and Percheron horses and Brazilian donkey. Thus, specific actions must be designed for each population. The different levels of genetic diversity provided important information for conservation resource management of adapted groups as well as for mating orientation of breed associations. Some autochthonous ecotypes require attention because of their low genetic variability.

## 1. Introduction

Different purposes conducted the domestication of horses (Eurasia) (Warmuth et al., 2012) and donkeys (Northwest Africa) (Blench, 2000; Beja-Pereira et al., 2004). Initially was for the transport of people and goods, but these animals were also used for diverse purposes such as food, agricultural work, war, and religion (Levine, 2005). Nowadays, new functions of equines have emerged such as sports, leisure, therapeutic and educational activities and milk production (Bracher, 2000; Welker et al., 2018; Barreto et al., 2019). The artificial and natural selection originated different breeds with their specificities, functions and adaptation to diverse environments. It is believed that there are more than 540 genetic groups among equine breeds and ecotypes in the world (Rousseau, 2014; Cintra, 2018) and some are in major decline. Hence, it

is important to define strategies for the conservation of adapted groups with specific characteristics (de Camargo, 2018).

The first report of the arrival of horses and donkeys in Brazil to 1534 (introduced by portuguese colonizers) and today's so-called autochthonous breeds that exhibit adaptive characteristics are derived from these animals (Primo, 2004; Mariante and Cavalcante, 2006; Cortés et al., 2017). Brazil occupies a prominent position in the world scenario in terms of populations of these species. In 2018, the country was the world's third largest producer of horses (FAOSTAT, 2020). About 15 equid groups among breeds and ecotypes are found throughout the Brazilian territory and some of them are a focus of conservation (Albuquerque and Ianella, 2016).

The Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA in the Portuguese acronym) is the body that regulates the breed registration of

\* Corresponding author.

E-mail address: [gregorio.camargo@ufba.br](mailto:gregorio.camargo@ufba.br) (G. Miguel Ferreira de Camargo).<https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145231>

Received 28 July 2020; Received in revised form 24 September 2020; Accepted 8 October 2020

Available online 13 October 2020

0378-1119/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.





## The effect of mitochondrial DNA polymorphisms on cattle reproduction

Jackeline Santos Alves<sup>1</sup> · Iara Del Pilar Solar Diaz<sup>1</sup> · Valdecy Aparecida Rocha da Cruz<sup>1</sup> ·  
 Marisa Silva Bastos<sup>1</sup> · Louise Sarmento Martins de Oliveira<sup>1</sup> · Lucia Galvão de Albuquerque<sup>2</sup> ·  
 Gregório Miguel Ferreira de Camargo<sup>1</sup> · Raphael Bernal Costa<sup>1</sup>

Received: 25 September 2020 / Accepted: 3 December 2020  
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. part of Springer Nature 2021

### Abstract

The aim of this study was to identify SNPs located in mitochondrial DNA that are associated with reproductive traits in beef cows. A total of 1999 Nelore females genotyped with the high-density Illumina BovineHD BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) were used to study the association of mitochondrial DNA variants with reproductive traits using a single-step procedure. In a preliminary analysis, the present results indicate a small participation of the mitogenome in the expression of reproductive traits in beef cattle. However, possible difficulties related to the biological characteristics of mitochondrial DNA and its inheritance, genotyping, and annotation of the phenotypes studied may also explain the results.

**Keywords** *Bos taurus indicus* · Fertility · Nelore · Sexual precocity · SNP

### Introduction

Indicine cows (*Bos taurus indicus*) sexually mature late when compared to females of the subspecies *Bos taurus taurus* [1]. Since reproductive efficiency is one of the most important factors that interfere with the economic return from beef cattle production, evaluating indicator traits of sexual precocity such as the occurrence of early pregnancy (P16) and age at first calving (AFC) is of paramount importance [2–4]. Some genome-wide association studies (GWAS) have identified the main genomic regions responsible for the expression of reproductive traits in zebu beef cattle [5–10].

Non-autosomal inheritance is neglected in genomic studies [11]. A few initiatives involving sex chromosomes have started to emerge [10, 12, 13], but little is known about the influence of mitochondrial DNA (mtDNA) on the expression of reproductive traits in livestock. Many GWA studies

were executed with the dataset herein used [5, 6, 8–10, 13]. However, all of them disregard the mtDNA.

The mtDNA is generally inherited from the mother [14, 15], although paternal inheritance of mtDNA has been reported for birds, and mammals [16, 17]. The importance of mitochondria has been demonstrated for different biological processes. In cattle, Hayashi [18] reported that a reduction in mitochondrial function and mtDNA integrity of bovine embryos causes a decrease in embryonic survival. This fact may be directly related to reproductive performance. Evidence suggests an association between mitochondria and embryo development that goes beyond the respiratory role of these organelles [19–21]. Considering the importance of mitochondria for reproduction, this study aimed to associate mtDNA SNPs from commercial chips with AFC and P16 in Nelore cattle.

### Material and methods

#### Phenotypic data

The data used in this study were obtained from two farms located in the southeastern and northeastern regions of Brazil, which participate in the DeltaGen® beef cattle breeding program.

✉ Raphael Bernal Costa  
 raphaelbcosta@gmail.com

<sup>1</sup> Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brazil

<sup>2</sup> Departamento de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal, São Paulo, Brazil