

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

AYLTON BARTHOLAZZI JUNIOR

**AVALIAÇÃO PLACENTÁRIA, ANÁLISE DO CRESCIMENTO E
DIVERSIDADE GENÉTICA EM EQUINOS DA RAÇA PÔNEI BRASILEIRO**

Campos dos Goytacazes, RJ

Fevereiro, 2020

AYLTON BARTHOLAZZI JUNIOR

**AVALIAÇÃO PLACENTÁRIA, ANÁLISE DO CRESCIMENTO E
DIVERSIDADE GENÉTICA EM EQUINOS DA RAÇA PÔNEI BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Animal na Área de Melhoramento Genético Animal.

ORIENTADORA: Profa Celia Raquel Quirino

CO-ORIENTADOR: Prof Luis Fonseca Matos

Campos dos Goytacazes, RJ

Fevereiro, 2020

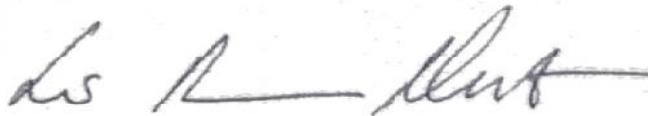
AYLTON BARTHOLAZZI JUNIOR

**AVALIAÇÃO PLACENTÁRIA, ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DIVERSIDADE
GENÉTICA EM EQUINOS DA RAÇA PÔNEI BRASILEIRO**

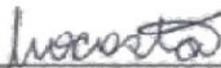
Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias, da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como requisito parcial para obtenção do
título de Doutor em Produção Animal na
Área de Melhoramento Genético Animal.

Aprovada em 17 de fevereiro de 2020

BANCA EXAMINADORA



Co-orientador: Luis Fonseca Matos (Doutor em Ciência Animal) - UENF



Maria Dulcinéia da Costa (Doutora em Ciência Animal) - UNIMONTES



Miguel Alejandro Silva Rua (Doutor em Ciência Animal) – Faculdade do Futuro



Orientadora: Profa. Celia Raquel Quirino (Doutora em Ciência Animal) – UENF

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

B286

Bartholazzi Junior, Aylton.

Avaliação placentária, análise do crescimento e diversidade genética em equinos da raça Pônei Brasileiro / Aylton Bartholazzi Junior. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2020.

110 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2020.

Orientadora: Celia Raquel Quirino.

Coorientador: Luis Fonseca Matos.

1. altura na cernelha. 2. condrodisplasia. 3. microssatélites. 4. modelos não lineares. 5. variabilidade genética. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 636

*Aos meus pais Aylton e Ernestina,
minhas irmãs Michele e Milene e
minha companheira Mariana pelo
amor e confiança.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre esteve comigo, especialmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais Aylton e Ernestina, pela minha formação inicial; pelo amor incondicional, carinho e dedicação; pelo incentivo e referência de caráter.

Às minhas irmãs Michele e Milene, pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis.

À minha orientadora, que serei grato eternamente, Prof^a. Celia Raquel Quirino, pela orientação, dedicação, ensinamentos e amizade.

Aos amigos do LRMGA: Ana Carolina, Ana Cláudia, André, Araceli, Bárbara, Camila, Carol, Carolina, Julia, Miguel, Natália, Thaís, Thiago, Vinícius e Wilder, pela colaboração, em sanarem todas as minhas dúvidas; pelo carinho e amizade com que convivemos.

À minha amada Mariana, pelo apoio e companheirismo durante todo este percurso.

Aos amigos que fizeram parte desta caminhada durante minha formação acadêmica: Amanda, Andressa, Cássio, Dayana (*in memoriam*), Daniel, Evaldo, Jean, Luciano, Marlon, Matheus, Sérgio, Tarcísio, Thiago, Wallace e Weverton; pelas conversas e momentos de descontração, e pela grande amizade e confiança que se formou durante todos esses anos.

A todos os professores da UENF, que me deram as informações necessárias para a formação do conhecimento. Às secretárias do Programa de Pós Graduação Ciência Animal, Jovana e Conceição, pela disponibilidade, atenção e carinho que nos atenderam.

Aos professores, Dra Aparecida Madella Oliveira, Dr José Frederico Straggiotti Silva, Dr Luis Fonseca Matos, Dra Maria Dulcinéia da Costa e Dr Miguel Alejandro Rua por colaborarem fazendo parte da banca de defesa de tese.

RESUMO

A região Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro se destaca na criação de diferentes raças equinas, entre elas a raça Pônei Brasileiro, que carece de informações principalmente nas áreas de reprodução, melhoramento genético e sobre o nanismo desproporcional. O trabalho foi dividido em três capítulos com o objetivo de avaliar o efeito do nanismo sobre a morfometria placentária (Capítulo 1), estimar as curvas de crescimento (Capítulo 2) e a diversidade genética (Capítulo 3) de equinos da raça Pônei Brasileiro. No Capítulo 1 a gestação de 19 éguas foi acompanhado e os partos assistidos. Foram realizadas mensurações nas placentas e peso do potro. Quanto ao nascimento foram observados 11 potros clinicamente normais (52%) e oito potros com nanismo condrodissplásico (48%). Nas avaliações placentárias as médias apresentaram diferenças e foram maiores nos potros normais do que nos potros com nanismo, para as medidas de perímetro do córioalantóide, área do córioalantóide, perímetro do âmnion, área do âmnion, peso total da placenta, peso do córioalantóide e no peso do potro. No Capítulo 2 a altura na cernelha dos animais foi obtida do nascimento até os 44 meses e estimadas as curvas de crescimento para diferentes funções não lineares. Os potros apresentaram altura ao nascerem de 50,66 cm. A função de Richards foi a mais indicada para estudo do crescimento por apresentar o menor erro médio de predição. Apresentando altura na cernelha à maturidade de 87,51 cm, taxa de maturação de 0,067 e R^2 de 0,994. No Capítulo 3, foram coletadas amostras de pelo de 98 animais pertencentes a dois haras, realizada a genotipagem de 27 locos microsatélites e avaliadas a diversidade genética, a endogamia e a estrutura populacional de todo o rebanho. Para a diversidade os 98 animais analisados apresentaram diversidade genética moderada com leve perda de heterozigosidade. O nível de endogamia do plantel foi baixo (0,011) e a estrutura populacional foi composta por duas linhagens distintas. Como conclusão da investigação verificou-se que os potros acometidos pelo nanismo apresentaram menor peso ao nascimento e menor tamanho da placenta, principalmente em relação à área total e peso total. A função Richards foi o melhor modelo para prever a altura dos pôneis. As diferenças observadas na placenta de potros com nanismo podem ser utilizadas

para estudos que busquem identificar essas alterações durante a fase fetal permitindo intervenções durante a gestação. Estes resultados podem ser utilizados também para orientar o manejo nos haras e auxiliar nas decisões de seleção de potros baseado na sua curva de crescimento. Por último, medidas para aumentar a diversidade genética seriam necessárias para o melhoramento genético dos animais.

Palavras chave: altura na cernelha, condrodisplasia, microssatélites, modelos não lineares e variabilidade genética.

ABSTRACT

The North Fluminense region of the state of Rio de Janeiro stands out for the creation of different equine breeds, among them the Pônei Brasileiro breed, which lacks information mainly in the areas of reproduction, genetic improvement and about disproportionate dwarfism stunting. The aim of our study was to evaluate the effect of dwarfism on placental morphometry, to estimate growth curves and the status of the diversity of Pônei Brasileiro breed. The gestation of 19 mares was monitored and assisted during the births. Measurements were made on the placentas and foal weight. The withers height of the animals were obtained from birth to adulthood and estimated growth curves for different non-linear functions. In addition, hair samples were collected from 98 animals belonging to two farms, genotyping of 27 microsatellite loci was performed and genetic diversity, inbreeding and population structure of the entire herd were evaluated. At birth, 11 clinically normal foals and eight foals with chondrodysplastic dwarfism were observed. In placental assessments, the means showed differences and were higher in normal foals than in foals with dwarfism, in the measurements of the allantochorion perimeter, allantochorion area, amnion perimeter, amnion area, total placental weight, allantochorion weight and foal weight. The foals had a height of 50.66 cm at birth. Richards' function was the most suitable for the study of growth because it had the lowest mean error of prediction. With a maturity winter height of 87.51 cm, a maturation rate of 0.067 and an R^2 of 0.994. For the diversity, the 98 animals analyzed showed moderate genetic diversity with slight loss of heterozygosity. The level of inbreeding of population is low (0.011) and the population structure is composed of two distinct strains. Foals affected by dwarfism had lower birth weight and smaller placental size, mainly in relation to the total area and total weight. The Richards function was the best model for predicting the height of ponies. The differences observed in the placenta of foals with dwarfism can be used for studies that seek to identify these changes during the fetal phase, allowing interventions during pregnancy. These results can be used to guide the management of the farms and assist in foal selection decisions based on their growth curve. Measures to

increase genetic diversity would be interesting for the genetic improvement of animals.

Keywords: chondrodysplasia, genetic variability, microsatellites, non-linear models and wither height.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 JUSTIFICATIVA	13
3 OBJETIVO	14
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4.1 OS EQUINOS.....	15
4.2 A EQUINOCULTURA E A RAÇA PÔNEI BRASILEIRO.....	18
4.3 PLACENTA EQUINA.....	20
4.3.1 Influência da placenta no peso do neonato	22
4.4 ESTATURA E CRESCIMENTO EQUINO.....	23
4.5 NANISMO EM EQUINOS.....	26
4.6 MARCADORES MOLECULARES.....	27
4.6.1 Marcadores moleculares microssatélites	29
4.7 DIVERSIDADE GENÉTICA.....	30
4.7.1 Indicadores populacionais de diversidade genética	31
4.8 STATUS DA DIVERSIDADE GENÉTICA E ENDOGAMIA EM EQUINOS...	33
5 REFERÊNCIAS	38
CAPÍTULO 1. Morphometric evaluation of the placenta of foals with dwarfism of the Pônei Brasileiro breed	45
INTRODUCTION	46
MATERIAL AND METHODS	48
RESULTS	52
DISCUSSION	60
CONCLUSIONS	63
REFERENCES	64
CAPÍTULO 2. Curva de crescimento de pônies da raça Pônei Brasileiro	66
INTRODUÇÃO	67
MATERIAL E MÉTODOS	69
RESULTADOS	72

DISCUSSÃO.....	79
CONCLUSÃO.....	83
REFERÊNCIAS.....	84
CAPÍTULO 3. Diversidade genética, endogamia e estrutura populacional de equinos da raça Pônei Brasileiro.....	87
INTRODUÇÃO.....	89
MATERIAL E MÉTODOS.....	91
RESULTADOS.....	95
DISCUSSÃO.....	102
CONCLUSÃO.....	106
REFERÊNCIAS.....	107
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110

1. INTRODUÇÃO

Segundo Molén (2009) os fósseis mais antigos de cavalos encontrados seriam de aproximadamente 50 milhões de anos atrás. Os *Hyracotherium* possuíam 25 a 50 cm de altura (DITTRICH, 2018) e evoluíram por todos estes anos até os equinos atuais com diferentes raças e características.

A equinocultura teve papel de extrema importância na evolução da humanidade desde sua domesticação a 6.000 anos a.C (WARMUTH et al., 2012), e ainda hoje principalmente como animal de tração e lazer.

A população mundial de equinos é estimada em aproximadamente 64,959 milhões de cabeças (FAO, 2016). No Brasil de acordo com dados do IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017) o efetivo de equinos era de 5,50 milhões de cabeças.

Do ponto de vista histórico, a necessidade de utilização de tração animal em túneis e em minas de carvão, por ocasião da Revolução Industrial, iniciou a seleção e criação dos cavalos pôneis, que hoje é realizada para lazer de crianças e exposições, onde, se destaca no Brasil os equinos da raça Pônei Brasileiro. A raça Pônei Brasileiro apresenta mais de 26.738 animais registrados (IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015) na associação de criadores e são encontrados em todo território nacional.

Originado do cruzamento das raças Shetland da Escócia e dos Falabella da Argentina, além de alguma influência de animais oriundos do Paraguai e Uruguai (ABCCPONEI, 2018), a raça Pônei Brasileiro se difundiu pelo território nacional levando a fundação da Associação Brasileira dos Criadores do Cavallo Pônei (ABCCPÔNEI), a estabelecer os padrões raciais e iniciar a construção do livro de registros dos animais.

O Padrão Racial determina, a sua altura não pode ultrapassar 100 cm para machos e 110 cm para fêmeas (ABCCPONEI, 2018). Entretanto Costa et al. (2001) observaram na raça Pônei Brasileiro, uma altura na cernelha de 95,8 cm e tendência genética de diminuição da altura dos animais. Por sua vez, Bartholazzi Junior et al. (2017) observaram posteriormente uma média de altura na cernelha de 84,5 cm. Muitos criadores se dedicaram ao aperfeiçoamento da morfometria dos animais e

seleção para menor estatura, entretanto, são escassas as informações do crescimento do Pônei Brasileiro.

Em geral, a seleção dos equinos se baseia em mensurações subjetivas como andamento, caracterização racial e premiações em exposições (COSTA et al., 2005), sendo utilizados poucos reprodutores para a reprodução. Como o reprodutor é responsável pela metade do patrimônio genético da progênie, e pela utilização de um reprodutor para cobrir diversas matrizes, a contribuição dos mesmos é maior que das matrizes para a melhoria genética do plantel e da eficiência produtiva (GATTI et al., 2004). Contudo, a utilização de poucos progenitores apresenta riscos ao rebanho, pois pode elevar a taxa de endogamia ou consanguinidade (PEREIRA, 2008).

Por outro lado, o acasalamento de indivíduos geneticamente similares leva ao aumento da homozigose de alelos deletérios indesejáveis, o que pode provocar problemas reprodutivos e produtivos, denominados de depressão endogâmica (GONÇALVES et al., 2011), e podendo acarretar em problemas como o nanismo.

O nanismo, por sua vez, é considerado um dos defeitos congênitos mais reconhecidos dos animais (EBERTH, 2013). O mecanismo que desencadeia este distúrbio de crescimento ainda foi pouco estudado na espécie equina, entretanto acredita-se que o nanismo esteja relacionado com uma herança genética recessiva (BACK et al., 2008), podendo ser afetado pela baixa diversidade dos plantéis e acasalamentos endogâmicos.

Estudos sobre a curva de crescimento, avaliações genômicas sobre a diversidade genética e endogamia do pônei da raça Brasileira são relevantes para o melhoramento genético da raça além de gerar informações sobre diferentes características ligadas ao nanismo, o que permitiria elucidar esta patologia e orientar criadores nos acasalamentos.

2. JUSTIFICATIVA

A equinocultura é utilizada pela humanidade há milhares de anos e foi sendo aperfeiçoada ao longo do tempo. Estudos referentes à sanidade, nutrição, reprodução e ao manejo produziram, em sua maioria, informações relevantes para o desenvolvimento da atividade. Uma vez satisfeitas todas as necessidades biológicas e produtivas, ações nesta área não permitirão maiores avanços no setor. Com isso o melhoramento genético ganhou grande importância na obtenção de melhores genótipos visando ampliar o nível de produção e aumentar a renda com esta atividade. A Região Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro se destaca a criação de diferentes raças equinas, entre elas a raça Pônei Brasileiro, que necessita de informações principalmente nas áreas de reprodução, morfometria e melhoramento genético. A principal característica de interesse econômico do Pônei Brasileiro é a altura dos animais. Parâmetros do crescimento e desenvolvimento dos potros poderiam ser usados para acompanhamento, seleção de futuras matrizes e garanhões e como base para compra ou venda de animais. Além disso, criadores de diferentes haras da região relatam a baixa fertilidade do rebanho, diversos abortos e nascimento de animais com más formações, vulgarmente chamados de “monstrinhos”, vivos e mortos. Possivelmente esses efeitos estariam relacionados com fatores genéticos provocados e/ou associados ao nanismo. Estudos acerca das alterações placentárias e do potro causados pelo nanismo podem servir como base para novos estudos sobre a identificação e compreensão desta doença. O Pônei Brasileiro, raça nativa do Brasil, não apresenta estudos moleculares sobre sua diversidade genética e estrutura populacional. Estas informações apresentariam o *status* da diversidade genética e endogamia, permitindo aos criadores a identificação da estrutura populacional de seu plantel, assim como os melhores acasalamentos, evitando a endogamia.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o *status* da diversidade genética, estimar as curvas de crescimento e verificar o efeito do nanismo sobre a morfometria placentária de equinos da raça Pônei Brasileiro.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as medidas de altura na cernelha dos animais em diferentes idades.
- Estimar as curvas de crescimento por modelos não lineares de 2 haras.
- Identificar o melhor modelo para predição da altura na cernelha.
- Comparar a morfometria placentária e desenvolvimento de potros sadios e com nanismo.
- Avaliar a diversidade genética dos animais.
- Avaliar a endogamia dos plantéis.
- Avaliar a estrutura populacional dos animais.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 OS EQUINOS

As principais teorias acerca da história evolutiva dos equinos surgiram através da descoberta de fósseis de seus ancestrais e comparadas às mudanças evolutivas com base nas alterações ósseas observadas. Segundo Molén (2009) os fósseis mais antigos de cavalos foram encontrados em estratos sedimentares no início do Período Terciário, há aproximadamente 50 milhões de anos atrás. No Período Eoceno, eram comumente chamados de *Eohippus* ou *Hyracotherium*. A principal característica do *Hyracotherium* era a presença de quatro metacarpos, sendo classificado como tetradáctilo (SOLOUNIAS et al., 2018).

Os *Hyracotherium* possuíam 25 a 50 cm de altura, com dentes de estruturas simples, mais apropriados ao consumo de folhas tenras brotos e porções carnosas das plantas, dorso ligeiramente arqueado e seu maior número de dedos capacitavam os animais a correrem nos campos pantanosos das florestas tropicais, buscando alimento ou escapando dos predadores (DITTRICH, 2018).

Após o *Hyracotherium* o próximo ancestral conhecido dos equinos atuais é o *Mesohippus*, um cavalo tridáctilo, foi um dos mais importantes táxons centrais nas ramificações subsequentes (SOLOUNIAS et al., 2018). O *Mesohippus*, apresentava aproximadamente 60 cm de altura, possuía três dedos e dentes semelhantes ao seu ancestral. Outro descendente originado do *Hyracotherium* foi o *Miohippus*, que era muito semelhante ao *Mesohippus*, mas com maior estatura, o qual se acredita que tenha migrado para a Europa e, posteriormente, desaparecido (DITTRICH, 2018).

No Período do Mioceno, as gramíneas tornaram-se mais abundantes e os *Mesohippus* se adaptaram as novas condições. Deixaram de ser consumidores de arbustos para consumirem pastos, havendo necessidade de adaptação dos dentes a este alimento mais fibroso, que promovia maior desgaste dentário, formando três grupos diferentes de acordo com a migração por regiões diferentes ao passar dos anos: terras altas (*Parahippus*), terras desertas (*Merychippus*) e terras baixas (*Pliohippus*) (DITTRICH, 2018; MOLÉN, 2009).

O *Pliohippus* surgiu durante o período Plioceno e é o ancestral mais semelhante ao cavalo moderno. Foi o primeiro gênero a apresentar um só dedo, embora os ossos estilóides (metacarpianos e metatarsianos acessórios) fossem maiores que no cavalo moderno. O *Pliohippus* mesmo sem apresentar significativas mudanças evolutivas é considerado o antecessor do gênero *Equus* (DITTRICH, 2018).

A ilustração apresentada por Molén (2009) adaptado de Simpson (1951), permite a visualização da evolução do *Hyracotherium* até o cavalo atual (*Equus*), relacionada com as eras de evolução da terra e as possíveis regiões de origem (Figura 1).

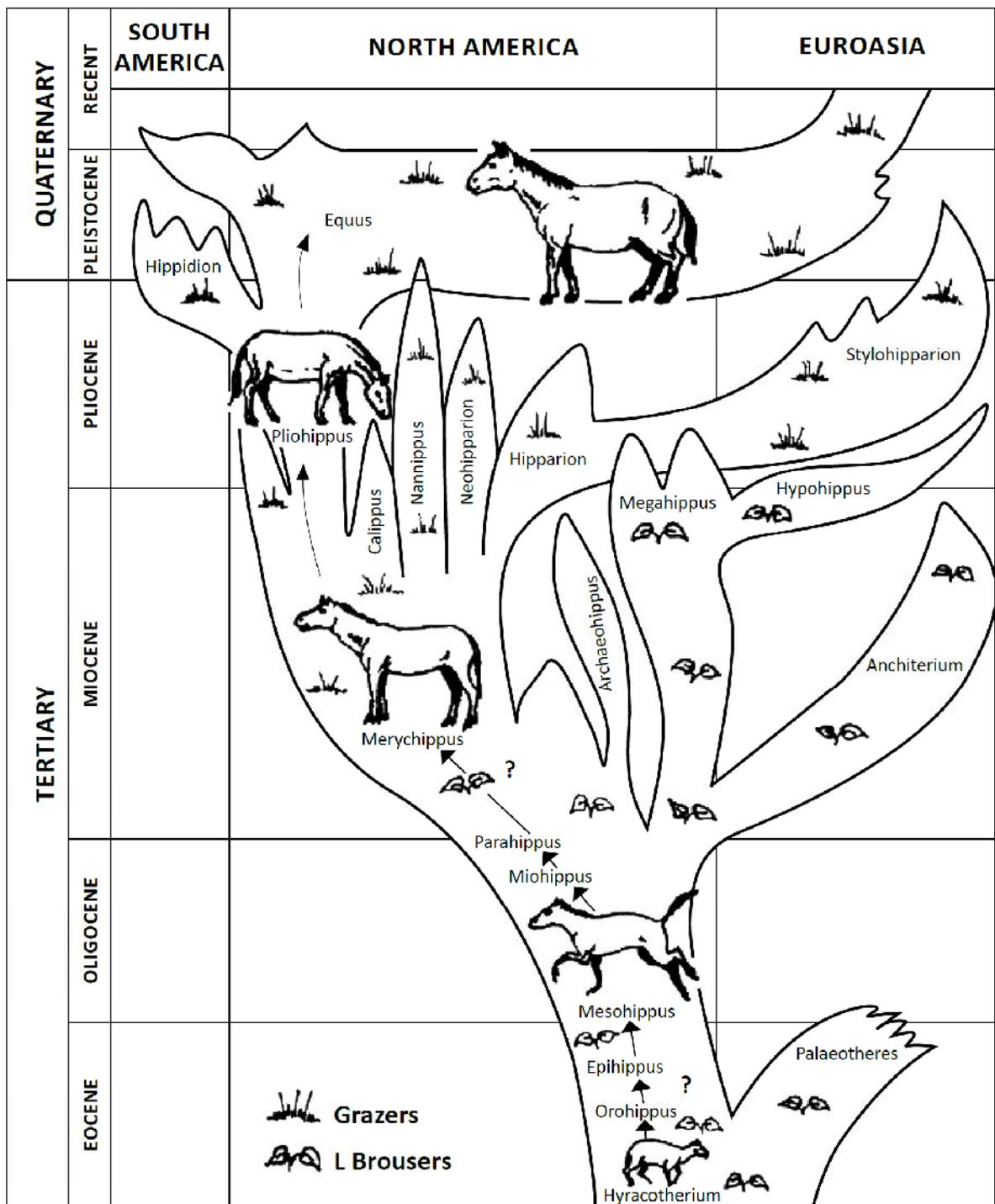


Figura 1. Árvore evolucionária dos equinos segundo Simpson (1951) e adaptado por Molén (2009).

?: Possíveis lacunas evolutivas. *Equus*: cavalo atual.

A classificação inicial dos cavalos é baseada nos tipos sela e tração, e se são orientais e ocidentais. Os orientais, eram denominados *Equus caballus orientalis* (Tarpã), provavelmente deram origem aos animais de sela da região do

Mediterrâneo. Os cavalos ocidentais ou *Equus caballus occidentalis*, provavelmente deram origem aos animais de tração na Europa Central. Outro tipo selvagem existente até o final dos anos 80 era o *Equus caballus przewalskii*, que habitava o Leste Asiático próximo à fronteira da Mongólia, contribuíram para formação das raças locais, como os cavalos do Sul da Rússia e da Mongólia (DITTRICH, 2018).

Após toda a evolução que deu origem do cavalo moderno, estes foram adaptando-se a diferentes regiões e selecionados pelos homens, formando diferentes raças e presentes em todos os continentes.

4.2 A EQUINOCULTURA E A RAÇA PÔNEI BRASILEIRO

A população mundial de equinos é estimada em aproximadamente 64,959 milhões de cabeças (FAO, 2016). No Brasil de acordo com dados do IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017) o efetivo de equinos é de 5,50 milhões de cabeças. Em 2015, entre as principais raças, se destacaram a Mangalarga Marchador com 600 mil animais registrados e a raça Quarto de Milha com 402 mil animais registrados. Nas raças pôneis a de maior destaque é a raça Pônei Brasileiro com mais de 26.738 animais registrados (IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015).

O complexo do agronegócio equino apresenta constante evolução e contribui com o Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro e com a geração de empregos, onde, em menos de dez anos a renda no setor aumentou mais de 100%. Em 2006, o complexo do agronegócio equino no Brasil movimentou cerca de R\$ 7,5 bilhões e gerou cerca de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, desempenhando as funções de sela, carga e tração (LIMA; SHIROTA; BARROS, 2006). Em 2015 a renda gerada no complexo do agronegócio do cavalo no Brasil totalizou R\$ 16,15 bilhões, com cerca de 2,43 milhões de empregos diretos e indiretos (LIMA; CINTRA, 2016).

Segundo Lima et al. (2006) o cavalo se destina a diferentes atividades como para o trabalho, no uso militar e principalmente nas diferentes atividades agropecuárias como o manejo do gado. O cavalo é utilizado também como recurso terapêutico no tratamento de pessoas com deficiência, assim como dificuldades nas

áreas cognitiva, psicomotora e socioafetivas, através do uso da equoterapia. Outra atividade realizada de longa data é o esporte equestre com diferentes modalidades e com crescimento expressivo em todo o mundo. Existem ainda outras atividades como o turismo equestre, escolas de equitação, Jockey Clubs, exposições e eventos.

Dentre as atividades empregadas, o uso da tração animal antigamente era indispensável para o homem e o interesse em cavalos de pequeno porte se deu com a necessidade de utilização dela na extração mineral em minas com passagens estreitas e baixas, que exigia cavalos fortes e bem pequenos, iniciando então a seleção e criação dos cavalos pôneis.

Os animais da raça Pônei Brasileiro descendem dos Shetland da Escócia, dos Falabella da Argentina, além de alguma influência de animais oriundos do Paraguai e Uruguai (ABCCPONEI, 2018). Em 1970, foi criada a Associação Brasileira de Criadores do Cavalo Piquira e Pônei, hoje denominada como Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Pônei - ABCCPÔNEI (BERGMANN et al., 1997a) que iniciou o livro de registro dos animais no Brasil.

Os equinos da raça Pônei Brasileiro apresentam massa e forma harmoniosa, ágil, de bom temperamento para o serviço, dócil, com proporções equilibradas entre a altura na cernelha e o comprimento do corpo. Possuem ainda frente altiva e leve, bem aprumado e com angulações de membros que favoreçam uma boa liberdade de movimentos ao passo, ao trote e ao galope (ABCCPONEI, 2018).

Com o padrão racial aperfeiçoado, a sua altura não pode ultrapassar 100cm para machos e 110cm para fêmeas, sendo a estatura ideal 90cm. Possuem cabeça de forma triangular com orelhas pequenas e bem implantadas, olhos vivos e expressivos, narinas delicadas, abertas e flexíveis. Seu pescoço tem comprimento e musculatura proporcionais com crinas fartas e sedosas. Tronco forte e compacto com dorso–lombo curto, reto e forte, garupa bem musculada, de forma arredondada e harmoniosamente ligada ao lombo. Membros proporcionais, fortes e bem aprumados (ABCCPONEI, 2018).

4.3 PLACENTA EQUINA

A placenta é definida como um órgão de transição composta por tecidos materno e fetal. Apresenta funções de transporte de nutrientes, trocas metabólicas e na manutenção da gestação através da produção de hormônios (DAVIES MOREL, 2002; LEISER; KAUFMANN, 1994).

A necessidade de maior área de contato entre os tecidos materno e fetais ocorre por interdigitações dos tecidos, em equinos e suínos esta distribuição se prolonga na maior parte da superfície coriônica caracterizando a placenta difusa (LEISER; KAUFMANN, 1994).

Por sua vez, as vilosidades do córion agrupadas em complexos são denominadas microcotilédones (Figura 2), recobrando a superfície coriônica que se encaixam em criptas correspondentes no endométrio (ALLEN et al., 2002; GINTHER, 1992). O microcotilédone é a unidade de trocas placentárias nos equinos e abrange tanto o tecido fetal, quanto o materno (GINTHER, 1992). Devido a estas características a placenta equina é classificada como microcotiledonária epiteliocorial, pela íntima relação das camadas de tecido conjuntivo e epitelial com os capilares fetais (SENGER, 2005).

A placenta equina apresenta padrão circulatório contracorrente e grau de implantação decídua e a membrana corioalantóideia é aderida a todo o endométrio. O endotélio materno, epitélio uterino, epitélio coriônico e capilares fetais separam os capilares fetais e maternos no sentido uterino-fetal (DON, 2007).

O saco vitelínico é o primeiro anexo a ser formado nos mamíferos domésticos, atuando precocemente como um órgão vasculógeno e hematocitopoético. O âmnio (Figura 2) é uma cápsula sacular do embrião e do feto, que contém líquido amniótico que permite a hidratação do embrião, a motilidade dos tecidos da superfície embrionária e a proteção mecânica contra traumas. O alantóide é um divertículo endodérmico do intestino que se funde ao cório (anexo derivado do trofoblasto) formando a membrana corioalantóideia (Figura 2). O alantóide nos equinos apresenta grande desenvolvimento e envolve a cavidade amniótica com o feto. O córion converte-se em córion secundário, dotado de vilosidades, estabelecendo relações com a mucosa uterina. A união do feto à placenta é feita através do cordão umbilical, composto por vasos alantoideanos (vasos umbilicais),

representados por duas veias e duas artérias (ALMEIDA, 1999; MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2008; SCHWARZE; SCHRÖDER, 1970; SENGER, 2005).

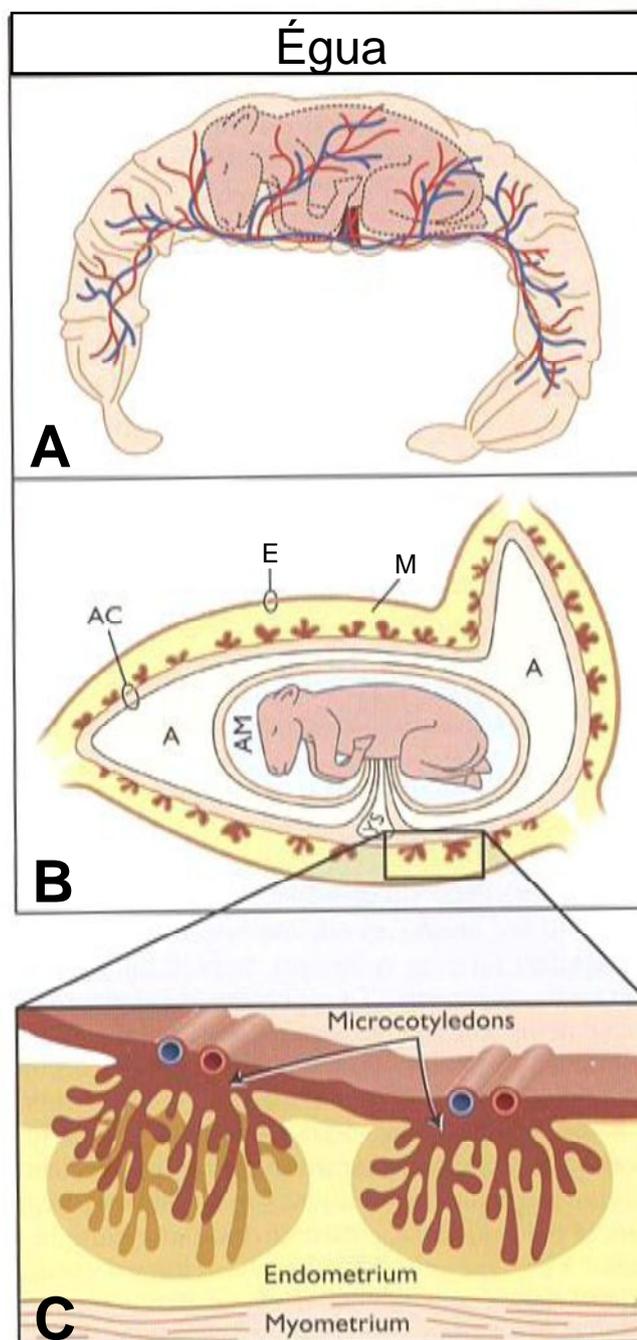


Figura 2. Placenta equina, adaptado de Senger, (2005). A: Placenta difusa equina; B: Estruturas da placenta equina C: Junção útero placentária equina.

A: alantóide, AC: corioalantóide, AM: cavidade amniótica, E: endométrio, M: miométrio, YS: saco vitelino.

4.3.1 Influência da placenta no peso do neonato

A placenta fornece nutrientes e oxigênio para o potro, retira os produtos residuais a partir da circulação feto-placentário e disponibiliza fatores de crescimento, que controlam o crescimento fetal e regulam o ambiente intra-uterino do feto (HARDING; JOHNSTON, 1995). Qualquer fator que afete negativamente a relação íntima da placenta com o endométrio poderá causar problemas na gestação (BURTON; JAUNIAUX, 2018).

A eficiência da placenta geralmente é determinada pelo peso do feto em relação ao peso da placenta (WILSON; FORD, 2001). Esta proporção é afetada por diferentes fatores como: síntese e secreção de hormônios (FOWDEN et al., 2006a), a área de superfície dos anexos materno fetal responsável pelas trocas e a vascularização materna e fetal (BURTON; JAUNIAUX, 2018).

O aumento da massa da placenta está correlacionado ao aumento da massa do potro (ALLEN et al., 2004; ELLIOTT; MORTON; CHOPIN, 2009). Estudos envolvendo a diminuição estimulada da placenta têm sido realizada com esse enfoque: avaliar as consequências desta diminuição com o tamanho do potro ao nascer (ANDERSON et al., 2005; GIUSSANI et al., 2003). Segundo Wilsher; Allen (2012) o fornecimento de nutrientes e oxigênio para o feto dependem do tamanho do útero, que é determinado pelo tamanho da mãe.

Investigações de Allen et al., (2002) identificaram que o peso ao nascer do potro foi positivamente correlacionado com: i) volume e área bruta da placenta e, ii) volume do corioalantóide e o peso materno com a massa e área bruta do corioalantóide. Esses autores indicaram que, os genótipos materno e fetal interagem para controlar a taxa e a extensão do crescimento fetal, influenciando a área bruta do alantocório difuso, a densidade, complexidade e profundidade das microcotiledôneas em sua superfície.

Alguns autores abordaram a relação placenta e o tamanho ao nascimento do potro em equinos. Já em 1938, Walton and Hammond (1938), mostraram que o tamanho da égua afeta o desenvolvimento intrauterino de seu potro e a taxa de crescimento pós-natal. Dois anos depois, Hammond (1940) usou a inseminação artificial para cruzar grandes cavalos Shire com pequenos pôneis Shetland. Os potros puros Shetland nasceram com metade do tamanho de seu meio irmão

recíproco nascido de uma mãe Shire e essa diferença de tamanho persistiu até a idade adulta.

Em suas análises, Tischner (1985) produziu três pares de irmãos de cada sexo de pônei Konik, transferiu metade dos embriões para éguas de grande porte e o restante permaneceu dentro de sua mãe genética Konik. Os potros pôneis gestados nas éguas de grande porte foram todos mais altos e pesados ao nascer do que seus irmãos gestados dentro das éguas Konik e eles continuaram a crescer mais rápido após o nascimento, concluindo que o tamanho da receptora pode afetar o tamanho final do potro.

Por sua vez, Allen et al., (2002) compararam o tamanho da placenta e o tamanho do potro, ao nascimento, em quatro grupos diferentes, dentro da raça Puro-Sangue (n= 7) e pônei (n= 7), e cruzamentos de Puro-Sangue em éguas pônei (n= 8) e pônei em éguas Puro-Sangue (n= 7); e o peso ao nascer do potro foi positivamente correlacionado com o volume da placenta.

4.4 ESTATURA E CRESCIMENTO EQUINO

O tamanho corporal é um importante parâmetro para estudar as influências genéticas sobre as características quantitativas e tem sido intensamente estudado em humanos e também em animais domésticos (METZGER et al., 2013; SIGNER-HASLER et al., 2012). Em equinos, o tamanho do corpo é um critério importante e crucial para a classificação e avaliação de diferentes raças e a altura apresenta grande influência na aparência e função.

Estatura em todos os organismos é a interação aditiva de dezenas se não centenas de genes dentro de um indivíduo que determina a sua altura adulta final. Este caráter poligênico é principalmente devido à genética (80 - 90%) e é apenas ligeiramente afetada por outros fatores ambientais. Esta altura adulta tem mostrado ser bastante variável dentro de certas populações isoladas de espécies animais, incluindo os seres humanos (EBERTH, 2013).

Em humanos já foram identificados mais de 200 locos de pequeno efeito relacionados à estatura (ALLEN et al., 2010; OKADA et al., 2010). Estudos de associação genômica ampla em bovinos, cavalos e cães, utilizando a informação

genética foram eficientes a partir de estudos de associação genômica ampla de estatura em humanos sugerindo fortemente que as regiões polimórficas que afetam a estatura humana também afetam estatura nestas espécies domesticadas (EBERTH, 2013). Entretanto nos equinos poucos genes controlam esta característica.

A esse respeito, Makvandi-Nejad et al. (2012) realizaram um estudo de associação genômica ampla e identificaram 4 genes que explicam 83% da variação da estatura dos equinos. Foram identificadas mutações em genes que haviam sido identificados por controlar a altura em humanos (*LCORL*, *ZFAT* e *LASP1*) e em cães (*HMG2*).

Nessa direção, Costa et al. (2001) observaram na raça Pônei Brasileiro, altura na cernelha de 95,8 cm. Neste período os animais eram registrados em livro aberto, pois, os progenitores eram pouco selecionados e não eram registrados. Já em 2017, Bartholazzi Junior et al. (2017) observaram média de altura na cernelha de 84,5 cm. A raça Pônei Brasileiro é caracteriza pela baixa estatura mesmo quando comparada com outras raças pônei. Sobre a questão, Martinson et al. (2014) observaram altura na cernelhas de 119 cm para raça Shetland e 127 cm para a raça Pônei Welsh. Ainda em suas análises, Brown et al. (2013) observaram altura na cernelha de 108,04 para pôneis Skyrian, 112 cm para cavalos Cáspios e 122,39 para o pônei Exmoor.

Conhecer o padrão de desenvolvimento da raça permite a estimativa de parâmetros que possibilitam selecionar, com acurácia elevada, os animais ainda em idade precoce, a fim de otimizar o manejo de criatórios (RIBEIRO et al., 2018).

O processo de avaliação do crescimento animal é realizado durante um período específico ou durante toda a vida do animal e os dados são estudados ajustando funções não lineares e estimando as curvas de crescimento. Os principais objetivos da construção de curvas são descrever, prever o crescimento, a maturidade do animal e fazer inferências com base nos parâmetros dessas curvas, facilitando a compreensão do fenômeno do crescimento (LÔBO et al., 2006).

Entre essas funções não-lineares, as mais utilizadas na modelagem da curva de crescimento dos animais são a de Brody (BRODY, 1945), a de Von Bertalanffy (VON BERTALANFFY, 1957), a de Gompertz (LAIRD, 1965), a Logística (NELDER, 1961) e a de Richards (RICHARDS, 1959).

Na estimação destas funções são obtidos parâmetros relacionados à fisiologia do crescimento. O parâmetro A , é o valor assintótico, e está relacionado à estatura ou peso na maturidade. A altura assintótica A não é necessariamente a altura adulta dos animais, mas sim a altura média a ser atingida na fase adulta (BROWN; FITZHUGH JUNIOR; CARTWRIGHT, 1976). O parâmetro b é a constante de interação, estabelecida pelos valores iniciais de peso ou altura; t , relacionado à altura inicial da cernelha, sem interpretação biológica bem definida; e k é a taxa de crescimento, que indica a velocidade a atingir o peso ou altura a maturidade.

Diversos trabalhos identificaram maior altura à maturidade em machos (FRADINHO et al., 2016; GHAVI HOSSEIN-ZADEH; GHORBANI, 2018; RIBEIRO et al., 2018), nestes casos as funções de crescimento devem ser estimadas para cada sexo separadamente.

A esse respeito, Valette et al. (2008) observaram valores para o R^2 para as curvas de crescimento, com valores de 0,827 a 0,990 para o Puro Sangue Inglês, 0,827 a 0,990 para cavalos de Sela Francês e 0,830 a 0,990 para Trotador Francês. Neste estudo o modelo logarítmico e de potência foram os que melhor se ajustaram para estas raças. Para o modelo logarítmico os parâmetros observados foram A de 116,2 (Puro Sangue Inglês), 115,3 (cavalos de Sela Francês) e 114,3 (Trotador Francês); k de 10,6 (Puro Sangue Inglês), 12,56 (cavalos de Sela Francês) e 11,66 (Trotador Francês).

Ghavi Hossein-Zadeh and Ghorbani (2018) avaliando a raça Cáspio observou altura assintótica (A) de 99,94 cm na função logística a 102,03 cm na função de Brody, a taxa de crescimento (k) foi de 0,064, função de Brody. Neste estudo a função de Brody foi a que melhor se ajustou ao crescimento do Caspian

Ainda nesse sentido, Fradinho et al. (2016) observaram em cavalos Lusitanos valor de A de 153,3 cm e k de 0,0035, para a função de Brody; e para a função de Richards apresentou valores de A de 158,6 cm, k de 0,0018. Estes autores indicaram a função de Richards como o melhor modelo para descrever o crescimento em cavalos Lusitanos e observaram R^2 variando de 0,942 a 0,954 para os modelos de Brody e Richards, respectivamente.

Nesse ínterim, Ribeiro et al. (2018) indicaram a função logística para descrever o crescimento em altura na cernelha de animais Mangalarga Marchador, observando valores de R^2 de 0,9535 para fêmeas e 0,9396 para machos. Estes

autores encontraram valores para A de 147,83 cm para fêmeas e 149,27 cm para machos; k de 0,0988 para fêmeas e 0,0823 para machos, na função logística.

Medições de Santos et al. (1999), em cavalos Pantaneiro, identificaram as funções de Richards e Weibull como os melhores modelos de predição para a altura. Onoda et al. (2011) também indicaram a função de Richards para a curva de crescimento em Puro Sangue Inglês. Os autores Kocher and Burton Staniar (2013) utilizaram a função de Richards para estudar o crescimento em cavalos Puro Sangue Inglês, obtendo no parâmetro A valor de 168,9 cm, k valor de 0,0016 e R^2 de 0,922 para a altura na cernelha.

4.5 NANISMO EM EQUINOS

Nanismo é considerado um dos defeitos congênitos mais reconhecidos de animais e seres humanos e pode ser hereditário ou esporádico em causa e de expressão. Existem duas categorias morfológicas gerais dentro desta doença extremamente diversificada. Estas categorias são nanismo desproporcional e proporcional e dentro de cada um destes, existem numerosos fenótipos que têm sido extensivamente descritas em seres humanos, e, em menor grau, em cães, bovinos, ratos, galinhas e outras espécies domésticas (EBERTH, 2013).

As principais alterações observadas nos animais afetados com nanismo desproporcional são: o retardo do crescimento fisário de membros e costelas, o crescimento mais rápido da cabeça e do tronco em relação às demais regiões, anormalidades cranianas (cabeça desproporcionalmente grande, olhos e órbitas grandes e protuberantes, proporção maior da região frontal em relação à nasal, alterações na oclusão dentária, estreitamento de vias aéreas), encurtamento e deformidades dos membros, ocasionando restrição na flexão ou extensão, articulações com aumento de volume, hiperextensão das articulações metacarpo e/ou metatarsofalângicas, baixa estatura desproporcional, deformações progressivas nos cascos e desenvolvimento de artrites, devido à má formação dos membros, alterações na coluna vertebral que podem aparecer tardiamente e tórax mais largo com estreitamento na junção costochondral (BACK et al., 2008; EBERTH, 2013).

O mecanismo que desencadeia este distúrbio de crescimento ainda foi pouco estudado na espécie equina, entretanto acredita-se que o nanismo esteja relacionado com uma herança genética recessiva (BACK et al., 2008).

Alguns trabalhos mais atuais foram desenvolvidos na tentativa de elucidar o nanismo. Estudos realizados por Orr et al. (2010), por meio da associação genômica ampla comparando 10 animais anões e 10 animais normais identificaram um gene no cromossomo 14 como possível causador do nanismo em equinos Friesian, onde os animais anões apresentavam uma mutação em homozigose neste gene.

Nesse contexto, Eberth (2013), por sua vez, realizou um estudo de associação genômica ampla comparando 20 equinos com nanismo e 26 pôneis normais, encontrando associação do gene *ACAN* no cromossomo 1, identificando 4 mutações (no exon 2, 6, 11 e 15) que determinam causas diferentes de acordo com as associações destes, variando desde a morte embrionária ao nascimento de animais com fenótipos normais.

4.6 MARCADORES MOLECULARES

Segundo Bered et al. (1997) os marcadores genéticos podem ser divididos em dois grupos básicos, marcador morfológico e marcador molecular. Marcadores morfológicos têm sido usados para identificação de genótipos a milhares de anos, entretanto, diversas limitações têm sido apontadas na utilização destes marcadores, entre eles, o pequeno número de marcadores, o efeito quantitativo dos genes e a baixa acurácia.

O marcador molecular é todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de segmento específico de DNA, o qual pode corresponder a uma região expressa do genoma ou não, que diferencia dois ou mais indivíduos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

O marcador molecular baseia-se nas mutações de sequências nucleotídicas dentro do genoma do indivíduo, que são os marcadores mais confiáveis disponíveis. Os marcadores moleculares podem ser utilizados para investigar as variações genéticas no DNA, entre diferentes populações, entre indivíduos da mesma população e até mesmo de raças diferentes. A sua vantagem é ser capaz de

encontrar variações genéticas de forma rápida e direta, por isso têm-se desenvolvido rapidamente, e eles estão se tornando cada vez mais informativos (YANG et al., 2013).

Os marcadores moleculares surgiram como uma ferramenta capaz de detectar variações genéticas no DNA. Esses marcadores são numerosos e distribuídos por todo o genoma, possuem herança mendeliana, geralmente expressam caráter co-dominante e muitas vezes são multialélicos (YANG et al., 2013).

Segundo Garcia and Porto-Neto (2006) com a capacidade de cobrir todo o genoma animal os marcadores moleculares têm sido usados como ferramenta útil no melhoramento animal, na seleção, nos testes de paternidade, na identificação e estimativa da distância genética entre animais.

A maioria das características de interesse econômico apresenta o padrão de herança poligênica, sendo determinadas por inúmeros genes de grande e/ou de pequeno efeito individuais e sob forte influência de fatores ambientais (COUTINHO; ROSÁRIO; JORGE, 2010).

Uma das vantagens do uso de marcadores moleculares em programas de seleção é a de apresentar o potencial de complementar a seleção clássica. As principais vantagens na sua utilização estão relacionadas à precocidade de avaliação dos animais para características específicas, uma vez que esta tecnologia emprega amostras de DNA, permitindo análises desde momentos imediatamente após o nascimento (GARCIA; PORTO-NETO, 2006).

De forma geral, os marcadores moleculares podem ser basicamente classificados em duas categorias: marcadores baseados em técnicas de hibridização e marcadores baseados em técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (POLIDO et al., 2012).

Os marcadores moleculares obtidos por hibridização são a RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism* ou polimorfismo no comprimento dos fragmentos de restrição) e locos VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats* ou variação de número de sequência repetidas em *tandem* - Minissatélites). Uma série de marcadores moleculares foi desenvolvida a partir da técnica de PCR, dentre eles os STR (*Short Tandem Repeats* ou microssatélites ou SSR – *Simple Sequence Repeats*), SNP (*Single Nucleotide Polymorphism* ou polimorfismo de base única),

RAPD (*Random Amplified Polymorphism* ou polimorfismo de DNA arbitrariamente amplificado), entre outros (COUTINHO et al., 2006).

4.6.1 Marcadores moleculares microssatélites

Os genomas eucariotos são densamente povoados por sequências simples repetidas, as quais consistem de um a seis nucleotídeos repetidos em *tandem*. Essas regiões são denominadas microssatélites, SSR ou STR (BORÉM; CAIXETA, 2009).

O polimorfismo desses marcadores baseia-se na variação do número das sequências repetidas, que ocorrem por *crossing-over* desigual ou por erro durante a replicação pela DNA polimerase (BORÉM; CAIXETA, 2009). Uma das principais características dos marcadores microssatélites, fato comumente observado nos estudos de diversidade genética são os alelos múltiplos encontrados nesse tipo de marcador (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011).

Os marcadores microssatélites apresentam uma série de vantagens sobre os demais marcadores moleculares: possuem inúmeros locos microssatélites, cobrem extensivamente o genoma, possuem natureza multialélica, necessitam de pequenas quantidades de DNA para análise, de fácil amplificação pela PCR, têm herança do tipo mendeliana e são expressos como alelos codominantes (COUTINHO et al., 2006).

Outra vantagem dos microssatélites é o elevado polimorfismo comparado com outros marcadores, as variações no número de repetições em *tandem* acumulam-se mais rapidamente na população do que as mutações de ponto e inserções/deleções responsável pelo polimorfismo encontrado em outros marcadores moleculares (BORÉM; CAIXETA, 2009).

Esforços significativos foram empregados para identificar microssatélites em equinos (JOHANSSON et al., 1992; EWEN & MATTHEWS, 1994; MARKLUND et al., 1994; BREEN et al., 1997; VAN HAERINGEN et al., 1998; HOPMAN et al., 1999; MURPHIE et al. 1999; RUTH et al., 1999), mostrando a importância destes marcadores e permitindo a identificação de locos mais informativos.

Têm sido aplicados em diversos estudos na área animal como nas estimativas de distâncias genéticas, testes de paternidade, comparações de

composição genética de populações e análise da diversidade genética. Permitem avaliar a redução da diversidade genética devido ao emprego de um pequeno número de progenitores através da comparação dos níveis de variabilidade entre intervalos de gerações. Auxiliam também na identificação dos indivíduos mais distantes geneticamente, de forma a maximizar a recuperação da variabilidade genética via cruzamento (MELO et al., 2008).

4.7 DIVERSIDADE GENÉTICA

A diversidade genética é a diferença entre indivíduos, populações e espécies, representada por diferenças em sequências de DNA e pode ser descrita através do número de polimorfismos, heterozigosidade e diversidade alélica ou haplotípica (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2010). Segundo Drummond et al. (2009), a diversidade genética refere-se a toda variação biológica hereditária acumulada durante o processo evolutivo, gerada, fundamentalmente, por mutação na sequência nucleotídica durante a replicação do DNA.

A biodiversidade é produto da evolução biológica cuja variedade de formas é resultado do acúmulo de variações hereditárias, inicialmente polimórficas dentro de espécies que, posteriormente, se fixam em unidades taxonômicas, como as raças. Deste modo, as formas de vida do planeta são caracterizadas por diferenciações genéticas que podem ser utilizadas com grande potencial em estudos para diversos fins e em diferentes áreas (DRUMMOND et al., 2009).

A capacidade de sobrevivência de uma espécie depende de sua capacidade de adaptação ao meio e em deixar descendentes, fatores fortemente afetados pela diversidade genética da população.

Quando esta variação ocorre entre indivíduos da mesma espécie, chamamos de polimorfismos ou diversidade intraespecífica. A variação entre espécies, sendo fixada dentro de cada táxon, é uma substituição de caráter, que pode ser nucleotídica (DNA) ou aminoacídica (proteína). As variações genéticas intraespecíficas são investigadas quando buscamos compreender as relações entre indivíduos e populações de cada espécie, como nas avaliações de parentesco entre

indivíduos, se existe ou não fluxo gênico entre populações ou qual o status de conservação de uma espécie em particular (DRUMMOND et al., 2009).

4.7.1 Indicadores populacionais de diversidade genética

Dentro dos estudos com marcadores moleculares, os locos devem ser analisados sobre o seu poder discriminatório com base no conteúdo de informação polimórfica (PIC). O PIC estima o poder discriminatório, considerando o número de alelos por loco e a frequência relativa desses alelos (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011). Este parâmetro é totalmente dependente da frequência dos alelos presentes nos locos, onde, locos com frequência elevada do alelo dominante, mesmo apresentando diferentes alelos, trazem pouca informação para a discriminação dos indivíduos.

Nas análises descritivas dos marcadores microssatélites são apresentadas as informações dos alelos observados por locos, desde dados básicos como o número total de alelos por loco (N_a) e o número médio de alelos por loco (N_m). Dentro desta categoria as informações alélicas são mais exploradas e, obtém-se o número efetivo de alelos (N_e), que é dado pela razão do N_a e o número total de alelos polimórficos (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011).

Dentro das análises populacionais, as medidas de heterozigosidade são as mais utilizadas para aferir a diversidade genética. São avaliadas a heterozigosidade observada (H_o), que é o número de indivíduos heterozigotos para um determinado loco em relação ao número total de indivíduos amostrados. Já a heterozigosidade esperada (H_e), indica a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto para cada loco de acordo com suas frequências alélicas (NEI, 1978).

Outro fator avaliado com a diversidade genética é a estimativa do tamanho populacional efetivo em populações, que pode ser calculado a partir da avaliação de parâmetros naturais entre o tamanho de censo e o tamanho efetivo, que depende principalmente do sistema de acasalamento e do sucesso reprodutivo dos indivíduos (CHAVES, 2011).

O tamanho efetivo populacional (N_eP) representa o número de indivíduos que contribuem efetivamente para a variância de amostragem e corresponde ao número de reprodutores na população ideal que proporcionaria a mesma taxa de endogamia

em uma população de estudo (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011). O N_e é considerado como o tamanho de uma população ideal, onde, um determinado parâmetro genético tem o mesmo valor que o da população analisada. Pode ser calculado de diferentes formas, de acordo com o parâmetro escolhido: frequências alélicas, heterozigosidade, desequilíbrio de ligação, coeficiente de endogamia e a diversidade alélica (CHAVES, 2011).

Nas avaliações de diversidade genética entre populações o parâmetro mais antigo e amplamente utilizado é o índice de fixação (F) ou coeficiente de endogamia, desenvolvida por Sewall Wright (WRIGHT, 1969), que mede o déficit de heterozigotos da população real em relação às proporções esperadas sob equilíbrio de Hardy-Weinberg (ALLENDORF; LUIKART, 2007), ou a probabilidade de um indivíduo da população ser homozigoto por autozigose de um gene qualquer presente em seus ancestrais (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011).

Uma série de coeficientes de endogamia são utilizados para descrever a distribuição da variação genética de um conjunto de populações: F_{IS} , F_{ST} e F_{IT} . F_{IS} é a medida do desvio das proporções de Hardy-Weinberg dentro das populações. Nesse caso, $F_{IS} = 1 - (H_0 / H_e)$, na qual H_e é a heterozigosidade média esperada entre todas as populações e H_0 é a heterozigosidade média observada entre todas as populações. F_{ST} é a medida da divergência na frequência alélica entre populações: $F_{ST} = 1 - (H_e / H_t)$, na qual H_t é a proporção de heterozigotos utilizando as frequências alélicas médias entre todas as populações. O F_{ST} aumenta a cada geração que duas populações permanecem isoladas. F_{IT} é a medida do desvio geral das proporções de Hardy-Weinberg na população inteira: $F_{IT} = 1 - (H_0 / H_t)$ ou $F_{IT} = F_{IS} + F_{ST} - (F_{IS})(F_{ST})$ (ALLENDORF; LUIKART, 2007).

Para a distribuição da diversidade genética entre os indivíduos e/ou populações com informações de microssatélites, geralmente, é utilizada a análise das distâncias genéticas de Nei (NEI, 1972). A distância Nei foi formulada a partir dos seguintes pressupostos: taxa de mutação constante e igual para todos os locos; populações com tamanhos efetivos iguais e constantes ao longo das gerações; as populações estão em equilíbrio mutação-deriva (NEI, 1972, 1978).

4.8 DIVERSIDADE GENÉTICA E ENDOGAMIA EM EQUINOS

Muitos trabalhos já foram publicados por diversos pesquisadores sobre a diversidade genética e endogamia em equinos de diferentes raças e populações (COSTA et al., 2005, 2009; GIACOMONI; FERNÁNDEZ-STOLZ; FREITAS, 2008; GUASTELLA et al., 2011; GUPTA et al., 2005; LEROY et al., 2009; LUÍS et al., 2007; PIRES et al., 2012; PLANTE et al., 2007a; RENDO et al., 2012; ROYO et al., 2007; SERENO et al., 2008; SILVA FILHO; SCHNEIDER; SILVA, 2007), permitindo um maior conhecimento sobre as expansões populacionais, translocações de indivíduos, formação das raças e levantamento da variabilidade genética destas populações.

A endogamia ou consanguinidade é um sistema de acasalamento que consiste na união de indivíduos com certo grau de parentesco. Indivíduo consanguíneo é aquele resultante do cruzamento de progenitores que são parentes. O termo consanguinidade é um conceito usado ao se referir a uma população ou a um grupo de animais (PEREIRA, 2008).

O coeficiente de endogamia é referente à probabilidade de que os alelos de um loco de um indivíduo sejam idênticos por ascendência, esses alelos são idênticos quando derivam ou são cópias de alelo comum encontrado nos ancestrais daquele indivíduo (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011).

Diferente de outras espécies domésticas, nas fazendas o rebanho equino não é muito numeroso e a seleção não tem objetivos econômicos tão bem definidos. Além disso, as características avaliadas como andamento, premiações em corridas e funcionalidade associada à morfologia não são de mensuração subjetiva (COSTA et al., 2005), culminando na seleção e utilização de poucos reprodutores e matrizes para a reprodução. A utilização das biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial e a transferência de embriões, aumenta a utilização de poucos animais para a formação de novos indivíduos e eleva o grau de consanguinidade dos plantéis equinos.

Segundo Pereira (2008), o fato de os pais de um indivíduo serem geneticamente semelhantes aumenta a probabilidade de que ele receba de seus pais alelos idênticos, que representam cópias de um mesmo gene presente em um ancestral comum, levando a consanguinidade nestes descendentes.

A endogamia tem como principal efeito o aumento da homozigose na população, o que ocasiona a produção de organismos geneticamente mais semelhantes. No entanto, níveis elevados de endogamia podem aumentar a frequência de genótipos homozigotos advindos de genes deletérios indesejáveis em homozigose afetando a adaptabilidade e, como consequência a reprodução e produção animal, ou seja, depressão endogâmica (GONÇALVES et al., 2011).

O aumento da homozigose pela consanguinidade ocorre tanto para alelos dominantes como recessivos. Desta forma ela não altera a frequência gênica. A única força capaz de alterar a frequência gênica é a seleção (PEREIRA, 2008), portanto a consanguinidade não seria um problema em uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Entretanto, com a seleção animal eliminam-se os indivíduos homozigotos recessivos ou dominantes para uma determinada característica alterando a frequência gênica de alguns alelos, tornando esta populações geneticamente similar nas próximas gerações.

Em seus estudos, Rendo et al. (2012) avaliaram equinos pôneis da raça Pottoka provenientes da província de Gipuzkoa na Espanha, encontraram média de 6,88 alelos em 17 locos microssatélites estudados e heterozigosidade observada alta, com média de 0.708 entre os locos microssatélites. O Fis apresentou-se na maior parte dos locos estudados entre -0.040 e 0.061 indicando baixa consangüinidade. Em três locos (ABS23, HMS3 e HTG10) apresentaram Fis significativos de 0.246, 0.167 e 0.184 respectivamente onde inicialmente poderia indicar consanguinidade, entretanto a análise destes três microssatélites com o programa de micro-checker revelou alelos nulos para todos eles.

Por sua vez, Royo et al. (2007), inferindo a variabilidade genética em pôneis da raça Asturcón pertencentes a um programa de conservação animal na Espanha, obtiveram média no número de alelos observados por locos de 9,5 alelos em 15 locos microssatélites estudados. O Fis apresentado com os estudos dos locos obteve média de 0,007, indicando pouca endogamia do rebanho e mostrando que o uso de informações de pedigree e moleculares para direcionamento dos acasalamentos manteve constante as frequências alélicas após o conhecimento destas informações.

Nessa direção, Silva Filho et al. (2007), utilizando 3 locos microssatélites, estimaram a diversidade genética e as relações gênicas entre as seis raças de

equinos criadas no Brasil (Marajoara, Puruca, Puro Sangue Inglês, Mangalarga Marchador, Brasileiro de Hipismo e Quarto de Milha), no qual, detectaram alto polimorfismo nas seis raças de cavalos estudados, nos quais os números médios de alelos estenderam-se de 8 a 11,33 alelos por raça e as distâncias genéticas demonstraram grandes divergências das raças Marajoara e Puruca, em relação às demais raças, as quais não se apresentam como raças formadoras em comum. Entretanto os valores de Fis foram altamente significantes ($P < 0,01$) variando entre 0,309 e 0,236 indicando consanguinidade entre os animais.

Em suas investigações, Gupta et al. (2005a) avaliaram a diversidade genética em 48 cavalos da raça Marwari na Índia, utilizando 26 locos microssatélites, encontrando em média 5,9 alelos por locos, indicando a existência de diversidade genética substancial na população de cavalos Marwari e os baixos valores de índice de fixação, ($Fis = 0,2433 \pm 0,05$) indicaram pequeno nível de endogamia.

Nesses meandros, Luís et al. (2007) realizaram um estudo com três raças de cavalos portugueses nativas (Lusitano, Sorraia e Garrano), e 30 outras raças para inferir relações entre as raças e comparar níveis de polimorfismo destas raças para uso em programas de conservação. A heterozigosidade observada variou de 0,454 a 0,768. Avaliando 12 locos microssatélites, o Garrano e o Lusitano mostraram um elevado nível de diversidade genética com número médio de alelos por locos de 7,17 e 6,33 respectivamente, semelhante à observada para a maior parte das outras raças analisadas, enquanto o Sorraia com média de 3,83 alelos por locos e raças Friesian mostrou baixos níveis de variação.

Ainda por essa ótica, Plante et al. (2007a) caracterizaram a diversidade genética em cavalos Sable Island habitando uma ilha ao largo da costa leste do Canadá, em comparação com outras 15 raças de cavalos comumente encontrados no país e cinco raças espanholas, através de 12 locos microssatélites. O número médio de alelos por locos variou de 4,67 na população cavalo Sable Island para 8,25 em cavalos Appaloosa, mostrando baixa diversidade genética e Fis de 0,043 indicando pouca endogamia na raça Sable Island.

A respeito da temática, Costa et al. (2009) avaliaram a distâncias genéticas em equinos de diferentes raças (Marajoara, Puruca, Mangalarga, Puro Sangue Inglês, Árabe, Pantaneiro coletados no Brasil e Lusitano, Árabe, Asturcon, Pura Raça Espanhola, Puro Sangue Inglês, Losino, Mallorquina, Menorquina e Potoka

coletados na Espanha). Foram utilizados 22 locos microssatélites e detectados 236 alelos, com média igual a 7,5 alelos por locos, variando entre 6 e 16 alelos. O Fis oscilou entre valores de -0,0090 e 0,0424 indicando baixa endogamia.

Nesse contexto, Sereno et al. (2008) inferiram a diversidade genética do cavalo Pantaneiro no Brasil e suas relações com outras raças de equinos (Puro Sangue Inglês, Árabe, Puro Sangue Espanhol e Crioulo Uruguaio), através da avaliação de 12 locos microssatélites. O número de alelos variou entre 6 e 13 por locos, com média de 8,9 alelos, apresentando então alta diversidade genética em todas as raças presentes no estudo. Os valores de Fis apresentaram-se entre -0.0158 e 0.1356 indicando pouca endogamia.

As análises de Costa et al. (2005) avaliaram a endogamia do Cavalo Mangalarga Marchador a partir de informações de genealogia de 286.047 animais registrados na Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Mangalarga Marchador. A média do coeficiente de endogamia para toda a população foi de 1,3% e diferente de zero para 22,6% dos animais. Considerando apenas os animais endogâmicos, o coeficiente médio de endogamia foi de 5,7%, mínimo de 0,001 e máximo de 46,9%. O coeficiente médio de endogamia para toda a população Mangalarga Marchador se encontra dentro de níveis aceitáveis, entretanto existe tendência de contínuo aumento com o passar das gerações.

No que diz respeito á questão, Leroy et al. (2009) avaliaram 34 raças de cavalos através de 11 marcadores microssatélites. Dentre estas raças foram avaliadas seis raças pôneis: Connemara Pony, New Forrest Pony, Poney Français de Selle, Shetland Pony, Welsh Pony e Iceland Pony. Todas as raças pôneis avaliadas apresentaram alta diversidade genética. A heterozigosidade observada foi elevada em todas as raças com maior valor na raça Poney Français de Selle (0,79) e apresentou endogamia nula (0,00), a raça Shetland Pony apresentou a menor heterozigosidade (0,65) e o maior nível endogamia (0,06).

Sobre o assunto, Bigi and Perrotta (2012) estudaram as raças Anglo-Árabe, Árabe, Bardigiano, Catria, Haflinger, Italian Heavy Draught, Trotador Italiano, Lipizzan, Maremmano, Murgese e Puro Sangue Inglês por meio de 11 marcadores microssatélites. A heterozigosidade variou de 0,66 a 0,75 (na raça Arab e na raça Haflinger, respectivamente). O nível de endogamia variou de -0,04 (Haflinger) a 0,07 (Catria).

Finalmente, Khanshour et al. (2013) avaliaram cavalos da raça Akhal Teke, Turkoman, Cáspio, Przewalski e diferentes linhagens da raça Árabe, utilizando 15 locos de microssatélites. Apenas uma linhagem da raça Árabe (Árabe Ocidental - Davenport) apresentou baixa diversidade genética ($H_o = 0,40$) e foi endogâmica ($F_{is} = 0,132$). As demais raças e linhagens da raça Árabe avaliadas apresentaram heterozigosidade observada entre 0,53 a 0,75 e endogamia de -0,114 a 0,047.

5. REFERÊNCIAS

ABCCPONEI. **Brazilian Association of Pony Breeders. Racial pattern.** Disponível em: <<http://www.abccponei.org.br>>.

ALLEN, H. L. et al. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. **Nature**, v. 467, n. 7317, p. 832–838, 2010.

ALLEN, W. R. et al. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. **Reproduction**, v. 123, n. 3, p. 445–453, 1 mar. 2002.

ALLEN, W. R. et al. The influence of maternal size on pre- and postnatal growth in the horse: III postnatal growth. **Reproduction**, v. 127, p. 67–77, 2004.

ALLENDORF, F. W.; LUIKART, G. H. **Conservation and the genetics of populations.** Malden: Blackwell Publishing, 2007. v. 136

ALMEIDA, J. M. **Embriologia veterinária comparada.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

ANDERSON, C. M. et al. Reduced Uteroplacental Perfusion Alters Uterine Arcuate Artery Function in the Pregnant Sprague-Dawley Rat 1. **Biology of Reproduction**, v. 72, p. 762–766, 2005.

BACK, W. et al. Phenotypic diagnosis of dwarfism in six Friesian horses. **Equine veterinary journal**, v. 40, n. 3, p. 282–287, 2008.

BARTHOLAZZI JUNIOR, A. et al. Linear measurements of horses of the Pônei Brasileiro breed. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 2, p. 1–12, 2017.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v. 27, n. 3, p. 513–520, 1997.

BERGMANN, J. A. G. et al. Formação e estrutura genética da raça pônei Brasileira. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 49, n. 2, p. 251–259, 1997a.

BIGI, D.; PERROTTA, G. Genetic structure and differentiation of the Italian catria horse. **Journal of Heredity**, v. 103, n. 1, p. 134–139, 2012.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. **Marcadores Moleculares | Editora UFV.** 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009.

BREEN, M.; LINDGREN, G.; BINNS, M.M.; NORMAN, J.; IRVIN, Z.; BELL, K.; SANDBERG, K.; ELLEGREN, H. Genetical and physical assignments of equine

microsatellites - first integration of anchored markers in horse genome mapping. **Mammalian Genome**, 8,267-273 (1997).

BROWN, J. E.; FITZHUGH JUNIOR, H. A.; CARTWRIGHT, T. C. A. A comparison of nonlinear models for describing weight-age relationships in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 42, n. 4, p. 810–818, 1976.

BROWN, S. A.; MOORE-COLYER, M. J. S.; HANNANT, D. Phenotypic analyses support investigations of phylogeny in the Skyrian pony and other breeds. **Bioscience Horizons**, v. 6, p. 1–8, 2013.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 218, n. 2, p. S745–S761, fev. 2018.

CHAVES, B. R. N. **Diversidade genética e dinâmica populacional de quatis (Nasua nasua) em Minas Gerais**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

COSTA, M. D. et al. Tendência genética de medidas lineares de pôneis da raça Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 2, p. 1–11, 2001.

COSTA, M. D. et al. Análise temporal da endogamia e do tamanho efetivo da população de eqüinos da raça Mangalarga Marchador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p. 112–119, 2005.

COSTA, M. R. et al. Distâncias genéticas em equinos (*Equus caballus*) por meio de marcadores microssatélites. **REVISTA BIOCÊNCIAS, UNITAU**, v. 15, n. 1, p. 18–25, 2009.

COUTINHO, H. D. M.; NETO, V. M.; VERDE, L. C. L. Técnicas com Marcadores Moleculares Usadas nas Ciências da Saúde. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 10, n. 2, p. 177–188, 2006.

COUTINHO, L. L.; ROSÁRIO, M. F. DO; JORGE, E. C. Biotecnologia animal. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 123–147, 2010.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. 1. ed. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2011.

DAVIES MOREL, M. C. G. **Equine reproductive physiology, breeding and stud management**. New York: CABI Publishing, 2002.

DITTRICH, J. R. **EQUINOS**. Disponível em: <<http://www.gege.agrarias.ufpr.br/livro/index.html>>. Acesso em: 3 dez. 2018.

DON, S. A. **Tratado de Histologia Veterinária**. 1º ed. São Paulo: Elsevier Editora Ltda, 2007.

DRUMMOND, G. M. et al. **Biota Minas: Diagnóstico do conhecimento sobre a biodiversidade no estado de Minas Gerais - subsídio ao programa Biota Minas**.

Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2009. v. 39

EBERTH, J. E. **Chondrodysplasia-Like Dwarfism in the Miniature Horse**. [s.l.] University of Kentucky, 2013.

ELLIOTT, C.; MORTON, J.; CHOPIN, J. Factors affecting foal birth weight in Thoroughbred horses. **Theriogenology**, v. 71, p. 683–689, 2009.

EWEN, K.R.; MATTHEWS, M.E. VIAS-H39, an equine tetranucleotide microsatellite repeat polymorphism. **Animal Genetics**, 25 (6), p.433. 1994.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>>. Acesso em: 4 dez. 2018.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introducao ao uso de marcadores moleculares em analise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA CENARGEN. Documentos, 20, 1998.

FOWDEN, A. L. et al. **Programming placental nutrient transport capacity**. Journal of Physiology. **Anais...**abr. 2006a

FRADINHO, M. J. et al. Growth and development of the Lusitano horse managed on grazing systems. **Livestock Science**, v. 186, p. 22–28, 1 abr. 2016.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to Conservation Genetics**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.

GARCIA, J. F.; PORTO-NETO, L. R. Uso de marcadores moleculares em programas de transferência de embriões. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. Supl1, p. 197–203, 2006.

GATTI, J. L. et al. Post-testicular sperm environment and fertility. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 321–339, 1 jul. 2004.

GHAVI HOSSEIN-ZADEH, N.; GHORBANI, A. Modeling the growth curves for body weight and some biometric traits in Caspian horses (*Equus ferus caballus*) using non-linear mixed models. **Mammalian Biology**, v. 93, p. 5–12, 1 nov. 2018.

GIACOMONI, E.; FERNÁNDEZ-STOLZ, G.; FREITAS, T. **Genetic diversity in the Pantaneiro horse breed assessed using microsatellite DNA markers****Genetics and Molecular Research**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.fao.org/dad-is>. Acesso em: 28 nov. 2018.

GINTHER, O. **Reproductive biology of the mare : basic and applied aspects**. 2nd ed. ed. Cross Plains Wisconsin: Equiservices, 1992.

GIUSSANI, D. A. et al. Postnatal cardiovascular function after manipulation of fetal growth by embryo transfer in the horse. p. 67–76, 2003.

GONÇALVES, R. W. et al. Efeito da endogamia sobre características reprodutivas em um rebanho da raça Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 3, p. 641–649, 2011.

GUASTELLA, A. M. et al. Genetic analysis of Sicilian autochthonous horse breeds using nuclear and mitochondrial DNA markers. **Journal of Heredity**, v. 102, n. 6, p. 753–758, 2011.

GUPTA, A. K. et al. Genetic diversity and bottleneck studies in the Marwari horse breed. **Journal of Genetics**, v. 84, n. 3, p. 295–301, 2005.

HAMMOND, J. **Farm Animals. Their Breeding, Growth, and Inheritance**. London: Edward Arnold & CO, 1940.

HARDING, J. E.; JOHNSTON, B. M. Nutrition and fetal growth. **Reproduction Fertility and Development**, v. 7, n. 3, p. 539–547, 1995.

HOPMAN, T.J.; HAN, E.B.; et al. Equine dinucleotide repeat loci COR001-COR020. **Animal Genetics**, v.30, n.3, p.225-226, 1999.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/cnt/brasil>>. Acesso em: 3 dez. 2018.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2017**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/cnt/brasil>>. Acesso em: 3 dez. 2018.

JOHANSSON, M.; ELLEGREN, H.; ANDERSSON, L. Cloning and characterization of highly polymorphic porcine microsatellites. **Journal of Heredity**, v.83, n.3, p.196-198, 1992.

KHANSHOUR, A. et al. Microsatellite Analysis of Genetic Diversity and Population Structure of Arabian Horse Populations. **Journal of Heredity**, v. 104, n. 3, p. 386–398, 1 maio 2013.

KOCHER, A.; BURTON STANIAR, W. The pattern of thoroughbred growth is affected by a foal's birthdate. **Livestock Science**, v. 154, n. 1–3, p. 204–214, 1 jun. 2013.

LAIRD, A. K. Dynamics of relative growth. **Growth**, v. 29, p. 249–263, 1965.

LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental structure: In a comparative aspect. **Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes**, v. 102, n. 3, p. 122–134, 1994.

LEROY, G. et al. Genetic diversity of a large set of horse breeds raised in France assessed by microsatellite polymorphism. **Genetics Selection Evolution**, v. 41, n. 1, p. 5, 5 jan. 2009.

LIMA, R. A. DE S.; CINTRA, A. G. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo**. Brasília: MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2016.

LIMA, R. A. DE S.; SHIROTA, R.; BARROS, G. S. DE C. **ESTUDO DO COMPLEXO DO AGRONEGÓCIO CAVALO**. Piracicaba: CEPEA/ESALQ/USP, 2006.

- LÔBO, R. N. B. et al. Parâmetros genéticos de características estimadas da curva de crescimento de ovinos da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3 SUPPL., p. 1012–1019, 2006.
- LUÍS, C. et al. Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. **Animal Genetics**, v. 38, n. 1, p. 20–27, 1 fev. 2007.
- MAKVANDI-NEJAD, S. et al. Four loci explain 83% of size variation in the horse. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, p. 1–6, 2012.
- MARKLUND, S.; ELLEGREN, H.; ERIKSSON, S. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. **Animal Genetics**, v.25, n.1, p.19-23, 1994.
- MARTINSON, K. L. et al. Estimation of body weight and development of a body weight score for adult equids using morphometric measurements. **Journal Animal Science**, v. 92, n. 5, p. 2230–2238, 2014.
- MELO, D. C. DE et al. Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificação de plantéis de tilápia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 4, p. 220–224, 2008.
- METZGER, J. et al. Expression Levels of LCORL Are Associated with Body Size in Horses. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. 1–9, 2013.
- MOLÉN, M. The evolution of the horse. **JOURNAL OF CREATION**, v. 23, n. 2, p. 59–63, 2009.
- MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia básica**. 7. ed. [s.l.] Elsevier, 2008.
- MURPHIE, A.M.; HOPMAN, T.J.; SCHUG, M.D. et al. Equine dinucleotide repeat loci COR021-COR040. **Animal Genetics**, v.30, n.3, p.235-237, 1999.
- NEI, M. Genetic Distance between Populations. **The American Naturalist**, v. 106, n. 949, p. 283–292, 1972.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583–590, 1978.
- NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **Journal of molecular evolution**, v. 19, n. 2, p. 153–70, 1983.
- NELDER, J. A. The fitting of a generalization of the logistic curve. **Biometrics**, v. 17, p. 89–110, 1961.
- OKADA, Y. et al. A genome-wide association study in 19 633 Japanese subjects identified LHX3-QSOX2 and IGF1 as adult height loci. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. 11, p. 2303–2312, 2010.

ONODA, T. et al. Empirical Growth Curve Estimation Using Sigmoid Sub-functions that Adjust Seasonal Compensatory Growth for Male Body Weight of Thoroughbred Horses. **Equine Sci**, v. 22, n. 2, p. 37–42, 2011.

ORR, N. et al. Genome-wide SNP association-based localization of a dwarfism gene in Friesian dwarf horses. **Animal Genetics**, v. 41, n. SUPPL. 2, p. 2–7, 2010.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal**. 5. ed. Belo Horizonte - MG, Brasil: FEPMVZ, 2008.

PIRES, D. DE A. F. et al. **Diversidade genética de remanescentes do cavalo Nordestino em 2 mesorregiões Norte e Centro-Norte do estado do Piauí através de marcadores microssatélites**. IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. **Anais...** João Pessoa: 2012

PLANTE, Y. et al. Genetic diversity in a feral horse population from Sable Island, Canada. **Journal of Heredity**, v. 98, n. 6, p. 594–602, 2007a.

PLANTE, Y. et al. Genetic diversity in a Feral horse population from Sable Island, Canada. **Journal of Heredity**, v. 98, n. 6, p. 594–602, 19 jul. 2007b.

POLIDO, P. B. et al. Marcadores Moleculares Aplicados No Melhoramento GENÉTICO DE BOVINOS. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.**, v. 15, n. 2, p. 161–169, 2012.

RENDO, F. et al. Effects of a 10-year conservation programme on the genetic diversity of the Pottoka pony - new clues regarding their origin. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 129, n. 3, p. 234–243, 2012.

RIBEIRO, R. A. et al. Curva de crescimento em altura na cernelha de equinos da raça Mangalarga Marchador considerando-se heterocedasticidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 1, p. 272–278, jan. 2018.

RICHARDS, F. J. A flexible growth function for empirical use. **Journal of Experimental Botanic**, v. 10, p. 290–300, 1959.

ROYO, L. J. et al. Genetic variability in the endangered Asturcón pony assessed using genealogical and molecular information. **Livestock Science**, v. 107, p. 162–169, 2007.

RUTH, L.S.; HOPMAN, T.J.; SCHUG, M.D. Equine dinucleotide repeat loci COR041-COR060. **Animal Genetics**, v.30, n.4, p.320-321, 1999.

SANTOS, S. A. et al. Using nonlinear models to describe height growth curves in pantaneiro horses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 1133–1138, 1999.

SCHWARZE, E.; SCHRÖDER, L. **Compêndio de anatomia veterinária**. Zaragoza: Acribia, 1970.

SENGER, P. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2. ed. [s.l: s.n.].

SERENO, F. T. P. D. S. et al. Genetic diversity of Brazilian Pantaneiro horse and

relationships among horse breeds. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, n. 5, p. 595–604, 2008.

SIGNER-HASLER, H. et al. A genome-wide association study reveals loci influencing height and other conformation traits in horses. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. 3–8, 2012.

SILVA FILHO, E. DA; SCHNEIDER, M. P. C.; SILVA, A. L. DA C. DA. Variabilidade Genética de Cavalos baseada em DNA Microssatélites. **Revista Trópica**, v. 1, n. 1, p. 76–87, 2007.

SIMPSON, G. G. **Horses**. 1. ed. New York: Oxford University Press, 1951.

SOLOUNIAS, N. et al. The evolution and anatomy of the horse manus with an emphasis on digit reduction. **Royal Society Open Science**, v. 5, n. 1, p. 171782, 24 jan. 2018.

TISCHNER, M. Embryo recovery from Polish pony mares and preliminary observations on foal size after transfer of embryos to large mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 17, n. S3, p. 96–98, 10 jun. 1985.

VALETTE, J. P.; ROBERT, C.; DENOIX, J. M. Use of linear and non-linear functions to describe the growth of young sport- and race-horses born in Normandy. **Animal**, v. 2, n. 4, p. 560–565, 2008.

VANHAERINGEN, H.; VAN DE GOOR, L.H.P.; VAN DER HOUT, N.; LENSTRA, J.A. Characterization of 24 equine microsatellite loci. **Animal Genetics**. 29 (2), p.153-156. 1998.

VON BERTALANFFY, L. Quantitative laws in metabolism and growth. **The Quarterly Review of Biology**, v. 32, p. 217–230, 1957.

WALTON, A.; HAMMOND, J. The maternal effects on growth and conformation in Shire horse-Shetland pony crosses. **Proceedings of the Royal Society**, v. 125, p. 311–335, 1938.

WARMUTH, V. et al. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 21, p. 8202–8206, 2012.

WILSHER, S.; ALLEN, W. R. Factors influencing placental development and function in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, p. 113–119, fev. 2012.

WILSON, M. E.; FORD, S. P. Comparative aspects of placental efficiency. **Reproduction (Cambridge, England) Supplement**, v. 58, p. 223–32, 2001.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations: The theory of gene frequencies**. Chicago: University of Chicago, v. 2. 1969.

YANG, W. et al. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 2, p. 1–6, 2013.

CAPÍTULO 1

Morphometric evaluation of the placenta of foals with dwarfism of the Pônei Brasileiro breed

Abstract:

Chondrodysplasia is a genetic disorder caused by a defect in endochondral ossification that causes large losses to pony breeders. The high occurrence of stunting in Pônei Brasileiro breed impairs reproductive rates and diminishes animal welfare due to high neonatal mortality. The aim of this study was to compare placental morphometry of foals born with dwarf characteristics and clinically normal foals of the Pônei Brasileiro breed. Ultrasonographic monitoring was performed on mares of the Pônei Brasileiro breed and 21 random mares were selected in the final third of gestation. The births of 19 foals were observed, with 11 normal foals and eight foals with morphological characteristics compatible with chondrodysplastic dwarfism, for division into two groups (normal and dwarf). Morphometric measurements were taken directly from the placenta. The photographic images of placentas were taken, and were evaluated by the ImageJ program and were calculation of the allantochorion perimeter and area, amnion perimeter and area. In addition, we also measured the volume of placental structures, the weight of placental structures and foal weight. The frequency analysis of the occurrence of dwarfism and the type of delivery (eutocic or dystocic). The effect of dwarfism on placental measures and foal weight was evaluated according to the phenotype. The averages were higher in normal foals than in foals with dwarfism for allantochorion perimeter, allantochorion area, amnion perimeter, amnion area, total placental weight, allantochorion weight and foal weight. The foals affected by dwarfism presented lower birth weight and smaller placental size, mainly in relation to total area and total weight. With the identification of placental differences in fetal dwarfism, new methods for identifying dwarfism in the uterine phase could be developed.

Keywords: allantochorion, amnion, chondrodysplasia, equine, miniature horse.

INTRODUCTION

Dwarfism is considered one of the most recognizable birth defects in animals. The mechanism that triggers this growth disturbance has not been widely studied in equines, but it is believed that dwarfism is related to a recessive genetic inheritance (BACK et al., 2008).

Dwarfism occurs in two ways, depending on the phenotypic alteration. Proportional dwarfism is characterized by a short stature proportional among limbs, trunk, head, and organs. On the other hand, in disproportionate dwarfism (with chondrodysplasia as its main and most serious condition), despite the short stature, some organs remain normal in size and the animals present several morphological alterations that affect both intrauterine and postnatal survival (EBERTH, 2013).

Among the changes in chondrodysplasia, the most cited are delayed limb growth, faster head and trunk growth relative to other regions, cranial abnormalities (such as disproportionately large head, large protruding eyes and orbits, greater proportion of the frontal region in relation to the nasal region and dental occlusion alterations), airway narrowing, limb shortening and deformities (causing restriction in flexion or extension), joints with increased volume, hyperextension of the metacarpal and/or metatarsophalangeal joints, low disproportionate stature, progressive hoof deformities and arthritis due to limb malformation, alterations in the spine that may appear late, and a wider chest with a narrowing at the costochondral junction (BACK et al., 2008; EBERTH; SWERCZAK; BAILEY, 2009).

It is believed that dwarfism is not often reported by breeders so as not to demean the breed or quality of the animals produced (WATANABE et al., 2014). The Pônei Brasileiro breed has a withers height limit the standard of the breed: it cannot exceed 1.00 m in males and 1.10 m in females (ABCCPONEI, 2018). Costa et al. (2001) evaluated linear pony measurements through records from 1974 to 1994 of the Pônei Brasileiro breed and found an average of 0.95 m in height at withers. Bartholazzi Junior et al. (2017), studying the Pônei Brasileiro breed in Rio de Janeiro state, Brazil, found an average height of 0.85 m for stallions and 0.87 m for mares.

Disproportionate dwarfing cases have been observed with high frequency in the Pônei Brasileiro breed (QUIRINO et al., 2016). Changes in dwarfism in animals

begin from their intrauterine life and are observed in the neonate. The placenta is commonly associated with progeny size at birth, but we have not found studies emphasizing placenta changes in foals with short stature caused by dwarfism.

The placenta provides nutrients and oxygen to the foal, removes residual products from the fetal-placental circulation and provides growth factors, which control fetal growth and regulate the intrauterine environment of the fetus (HARDING; JOHNSTON, 1995). Any factor that negatively affects the intimate relationship of the placenta to the endometrium may cause pregnancy problems (BURTON; JAUNIAUX, 2018).

Due to the lack of information and alterations associated with disproportionate dwarfism in equines, we tested the hypothesis that the dwarfism influence the placental morphometry and weight of the foals when compared to foals born clinically normal in the Pônei Brasileiro breed.

MATERIALS AND METHODS

ANIMALS AND DESCRIPTION OF TRIAL DESIGN

The mean and deviations of placental morphometry and foal weight were not known, the sample size was determined from the moment that there were no changes in the results after consecutive analyzes starting from the moment each group reached a minimum of 5 samples per group.

Ultrasonographic monitoring was performed on mares of the Pônei Brasileiro breed from the state of Rio de Janeiro, Brazil. Of all pregnant mares, 21 random mares were selected in the final third of gestation, healthy and without any alteration or affection in the reproductive tract or in other systems, aged 5 to 23 years, were housed in the obstetrics and reproduction sector of North Fluminense State University, from November 2017 to August 2018, for observation of the births, evaluation of the placenta and weighing of the foals. For the choice of mares, the exclusion criteria were non-pregnancy, the presence of clinical changes and low body score.

Due to the difficulty of predicting the moment of delivery in horses, two mares were born without monitoring and their placental attachments could not be evaluated and were excluded from the analysis. After exclusion, the sample size reduced to 19 pregnant mares.

According to morphological changes, foals were divided into two phenotypes: clinically normal (N) and disproportionate dwarfism (DD) (disproportionately short stature with changes in limbs, trunk and head). In addition to the foal phenotype, the type of delivery (eutocic or dystocic) and the survival of the foal were evaluated. All data were classified in these two groups after the measurements, to perform the statistical analyses. In this way, at no time did the evaluators know the classification of the samples.

This was a study with imbalanced randomisation, blind whit parallel-group. As the foal phenotype was not known at the time of delivery the grouping of the animals was completely random and cannot be balanced.

The sample size was limited by the possibility of allocation and daily monitoring for a long period in the institution where the evaluations place were realized.

MORPHOMETRIC MEASUREMENTS

The evaluators responsible for all measurements were not informed about the purpose of the study and the grouping to be re-evaluated, allowing for blind evaluations. The order of measurements was random according to the birth of the mares.

The placenta morphometric measurements were performed according to Whitwell and Jeffcott (1975), with modifications. Initially, the allantochorion surface was opened in the reversed position in the "F" form to obtain measurements and photographs. The placenta morphometric measurements were described by Knottenbelt et al. (2004).

The total placental length (TPL), gravid horn length (GHL), mean gravid horn diameter (MGHD), input diameter of gravid horn (IDGH), non-gravid horn length (NGHL), mean non-gravid horn diameter (MNGHD), input diameter of non-gravid horn (IDNGH) and umbilical cord length (UCL) were measured with a metal ruler graduated in centimeters (Fig. 1).

Total placental volume (TPV), allantochorion volume (ACV), amnion volume (AV) and umbilical cord volume (UCV) were determined in a graduated beaker filled with a known amount of water, where each anatomical structure was submerged to obtain the volume by the difference between the initial and final volume reading. The variables total placental weight (TPW), allantochorion weight (ACW), amnion weight (AW), umbilical cord weight (UCW), and foal weight (FW) were measured on an electronic scale.

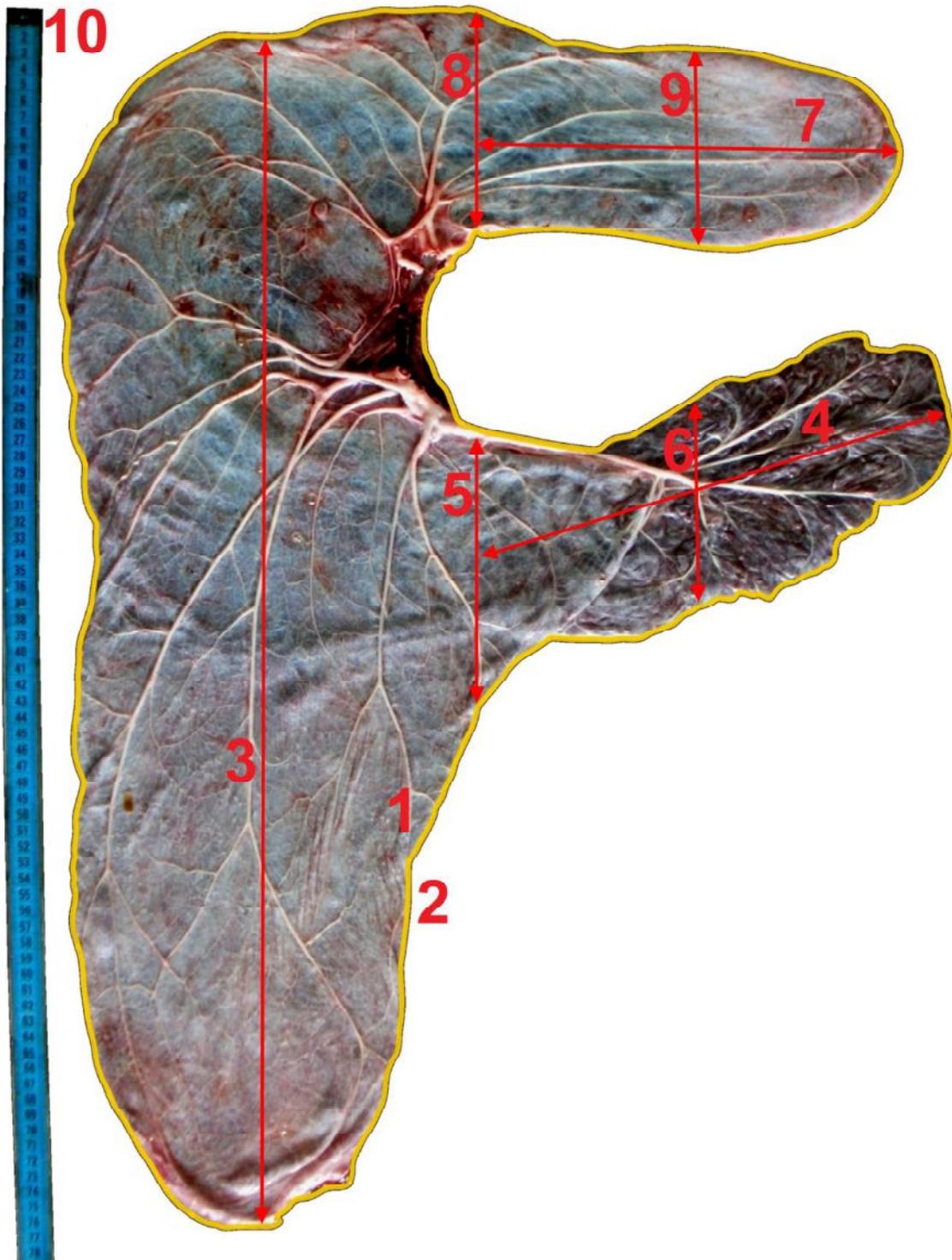


Fig. 1 Placenta surface measurements of horses of Pônei Brasileiro breed.

1: allantochoion area, 2: allantochoion perimeter, 3: total placental length, 4: gravid horn length, 5: input diameter of gravid horn, 6: mean gravid horn diameter, 7: non-gravid horn length, 8: input diameter of non-gravid horn, 9: mean diameter of non-gravid horn and 10: metal ruler graduated in centimeters.

The photographic images of placentas were taken by positioning the camera on the center of the placenta and using a metal ruler positioned laterally. The captured images were evaluated by the ImageJ program, using the ruler for standardization of the scale and calculation of the allantochorion perimeter (ACP), allantochorion area (ACA), amnion perimeter (AP) and amnion area (AA).

STATISTICAL ANALYSIS

The frequency analysis of the occurrence of dwarfism and the type of delivery (eutocic or dystocic) were analyzed by PROC FREQ procedure of the SAS® 9.2 software. The effect of dwarfism on placental measures and foal weight was evaluated according to the phenotype (Normal or DD), allocated by randomization, are parametric and were analyzed using the PROC GLM procedure of the SAS® 9.2 software, using the following model: $Y_{ij} = \mu + D_i + \varepsilon_{ij}$, where Y_{ij} is the observation for the ij -th morphometric measurement; μ is the mean of the characteristic; D_i is the effect of the i -th phenotype (Normal or DD) and ε_{ij} is the random error. The mares age was tested and removed from the model due to non-significant effect. The means were compared by the t-test at 5% probability. Pearson's correlations between morphometric measurements, foal weight and phenotype (N or DD) were calculated by the PROC CORR procedure of the SAS® 9.2 software (SAS Inst., Inc., Cary, NC). The networks of correlations were plotted in by the "qgraph" package (EPSKAMP et al., 2012) of R 3.4.1 software.

RESULTS

Of the 19 foals born (Table 1), eight (42.11%) presented morphological characteristics consistent with chondrodysplasia-like dwarfism (DD) (Fig. 2, B and C), and 75% of these deliveries were dystocic, requiring surgical treatment of the one mare, while only 9% of deliveries of clinically normal foals were dystocic. Half of the foals with DD were stillborn and the remainder had a short survival, ranging from 3 to 29 days. Three foals were euthanized at different ages (Table 1), due to worsening of the clinical picture of ataxia, difficulty in nursing and cardiorespiratory problems. One filly died at 29 days presenting repetitive convulsion, inappetence and progressive weight loss.

The remaining 11 neonatal foals were normal (Fig. 2A), showing no phenotypic trait of chondrodysplasia. Ten of these foals remained healthy during the following 15 days during which they were monitored at the university and were later returned to the farm of origin with good health. One filly (N) died at 12 days of age with neurological changes without a definite diagnosis.

Table 1. Information on the phenotype, sex, type of delivery and survival of the foals of the Pônei Brasileiro breed.

Animal	Phenotype	Sex	Delivery	Survival
1	N	M	Eutocic	Normal
2	N	F	Dystocic	Normal
3	N	F	Eutocic	Normal
4	N	M	Eutocic	Normal
5	N	M	Eutocic	Normal
6	N	M	Eutocic	Normal
7	N	M	Eutocic	Normal
8	N	F	Eutocic	12 days*
9	N	M	Eutocic	Normal
10	N	F	Eutocic	Normal
11	N	F	Eutocic	Normal
12	DD	F	Dystocic	Stillborn
13	DD	M	Dystocic	Stillborn
14	DD	F	Dystocic	29 days
15	DD	F	Eutocic	17 days**
16	DD	F	Eutocic	7 days**
17	DD	F	Dystocic	Stillborn
18	DD	F	Dystocic	Stillborn
19	DD	F	Dystocic	3 days**

N: clinically normal. DD: disproportionate dwarfism. M: male. F: female. *Died with neurological changes. **Euthanized



Fig. 2 Foals of the Pônei Brasileiro breed. A: clinically normal foal. B: foal affected by disproportionate dwarfism at 1 day of age with small survival chance. C: stillborn foal affected by disproportionate dwarfism. D: stillborn foal affected by disproportionate dwarfism.

There were no macroscopic changes in the placentas and there was no inflammation effect. Dwarfism affected placental measurements and foal weight ($P < 0.05$). The allantochorion perimeter, allantochorion area, amnion perimeter, amnion area, placental weight and allantochorion weight presented differences ($P < 0.05$) between N and DD animals. The mean foals weight was different ($P < 0.05$) between the groups, the foals with DD had deficient body development and lower body weight in relation to the N animals (Table 2).

The other variables evaluated did not present differences ($P > 0.05$) between N and DD animals (Table 2). The placenta presented similar measurements of the uterine horns (gravid horn length (GHL), mean gravid horn diameter (MGHD), input

diameter of gravid horn (IDGH), non-gravid horn length (NGHL), mean non-gravid horn diameter (MNGHD) and input diameter of non-gravid horn (IDNGH)) in the two groups showing no DD effect on these structures. The total volume of the placenta, although presenting a high average amplitude between the placenta of fetuses with DD and fetuses with N (1045.71 ml and 1366.30 ml, respectively) were similar ($P > 0.05$), possibly due to the high deviation of the observations around the mean (Table 2).

The umbilical cord length presented similar means ($P > 0.05$) in the two groups evaluated (N and DD) and there was no significant correlation ($P > 0.05$) with the other variables. However, it is worth mentioning the great variation in umbilical cord length, with a minimum of 21 to the maximum value of 42 cm between foals with DD and from 17 to 38 cm between N foals.

Table 2. Morphometric variables of the placenta and birth weight according to the normal or disproportionate dwarfism phenotypes of Pônei Brasileiro foals.

Variable	N	DD	RMSE
	Mean ± SD	Mean ± SD	
Allantochoion perimeter (cm)	273.26±25.46*	238.66±29.95	27.47
Allantochoion area (cm ²)	2164.27±375.42*	1739.51±294.33	343.02
Amnion perimeter (cm)	240.88±21.79*	196.53±32.60	26.65
Amnion area (cm ²)	2814.36±760.10*	1878.2±390.54	638.48
Total placental length (cm)	66.21±11.22	61.71±7.65	9.85
Gravid horn length (cm)	29.90±3.47	25.85±6.07	4.72
Mean gravid horn diameter (cm)	13.11±3.35	15.45±4.94	4.08
Input diameter of gravid horn (cm)	14.99±3.29	16.85±4.09	3.64
Non-gravid horn length (cm)	25.76±3.83	23.50±3.07	3.54
Mean non-gravid horn diameter (cm)	11.94±2.44	11.94±2.73	2.56
Input diameter of non-gravid horn (cm)	14.17±2.19	13.74±3.50	2.80
Total placental volume (ml)	1366.30±371.07	1045.71±386.52	377.32
Allantochoion volume (ml)	917.00±344.9	634.29±185.01	291.66
Amnion volume (ml)	387.80±95.12	367.14±201.47	147.19
Umbilical cord volume (ml)	61.50±29.25	44.29±15.12	24.60
Total placental weight (g)	1377.98±381.42*	852.25±274.24	342.59
Allantochoion weight (g)	918.40±353.00*	510.40±178.33	295.78
Amnion weight (g)	384.02±97.31	285.71±105.77	100.78
Umbilical cord weight (g)	67.56±27.36	51.71±20.26	24.77
Umbilical cord length (cm)	26.33±7.18	27.40±9.48	8.02
Foal weight (Kg)	13.94±2.77*	10.36±1.92	2.39

Means on the same line with "*" differ by the test "t" at 5% probability.

N: clinically normal; DD: disproportionate dwarfism. RMSE: root mean square error.

Figure 3 presents the correlation network between placental morphometric variables, birth weight and progeny phenotype (normal and disproportionate dwarfism) of Pônei Brasileiro foals. Positive correlations are highlighted in green and negative correlations are highlighted in red. The thickness of the lines indicates the

level of correlation between variables, where the higher the correlations the thicker the line.

The foals with DD phenotype presented negative, high and significant correlations ($P < 0.05$) with allantochorion perimeter (-0.56), allantochorion area (-0.55), amnion perimeter (-0.67), amnion area (-0.62), placental weight (-0.63), allantochorion weight (-0.59) and foal weight (-0.64) (Table 3). These results indicate that in DD foals there is a decrease in the characteristics associated with the placenta perimeter and area.

The foal weight presented positive and significant correlations ($P < 0.05$) with amnion area (0.77), total placental length (0.71), allantochorion volume (0.67), total placental weight (0.81), allantochorion weight (0.80) and amnion weight (0.77) (Table 3).

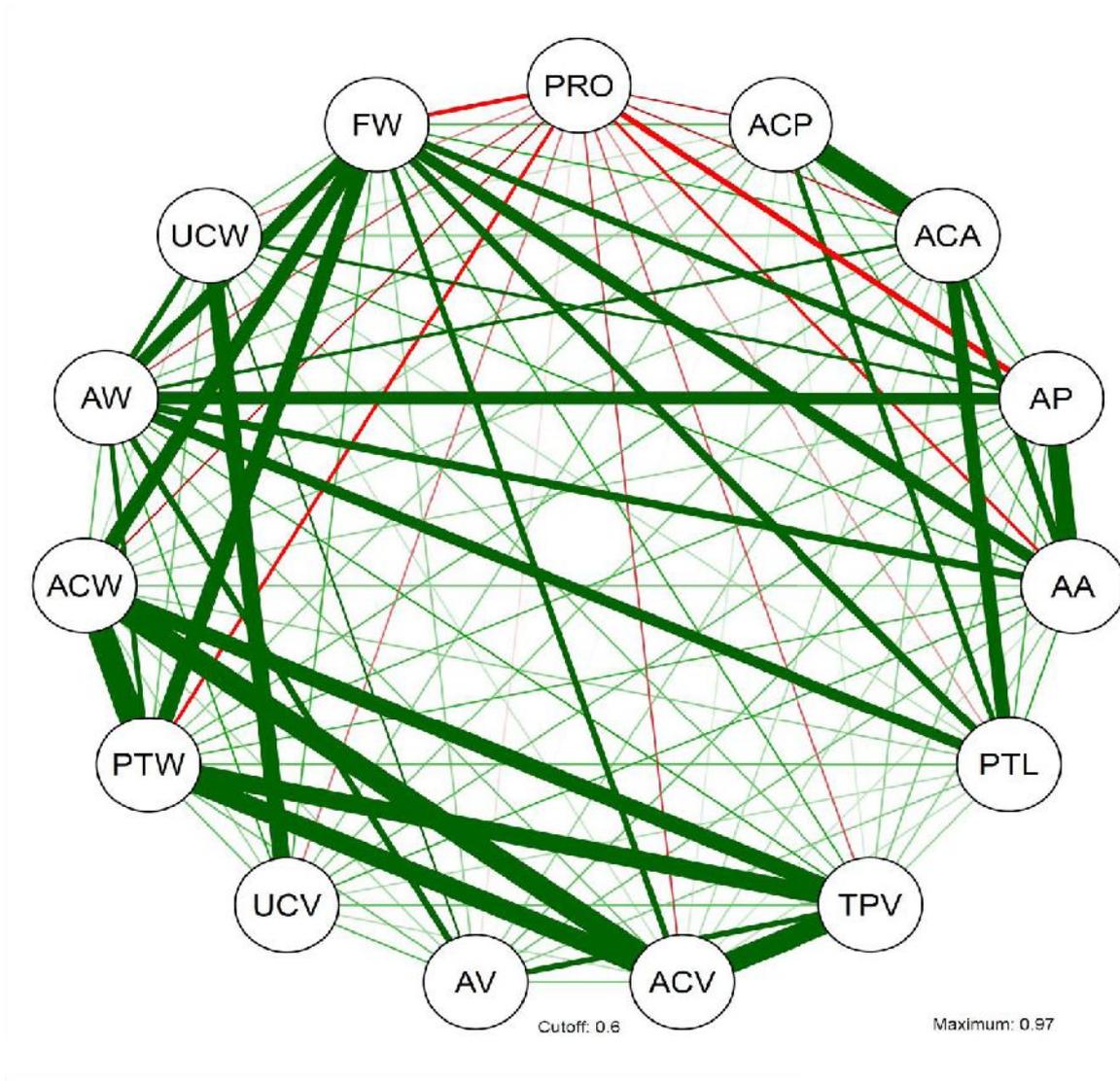


Fig. 3. Correlation network among placental morphometric variables, birth weight and progeny (normal and disproportionate dwarfism) of Pônei Brasileiro foals.

PRO: progeny, ACP: allantochorion perimeter, ACA: allantochorion area, AP: amnion perimeter, AA: amnion area, TPL: total placental length, TPV: Total placental volume, ACV: allantochorion volume, AV: amnion volume, UCV: umbilical cord volume, TPW: total placental weight, ACW: allantochorion weight, AW: amnion weight, UCW: umbilical cord weight, and FW: foal weight.

Table 3. Correlation Pearson among placental morphometric variables, birth weight and progeny (normal and disproportionate dwarfism) of Pônei Brasileiro foals.

	PRO	ACP	ACA	PA	AA	TPL	TPV	ACV	ACV	UVC	TPW	PCW	AW	UCW	FW
PRO	-														
ACP	-0,56*	-													
ACA	-0,55*	0,92**	-												
PA	-0,67*	0,31	0,56*	-											
AA	-0,62*	0,52	0,70*	0,86*	-										
TPL	-0,24	0,66*	0,78**	0,45	0,53	-									
TPV	-0,41	0,09	0,26	0,32	0,27	0,25	-								
ACV	-0,45	0,09	0,19	0,19	0,13	0,16	0,93**	-							
ACV	-0,07	0,02	0,26	0,4	0,36	0,31	0,67**	0,36	-						
UVC	-0,34	0,29	0,33	0,41	0,51	0,20	0,37	0,18	0,45	-					
TPW	-0,63*	0,31	0,43	0,47	0,47	0,44	0,87**	0,89**	0,39	0,39	-				
PCW	-0,59*	0,25	0,31	0,27	0,29	0,29	0,84**	0,94**	0,23	0,24	0,97**	-			
AW	-0,46	0,41	0,63*	0,77**	0,71**	0,76**	0,56*	0,36	0,68**	0,57*	0,65**	0,44	-		
UCW	-0,32	0,14	0,26	0,63*	0,59*	0,18	0,38	0,14	0,60*	0,83**	0,36	0,16	0,67**	-	
FW	-0,64*	0,49*	0,55	0,7*	0,77*	0,71*	0,54	0,67*	0,26	0,46	0,81**	0,80*	0,77**	0,44	-

*: P <0.05. **: P <0.001.

PRO: progeny, ACP: allantochorion perimeter, ACA: allantochorion area, AP: amnion perimeter, AA: amnion area, TPL: total placental length, TPV: Total placental volume, ACV: allantochorion volume, AV: amnion volume, UVC: umbilical cord volume, TPW: total placental weight, ACW: allantochorion weight, AW: amnion weight, UCW: umbilical cord weight, and FW: foal weight.

DISCUSSION

Dwarfism is a frequent congenital disease in the Pônei Brasileiro breed and causes large financial losses due to embryonic loss and high neonatal mortality. In spite of being one of the most studied diseases in different species, studies of this subject in equines are scarce (EBERTH, 2013), and we did not find in the literature studies of placental morphometry in gestations of foals with disproportionate dwarfism. We aimed to evaluate the morphometric changes of the placentas and the relations resulting from the presence of fetuses with dwarfism.

The allantochorion perimeter and amnion perimeter (Table 2) followed the observed growth measurements for the allantochorion area and amnion area, respectively, and were the surface measurements most affected by dwarfism. The DD (chondrodysplastic) fetuses presented underdeveloped bodies, requiring smaller space for their accommodation in relation to the larger N fetuses.

In several studies, foal size has been reported to be related to placental characteristics (ALLEN et al., 2002; BURTON; JAUNIAUX, 2018; HAMMOND, 1940; TISCHNER; KLIMCZAK, 1989; USHA; SARITA, 2011; WALTON; HAMMOND, 1938). The main determinant of intrauterine growth is the placental supply of nutrients to the fetus (HARDING; JOHNSTON, 1995), which depends on placental size, morphology, blood flow, and nutrient availability (FOWDEN et al., 2006b).

Some authors have investigated the placenta's relationship with foal size at birth in horses, but they all carried out their studies with larger mares than in our study. As early as 1938, Walton and Hammond (1938) showed that mare size affects the intrauterine development of the foal and the rate of postnatal growth. Hammond (1940) used artificial insemination to cross large Shire horses with small Shetland ponies. Newborn pure Shetland foals were half the size of their half-sibling twins born to a Shire mother and this difference in size persisted into adulthood.

Tischner (1985) produced three pairs of siblings of each sex of the Konik pony breed, transferred half of the embryos to large mares while the remainder remained within their genetic Konik mother. The foals from the large mares were all taller and heavier at birth than their siblings in the Konik mares and they continued to grow

faster after birth, indicating that the size of the recipient may affect the final size of the foal.

Allen et al. (2002), compared placental size and vessel size at birth in four different groups within the Pure-Blood (n = 7) and Pony (n = 7) breeds, and crosses of Pure-Blood in ponies mares (n = 8) and pony in Pure-Blood mares (n = 7). The birth weight of the foals was positively correlated with placental volume, gross placental area, allantoic fluid volume, and maternal weight was correlated with allantochorion mass and total area. These authors indicated that the maternal genotypes and fetal interaction control fetal growth rate and adult size, influencing the total area of the diffuse allantochorion and the density, complexity and depth of the micro-cotyledons on its surface.

However, in our study foal size was due to a genetic disease independent of placental functions related to fetal development, and only one breed (Pônei Brasileiro breed) was used, unlike the other studies (ALLEN et al., 2002; HAMMOND, 1940; TALUKDER et al., 2014; TISCHNER, 1985; WALTON; HAMMOND, 1938).

Even using mares of the same breed, a large difference was observed in placental morphometry, which was associated with foal size. This led us to hypothesize that the placenta can determine the size of the foal, but the size of the foal can also determine the size of the placenta. The ability of the placenta to perform exchanges and provide nourishment influences the fetal development and foal size at birth. However, in our study, the placenta was shaped to the form of the uterus and distended with fetal development, according to the size of each fetus.

Walton and Hammond (1938) evaluated the Shetland pony placenta and observed total placental weight (1,407 to 2,094 kg), allantochorion weight (1,030 to 1,553 kg), amnion weight (0.297 to 0.464 kg), umbilical cord weight (0.080 to 0.090 kg) and foal weight (18.2 to 22.2 kg) higher than observed for the clinically healthy foals and dwarf foals evaluated in our study in the Pônei Brasileiro breed. These differences are possibly due to the difference in size between the two breeds, because the Shetland has greater stature, greater abdominal amplitude and larger size of the foal.

Allen et al. (2002) observed in placentas of mares (undefined), mean weight of allantochorion (1.7 ± 0.1 kg) and average weight of foals (24.0 ± 1.3 kg), also higher to the Pônei Brasileiro reported in our study. Possibly these differences in placental

morphometry are due to the difference in foal size at birth between breeds. These results reinforce our hypothesis that foal size determines placental size.

Evaluating placental structures in Puro Sangue Inglês horses, Whitwell and Jeffcott (1975) also observed a large variation in umbilical cord length (from 36 to 83 cm). Balkawade and Shinde (2012), in a study of 1000 cases in humans, identified that umbilical cord length is variable, but fetuses with excessively short or long cords were associated with a higher incidence of complications in the marrow and increased frequency of fetal heart disease, in addition to some problems secondary to cord size, like higher incidence of operative interference, intrapartum complications and higher chance of suffocation in birth.

Gestational identification, by ultrasound or molecular diagnosis, will allow the interruption of pregnancy. In this way, it prevents the mare from being affected by dystocic delivery and can still be used to generate a new foal.

CONCLUSIONS

The placenta's dimensions are of great importance for the study of dwarfism. Together with imaging, these dimensions would enable differentiating gestation of normal fetuses from gestation of fetuses affected by disproportionate dwarfism.

Disproportionate dwarfism affected the birth weight of foals. Fetuses suffering from disproportionate dwarfism presented smaller placental size, mainly in relation to the total area and total weight.

REFERENCES

ABCCPONEI. **Brazilian Association of Pony Breeders. Racial pattern.** Disponível em: <<http://www.abccponei.org.br>>.

ALLEN, W. R. et al. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. **Reproduction**, v. 123, n. 3, p. 445–453, 1 mar. 2002.

BACK, W. et al. Phenotypic diagnosis of dwarfism in six Friesian horses. **Equine veterinary journal**, v. 40, n. 3, p. 282–287, 2008.

BALKAWADE, N. U.; SHINDE, M. A. Study of length of umbilical cord and fetal outcome: A study of 1,000 deliveries. **Journal of Obstetrics and Gynecology of India**, v. 62, n. 5, p. 520–525, 2012.

BARTHOLAZZI JUNIOR, A. et al. Linear measurements of horses of the Pônei Brasileiro breed. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 1–12, 2017.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 218, n. 2, p. S745–S761, fev. 2018.

COSTA, M. D. et al. Tendência genética de medidas lineares de pôneis da raça Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 2, p. 1–11, 2001.

EBERTH, J. E. **Chondrodysplasia-Like Dwarfism in the Miniature Horse.** [s.l.] University of Kentucky, 2013.

EBERTH, J.; SWERCZAK, T.; BAILEY, E. Investigation of Dwarfism Among Miniature Horses using the Illumina Horse SNP50 Bead Chip. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 5, p. 315, 2009.

EPSKAMP, S. et al. qgraph: Network Visualizations of Relationships in Psychometric Data. **Journal of Statistical Software**, v. 48, n. 4, p. 1–18, 2012.

FOWDEN, A. L. et al. Programming placental nutrient transport capacity. **Journal of Physiology**, v. 572, n. 1, p. 5–15, abr. 2006.

HAMMOND, J. **Farm Animals. Their Breeding, Growth, and Inheritance.** London: Edward Arnold & CO, 1940.

HARDING, J. E.; JOHNSTON, B. M. Nutrition and fetal growth. **Reproduction Fertility and Development**, v. 7, n. 3, p. 539–547, 1995.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. **Equine neonatology : medicine and surgery**. [s.l.] Saunders, 2004.

QUIRINO, C. R. et al. **Avaliação morfométrica da placenta em potros com nanismo em equinos da raça Pônei Brasileiro**. XXV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. **Anais...**Recife - Brasil: 2016

TALUKDER, S. et al. Infrared technology for estrus detection and as a predictor of time of ovulation in dairy cows in a pasture-based system. **Theriogenology**, v. 81, n. 7, p. 925–935, 2014.

TISCHNER, M. Embryo recovery from Polish pony mares and preliminary observations on foal size after transfer of embryos to large mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 17, n. S3, p. 96–98, 10 jun. 1985.

TISCHNER, M.; KLIMCZAK, M. The development of Polish ponies born after embryo transfer to large recipients. **Equine Veterinary Journal**, v. 21, n. S8, p. 62–63, 10 jun. 1989.

USHA, K.; SARITA, B. Placental Insufficiency and Fetal Growth Restriction. **The Journal of Obstetrics and Gynecology of India**, v. 61, n. 5, p. 505–511, 2011.

WALTON, A.; HAMMOND, J. The maternal effects on growth and conformation in Shire horse-Shetland pony crosses. **Proceedings of the Royal Society**, v. 125, p. 311–335, 1938.

WATANABE, M. J. et al. Características fenotípicas do nanismo em pôneis neonatos: Relato de casos. **Ars Veterinaria**, v. 30, n. 1, p. 1, 2014.

WHITWELL, K.; JEFFCOTT, L. Morphological studies on the fetal membranes of the normal singleton foal at term. **Research in veterinary science**, v. 19, n. 1, p. 44–55, 1975.

CAPÍTULO 2

Curva de crescimento de pôneis da raça Pônei Brasileiro

Growth curve of ponies of the Pônei Brasileiro breed

Resumo:

O objetivo do estudo foi avaliar a altura na cernelha do nascimento até os 44 meses de idade e a precisão de modelos não lineares para descrever o crescimento de equinos da raça Pônei Brasileiro. Medidas de altura na cernelha dos animais foram obtidas de 2016 a 2019, de machos e fêmeas, do nascimento até a idade adulta (superior a 4 anos). Foram realizadas estatísticas descritivas e o efeito do sexo não foi significativo. Desta forma, as curvas de crescimento foram analisadas para todos os animais de ambos os sexos pelas funções de Gompertz, logistic, Von Bertalanffy, Brody e Richards. Os potros da raça Pônei Brasileiro apresentaram média de altura ao nascimento de 50,66 cm (57% da sua altura final). A maior velocidade de crescimento do Pônei Brasileiro foi até aos 12 meses de idade, o qual alcançaram 89% da sua altura adulta. Todos os modelos de crescimento foram semelhantes tanto nos parâmetros biológicos, quanto nos parâmetros de ajuste dos modelos. A função de Richards foi a indicada para o estudo do crescimento por apresentar o menor erro médio de predição. Apresentando altura à maturidade (A) de 87,51 cm, taxa de maturação (k) de 0,067 e R^2 de 0,994. Os cinco modelos não lineares avaliados no presente estudo foram eficientes para caracterizar o padrão de crescimento da altura na cernelha da raça Pônei Brasileiro. A função Richards foi a mais indicada pela maior precisão. Estes resultados podem ser utilizados para orientar e auxiliar nas decisões de seleção de potros baseado na sua curva de crescimento.

Palavras chave: altura na cernelha, desenvolvimento, modelos não lineares, modelos mistos, morfometria.

INTRODUÇÃO

Os pôneis da raça Pônei Brasileiro, originados do cruzamento de animais das raças Shetland da Escócia, dos Falabella da Argentina, além de alguma influência de animais oriundos do Paraguai e Uruguai (ABCCPONEI, 2018), apresentam mais de 26.738 animais registrados (IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015) na associação de criadores e são encontrados em todo território nacional.

Os limiares máximos de altura definidos pela associação de criadores, apresenta como padrão racial para registro a altura máxima de 100 cm nos machos e 110 cm nas fêmeas (ABCCPONEI, 2018). Estudos de Costa et al. (2001) identificaram na raça Pônei Brasileiro, altura na cernelha média de 95,8 cm e tendência genética favorável à redução do porte dos animais. Posteriormente, Bartholazzi Junior et al. (2017) observaram média de altura na cernelha de 84,5 cm, corroborando com a tendência genética relatada por Costa et al. (2001). Esta menor estatura, possivelmente, se deve à seleção para estatura nos pôneis Brasileiros. Além disso, a diminuição do porte dos animais poderia estar relacionada a depressão endogâmica (BERGMANN et al., 1997a).

A altura dos equinos é de grande importância para a padronização da raça e determinante na atividade a qual pode ser empregada, como: hipismo, corrida e outras. Em pôneis, a altura é a característica de principal valor econômico e são desejadas boas proporções corporais. Entretanto, a raça Pônei Brasileiro, por ser uma raça recente e sem programa de melhoramento, ainda não alcançou a padronização morfológica, sendo observada uma grande variação em cada medida morfológica nos animais (BARTHOLAZZI JUNIOR et al., 2017).

Além disso, são relatados poucos estudos sobre a morfometria do pônei Brasileiro e deles, somente em animais adultos (BARTHOLAZZI JUNIOR et al., 2017, 2018; BERGMANN et al., 1997b; COSTA et al., 2001; QUIRINO et al., 2012). Dados referentes à morfometria desde o nascimento até a fase adulta e a curva de crescimento são de extrema importância, pois, permitiriam auxiliar aos criadores na seleção e no melhoramento genético da raça.

Para identificação e o estudo do crescimento animal, o ajuste de uma função não linear permite interpretar as informações contidas em toda a sequência de idade e tamanho em parâmetros que podem ser interpretados biologicamente e, utilizados para prever outras características de crescimento (PEROTTO; CUE; LEE, 1992)

Desta forma, objetivo-se avaliar a altura na cernelha desde o nascimento até a idade adulta e a precisão de modelos não lineares para descrever o crescimento de equinos da raça Pônei Brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS E DESCRIÇÃO DO DESENHO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Melhoramento e Reprodução Animal da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizado no estado do Rio de Janeiro, Brasil (21°45'23 "Latitude Sul e 41°19'40" Longitude Oeste e altitude 14 metros acima do mar nível).

O clima da região é categorizado como Aw na escala de Köppen, com verões úmidos e invernos secos (Aw). Durante a estação chuvosa de novembro a abril, a precipitação média é de 181 mm, enquanto no inverno de maio a outubro, a precipitação média é de 25 mm.

Os garanhões (14) foram mantidos em baia individual alimentados com alfafa, feno (tifton), ração de manutenção (Nutriage 15, Guabi[®]), água e sal mineral (Suprasal Equino 80 Plus, Supra[®]) *ad libitum*. Todas as éguas (43), potros (27) e potras jovens (38) foram mantidos em pastagem durante todo o estudo, com acesso a água e sal mineral (Suprasal Equino 80 Plus, Supra[®]) *ad libitum*.

A altura na cernelha (AC) dos animais foi obtida no nascimento (0 dias), seguida de medidas periódicas em meses: 1, 2, 3, 5, 6, 8, 12, 20, 24, 28, 32, 40 e 44 meses, totalizando 184 avaliações para machos e 195 avaliações para fêmeas. As medidas de cada animal foram obtidas utilizando um hipômetro zoométrico sempre pelo mesmo avaliador. Durante as medições, os animais estavam em uma superfície firme e plana, com os quatro cascos no chão.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A estatística descritiva foi calculada para a altura na cernelha de todos os animais em cada idade pelo procedimento PROC MEANS do software SAS[®] 9.2. O efeito do sexo não foi significativo a 5% de probabilidade. O efeito da idade na altura na cernelha foi avaliado pelo procedimento PROC GLM do software SAS[®] 9.2, usando o seguinte modelo: $Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$, onde Y_{ij} é a observação da i-ésima altura

na cernelha; μ é a média da característica; A_i é o efeito da i -ésima idade e ε_{ij} é o erro aleatório. As médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de probabilidade.

Os modelos Gompertz, logístico, Von Bertalanffy, Brody e Richards para cavalos (Tabela 1) foram utilizados para ajustar os dados de altura na cernelha (cm) e idade (mês).

Tabela 1. Modelos não-lineares.

Modelo	Função
Gompertz	$AC = A \exp(-b \exp-kt)$
Logístico	$AC = A / (1 + b \exp-kt)$
Von Bertalanffy	$AC = A (1 - b \exp-kt)^3$
Brody	$AC = A (1 - b \exp-kt)$
Richards	$AC = A (1 - b \exp-kt)^M$

AC: altura na cernelha; A: valor assintótico; b: constante de interação; k: taxa de crescimento; t: idade em mês; M: forma da curva de Richards.

Foram medidas as seguintes variáveis: AC (altura na cernelha), denotando a altura na cernelha até a maturidade no tempo t ; A, o valor assintótico, relacionado à estatura na maturidade; b, a constante de interação, estabelecida pelos valores iniciais de AC; t, relacionado à altura inicial da cernelha, sem interpretação biológica bem definida ($t = 0$); k, a taxa de crescimento, indicativa da velocidade de atingir a maturidade (valores elevados de k indicam que os animais atingiram a maturidade mais cedo); e M, o parâmetro de forma da curva de Richards, para determinar em qual valor assintótico (A) o ponto de inflexão da curva ocorre.

Os parâmetros dos modelos foram estimados pelo método Gauss-Newton modificado, utilizando o procedimento PROC NLIN do software SAS[®] 9.2. Um máximo de 1.000 iterações foi estabelecido para atingir o critério de convergência. A convergência ocorreu quando $(SQR_{j-1} - SQR_j) / (SQR_j + 10 - 6)$ era menor que 10^{-8} , onde SQR_j é a soma residual dos quadrados da interação.

Para escolha da função para melhor descrever a curva de crescimento, foram considerados os parâmetros a, k e seu respectivo erro padrão, quadrado médio do erro (QME), coeficiente de determinação (R^2), erro médio previsto (APE) e número de iterações (N ° Int) até alcançar a convergência.

Onde: QME é calculado dividindo a soma dos quadrados dos resíduos pelo número de observações; e R² é calculado como o quadrado da correlação entre as alturas da cernelha observadas e estimadas por meio de análise de regressão linear, considerando a altura na cernelha prevista pelo modelo como variável dependente e a altura na cernelha observada do animal como variável independente.

$$R^2 = 1 - \left[\frac{SSE}{SST} \right]$$

APE: esse valor designa se a função subestimou (+) ou superestimou (-) a altura na cernelha observada, quanto mais próximo de zero o valor do APE, melhor o ajuste do modelo é considerado. O cálculo é realizado pela equação:

$$APE = \left(\frac{AC - EAC}{AC} \right) * 100$$

Onde a altura na cernelha e a altura estimada da cernelha são, respectivamente, a média dos valores observados da cernelha (AC) e a altura média estimada da cernelha (EAC) para cada faixa etária.

Para obter a interpretação biológica e permitir o cálculo das alturas previstas por cada função de crescimento estudada, a idade dos animais foi agrupada por mês: 0 (dia do nascimento), 1, 2, 3, 5, 6, 8, 12, 20, 24, 28, 32, 40 e 44 meses.

RESULTADOS

Não foi observada diferença ($P > 0,05$) da altura na cernelha de fêmeas e machos e elas foram analisadas juntas. A Tabela 2 mostra a altura na cernelha por idade e sexo de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Tabela 2. Médias, desvios padrão (DP) da altura na cernelha por idade e sexo de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Idade (mês)	Machos	Fêmeas
	AC (Média \pm DP)	AC (Média \pm DP)
0	50,75 \pm 3,88	50,58 \pm 6,13
1	57,89 \pm 3,33	58,56 \pm 2,82
2	61,58 \pm 4,48	63,5 \pm 3,82
3	67,75 \pm 0,50	67,38 \pm 2,5
5	67,38 \pm 6,46	68,35 \pm 4,4
6	68,75 \pm 4,59	72,35 \pm 4,59
8	74,73 \pm 4,88	76,06 \pm 3,76
12	78,40 \pm 4,32	78,87 \pm 4,51
20	81,38 \pm 4,06	82,57 \pm 3,74
24	84,18 \pm 3,81	83,90 \pm 3,62
28	82,33 \pm 5,43	85,71 \pm 4,89
32	86,17 \pm 5,32	87,13 \pm 4,57
40	86,88 \pm 5,60	85,33 \pm 8,09
44	86,56 \pm 7,11	89,90 \pm 5,65

AC: altura na cernelha.

A Tabela 3 mostra as médias da altura na cernelha por idade dos pôneis da raça Pônei Brasileiro. O coeficiente de variação (CV) da altura na cernelha foi de 7,59%.

A média geral de altura na cernelha observada em nosso estudo foi de 50,66 cm ao nascimento e 88,65 cm aos 44 meses. Os potros da raça Pônei Brasileiro ao

nascer apresentaram aproximadamente 57% da altura adulta e aos 12 meses já atingiam 89% da altura adulta.

Observamos uma diferença ($P < 0,05$) nas médias da altura na cernelha por idade. Desde o nascimento até o terceiro mês, os potros apresentaram crescimento significativo e as médias foram diferentes nesse período. Durante o terceiro e o sexto mês, as médias da altura na cernelha não foram estatisticamente diferentes ($P > 0,05$), mas estas foram diferentes em relação ao oitavo mês ($P < 0,05$). Após os 20 meses de vida, a taxa de crescimento dos animais foi baixa e diferiu apenas dos 44 meses de vida. A taxa de crescimento dos animais diminuiu após 12 meses e se estabilizou aos 24 meses de idade. Entre os meses 24 e 44 a altura na cernelha não foram significativamente diferentes ($P > 0,05$).

Tabela 3. Médias e desvios padrão (DP) da altura na cernelha por idade dos cavalos da raça Pônei Brasileiro.

Idade (mês)	AC (cm)	DP
0	50,66 ^h	5,11
1	58,21 ^g	3,03
2	62,68 ^f	4,06
3	67,56 ^e	1,68
5	67,92 ^e	5,26
6	70,75 ^e	4,82
8	75,47 ^d	4,25
12	78,66 ^{cd}	4,37
20	81,99 ^{bc}	3,88
24	84,06 ^{ab}	3,69
28	84,39 ^{ab}	5,26
32	86,66 ^{ab}	4,89
40	86,45 ^{ab}	6,20
44	88,65 ^a	6,30

Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem no teste SNK a 5% de probabilidade.

AC: altura na cernelha. DP: desvio padrão.

A estimativa dos parâmetros dos modelos não lineares em estudo, incluindo os critérios utilizados para selecionar as curvas de crescimento mais adequadas para os cavalos da raça Pônei Brasileiro, é apresentada na Tabela 4.

Os parâmetros em comum entre os modelos, representados por A e k , são de grande importância do ponto de vista biológico. A assíntota A , que representa o tamanho médio na maturidade e o parâmetro k é uma função da razão entre a taxa máxima de crescimento e o tamanho maduro dos cavalos. Em todos os modelos avaliados, o parâmetro A foi semelhante, variando de 85,68 a 87,51 cm (Logistic e Richards, respectivamente), valores próximos à média real em animais adultos (85,38 cm). Os valores da taxa de maturação (k) variaram de 0,067 (Richards) a 0,171 (Logística), de acordo com cada função.

Nos modelos Gompertz, Logística, Von Bertalanffy, Brody e Richards, os valores de QME foram muito semelhantes, variando de 35,04 a 36,46 (Richards e Logistic, respectivamente), e R^2 foram os mesmos em todos os modelos ($R^2 =$

0,994). O número de interações para os modelos não lineares foi de 6 a 10 interações, apresentando pouca variação entre os modelos.

Tabela 4. Estimativa dos parâmetros e respectivos erros padrão (*A*, *b*, *k* e *M*), quadrado médio do erro (QME), coeficiente de determinação (R^2), número de interações (NInt) para o crescimento de acordo com os modelos estudados em cavalos da raça Pônei Brasileiro .

Models	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>k</i>	<i>M</i>	QME	R^2	NInt
Gompertz	85,85±0,48	0,48±0,02	0,150±0,011	-	36,15	0.994	7
Logistic	85,68±0,46	0,59±0,03	0,171±0,012	-	36,46	0.994	8
Von Bertalanffy	85,91±0,48	0,15±0,01	0,144±0,011	-	35,99	0.994	9
Brody	86,05±0,50	0,39±0,01	0,131±0,010	-	35,76	0.994	6
Richards	87,51±1,03	0,93±0,05	0,067±0,018	0,204±0,046	35,04	0.994	10

A: valor assintótico; b: constant de interação; k: taxa de crescimento; M: forma da curva de Richards.

Abaixo são apresentadas as equações dos modelos não lineares para estimar a altura na cernelha no tempo em mês para a raça Pônei Brasileiro. Onde: *t*: é o tempo em mês.

$$Gompertz = 85,8471 (-0,4748^{(-0,1503 t)})$$

$$Logística = \frac{85,6765}{1 + 0,593^{(-0,1732 t)}}$$

$$Von Bertalanffy = 85,911 (1 - 0,1474^{(-0,1438 t)})^3$$

$$Brody = 86,0512 (1 - 0,3847^{(-0,1312 t)})$$

$$Richards = 87,5056 (1 - 0,9297^{(-0,0671 t)})^{0,2041}$$

A Tabela 5 mostra a altura na cernelha observada e estimada pelos modelos não lineares. A altura na cernelha estimada pelos modelos apresentou valores semelhantes em todas as idades e próximo à média da altura na cernelha observada. Entretanto, a função de Richards foi a que mais se aproximou da média observada no nascimento dos potros.

Os erros médios de predição foram semelhantes em todos os modelos não lineares, com limites de -3,12 a 4,22 cm. Porém, o modelo de Richards apresentou o menor erro médio de previsão (Figura 1).

Todos os modelos não lineares estudados (Gompertz, Logistic, Von Bertalanffy, Brody e Richards) se ajustaram bem ao crescimento dos animais. O QME, R^2 e o NInt não diferiram o suficiente para definir o melhor modelo. Apesar do menor erro de previsão no modelo de Richards, essa diferença foi pequena em comparação aos demais, indicando que todos os modelos podem ser utilizados para estimar a altura na cernelha dos cavalos da raça Pônei Brasileiro.

As curvas de crescimento estimadas da altura na cernelha em todos os modelos estão ilustradas na Figura 2.

Tabela 5. Altura na cernelha observada e estimada pelos modelos não lineares dos cavalos da raça Pônei Brasileiro.

Idade (mês)	AC Observada média	Altura na cernelha estimada por				
		Gompertz	Logístico	Von Bertalanffy	Brody	Richards
0	50,66	53,40	53,78	53,25	52,95	50,90
1	58,21	57,06	57,17	57,03	57,02	57,76
2	62,68	60,40	60,36	60,45	60,59	62,15
3	67,56	63,44	63,34	63,52	63,72	65,38
5	67,92	68,62	68,57	68,70	68,87	70,01
6	70,75	70,80	70,82	70,86	70,99	71,76
8	75,47	74,43	74,61	74,44	74,46	74,56
12	78,66	79,39	79,76	79,32	79,19	78,42
20	81,99	83,85	84,12	83,79	83,65	82,67
24	84,06	84,75	84,89	84,71	84,63	83,91
28	84,39	85,24	85,28	85,24	85,21	84,81
32	86,66	85,52	85,48	85,53	85,55	85,48
40	86,45	85,75	85,63	85,79	85,88	86,34
44	88,65	85,79	85,65	85,84	85,95	86,62

AC: altura na cernelha.

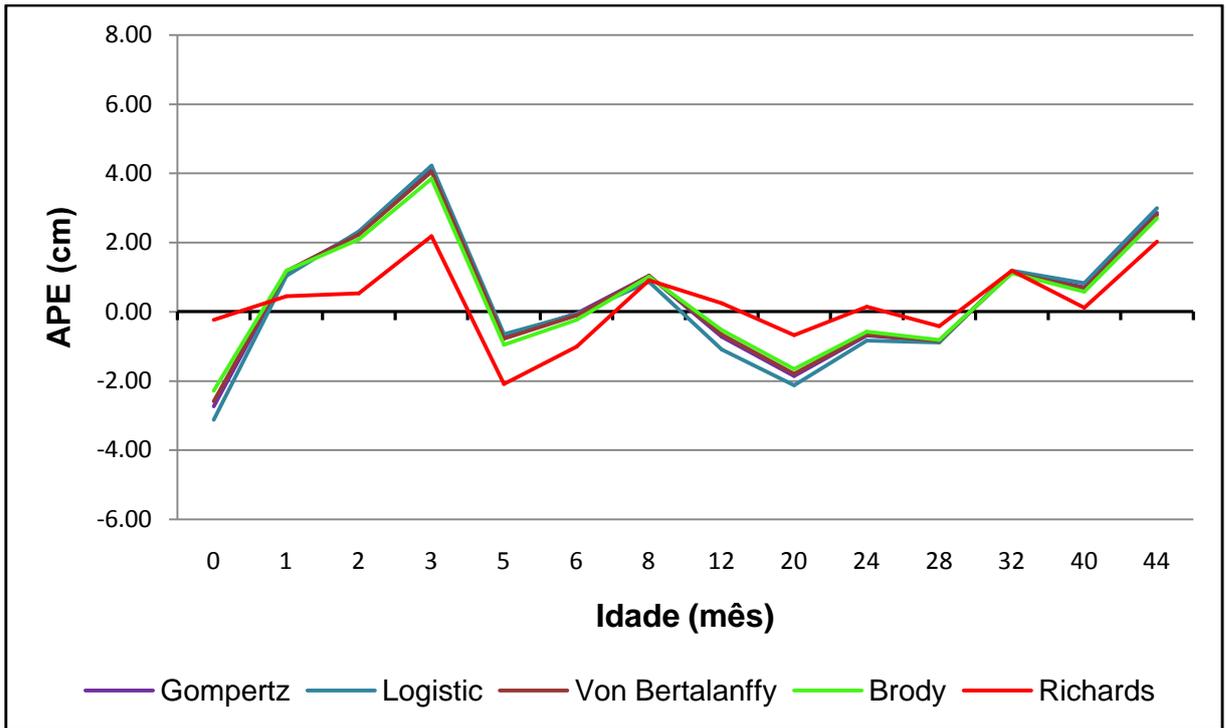


Figura 1. Distribuição dos erros médios de predição (APE) definidos pelos modelos Gompertz, Logistic, Von Bertalanffy, Brody e Richards na raça Pônei Brasileiro.

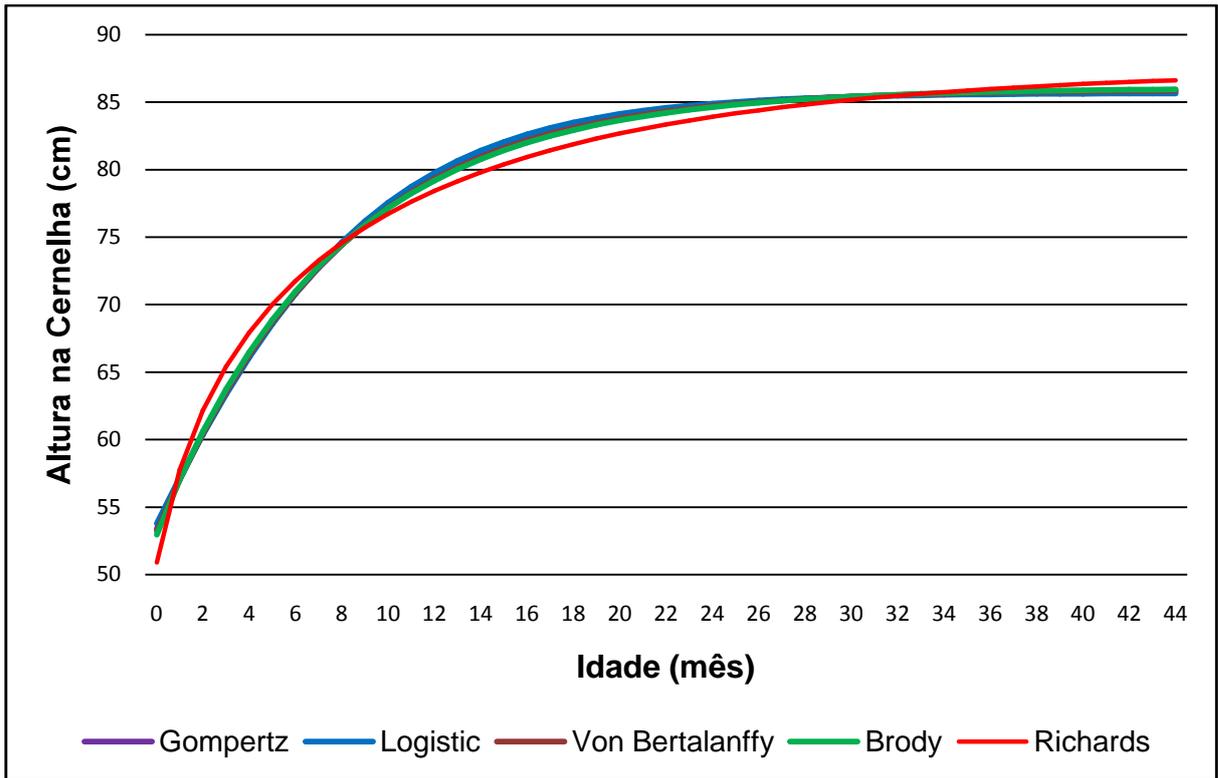


Figura 2. Estimativa da altura na cernelha em função da idade (mês), obtida pelos modelos Gompertz, Logístico, Von Bertalanffy, Brody e Richards na raça Pônei Brasileiro.

DISCUSSÃO

A altura dos equinos é de grande importância para o melhoramento genético animal e para a padronização da raça. Nos equinos pôneis esta característica ganha um maior destaque, pois o principal objetivo de criação é de animais pequenos, dentro dos limites do padrão da raça e de boas proporções corporais. A raça Pônei Brasileiro, amplamente difundida no Brasil, ainda não alcançou a padronização morfológica, por ser uma raça mais recente, sendo observada uma grande variação em cada medida morfológica nos animais (BARTHOLAZZI JUNIOR et al., 2017).

Desta forma, a curva de crescimento se torna indispensável para dar suporte aos criadores na seleção e no melhoramento genético da raça. Além disso, pode ser usada na seleção de animais jovens ou na aquisição de potros jovens, possibilitando a comparação da estatura com a curva de crescimento da raça, permitindo maximizar o retorno econômico.

Em animais adultos, poucos estudos relatam a altura na cernelha e as medidas morfométricas da raça Pônei Brasileiro (BARTHOLAZZI JUNIOR et al., 2017, 2018; BERGMANN et al., 1997b; COSTA et al., 2001; QUIRINO et al., 2012). Este estudo aborda pela primeira vez a altura na cernelha desde o nascimento até a os 44 meses de idade e avalia a precisão de cinco modelos comumente usados para descrever o crescimento de animais.

A altura média de animais adultos do Pônei Brasileiro observada neste estudo (88,65 cm) foi inferior do relatado por Costa et al. (2001) que avaliaram todos os animais registrados da raça Pônei Brasileiro, observaram altura na cernelha de 95,8 cm. Essa diminuição foi associada por Costa et al. (2001) por estar havendo uma tendência genética favorável à redução do porte dos animais, possivelmente pela seleção animal. Além disso, a diminuição do porte dos animais poderia estar relacionada à depressão endogâmica (BERGMANN et al., 1997a).

Esta menor estatura foi alcançada, possivelmente, pela seleção para menor estatura nos pôneis Brasileiros. A média de altura observada encontra-se muito abaixo dos limites máximos de altura definidos pela associação de criadores que apresenta como padrão de raça para registro a altura máxima de 100 cm nos

machos e 110 cm nas fêmeas (ABCCPONEI, 2018), evidenciando o interesse dos criadores pela diminuição do porte dos animais.

A raça Pônei Brasileiro se caracteriza pela sua baixa estatura mesmo quando comparada com outras raças pônei. Diante desse contexto, Martinson et al. (2014) observaram altura na cernelhas de 119 cm para o pônei Shetland e 127 cm para a raça Welsh Ponei. Nesta direção, Brown et al. (2013) observaram altura na cernelha de 108,04 para o pônei Skyrian, 112 cm para os cavalos Cáspios e 122,39 para o pônei Exmoor.

A altura dos equinos apresenta pouca influência ambiental e diversos autores já identificaram que a dieta e a restrição alimentar não interfere na altura final dos animais (GIBBS; SIGLER; GOEHRING, 1989; LAWRENCE et al., 1991; OTT; ASQUITH, 1986; REZENDE et al., 2000), sugerindo que o componente genético é o determinante para altura em equinos.

A menor estatura nos pôneis poderia ser explicada pelos diferentes alelos nos genes que regulam o crescimento ósseo. Alguns autores sugeriram que o *LASP1* é um gene candidato à estatura em animais, pois seu nível de expressão afeta a formação de tecido cartilaginoso, diferenciação osteogênica e migração celular (HERMANN-KLEITER et al., 2009; HU et al., 2014; LIN et al., 2004). Da mesma forma, o gene *LCORL* tem sido associado à altura dos cavalos, por vários autores, (BOYKO et al., 2014; MAKVANDI-NEJAD et al., 2012), possivelmente ligado a um fator de transcrição associado a genes envolvidos no desenvolvimento do esqueleto ósseo (METZGER et al., 2013).

Frente a este cenário, Bartholazzi Junior et al. (2018) identificaram em animais da raça Pônei Brasileiro que todos os animais apresentaram o genótipo T/T (*LCORL*) associado à baixa estatura. Além disso, eles observaram que os pôneis dos genótipos G/G e G/A (*LASP1*) apresentaram as menores medidas para a altura na cernelha em relação aos pôneis do genótipo A/A.

Os potros da raça Pônei Brasileiro nascem com 57% da altura adulta, com rápido crescimento nos primeiros três meses e aos 12 meses já apresentam 89% da altura adulta. Segundo Martin-Rosset (1983) o crescimento da altura na cernelha é muito rápido e precoce durante as fases de prenhez e amamentação do potro.

Em uma análise da raça Caspian Horse, avaliados por Ghavi Hossein-Zadeh and Ghorbani (2018), a altura na cernelha estimada ao nascimento foi de 71 cm.

Este valor corresponde aproximadamente a 63% da altura adulta (112 cm) do Caspian (BROWN; MOORE-COLYER; HANNANT, 2013). Em suas investigações, Fradinho et al. (2016) observaram que cavalos Lusitano criados em Portugal, apresentaram aos 18 meses de idade 92% da altura adulta (1,61 cm).

Aos três meses de vida os potros apresentaram uma estabilização do crescimento, possivelmente, pelo aumento das necessidades nutricionais que após os dois a três meses de idade, excedem os nutrientes providos pelo leite materno (LEWIS, 1987). Após o sexto mês os potros voltaram a crescer rapidamente, podendo estar ocorrendo o ganho compensatório em relação ao período do terceiro ao sexto mês de vida. Neste período o potro se adapta ao consumo de forragens atendendo as suas necessidades nutricionais.

A altura assintótica (A) observada nos modelos avaliados na raça Pônei Brasileiro foi inferior a observada por Ghavi Hossein-Zadeh and Ghorbani (2018) para cavalos Cáspios que variou de 99,94 cm na função logística a 102,03 cm na função de Brody, diferença que está associada a diferente altura a maturidade entre as raças.

O parâmetro k que representa a taxa de maturação foi superior em nosso estudo (0,131 na função de Brody) comparado ao observado por Ghavi Hossein-Zadeh and Ghorbani (2018) em Caspian horse (0,064, função de Brody), e ao observado por Fradinho et al. (2016) em cavalos Lusitanos (0,0035, função de Brody). Em seus estudos, Ribeiro et al. (2018) encontraram valores para taxa de maturação (k) na raça Mangalarga Machador para função de Brody de 0,088 e 0,074 para fêmeas e machos, respectivamente.

Estes resultados indicam que o Pônei Brasileiro apresenta um crescimento mais acelerado que as raças comparadas de maior estatura, corroborando com o observado para as médias de altura na cernelha nas diferentes idades onde atingiram 89% da altura adulta, aos 12 meses de idade. Esta taxa de crescimento poderia indicar um desenvolvimento precoce tanto para o crescimento quanto para a vida reprodutiva.

Na presente pesquisa, não foi observada diferença na altura na cernelha entre machos e fêmeas. Diferente do nosso estudo alguns autores que observaram maior altura a maturidade em machos (FRADINHO et al., 2016; GHAVI HOSSEIN-ZADEH; GHORBANI, 2018; RIBEIRO et al., 2018). Estas diferenças podem ser

devidas ao objetivo de seleção para menor estatura no Pônei Brasileiro, sendo os garanhões, mais selecionados para estatura e apresentarem altura similares as fêmeas.

Os cinco modelos analisados apresentaram pouca variação, tendo o QME variado de 35,04 to 36,46 e apresentado o mesmo valor de R^2 em todos os modelos ($R^2= 0,994$). Além disso, o erro médio de predição foi muito baixo em todos os modelos, apresentando a função de Richards um erro médio de predição ligeiramente inferior as demais funções. Desta forma, todos os modelos podem ser utilizados para estimar a curva de crescimento na raça Pônei Brasileiro, sendo a função de Richards o modelo de escolha pela precisão da estimação da altura.

Kocher and Burton Staniar (2013) utilizou a função de Richards para estudar o crescimento em cavalos Puro Sangue Inglês, obtendo no parâmetro A valor de 168,9 cm, k valor de 0,0016 e R^2 de 0,922 para a altura na cernelha. Anos antes, Morel et al. (2007) identificou a equação polinomial de terceira ordem (3° polinômio) como a melhor função para descrever o ganho de peso em cavalos Puro Sangue Inglês, e observou R^2 de 0,9998 para esta função.

Fradinho et al. (2016) indicaram a função de Richards como o melhor modelo para descrever o crescimento em cavalos Lusitanos. Estes autores encontraram R^2 variando de 0,942 a 0,954 para os mesmos modelos avaliados em nosso estudo. Valette et al. (2008) observaram valores inferiores para o R^2 para as curvas de crescimento, com valores de 0,827 a 0,990 para Puro Sangue Inglês, 0,827 a 0,990 para o cavalo de Sela Francês e 0,830 a 0,990 para o Trotador French.

Ainda sobre a questão, Ribeiro et al. (2018) indicaram a função logística para descrever o crescimento em altura na cernelha de animais Mangalarga Marchador, observando valores de R^2 de 0,9535 para fêmeas e 0,9396 para machos. Estes autores não avaliaram a função de Richards em seu estudo. Diferentemente de Santos et al. (1999), que em cavalos Pantaneiro, identificaram as funções de Richards e Weibull como os melhores modelos de predição para a altura.

Seguindo a mesma linha de raciocínio Onoda et al. (2011) também indicaram a função de Richards para a curva de crescimento em Puro Sangue Inglês e observaram em seu trabalho ganho compensatório sazonal. Este modelo apresentou o melhor ajuste nestes diversos estudos e pareceu ser o mais indicado para o estudo do crescimento nesta espécie.

CONCLUSÃO

Os cinco modelos não lineares avaliados no presente estudo apresentaram bom ajuste para caracterizar o padrão de crescimento da altura na cernelha da raça Pônei Brasileiro. A função Richards foi selecionada como o melhor modelo para descrever a curva de crescimento da raça. Estes resultados podem ser utilizados para auxiliar os criatórios nas decisões de seleção de potros baseado na sua curva de crescimento.

REFERÊNCIAS

- ABCCPONEI. **Brazilian Association of Pony Breeders. Racial pattern.** Disponível em: <<http://www.abccponei.org.br>>.
- BARTHOLAZZI JUNIOR, A. et al. Linear measurements of horses of the Pônei Brasileiro breed. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 2, p. 1–12, 2017.
- BARTHOLAZZI JUNIOR, A. et al. Polymorphisms in the LASP1 gene allow selection for smaller stature in ponies. **Livestock Science**, v. 216, n. September 2017, p. 160–164, 2018.
- BERGMANN, J. A. G. et al. Formação e estrutura genética da raça pônei Brasileira. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 49, n. 2, p. 251–259, 1997a.
- BERGMANN, J. A. G. et al. Formação e estrutura genética da raça pônei brasileira. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 49, n. 2, p. 251–259, 1997b.
- BOYKO, A. R. et al. Genomic analysis establishes correlation between growth and laryngeal neuropathy in Puro Sangue Inglês. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 259, 2014.
- BROWN, S. A.; MOORE-COLYER, M. J. S.; HANNANT, D. Phenotypic analyses support investigations of phylogeny in the Skyrian pony and other breeds. **Bioscience Horizons**, v. 6, p. 1–8, 2013.
- COSTA, M. D. et al. Tendência genética de medidas lineares de pôneis da raça Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 2, p. 1–11, 2001.
- FRADINHO, M. J. et al. Growth and development of the Lusitano horse managed on grazing systems. **Livestock Science**, v. 186, p. 22–28, 1 abr. 2016.
- GHAVI HOSSEIN-ZADEH, N.; GHORBANI, A. Modeling the growth curves for body weight and some biometric traits in Caspian horses (*Equus ferus caballus*) using non-linear mixed models. **Mammalian Biology**, v. 93, p. 5–12, 1 nov. 2018.
- GIBBS, P. G.; SIGLER, S. H.; GOEHRING, T. B. Influence of diet on growth and development of yearling horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 9, n. 4, p. 215–218, 1989.
- HERMANN-KLEITER, N. et al. Lasp1 misexpression influences chondrocyte differentiation in the vertebral column. **International Journal of Developmental Biology**, v. 53, n. 7, p. 983–991, 2009.
- HU, J. et al. Proteomic analysis on effectors involved in BMP-2-induced osteogenic differentiation of beagle bone marrow mesenchymal stem cells. **Proteome Science**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2014.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/cnt/brasil>>. Acesso em: 3 dez. 2018.

KOCHER, A.; BURTON STANIAR, W. The pattern of Puro Sangue Inglês growth is affected by a foal's birthdate. **Livestock Science**, v. 154, n. 1–3, p. 204–214, 1 jun. 2013.

LAWRENCE, L. et al. Growth responses in hand reared on naturally reared Quarter Horse. **Equine Pract.**, v. 13, n. 2, p. 19–26, 1991.

LIN, Y. H. et al. Regulation of cell migration and survival by focal adhesion targeting of Lasp-1. **The Journal of Cell Biology**, v. 165, n. 3, p. 421–432, 2004.

MAKVANDI-NEJAD, S. et al. Four loci explain 83% of size variation in the horse. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, p. 1–6, 2012.

MARTIN-ROSSET, W. **Particularités de la croissance et du développement du cheval**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00888205>>. Acesso em: 22 jan. 2020.

MARTINSON, K. L. et al. Estimation of body weight and development of a body weight score for adult equids using morphometric measurements. **Journal Animal Science**, v. 92, n. 5, p. 2230–2238, 2014.

METZGER, J. et al. Expression Levels of LCORL Are Associated with Body Size in Horses. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. 1–9, 2013.

MOREL, P. C. H. et al. Growth curves from birth to weaning for Puro Sangue Inglês foals raised on pasture. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 55, n. 6, p. 319–325, dez. 2007.

ONODA, T. et al. Empirical Growth Curve Estimation Using Sigmoid Sub-functions that Adjust Seasonal Compensatory Growth for Male Body Weight of Puro Sangue Inglês Horses. **Equine Sci**, v. 22, n. 2, p. 37–42, 2011.

OTT, E. A.; ASQUITH, R. L. Influence of Level of Feeding and Nutrient Content of the Concentrate on Growth and Development of Yearling Horses. **Journal of Animal Science**, v. 62, n. 2, p. 290–299, 1 fev. 1986.

PEROTTO, D.; CUE, R. I.; LEE, A. L. Comparison of nonlinear functions for describing the growth curve of three genotypes of dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 72, p. 773–782, 1992.

QUIRINO, C. R. et al. Caracterização de pôneis da raça brasileira através de medidas lineares. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal**, v. 2, p. 71–74, 2012.

REZENDE, A. S. C. DE et al. Efeito de dois diferentes programas nutricionais sobre o desenvolvimento corporal de potros Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 495–501, abr. 2000.

RIBEIRO, R. A. et al. Curva de crescimento em altura na cernelha de equinos da raça Mangalarga Marchador considerando-se heterocedasticidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 1, p. 272–278, jan. 2018.

SANTOS, S. A. et al. Using nonlinear models to describe height growth curves in pantaneiro horses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 1133–1138, 1999.

VALETTE, J. P.; ROBERT, C.; DENOIX, J. M. Use of linear and non-linear functions to describe the growth of young sport- and race-horses born in Normandy. **Animal**, v. 2, n. 4, p. 560–565, 2008.

CAPÍTULO 3

Diversidade genética, endogamia e estrutura populacional de equinos da raça Pônei Brasileiro

Genetic diversity, inbreeding and population structure of Brazilian Pony breed

Resumo

Os equinos da raça Pônei Brasileiro, são registrados na Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Pônei, mas carecem de informações sobre seu status de diversidade genética, taxa de endogamia e estrutura populacional, informações que seriam importantes para o melhoramento genético da raça. Desta forma, o objetivo do trabalho é avaliar a diversidade genética, endogamia e estrutura populacional de equinos da raça Pônei Brasileiro. Foram coletadas amostras de pelo de 98 animais pertencentes a dois haras do estado do Rio de Janeiro, Brasil. Foi realizada a genotipagem de 27 locos microssatélites. Com base nos alelos identificados foi realizada a estatística descritiva e a estimativa da diversidade genética, dos locos microssatélites e em cada rebanho de acordo com o haras de origem. Foi analisada a diferenciação genética entre os indivíduos e entre haras e a estrutura populacional de todo o rebanho. A população estudada de equinos da raça Pônei Brasileiro apresentou elevado número de alelos por loco (9,22), valores muito próximos para heterozigosidade observada e heterozigosidade esperada de 0,751 e 0,784, respectivamente. O índice de Shannon apresentou valor médio de 1,788. Os plantéis avaliados apresentaram uma baixa endogamia, com média de 0,011. Não foi identificada diferenciação entre os plantéis dos haras estudados e a maior parte da variância molecular é encontrada dentro dos indivíduos. A análise de estrutura populacional identificou o $K=2$ como o número de populações dentre os animais avaliados. Os animais da raça Pônei Brasileiro apresentaram diversidade genética moderada e leve perda de heterozigosidade. A taxa de endogamia entre os animais foi baixa e a estrutura populacional é composta por duas linhagens distintas. Medidas para aumentar a diversidade genética, como a introdução de animais de

linhagens diferentes, seriam interessantes para elevar o número de alelos de interesse para o melhoramento genético dos animais.

Palavras chave: *Equus caballus*, heterozigosidade, melhoramento genético, microssatélites, variabilidade genética.

INTRODUÇÃO

Desde o primeiro ancestral conhecido, há 50 milhões de anos atrás, diversos fatores levaram a evolução até os equinos modernos, alterando drasticamente sua estrutura corporal, tamanho e seu comportamento. Atualmente os equinos se diferenciam em diversas raças com padrões morfológicos e aptidões diversificadas e com grande variação intraracial.

A seleção dos equinos baseia-se nas características de mensurações subjetivas como andamento, premiações em exposições (COSTA et al., 2005), sendo utilizados poucos reprodutores e matrizes para a reprodução. Como o reprodutor é responsável pela metade do patrimônio genético da progênie, e pela utilização de um reprodutor para cobrir diversas matrizes, este apresenta uma contribuição maior que as matrizes para a melhoria do material genético do rebanho e da eficiência produtiva (GATTI et al., 2004). Entretanto a utilização de poucos progenitores apresenta riscos ao rebanho, pois eleva o grau de endogamia (PEREIRA, 2008).

O acasalamento de indivíduos geneticamente similares leva ao aumento da homozigose de alelos deletérios indesejáveis, o que pode provocar problemas reprodutivos e produtivos, denominados de depressão endogâmica (GONÇALVES et al., 2011), e ainda, colocar o futuro de uma raça ou população em risco.

O estudo de diversidade genética avalia a diferença genética entre indivíduos, populações e espécies, representada por diferenças em sequências de DNA descrita como polimorfismos (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2010) permitindo inferir as proporções de Hardy-Weinberg, a heterozigosidade (ALLENDORF; LUIKART, 2007) e o tamanho efetivo populacional (CHAVES, 2011), culminando no status de similaridade genética entre os indivíduos.

Para os estudos de diversidade genética são utilizados marcadores moleculares, uma ferramenta capaz de detectar variações genéticas no DNA, são numerosos e distribuídos aleatoriamente cobrindo todo o genoma (YANG et al., 2013). Os marcadores microssatélites, ocupam uma posição de destaque para os estudos de diversidade apresentando vantagens como: possuir inúmeros locos microssatélites, cobrir extensivamente o genoma, de natureza multialélica, de fácil

amplificação, têm herança do tipo mendeliana e são expressos como alelos co-dominantes (BORÉM; CAIXETA, 2009).

Os pôneis da raça Pônei Brasileiro foram originados do cruzamento das raças Shetland da Escócia, dos Falabella da Argentina, além de alguma influência de animais oriundos do Paraguai e Uruguai (ABCCPONEI, 2018), e se difundiram pelo território nacional atingindo mais de 26.738 animais registrados (IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015). O padrão racial atual, determina sua altura e estrutura ideal e apresentando todas as diferentes pelagens comuns aos equinos de diferentes raças (ABCCPONEI, 2018).

Entretanto, os equinos desta raça carecem de informações sobre características produtivas, reprodutivas e principalmente de sua diversidade genética, nível de endogamia e estrutura populacional, para dar suporte no melhoramento genético da raça. Desta forma, objetivou-se avaliar o status da diversidade genética, endogamia e estrutura populacional de equinos da raça Pônei Brasileiro, pertencentes a dois plantéis do estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS

Foram utilizados 98 equinos da Raça Pônei Brasileiro, sendo, garanhões, éguas e suas crias machos e fêmeas durante os anos de 2016 e 2019. Os animais pertencentes a dois plantéis no estado do Rio de Janeiro, Brasil, sendo 68 animais do Haras 1 e 30 animais do Haras 2. Os animais foram mantidos nos haras com manejo específico, sendo, os garanhões mantidos em baias com feno, ração comercial (Nutriage 15, Guabi®), água *ad libitum* e sal mineral (Suprasal Equino 80 Plus, Supra®) *ad libitum*. As fêmeas mantidas a campo com manejo semi-intensivo com água *ad libitum* e sal mineral (Suprasal Equino 80 Plus, Supra®) *ad libitum*.

COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de pelo para extração do DNA, as amostras foram provenientes de pelos coletados da porção inicial da cauda dos animais, sendo estes avaliados em microscópio óptico para selecionar pelos com os bulbos pilosos íntegros.

EXTRAÇÃO DO DNA

A extração de DNA das amostras de pelo foi realizada utilizando 5 bulbos dos pelos coletados de cada animal. Estes bulbos foram cortados e colocados em microtubos onde ocorreu a reação de extração de DNA.

A reação de extração foi realizada utilizando o kit comercial NucleoSpin Tissuet (Macherey-Nagel, Düren, Germany), seguindo as recomendações dos fabricantes.

A quantificação do DNA foi realizada por espectrofotômetro no aparelho NanoDrop™ 2000 (Thermo Science) e para cada amostra o DNA extraído foi diluído para uma concentração final de 10ng.

GENOTIPAGEM DE MICROSSATÉLITES

Foram utilizados 27 locos de microssatélites (AHT4, AHT5, ASB17, ASB2, ASB23, CA425, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, HTG4, HTG7, HTG10, VHL20, TKY287, TKY294, TKY297, TKY301, TKY321, TKY325, TKY333, TKY337, TKY341, TKY343, TKY374, TKY394), sendo estes escolhidos com base na lista de recomendação pela International Society for Animal Genetics (INTERNATIONAL SOCIETY FOR ANIMAL GENETICS (ISAG), 2012) e do painel adicional da série TKY, para estudos de diversidade genética e paternidade em equinos.

A genotipagem foi realizada utilizando o sequenciador capilar MegaBACE 1000 DNA Analysis System (GE Healthcare), em laboratório credenciado pelo Ministério de Agricultura, pecuária e Abastecimento-MAPA do Brasil

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os animais foram classificados de acordo com o haras de origem (Haras 1 e Haras 2). Foi realizada as análises descritivas por marcador molecular e por haras.

A partir dos alelos identificados dos marcadores microssatélite foi avaliada a estatística descritiva básica da genética populacional utilizando o software GenAIEx versão 6.502 (PEAKALL; SMOUSE, 2012); onde foram estimados: número de alelos diferentes (N_a), número efetivo de alelos (N_e), número privativo de alelos (N_p), porcentagem de locos polimórficos (PI), índice de Shannon (IS), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e), índice de fixação (F) e para detectar desvios globais e populacionais (por loco) do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foi realizado o teste exato de Fisher. A distribuição da diversidade genética entre as populações foi estudada através da análise das distâncias genéticas de Nei (NEI; TAJIMA; TATENO, 1983) e das estatísticas F de Wright (F_{IS-f} ,

$F_{ST-\theta}$ e F_{IT-F}). A significância foi testada com base no método de bootstrapping sobre loco após 999 permutações de alelos dentro de uma população.

Para avaliar a distribuição da diversidade genética e estimar os componentes de variância das populações, a análise molecular de variância (AMOVA) baseada em locos de microsatélites foi determinada através do software GenAlEx versão 6.502 (PEAKALL; SMOUSE, 2012), usando 999 permutações.

Foi testada a metodologia proposta por Smouse et al. (2015) para avaliar a diferenciação populacional. Para tal, parâmetros de informação de Shannon foram avaliados realizando 999 permutações com todos os locos. Esta abordagem utiliza medidas de Shannon e diversidade análogas a F_{ST} para construir uma matriz de distâncias entre os plantéis.

A diferenciação genética entre os indivíduos dos diferentes haras foi estabelecido através de análise multivariada de distâncias gênicas baseado no método de Coordenadas Principais (PCoA) via matriz com dados padronizados. PCoA e distâncias genéticas de Nei foram calculadas no software GenAlEx versão 6.502 (PEAKALL; SMOUSE, 2012) utilizando a matriz de distância dos alelos compartilhados. Também através da matriz de distâncias, o estudo de agrupamento com base na média das distâncias entre todos os pares de genótipo (UPGMA) foi realizada no software MEGA v.5.05 (TAMURA et al., 2011), resultando em um dendrograma que apresenta o agrupamento dos indivíduos de acordo com os alelos apresentados.

A estrutura populacional foi analisada utilizando o software STRUCTURE 2.3.4 (PORRAS-HURTADO et al., 2013; PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000), que emprega funções baseadas em algoritmos bayesianos de agrupamento, considerando um modelo de ancestralidade mista (admixture) e com frequências correlacionadas. O período de burn-in foi de 200.000 rodadas seguidas de 500.000 interações MCMC (Markov Chain Monte Carlo). Para observar o número de clusters possíveis na população, foi realizado o teste independente "K" de 1 a 10 conglomerados com 20 repetições, verificando, assim, a consistência dos resultados. O valor ideal de "K" foi avaliado após a análise do arquivo de resultados pelo método Evanno (EVANNO; REGNAUT; GOUDET, 2005), utilizando o software STRUCTURE Harvester versão 0.6.94.2012 (EARL; VONHOLDT, 2012). Uma vez identificado o número ideal de subpopulações foi realizada uma última análise no

software STRUCTURE selecionando o “K” ótimo para gerar a plotagem que ilustra a estrutura populacional.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO ALÉLICA E ESTIMATIVAS DE DIVERSIDADE GENÉTICA

Todos os 27 locos microssatélites avaliados apresentaram boa amplificação. A porcentagem de locos polimórficos foi de 100%, indicando a eficiência na aplicação destes locos para estudos de parentesco e diversidade genética em equinos. Das 2646 amostras analisadas foram observados apenas 39 alelos nulos (0,68%), que representam amostras que não foram amplificadas.

Os parâmetros populacionais por loco microssatélites são apresentados na Tabela 1. Em relação a todos os indivíduos do experimento, o número de alelos por loco variou de 5 (HTG7) até 13 (ASB17). O menor número de alelos efetivos foi no loco HTG7 (2,554) e maior no loco TKY325 (9,765). A população estudada de equinos da raça Pônei Brasileiro apresentou elevado número médio de alelos por loco (9,22).

O IS variou de 1,188 (HTG7) a 2,357 (TKY287). A menor heterozigidade observada foi no loco HTG7 com valor de 0,582 e maior no loco HTG10 com valor de 0,887. O IS indica diversidade genética moderada e a H_o nos locos analisados foi inferior a H_e . Entretanto, apresentaram valores muito próximos e média na H_o e H_e de 0,751 e 0,784, respectivamente. Desta forma, os equinos da raça Pônei Brasileiro estudados apresentaram diversidade genética moderada, com uma leve perda de diversidade genética e heterozigidade nos plantéis.

Tabela 1. Estatística descritiva da genética populacional de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Loco	N	Na	Ne	IS	Ho	He	HW Prob
AHT4	98	9	5,826	1,911	0,796	0,828	0,000***
AHT5	95	8	4,337	1,648	0,779	0,769	0,881
ASB17	98	13	7,345	2,195	0,857	0,864	0,360
ASB2	98	8	4,871	1,741	0,847	0,795	0,002**
ASB23	98	6	4,390	1,622	0,735	0,772	0,101
CA425	96	8	3,058	1,414	0,646	0,673	0,298
HMS1	98	7	2,584	1,197	0,612	0,613	0,597
HMS2	98	8	5,628	1,826	0,878	0,822	0,000***
HMS3	98	9	5,359	1,824	0,796	0,813	0,259
HMS6	98	7	4,637	1,640	0,724	0,784	0,022*
HMS7	96	9	6,065	1,907	0,771	0,835	0,142
HTG4	98	7	3,379	1,463	0,755	0,704	0,612
HTG7	98	5	2,554	1,188	0,582	0,608	0,403
HTG10	97	11	5,821	1,986	0,887	0,828	0,795
VHL20	98	10	8,003	2,180	0,816	0,875	0,270
TkY287	90	12	9,524	2,357	0,756	0,895	0,010
TKY294	93	6	3,474	1,352	0,667	0,712	0,002**
TKY297	97	11	4,605	1,783	0,722	0,783	0,862
TKY301	98	10	6,929	2,045	0,776	0,856	0,000***
TKY321	94	9	3,969	1,643	0,787	0,748	0,952
TKY325	98	12	9,765	2,342	0,827	0,898	0,015*
TKY333	97	11	3,296	1,692	0,588	0,697	0,000***
TKY337	95	8	4,003	1,549	0,684	0,750	0,286
TKY341	93	11	6,191	2,031	0,785	0,838	0,000***
TKY343	97	12	4,652	1,874	0,691	0,785	0,004**
TKY374	98	10	4,577	1,767	0,745	0,781	0,037*
TKY394	94	12	6,779	2,091	0,766	0,852	0,059
Média	96,52	9,22	5,25	1,788	0,751	0,784	0,258

N: número de amostras, Na: número de alelos, Ne: número de alelos efetivos, IS: Índice de Shannon, Ho: heterozigossidade observada, He: heterozigossidade esperada e HW Prob: Probabilidade do Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Avaliando os plantéis dos dois haras separadamente (Tabela 2), o número de alelos médios, número de alelos efetivos e o índice de Shannon foi maior no Haras 1. Entretanto, neste haras a heterozigosidade observada foi menor que a esperada, indicando perda de diversidade genética. Por outro lado os animais do Haras 2 apresentaram heterozigosidade observada maior que a esperada. Estes resultados apontam para um número elevado de alelos heterozigotos nos indivíduos desta população e elevada diversidade genética.

De forma geral, os plantéis apresentaram elevado número de alelos, número de alelos efetivos por loco e heterozigose observada por loco nas populações estudadas.

O índice de Fixação (F) mede o nível de endogamia dentro das populações, os animais do Haras 1 obtiveram maior F que os animais do Haras 2, com os valores respectivos de 0,050 e -0,027, e a média de todos os indivíduos foi de 0,011. Os plantéis avaliados apresentaram uma baixa endogamia.

O índice de Shannon (IS), medida utilizada em ecologia para quantificar a diversidade das espécies, mede o grau de certeza em se prever a proximidade genética entre indivíduos e quanto menor a diversidade menor o IS. O Haras 2, apesar de apresentar maior proporção de heterozigotos ($H_o > H_e$), apresentou menor diversidade que o Haras 1. Este fato pode estar associado ao menor número de indivíduos no rebanho do Haras 2 em relação ao Haras 1.

Tabela 2. Estatística descritiva da genética populacional de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Rebanho	Na	Ne	Np	IS	Ho	He	F
Haras 1	8,815	5,205	1,630	1,768	0,742	0,783	0,050
Haras 2	7,593	4,533	0,407	1,653	0,770	0,752	-0,027

Na: número de alelos, Ne: número de alelos efetivos, Np: número de alelos privativos, IS: índice de Shannon, Ho: heterozigosidade observada, He: heterozigosidade esperada e F: índice de fixação.

DIFERENCIAÇÃO E ESTRUTURA POPULACIONAL

A distância genética de Nei observada entre os dois plantéis foi de 0,119, representado uma baixa diferenciação entre os haras. Este resultado poderia indicar

uma translocação de indivíduos entre os haras ou a aquisição de exemplares de linhagens semelhantes.

Na Tabela 3 é apresentada a análise molecular da variância (AMOVA) dos equinos da raça Pônei Brasileiro. Apesar de significativo, a variância foi apenas de 2% e 6% entre populações e entre indivíduos, respectivamente. Segundo a AMOVA 92% da variância molecular está contida dentro dos indivíduos, devido à heterozigosidade dos indivíduos.

Tabela 3. Análise molecular da variância (AMOVA) de equinos da raça Pônei Brasileiro.

FV	GL	SQ	QM	S²	Varição	P valor
Entre Populações	1	29,619	29,619	0,220	2%	P< 0,001
Entre Indivíduos	96	1081,545	11,266	0,641	6%	P< 0,001
Dentro de indivíduos	98	978,500	9,985	9,985	92%	P< 0,001
Total	195	2089,663	-	10,846	100%	-

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, SQ: somatório do quadrado, QM: quadrado médio e S²: variância estimada.

A análise da estatística de Shannon dos equinos da raça Pônei Brasileiro, com o índice de informação de Shannon, diversidade estimada (De) e escalada de diversidade (ED) são apresentadas na Tabela 4.

O maior IS foi dentro das populações com valor de 1,413 e foi de 0,055 entre as populações. Assim como no resultado da AMOVA a maior variação molecular (96,24%) está dentro da população (nos indivíduos). A De e ED dentro da população foi de 4,109 e 0,771, respectivamente. Entre as populações a De e ED foi de 1,057 e 0,117, respectivamente.

Tabela 4. Análise da estatística de Shannon de equinos da raça Pônei Brasileiro.

FV	GL	IS	Varição %	De	ED	P valor
Entre Populações	1	0,055	3,76	1,057	0,117	P< 0,001
Dentro da População	96	1,413	96,24	4,109	0,771	-
Total	97	1,468	100,000	4,343	0,778	-

FV: fonte de variação, GL: graus de liberdade, IS: índice de Shannon, De: diversidade estimada e, ED: escala de diversidade.

A Figura 1 apresenta estrutura populacional através das coordenadas de componentes principais de equinos da raça Pônei Brasileiro. A análise de estrutura populacional e sua distribuição espacial não identificaram isolamento significativo de populações. Os indivíduos apresentam-se distribuídos de forma aleatória com mistura de indivíduos dos dois haras nos planos das coordenadas.

Um total de 14,71% da variância foi explicada pelas três coordenadas dos componentes principais, indicando que existe uma baixa distância genética entre os indivíduos e que através dos componentes principais não foi possível diferenciar os indivíduos em populações diferentes.

Entretanto, pode ser observado que os indivíduos estão dispersos por todo plano espacial da Figura 1, apresentando um distanciamento e isolamento de um número reduzido de indivíduos, que poderia indicar um agrupamento.

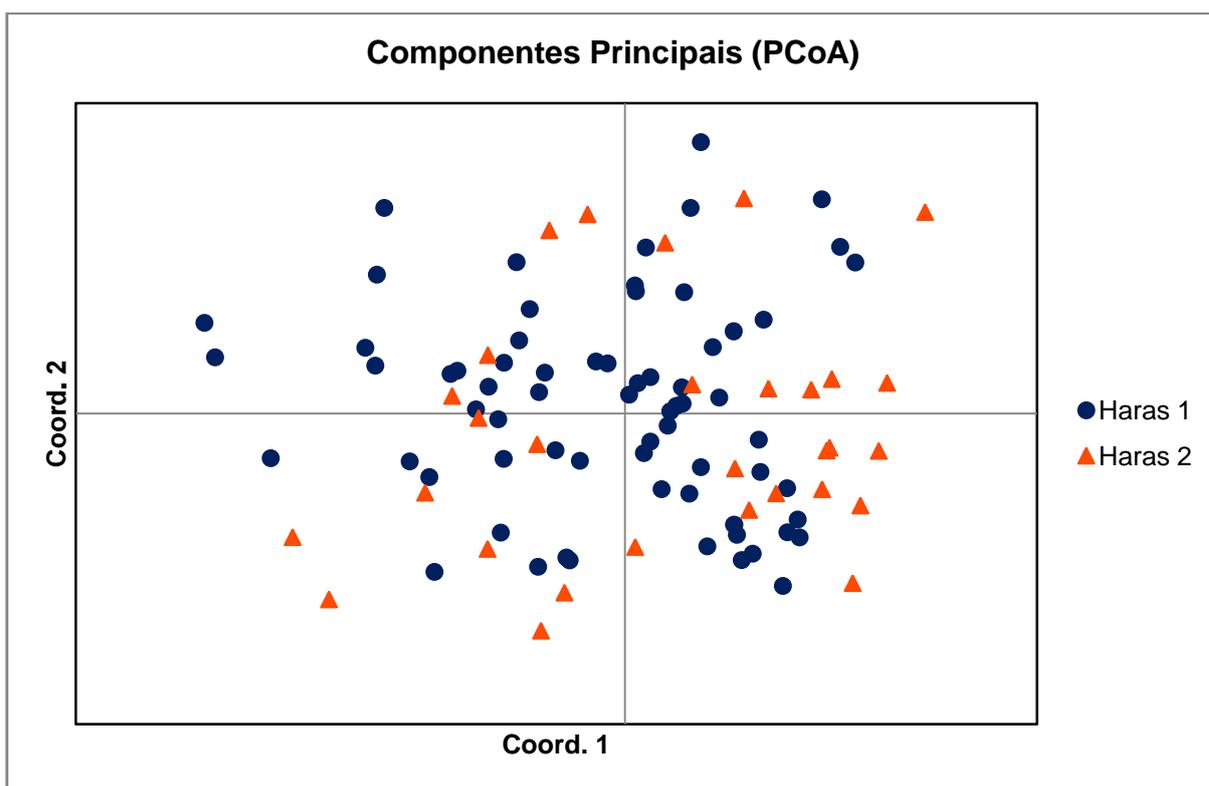


Figura 1. Estrutura populacional através das coordenadas de componentes principais de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Através da matriz de distâncias genéticas de Nei, o estudo de agrupamento com base na UPGMA foi construído o dendograma dos equinos da raça Pônei Brasileiro (Figura 2). Os indivíduos dos dois haras foram agrupados em três clusters

principais. Foram observados dois subclusters originados de um cluster principal agrupando os 96 indivíduos restantes e um cluster com dois indivíduos do Haras 1. Os indivíduos dos dois haras foram agrupados de forma aleatória indicando novamente a similaridade genética entre os indivíduos.

No dendograma é possível observar a grande proximidade genética entre animais do Haras 1, como entre os indivíduos 22 e 60, 28 e 49, 23 e 45, 18 e 36, e 16 e 58. Estes resultados poderiam indicar grande parentesco, possivelmente irmãos, que foram mantidos no mesmo rebanho.

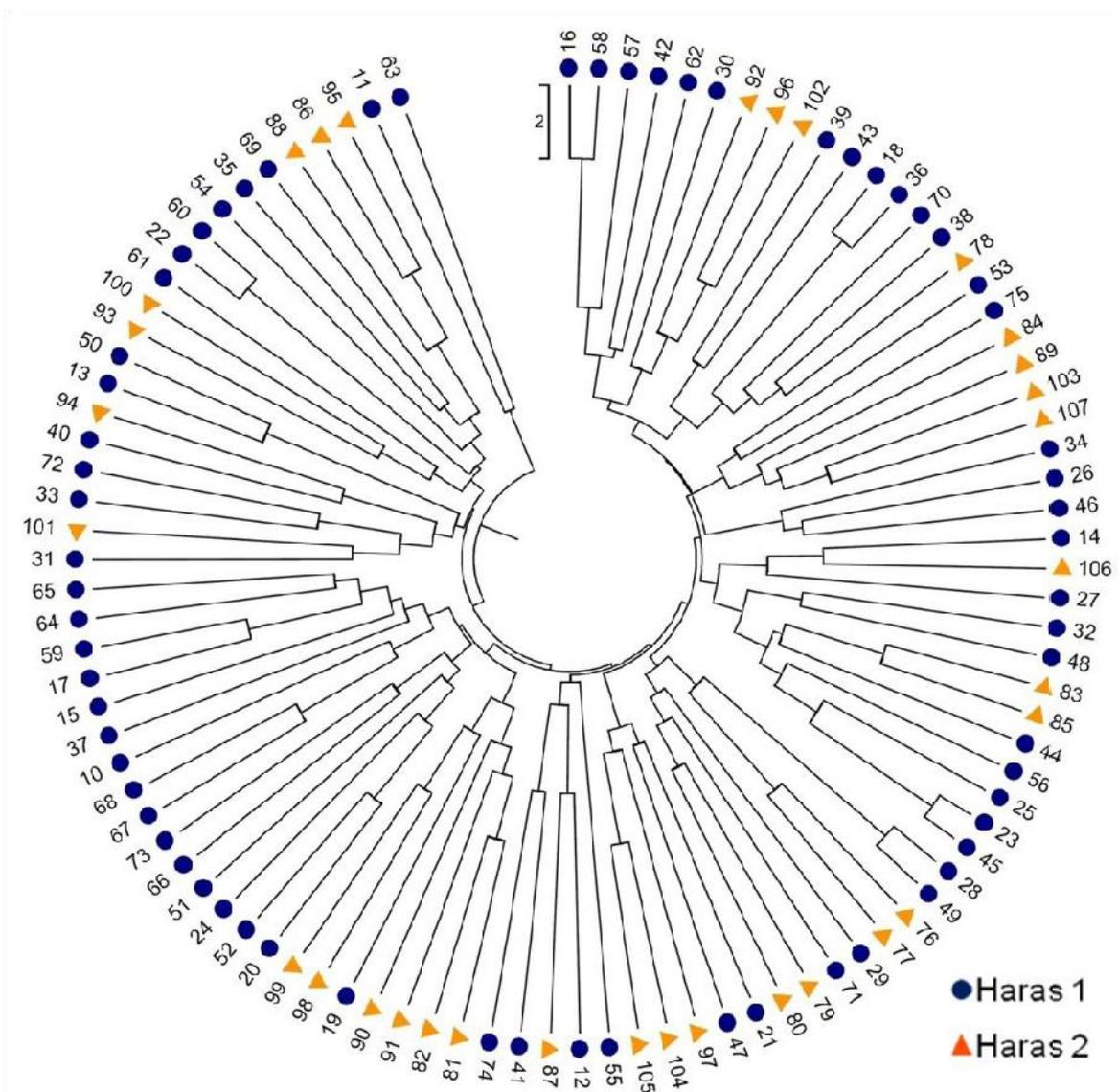


Figura 2. Dendograma das distâncias genéticas construído pela metodologia de UPGMA de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Foi utilizada abordagem Bayesiana pelo software STRUCTURE para agrupamento populacional dos animais com base em seus genótipos a partir de 27 marcadores microssatélite (Figura 3). A análise identificou o K= 2 (número de populações) como o número mais provável de agrupamentos.

É possível observar na plotagem que os animais foram agrupados em duas populações, vermelha e verde. Os indivíduos do Haras 1 (1-68) foram agrupados na população vermelha e verde, enquanto que os indivíduos do Haras 2 (69-98) foram agrupados em sua maioria na população verde. Entretanto, é possível observar nos indivíduos do Haras 2 dois animais agrupados na população vermelha e animais com grande similaridade à população vermelha. Apesar do agrupamento em duas populações, existe baixa distância genética entre os indivíduos do Haras 1 e Haras 2.

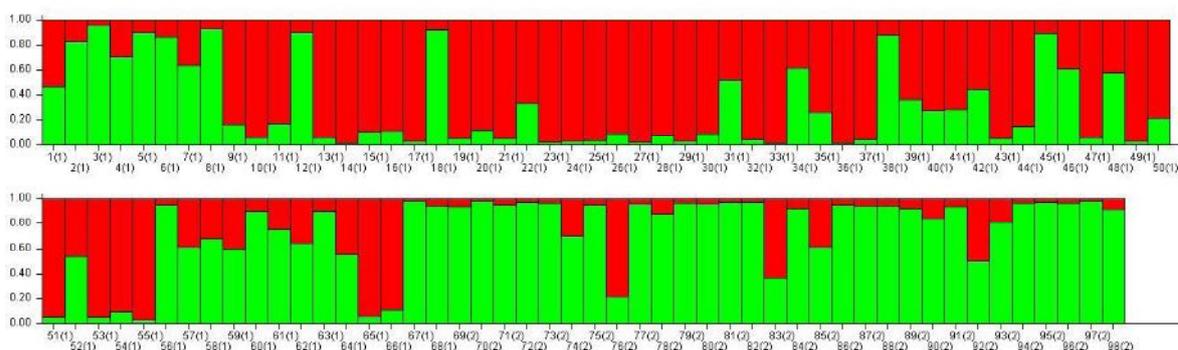


Figura 3. Estrutura populacional (k=2) através da análise Bayesiana de equinos da raça Pônei Brasileiro.

Haras 1: 1-68. Haras 2: 69-98.

DISCUSSÃO

DESCRIÇÃO ALÉLICA E ESTIMATIVAS DE DIVERSIDADE GENÉTICA

A capacidade de sobrevivência de uma espécie depende de sua capacidade de adaptação ao meio e em deixar descendentes, fatores fortemente afetados pela diversidade genética da população. Desta forma, os estudos de diversidade genética devem ser indicados para dar suporte a programas de conservação, para a seleção dos animais e direcionamento dos acasalamentos evitando o aumento da endogamia.

Foram observados, em nosso estudo, um elevado número de alelos por loco (9,22). Estes resultados podem ser influenciados pelo número de indivíduos analisados. De igual modo, Costa et al. (2009) avaliaram a distâncias genéticas em equinos de diferentes raças (Marajoara, Puruca, Mangalarga, Puro Sangue Inglês, Árabe, Pantaneiro coletados no Brasil, e Lusitano, Árabe, Asturcon, Pura Raça Espanhola, Puro Sangue Inglês, Losino, Mallorquina, Menorquina e Potoka coletados na Espanha). Foram utilizados 22 locos microssatélites e detectados 236 alelos, com média igual a 7,5 alelos por locos. O nível de endogamia, destas raças, oscilaram entre -0,009 e 0,042 indicando baixa endogamia.

Autores como Royo et al. (2007) inferindo a variabilidade genética em 580 pôneis da raça Asturcón pertencentes a um programa de conservação animal na Espanha obtiveram média no número de alelos observados por locos de 9,5 alelos em 15 locos microssatélites estudados. Nos estudos analíticos Rendo et al. (2012), avaliaram equinos pôneis da raça Pottoka provenientes da província de Gipuzkoa na Espanha, encontraram como média de 6,88 alelos em 17 locos microssatélites estudados e heterozigidade observada alta, com média de 0.708 entre os locos microssatélites.

Nessa direção, Leroy et al. (2009) avaliaram 34 raças de cavalos através de 11 marcadores microssatélites. Dentre estas, das raças que foram avaliadas, seis eram raças pôneis: Pônei Connemara, Pônei New Forrest, Pônei de Sela Francês, Pônei de Shetland, Pôneis Welsh e Pônei Islandês. Todas as raças pôneis avaliadas apresentaram alta diversidade genética. A heterozigidade observada foi elevada

em todas as raças com maior valor na raça Pônei de Sela Francês (0,79) e apresentou endogamia nula (0,00). A raça Shetland apresentou a menor heterozigosidade (0,65) e o maior nível endogamia (0,06). Vale ressaltar que a Pônei de Shetland foi utilizada para a formação da raça Pônei Brasileiro (ABCCPONEI, 2018).

Os resultados apontam que os equinos da raça Pônei Brasileiro estudados apresentam elevado número de alelos. Entretanto, os indicadores de diversidade genética, como a heterozigosidade e o índice de Shannon, indicam uma diversidade genética moderada com leve perda de heterozigosidade.

Nos animais estudados, o nível de endogamia foi baixo (0,011), tanto o Haras 1, quanto o Haras 2 apresentaram taxa de endogamia próximo de zero (0,050 e -0,027, respectivamente). As matrizes e ganhos destes haras foram adquiridos, em sua maioria, de diferentes haras do território brasileiro, permitindo o acasalamento, entre animais sem grau de parentesco.

Por sua vez, Rendo et al. (2012) avaliaram equinos pôneis da raça Pottoka na Espanha, observaram nível de endogamia na maior parte dos locos estudados entre -0.040 e 0.061, indicando baixa consangüinidade na população estudada. Resultados semelhantes ao observado em nosso estudo.

Os pesquisadores Royo et al. (2007) avaliaram pôneis da raça Asturcón pertencentes a um programa de conservação animal na Espanha, observaram endogamia média de 0,007, indicando pouca endogamia do rebanho e mostrando que o uso de informações de pedigree e moleculares para direcionamento dos acasalamentos manteve constante as frequências alélicas após o conhecimento destas informações.

Em suas análises, Bigi and Perrotta (2012) estudaram as raças Anglo-Árabe, Árabe, Bardigiano, Catria, Haflinger, Italian Heavy Draught, Trotador Italiano, Lipizzan, Maremmano, Murgese e Puro Sangue Inglês por meio de 11 marcadores microssatélites. O nível de endogamia foi baixo e variou de -0,04 (Haflinger) a 0,07 (Catria).

Os estudos de Khanshour et al. (2013) avaliaram cavalos da raça Akhal Teke, Turkoman, Cáspio, Przewalski e diferentes linhagens da raça Árabe, utilizando 15 locos de microssatélites. Apenas uma linhagem da raça Árabe (Árabe Ocidental - Davenport) apresentou baixa diversidade genética ($H_o = 0,40$) e foi endogâmica

(Fis= 0,132). As demais raças e linhagens da raça Árabe avaliadas apresentaram heteroziguidade observada entre 0,53 a 0,75 e endogamia de -0,114 a 0,047.

A utilização das biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial e a transferência de embriões, aumenta a utilização de poucos animais, principalmente garanhões, para a formação de novos indivíduos e eleva o grau de endogamia dos plantéis equinos (AMARAL, 2012). Entretanto, estas biotecnologias não são utilizadas rotineiramente nas raças pôneis e nos haras estudados.

Outro fator que interfere na endogamia é o intervalo de gerações que na espécie equina é elevado, variando de 8 a 12 anos comparada aos bovinos (4-6 anos), ovinos (3-5 anos) e suínos (1,5 a 2 anos) (DA MOTA; ALMEIDA REGITANO, 2012). Quanto maior o intervalo de geração menor a probabilidade de acasalamento entre animais aparentados, devido a substituição de animais do rebanho e a venda constante das progênes pelos haras estudados.

Os indivíduos do Haras 2 apresentaram menor diversidade genética pelo índice de Shannon, possivelmente pelo seu menor tamanho amostral (30 animais). Estes resultados sugerem atenção no direcionamento dos acasalamentos para manter a heteroziguidade e o nível de endogamia observados. Apesar de apresentar maior nível de diversidade (índice de Shannon) estas recomendações também se aplicam ao Haras 1, pois, este apresentou menor nível de heteroziguidade e maior nível de endogamia comparado ao Haras 2.

DIFERENCIAÇÃO E ESTRUTURA POPULACIONAL

Através da análise molecular da variância (AMOVA) e da estatística de Shannon dos equinos da raça Pônei Brasileiro foi possível observar que mais de 90% da variância se encontra dentro dos indivíduos. Estas análises indicaram que existe pouca variação molecular entre as populações. A distância genética de Nei observada entre as duas populações (0,119) também representa uma baixa diferenciação entre os plantéis do Haras 1 e Haras 2, e indicaria uma translocação de indivíduos entre os haras ou a aquisição de exemplares de linhagens semelhantes.

Estes resultados corroboram com o observado na formação dos plantéis dos haras, onde mesmo sendo a maior parte dos animais adquiridos de diferentes haras do território brasileiro, a maioria dos animais do Haras 2 foram adquiridos do Haras 1 ou de mesmas linhagens dos animais adquiridos pelo Haras 1.

A análise de estrutura populacional e sua distribuição espacial, através dos componentes principais, não identificou isolamento significativo de populações, corroborando com o observado na análise molecular da variância (AMOVA), da estatística de Shannon e da distância genética de Nei.

Na plotagem do dendograma é possível observar a grande proximidade genética entre animais dos dois haras. Além disso, este pode ser utilizado para o direcionamento dos acasalamentos selecionando os animais mais distantes geneticamente. Este manejo poderia elevar o nível de heterozigosidade e diminuir os níveis de endogamia nos plantéis. Através do dendograma também seria possível nortear os criadores em futuras translocações de animais entre os haras, que elevaria a diversidade genética nos haras.

A análise de estrutura populacional identificou a presença de duas linhagens diferentes de animais, independente do haras de origem. O rebanho do Haras 2 é composto em sua maioria por animais da linhagem verde, enquanto que o rebanho do Haras 1 é composto por mais animais da linhagem vermelha (Figura 3). Desta forma, mesmo que exista grande similaridade genética entre os indivíduos dos dois haras, ainda é possível e indicado a translocação de indivíduos entre os plantéis.

De forma geral, os animais dos plantéis estudados da raça Pônei Brasileiro apresentaram moderada diversidade genética e baixo nível de endogamia. Entretanto, a baixa diferenciação genética entre os plantéis indica a necessidade de cuidados para manter estes níveis observados, principalmente na seleção dos acasalamentos. Além disso, a aquisição de novas matrizes e garanhões de linhagens diferentes as observadas nos rebanhos poderia aumentar a diversidade genética.

CONCLUSÃO

Os animais analisados da raça Pônei Brasileiro apresentaram diversidade genética moderada. O nível de endogamia entre os animais foi baixo e a estrutura populacional foi composta por duas linhagens distintas, permitindo o acasalamento, de animais do mesmo haras ou entre haras, sem o aumento da endogamia e a perda da diversidade. Entretanto, medidas para aumentar a diversidade genética seriam interessantes para elevar o número de alelos de interesse para o melhoramento genético dos animais.

6 REFERÊNCIAS

ABCCPONEI. **Brazilian Association of Pony Breeders. Racial pattern.** Disponível em: <<http://www.abccponei.org.br>>.

ALLENDORF, F. W.; LUIKART, G. H. **Conservation and the genetics of populations.** Malden: Blackwell Publishing, 2007. v. 136

AMARAL, R. S. **Estrutura populacional, tendência genética e depressão por endogamia em Nelore mocho do Nordeste do Brasil.** [s.l.] Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2012.

BIGI, D.; PERROTTA, G. Genetic structure and differentiation of the italian catria horse. **Journal of Heredity**, v. 103, n. 1, p. 134–139, 2012.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. **Marcadores Moleculares | Editora UFV.** 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009.

CHAVES, B. R. N. **Diversidade genética e dinâmica populacional de quatis (Nasua nasua) em Minas Gerais.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

COSTA, M. D. et al. Análise temporal da endogamia e do tamanho efetivo da população de eqüinos da raça Mangalarga Marchador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p. 112–119, 2005.

COSTA, M. R. et al. Distâncias genéticas em equinos (Equus caballus) por meio de marcadores microssatélites. **REVISTA BIOCÊNCIAS, UNITAU**, v. 15, n. 1, p. 18–25, 2009.

DA MOTA, M. D. S.; ALMEIDA REGITANO, L. C. DE. Some Peculiarities of Horse Breeding. In: **Livestock Production.** [s.l.] IntechOpen, 2012.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, n. 2, p. 359–361, jun. 2012.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620, 2005.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to Conservation Genetics**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.

GATTI, J. L. et al. Post-testicular sperm environment and fertility. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 321–339, 1 jul. 2004.

GONÇALVES, R. W. et al. Efeito da endogamia sobre características reprodutivas em um rebanho da raça Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 3, p. 641–649, 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/cnt/brasil>>. Acesso em: 3 dez. 2018.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR ANIMAL GENETICS (ISAG). **Equine Genetics & Puro Sangue Inglês Parentage Testing Standardisation Workshop**. ISAG Conference. **Anais...Cairns: 2012** Disponível em: <<http://www.isag.us/Docs/EquineGenParentage2016.pdf>>

KHANSHOUR, A. et al. Microsatellite Analysis of Genetic Diversity and Population Structure of Arabian Horse Populations. **Journal of Heredity**, v. 104, n. 3, p. 386–398, 1 maio 2013.

LEROY, G. et al. Genetic diversity of a large set of horse breeds raised in France assessed by microsatellite polymorphism. **Genetics Selection Evolution**, v. 41, n. 1, p. 5, 5 jan. 2009.

NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **Journal of molecular evolution**, v. 19, n. 2, p. 153–70, 1983.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. v. 28, n. 19, p. 2537–2539,

2012.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal**. 5. ed. Belo Horizonte - MG, Brasil: FEPMVZ, 2008.

PORRAS-HURTADO, L. et al. An overview of STRUCTURE: Applications, parameter settings, and supporting software. **Frontiers in Genetics**, v. 4, n. MAY, p. 1–13, 2013.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945–959, 2000.

RENDO, F. et al. Effects of a 10-year conservation programme on the genetic diversity of the Pottoka pony - new clues regarding their origin. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 129, n. 3, p. 234–243, 2012.

ROYO, L. J. et al. Genetic variability in the endangered Asturcón pony assessed using genealogical and molecular information. **Livestock Science**, v. 107, p. 162–169, 2007.

SMOUSE, P. E.; WHITEHEAD, M. R.; PEAKALL, R. An informational diversity framework, illustrated with sexually deceptive orchids in early stages of speciation. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 6, p. 1375–1384, 2015.

TAMURA, K. et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731–2739, out. 2011.

YANG, W. et al. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 2, p. 1–6, 2013.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os cinco modelos não lineares avaliados no presente estudo foram suficientes para caracterizar o padrão de crescimento da raça Pônei Brasileiro. A função Richards foi o melhor modelo para prever a altura dos pôneis.

As diferenças observadas na placenta de potros com nanismo podem ser utilizadas para estudos que busquem identificar essas alterações ultrassonograficamente durante a fase fetal, permitindo intervenções durante a gestação. Estes resultados podem ser utilizados para orientar o manejo dos haras e auxiliar nas decisões de seleção de potros baseado na sua curva de crescimento.

Os animais da raça Pônei Brasileiro apresentaram diversidade genética moderada com leve perda de heterozigosidade. Medidas para aumentar a diversidade genética seriam interessantes para o melhoramento genético dos animais.