

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

DIVERSIDADES GENÉTICAS EM CAPRINOS

JÚLIO CÉSAR VIEIRA DE OLIVEIRA

**RECIFE – PE
2007**

JÚLIO CÉSAR VIEIRA DE OLIVEIRA

DIVERSIDADES GENÉTICAS EM CAPRINOS

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal do Ceará - como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Orientadora: Maria Norma Ribeiro, D.Sc.

UFRPE – RECIFE
NOVEMBRO - 2007

Ficha catalográfica

O48d Oliveira, Júlio César Vieira
Diversidade genética em caprinos / Júlio César Vieira
Oliveira. -- 2007.
104 f. : il.

Orientador : Maria Norma Ribeiro
Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção Animal) -
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento
de Zootecnia.
Inclui bibliografia.

CDD 636.390 821

1. Recurso genético
 2. Genética
 3. Raça nativa
 4. Raça moxotó
 5. Raça serpentina
 6. Análise multivariada
 7. Frequências alélicas
 8. Marcadores microsátélites
- I. Ribeiro, Maria Norma
 - II. Título

À minha esposa,

*Leonor pelo apoio nos momentos difíceis, incentivo e
companheirismo.*

Ao meu filho

*Matheus Júlio, por me proporcionar tantos momentos de alegria e
descontração.*

Aos meus pais,

Nilza e Armando, que representam a base da minha formação.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela iluminação e inspiração.

À UFRPE, principalmente ao Departamento de Zootecnia por todo o aprendizado adquirido durante o período de Graduação, Mestrado e Doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, e à CAPES, pelo apoio financeiro.

À profa. Maria Norma Ribeiro, pela amizade, apoio e incentivo.

Aos professores Manoel Adrião Gomes Filho, Luíza Suely Semen Martins, Marcos Paulo Carrera Menezes, Francisco Ramos de Carvalho, Severino Benone Paes Barbosa e Maria Aparecida Cassiano Lara pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Nicácio e Cristina.

Ao amigos Laura Leandro, Kleber Regis, Gladston Rafael, Geovergue Rodrigues, Regina Cely, Oscar Roberto, Marcio Vieira e Clécio Florêncio, pela amizade e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV-MG) e ao Laboratório de Biotecnologia Animal (LABTEC), especialmente à professora Simone Elisa Facione Guimarães, pelo treinamento oferecido.

Aos colegas do laboratório de Biotecnologia Animal, Kleiber, Mario, Virginia, Patrícia, Isabela, Lindemberg e Karine, pela convivência agradável e interação acadêmica, que contribuíram com grande aprendizado.

Aos meus irmãos Aline e Thiago, pela amizade e incentivos

À Universidade de Córdoba e ao Departamento de Genética da Faculdade de Veterinária (Laboratório de Genética Molecular).

Aos criadores de caprinos da raça Moxotó, pela contribuição na realização deste trabalho.

Aos colegas de trabalho do IPA: Tarcílio Tenório, Rodrigo Cavalcante, Almir Anacleto, José Gomes e em especial aos pesquisadores Antônio Santana dos Santos Filho e Djalma Cordeiro, pelo apoio na condução das atividades da Estação Experimental de Arcoverde.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que fosse concluída esta etapa de minha carreira.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	9
2. Revisão de Literatura.....	11
2.1. Histórico	11
2.2. Conservação e Melhoramento Genético.....	14
2.3. Métodos Moleculares Para a Detecção da Variabilidade Genética.....	17
2.3.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	18
2.3.2. RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)	19
2.2.3 AFLP (Amplified Fragment Lench Polymorphism)	19
2.3.4. Microssatélites ou STRs (Short Tandem Repeats).....	20
2.4.1. Aplicação dos marcadores nos estudos de genética de populações.....	21
2.5. Métodos Estatísticos Aplicados na Análise de Diversidade Genética	23
2.5.1. Parâmetros utilizados nos estudos de diversidade genética	23
2.5.1.1. Cálculo de frequências alélicas.....	23
2.5.1.2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)	24
2.5.1.3. Conteúdo de informação polimórfica (PIC).....	25
2.5.1.4. Heterozigosidade	26
2.5.1.5. Índices de fixação ou Estatística F	28
2.5.2.1. Propriedades matemáticas da distância	30
2.5.2.2. Medidas de distâncias genéticas	32
2.5.3. Árvores de distância genética	34
2.5.3.1. O método UPGMA.....	35
2.5.3.2 Método Neighbor-joining NJ	35
2.5.4. O Botstraping.....	36

2.5.5. Árvores filogenéticas considerando os indivíduos como unidades taxonômicas operativas	37
2.5.6. Análises de correspondência	37
2.5.7. Método bayesiano.....	38
3. Bibliografias	40
CAPÍTULO I.....	50
RELAÇÕES GENÉTICAS ENTRE CAPRINOS MOXOTÓ E SERPENTINA	50
INTRODUÇÃO.....	52
MATERIAL E MÉTODOS.....	54
Análise Estatística	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
CONCLUSÃO.....	70
BIBLIOGRAFIA	71
Anexos.....	76
CAPÍTULO II.....	80
ESTRUTURA GENÉTICA DAS RAÇAS MOXOTÓ E SERPENTINA.....	80
Resumo	80
ABSTRACT	81
INTRODUÇÃO.....	82
MATERIAL E MÉTODOS.....	85
RESULTADO E DISCUSSÃO.....	87
BIBLIOGRAFIA	97

1. Introdução

Nos últimos anos foi dada grande atenção à conservação de recursos genéticos de animais domésticos, uma vez que tem-se compreendido a relevância do pool genético tão extenso que eles representam, mas que ainda é pouco caracterizado, principalmente em relação às populações nativas.

As raças de caprinos nativos desenvolveram-se a partir de raças trazidas pelos colonizadores e ao longo desses últimos séculos, espalharam-se por todo o território brasileiro e adaptaram-se às condições ambientais e culturais da região. Isso ocorreu devido à seleção natural que conduziu à fixação das características que asseguram: extrema rusticidade e adaptação às condições adversas da caatinga.

Devido à sua baixa produtividade e ao desconhecimento de seu potencial genético, estas raças estão ameaçadas de extinção, estando hoje restritas a poucos rebanhos de conservação. O cruzamento desordenado entre os animais nativos e exóticos contribui para a viabilidade econômica da caprinocultura em curto prazo, mas geram a erosão do patrimônio genético adaptado.

Dentre as raças nativas remanescentes, a raça Moxotó é a mais representativa. É reconhecida como uma raça de dupla aptidão, embora sua produção leiteira seja bem reduzida. Nos rebanhos remanescentes da raça Moxotó, grande parte não possui controle zootécnico, dificultando o acesso a informações de parentesco, que permitiria elucidar o grau de conservação dos rebanhos e estabelecer um programa de gestão genética adequado, com a finalidade de monitorar e manter a variabilidade genética existente. Neste contexto, os marcadores genéticos são ferramentas essenciais para programas de conservação e melhoramento genético. Atualmente, muitos destes estudos se baseiam nas análises genéticas, através do uso de marcadores moleculares de DNA.

Entre estes marcadores, cita-se o uso dos microssatélites ou “Short-Sequence Repeat Tandem” (SSRT). Descrito por Tautz (1989), os microssatélites são segmentos curtos de DNA de 1 a 6 pb, que se repetem em seqüência de forma aleatória por todo o genoma de organismos eucariotos. Estes marcadores fornecem marcas codominantes, apresentam alta variabilidade, podem ser amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR), requerendo pequena quantidade de DNA, são passíveis de automação em suas análises, tornando-se uma ferramenta importante nos estudos de variabilidade genética

Entretanto, relações genéticas entre raças e dentro de raças de caprinos nativas brasileiras têm sido pouco estudadas através do uso de marcadores microssatélites (Oliveira et al., 2006 e Menezes, 2005). Outro fato que deve ser levado em conta é a semelhança entre as raças Moxotó e Serpentina de Portugal. Essa raça caprina, bem como é comum noutras etnias desta espécie, resultou de cruzamentos de animais trazidos em tempos remotos para a Península Ibérica por povos de várias origens e aí, face ao condicionamento ambiental e a seleção morfológica, deram origem a uma população de acentuada homogeneidade. Devido a grande semelhança morfológica das duas raças, provavelmente a Raça Serpentina foi uma das raças de caprinos que deram origem a Raça Moxotó, entretanto pouco se sabe sobre suas relações genéticas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar as relações genéticas entre rebanhos de caprinos da raça Moxotó localizados nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Rio grande do Norte, no Nordeste do Brasil, verificando se ocorrem diferenças regionais entre os rebanhos, e suas relações genéticas com a raça Serpentina, utilizando marcadores microssatélites.

2. Revisão de Literatura

2.1. Histórico

Durante o processo de chegada dos Portugêses ao Brsil e sua posterior colonização, várias espécies de animais domésticos foram introduzidas, dentre elas os eqüinos, asnos, bovinos, caprinos, suínos e aves. Provavelmente, os primeiros animais domésticos a chegarem junto com os colonizadores foram os eqüinos e asnos, caprinos e galinhas. Os dois primeiros, devido a sua capacidade de trabalho, e os dois últimos, devido ao pequeno porte, podendo ser transportados nos navios e utilizados na alimentação da tripulação. Desta forma, várias introduções de caprinos foram feitas.

A partir da segunda viagem de Cristóvão Colombo à América, houve um fluxo intenso de animais da Península Ibérica, que partiam dos portos do sul da Espanha e dos principais portos portugueses. Geralmente nessas viagens, os espanhóis seguiam com destino às ilhas do Caribe e os portugueses partiam diretamente para as colônias brasileiras. Essas populações foram as precursoras, que deram origem às principais raças ou grupos de animais domésticos do Brasil (Rodero et al., 1992 e Primo et al., 1999).

Não existem registros da presença desses animais nos documentos existentes da época do descobrimento, entretanto, alguns fatos justificam a presença do caprino desde a chegada dos portugueses. Um deles é que a família Cabral era admiradora das cabras; outro fato é que a presença da espécie caprina está registrada no início da exploração mineira no Brasil, por volta de 1515 – 1540, quando os índios, escravos dos colonizadores, utilizavam a pele de cabrito com pêlos para reter pedras de ouro ou prata nas saídas de água (Simonsen, 1937).

Uma possível introdução de caprinos pode ter sido feita em 1534, quando Dona Ana Pimentel, esposa de Martim Afonso de Sousa, solicitou a introdução de bovinos na Capitania de São Vicente, e a partir daí se alastraram por outras regiões (Pires, 1990).

Segundo Machado et al. (2000), a presença de caprino foi citada nos documentos históricos pela primeira vez por Cardim, em 1583. Em 1587; Gabriel Soares de Souza cita que as cabras encontradas no Brasil vieram de Portugal e Cabo Verde, e que sua carne e leite eram muito apreciados (Dantas Silva, 1995). Até então não se ouvia falar de caprinos, devido a sua pouca importância, pois no Brasil colônia destacava-se o comércio de escravos, de pau-brasil, algodão e cana-de-açúcar.

Na década de 30 e início da década de 40, os principais caprinos criados no Nordeste eram da raça Moxotó, e eram encontrados de Pernambuco à Ilha de Marajó, no Pará, com maior frequência no Vale do Rio Moxotó, de onde saiu o nome da raça, dado pelo zootecnista Renato de Farias. Nesta época, ainda eram criados em pequena escala os mestiços de Toggenburg, Nubiana, Múrcia, Malteza e Angorá (Domingues, 1942).

Além dos achados históricos deixarem claro a origem das raças caprinas brasileiras, merece destaque a grande semelhança de pelagem que existe entre as raças Moxotó e Serpentina de Portugal (Figura I).



Raça Serpentina



Raça Moxotó

Figura I. Animais das Raças Serpentina e Moxotó

Antigamente a cabra Serpentina era conhecida como Espanhola ou Castelhana, porque os primeiros animais foram trazidos para Portugal pelos vizinhos espanhóis. Posteriormente, pela presença junto à fronteira, passou a ser mais conhecida por Raiana, e, finalmente, Serpentina, devido aos seus efetivos e predominância na Serra de Serpa, em Portugal.

Atualmente a maioria dos rebanhos são mantidos com elevado grau de pureza (Menezes, 2005). A raça Serpentina encontra-se distribuída numa faixa geográfica que se estende desde o Sul do Tejo até ao Algarve, particularmente nas zonas mais montanhosas do interior. Essa raça, como comumente ocorre com outras etnias desta espécie, resultou de cruzamentos de animais trazidos em tempos remotos para a Península Ibérica por povos de várias origens, e aí, face ao condicionamento ambiental e à seleção morfológica, deu origem a uma população de acentuada homogeneidade. O sistema de exploração predominante é o extensivo com longas épocas de carência alimentar que, em última análise, condiciona o potencial produtivo deste genótipo caprino. Os animais da raça Serpentina são em geral explorados na dupla função carne - leite, notando-se nos últimos anos na maioria dos produtores, um interesse crescente por esta raça (Fialho, 2000).

Atualmente alguns trabalhos vêm sendo desenvolvidos pelas Instituições de Pesquisas, Universidades e produtores privados para conservação desses recursos genéticos. Com relação à raça Moxotó, verificam-se várias ações de conservação *in situ* por diversas instituições, como: Embrapa – Caprinos, em Sobral - CE, Universidade Federal Rural de Pernambuco, em Serra Talhada - PE, Universidade Federal da Paraíba, em São João do Cariri - PB, Universidade Federal de Campina Grande, em Patos – PB e alguns criadores de Moxotó nos Estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba.

2.2. Conservação e Melhoramento Genético

A conservação genética de uma raça ou espécie se garante com a gestão genética correta, que basicamente deve considerar o acasalamento de animais menos aparentados, para controle da consangüinidade.

A idéia de conservação de raças tem criado uma série de contradições e conflitos, uma vez que muitos técnicos e criadores não a consideram como uma forma de alcançar progresso genético, com a hipótese de que as raças em processo de conservação permaneceriam estáticas. Entretanto, o principal objetivo da conservação é recuperar a variabilidade genética das populações, e essa, por sua vez, é uma das principais premissas para o sucesso de qualquer programa de melhoramento genético, o que torna a conservação uma importante ferramenta de auxílio ao melhoramento genético animal.

A decisão de conservar uma determinada raça depende de que se reúnam as condições apropriadas para a sua manutenção, e que ocupe lugar de destaque na lista de prioridades: aspectos genéticos e produtivos, vulnerabilidade, aspectos ecológicos, importância estética e cultural-histórica, importância social e possibilidade de evolução e manutenção como raça (Delgado, 2002)

Os principais elementos para programas de conservação incluem o inventário, a caracterização e documentação dos dados obtidos. Em termos de pesquisa, as prioridades devem ser dadas à caracterização e avaliação das populações nativas, mensuração das diferenças entre e dentro das populações.

Segundo Oliveira (2004), poucas informações sobre estudos etnozootécnicos estão disponíveis com relação aos caprinos nativos, sendo necessário obter todas essas informações, para que se inicie um programa de conservação e melhoramento genético.

Até então, as tentativas de melhoramento genético em caprinos no Brasil foram empíricas, tendo sido feitas através da introdução de material genético de raças importadas,

produzidas em clima temperado, sem levar em conta os fatores de nutrição, doenças, sistema de criação, e principalmente o estresse climático das regiões tropicais, que muitas vezes são limitantes à produção animal. Essas introduções causaram a diluição da maioria das raças de caprinos nativos locais, dando origem a um grande rebanho de animais mestiços.

Os recursos genéticos locais, quando explorados de forma correta, contribuem de forma significativa para desenvolvimento econômico, social e cultural de uma região. Por serem mais adaptados às condições ambientais, esses animais poderão expressar ao máximo todas as suas características produtivas e reprodutivas, originando produtos diferenciados, economicamente mais viáveis, com maior valor agregado em função da qualidade e exclusividade regional.

Entretanto, a criação de caprinos nativos quase sempre está associada às populações de baixa renda, que vivem em lugares com grandes dificuldades para cultivos agrícolas e até mesmo para outro tipo de exploração animal (Delgado 2002).

Deve ser lembrado que, historicamente, estes animais durante séculos se desenvolveram e se distribuíram por todo o mundo, tornando-se altamente adaptados a seus respectivos ambientes, os quais na maioria das vezes são hostis, como as regiões áridas, e assim constituem a base genética para programas de melhoramento e formação de raças compostas (Shrestha, 2005).

Dessa maneira, medidas devem ser tomadas com a finalidade de se evitar a perda total desse patrimônio tão importante, e promover esse recurso genético como forma de melhoria da qualidade de vida da população, que o tem como principal fonte de renda.

O Brasil tomou consciência do riquíssimo patrimônio genético que possui, e alguns trabalhos já estão sendo desenvolvidos com a finalidade de identificar e caracterizar as raças existentes e sua situação de risco. Com essas informações, será possível planejar

estratégias que possibilitem a manutenção da variabilidade genética, tornando possível o início de programas de melhoramento genético que tenham como base as raças nativas.

Segundo Delgado (2002), o preconceito com relação aos caprinos nativos está associado à idéia de que é impossível levar adiante qualquer processo de melhoramento genético com as raças locais com base em metodologias modernas.

Esse fato se baseia nas observações já citadas, e geralmente se relaciona com os sistemas altamente intensivos de produção, com a finalidade de conseguir raças altamente especializadas; entretanto, além de se obter animais mais produtivos, devemos manter a diversidade de raças, para que seja possível a obtenção de populações eficazes nos distintos ambientes, e nos adequar a possíveis mudanças nos sistemas de produção do futuro.

Por isso, nos últimos anos tem-se dado grande atenção à conservação de raças e/ou populações de animais domésticos. O reconhecimento da importância da conservação da biodiversidade, culminou com a Reunião das Nações Unidas sobre o meio ambiente e desenvolvimento, celebrada no Rio de Janeiro em 1992, onde se discutiu a Convenção da Diversidade Biológica, e se estabeleceu a necessidade de estudar seus diferentes componentes.

Segundo Cunha (1999), até o final de 1997, 187 países já haviam aderido a essa Convenção, na sua imensa maioria (169), ratificado também as disposições da Convenção. No Brasil, essa ratificação deu-se através do Congresso Nacional, em maio de 1994. Com a ratificação, a Convenção passou a ter valor de lei interna ao país.

Atualmente, recursos genéticos de animais nativos são utilizados na exploração agropecuária, em criações convencionais ou na engenharia genética, constituindo um patrimônio de inestimável valor.

A perda da diversidade genética diminui nossa capacidade de manter e melhorar a produção e a produtividade pecuária e a agricultura sustentável, e também reduz a capacidade para fazer frente a novas condições ambientais (FAO, <http://dad.fao.org/>).

2.3. Métodos Moleculares Para a Detecção da Variabilidade Genética

A variação genética (polimorfismo) derivada de mudanças (mutações) na molécula de DNA, hoje em dia tem sido avaliada através de diferentes técnicas, desde a substituição de um simples nucleotídeo, denominada SNP'S (*Single Nucleotide Polymorphisms*) a mutações que envolvem maior número de sítios de nucleotídeos, denominados minisatélites ou VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) e microsatélites ou STR (Simple Tandem Repeats)

Uma das mais recentes contribuições ao estudo de marcadores moleculares foi o desenvolvimento da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR – Polymerase Chain Reaction).

A tecnologia da PCR desenvolvida por Mullis et al. (1986) produziu um grande impacto na análise de marcadores moleculares de DNA. O princípio de amplificação de DNA *in vitro* tem sido utilizado para o desenvolvimento de inúmeros seqüenciamentos, clonagem e novos marcadores como RAPD's (Randomly Amplified Polymorphic DNA), AFLP's (Amplified Fragment Length Polymorphism) e Microsatélites. Esta técnica consiste na replicação *in vitro* catalisada por uma DNA polimerase termostável. A reação requer a presença dos quatro tipos de desoxinucleotídeos (dATP, dCTP, dTTP e dGTP) e de oligonucleotídeos sintéticos (iniciadores ou “primers”) complementares às extremidades da região do DNA que se deseja amplificar.

2.3.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

É uma das primeiras técnicas descritas desde a descoberta da PCR (Botstein et al., 1980). Esta técnica tem como principal objetivo detectar diferenças na sequência de DNA de dois indivíduos. Assim, o DNA extraído de dois ou mais indivíduos distintos é submetido a clivagem por enzima de restrição, sendo cortado em um grande número de pontos (sítios de restrição), originando 10^4 a 10^7 fragmentos de DNA, a depender do genoma. A clivagem de fragmentos de tamanhos distintos é consequência de diferenças na sequência de DNA dos indivíduos.

A identificação dos fragmentos (RFLPs) requer o uso de eletroforese em gel de agarose, e para que os marcadores possam ser detectados, e melhor visualizados, é preciso transferir os fragmentos separados no gel de agarose para uma membrana de nitrocelulose por capilaridade ou vácuo, processo este denominado de Southern Blot.

A limitação desta técnica para estudos de diversidade genética é que identifica apenas dois alelos por locos, e desta forma a variabilidade obtida com esses marcadores é reduzida.

Segundo Regitano e Coutinho (2001), com o desenvolvimento da técnica da PCR novos procedimentos para as análises de RFLPs passaram a ser utilizados, e a principal vantagem dessa técnica, denominada PCR-RFLP, quando comparada com a técnica original, é o fato de que apenas o segmento de DNA que abriga o sítio polimórfico de restrição é amplificado para posterior análise. E dessa forma, a técnica de PCR-RFLP atualmente tem sido utilizada nos estudos das variantes alélicas de genes candidatos e associação destas com características de importância econômica, bem como detecção de genes responsáveis por doenças.

2.3.2. RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)

O desenvolvimento da técnica de RAPD foi possível graças à descoberta da PCR. O princípio desta técnica é o uso de primers mais curtos e de seqüência arbitrária durante a reação de amplificação, eliminando a necessidade do conhecimento prévio da seqüência.

Esses marcadores geram uma série de fragmentos de amplo espectro a partir do DNA molde. O método consiste em encontrar aqueles fragmentos amplificados e que sejam polimórficos, os quais podem posteriormente ser mapeados. Uma das principais limitações do uso dos RAPDs em estudos de caracterização genética tem sido a baixa repetibilidade das análises, levando à necessidade de usar um grande painel de RAPDs, o que representa um alto valor econômico e um laborioso trabalho analítico. Além disso, é um marcador genético do tipo dominante, o qual não permite discriminar a existência de heterozigotos, subestimando a quantidade de polimorfismo existente (Levin et al., 1994)

2.2.3 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

A técnica de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism ou Polimorfismo de Fragmentos Amplificados) foi desenvolvida por Zabeau (1993) e descrita por Vos et al. (1995). Esta técnica combina a especificidade, resolução e poder de amostragem de digestão com enzimas de restrição com a velocidade e praticidade de detecção dos polimorfismos via PCR.

A análise de AFLP compreende quatro etapas: na primeira etapa, o DNA genômico total do indivíduo é clivado com duas enzimas de restrição; na segunda etapa, adaptadores específicos são ligados aos terminais dos fragmentos genômicos, gerados pela clivagem; na terceira etapa, uma fração dos fragmentos gerados é amplificada seletivamente via PCR utilizando primers especificamente desenhados para reconhecer seqüências nos

adaptadores; na quarta e última etapa, é realizada a separação dos fragmentos amplificados em gel de alta resolução (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

Os marcadores AFLP apresentam três vantagens importantes sobre os demais marcadores já descritos anteriormente. A primeira grande vantagem é o grande número de fragmentos que são gerados e visualizados em um único gel, proporcionando uma amostragem ampla e simultânea de um genoma. Esta técnica apresenta também grande poder de detecção de variabilidade genética, pois explora o polimorfismo de presença e ausência de sítios de restrição, como no ensaio de RFLP e a ocorrência ou não de amplificação a partir de seqüências arbitrárias, como na técnica de RAPD. Além destas vantagens, apresenta maior robustez quando comparado com RAPD, uma vez que primers mais longos são utilizados na etapa de PCR, aumentando a especificidade da amplificação e evitando, conseqüentemente, a competição que ocorre durante a PCR na técnica de RAPD (Ferreira, 2003).

Assim como nos marcadores RAPD, os marcadores AFLP apresentam dominância, não sendo possível a detecção de heterozigotos, limitando sua utilização em estudos de diversidade genética. Esses marcadores, além de serem utilizados nos estudos de relações genéticas, também são utilizados nos estudos de mapeamento genético e construção de mapas genéticos.

2.3.4. Microsatélites ou STRs (Short Tandem Repeats)

Os marcadores microsatélites (Litt e Luty, 1989 e Tautz, 1989) são seqüências curtas, compostas de repetições em *tandem* de um a seis nucleotídeos. Essas repetições são encontradas espalhadas e em abundância pelo genoma de plantas e animais. A análise dos microsatélites é feita por amplificação do DNA genômico usando *primers* que flanqueiam os arranjos nucleotídicos repetidos, sendo os produtos das amplificações geralmente

separados em géis de poliacrilamida, pois apresentam resolução suficiente para separar os fragmentos de DNA, que em geral, diferem por poucos nucleotídeos (Guimarães, 2001).

As características destes marcadores *versus* outros (minissatélites, RFLPs, RAPDs, etc.) que os fazem serem considerados pela maioria dos autores como poderosa ferramenta para estudos genéticos, é que apresentam um elevado grau de polimorfismo, têm herança mendeliana simples, são codominantes (podendo diferenciar indivíduos homozigotos dos heterozigotos), fáceis de medir e analisar, sendo 100% confiáveis, repetitivos e automatizáveis. Estes marcadores encontram-se geralmente em regiões não codificadas do genoma e distribuídos uniformemente (Goldstein e Schlotterer, 1999).

Devido a suas particulares vantagens, seu uso tem sido de grande impacto nos estudos da genética de animais e plantas. A análise com microssatélites envolve a detecção de muitos fragmentos específicos de DNA, que podem ser caracterizados de acordo com o número de pares de bases (pb) para cada loco estudado.

Como apresentam expressão codominante e multialelismo, esta classe de marcadores é a que apresenta o mais elevado conteúdo de informações de polimorfismo, favorecendo a mais completa cobertura do genoma. Essas características também possibilitam o acesso mais acurado dos níveis de variabilidade genética e níveis de consaguinidade, facilitando a elaboração de estratégias de conservação que permitam recuperar os níveis de diversidade das populações.

2.4.1. Aplicação dos marcadores nos estudos de genética de populações

Nesta área da genética, os microssatélites têm sido amplamente utilizados para estimar a estrutura das populações. A estrutura genética das populações está relacionada com a distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações. A formação dessa estrutura é resultante de fatores como sistema de acasalamento, seleção natural ou

artificial, níveis de endogamia, fluxo gênico e deriva genética entre e dentro das populações, que causam alterações nas frequências alélicas das populações.

Segundo Falconer (1987), a constituição genética de uma população pode ser descrita em função da proporção ou porcentagem de seus genótipos e alelos. A frequência alélica é a proporção dos diferentes alelos de um loco em uma população.

Os marcadores microsatelites permitem a identificação de cada alelo por loco, e o cálculo das frequências alélicas. A partir daí, é possível estimar as distâncias genéticas entre populações e entre indivíduos (Bowcock et al., 1994; Ponsuksili et al., 1999), assim como realizar análises filogenéticas e de estrutura de populações.

Este tipo de estudo é de grande importância para obter estimativas da diversidade genética e da consangüinidade existente nas populações de animais domésticos em perigo de extinção.

De acordo com Kumar (2000), os marcadores de microssatélites estão bem reportados na literatura em algumas espécies, podendo ser usados para caracterização de rebanhos, além de permitir estabelecer as relações filogenéticas entre as diversas raças. Nos últimos anos, diversos estudos foram desenvolvidos para analisar a diversidade genética na espécie caprina utilizando microssatélites (Yang et al.,1999; Saitbekova et al.,1999; Barker et al.,2001; Li et al.,2002; Ouafi et al.,2002, Menezes, 2005 e Oliveira et al.,2006), assim como em bovinos (Moazami-Goudarzi et al., 1997; Martín- Burriel et al.,1999, Ibeagha-Awemu, 2004; Serrano et al., 2005) e ovinos (Buchanan et al.,1994; Arranz et al.,1998; Diez-Tascón et al.,2000). Muitos estudos dessa natureza foram desenvolvidos em suínos (Martinez et al., 2000 e Solero et al.,2006), equinos (Bjorstad e Roed, 2000; Sereno, 2002) e asnos (Aranguren-Méndez et al.,2002).

Dessa forma, muitos estudos têm sido realizados usando microssatélites para análises filogenéticas, concluindo que, com um bom número de locos analisados e com

apropriadas taxas de mutação, os microssatélites podem dar uma boa aproximação da filogenia (Loftus et al., 1984; Ishida, et al., 1994; Kantanen et al., 2000; Farid, et al., 2000).

2.5. Métodos Estatísticos Aplicados na Análise de Diversidade Genética

2.5.1. Parâmetros utilizados nos estudos de diversidade genética

Nos últimos anos as análises de polimorfismo de microssatélites formam utilizadas em diversos estudos de diversidade genética, para verificar a variação genética intra e inter populacional, além de determinar a distância ou similaridade genética entre populações.

Para análises com marcadores moleculares, o número de amostras e marcadores estudados são de extrema importância para acurácia dos resultados. Segundo Barker (1994), a precisão da estimativa de diversidade genética depende do número de locos analisado, de sua heterozigosidade e do número de amostras de cada população. Os parâmetros mais usados nas estimativas de variabilidade genéticas são as frequências alélicas, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), conteúdo de informação polimórfica (PIC), desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), estatística F (F_{st} , F_{it} e F_{is}), coeficiente de diferenciação genética (G_{st}) e distâncias genéticas.

2.5.1.1. Cálculo de frequências alélicas

O cálculo das frequências alélicas é determinado com base na contagem direta dos alelos encontrados. Assumindo que existe um estado ideal de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE), a variância de uma frequência alélica pode ser descrita pela expressão binominal:

$$\sigma_x^2 = \frac{x(1-x)}{2n}$$

Onde x : é frequência alélica e n : número de indivíduos das amostras

Segundo Nei (1987), o erro padrão da frequência alélica obtém-se mediante a raiz quadrada da variância. Para uma determinada frequência alélica, o erro padrão diminui à medida que aumenta o número das amostras. Considera-se um número de amostra ideal entre 30 e 60 indivíduos. De acordo com a FAO (1998), o número mínimo de amostras deve ser de 25 animais para estudos de diversidade genética.

2.5.1.2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

Esta lei foi elucidada por Hardy e Weinberg, independentemente, em 1908. Segundo esses autores, uma população grande, com acasalamento aleatório, sem seleção, mutação ou migração, é considerada uma população em completo equilíbrio e as frequências alélicas e genotípicas permanecem constantes de geração a geração (Wright, 1969). Os desvios de EHW podem ter sua origem devido a diversos fatores, como: acasalamentos direcionados, subdivisões dentro de populações, coancestrais e antepassados comuns, seleção natural, migração ou fluxo de genes a partir de uma população externa, técnica de amostragem incorreta e presença de alelos nulos não detectáveis experimentalmente.

A constituição genética de uma população é descrita pela especificação dos alelos, e a proporção dos diferentes alelos em cada loco. Os desvios significativo do EHW

indicam que a população está subdividida, que existe déficit ou excesso de heterozigotos, ou que existe fluxo de genes de outra população. Estas circunstâncias podem ser verificadas usando testes, onde os mais comuns são os testes de qui-quadrado para as proporções esperadas e observadas de heterozigotos.

Geralmente esses testes são recomendados para análises preliminares, pois produzem resultados imprecisos. Para análise mais rigorosa utiliza-se o teste exato ou razão de verossimilhança. O teste exato para análise do EHW para cada loco/população foi descrito por Guo e Thompson (1992) usando o logarítmo em cadeia de Monte Carlo (poucos dados) ou cadeia Markov (muitos dados) para obter amostras aleatórias a partir de dados originais (permutação).

2.5.1.3. Conteúdo de informação polimórfica (PIC)

O conteúdo de informação polimórfica é um indicador da qualidade do marcador em estudos genéticos (segregação, identificação de populações e controle de paternidade). No entanto, é um parâmetro que apresenta dependência do número de alelos e suas freqüências. Dessa forma, o PIC não deve ser utilizado com exclusividade para eleger um marcador ou descartá-lo (Moazami-Goudarzi et al., 1994).

Calcula-se de acordo com a seguinte fórmula:

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

Marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,50 mediantemente informativos e valores inferiores a 0,25 pouco informativo.

2.5.1.4. Heterozigosidade

A heterozigosidade de um marcador é a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto no loco marcador, sendo dependente do número de alelos e de sua frequência na população. A heterozigosidade pode ser considerada uma medida de variabilidade genética. Segundo Ott (1992), um loco pode ser considerado polimórfico quando o alelo mais comum tem uma frequência inferior a 0,95. De acordo com esse autor, um loco é considerado altamente polimórfico se sua heterozigozidade for maior do que 70%, o que implica frequência menor do que 0,55 do mais freqüente alelo.

A heterozigosidade observada é a proporção de indivíduos heterozigotos observada na população em estudo.

Os cálculos de heterozigosidade média observada dependem do número de amostra e loco estudados.

Segundo Nei (1987), para uma população de acasalamento ao acaso, a heterozigosidade para um loco é definida como

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

Onde x_i é a frequência do i ésimo alelo para um determinado loco e m é o número de alelos. A heterozigosidade média H é a média das quantidades h para todos os locos,

ou seja

$$H = \sum_{k=1}^n \frac{h_k}{r}$$

onde h_k é a estimativa da heterozigosidade do k ésimo loco e r é o número de locos examinados.

Em populações nas quais as frequências genótípicas desviam das proporções do equilíbrio, a melhor estimativa é a diversidade genética.

Segundo Nei (1973) a diversidade genética de uma população subdividida pode ser analisada em diversidade, entre e dentro de subpopulações. Este método pode ser aplicado em qualquer população e desconsidera o número de alelos por loco, as forças evolucionárias como mutação, seleção e migração, o sistema de acasalamento e o tipo de organismo em estudo. O método tem como base a identidade de duas amostras de genes dentro e entre populações. Considerando um loco, a frequência do alelo k população é x_k . A probabilidade de identidade de dois genes é:

$$J = \sum_k^n x_k^2$$

e a probabilidade de não identidade, que é a heterozigosidade ou diversidade é

$$H = 1 - J$$

Quando a população é subdividida em s subpopulações, é possível estabelecer a relação

$$J_T = J_S - D_{ST}$$

em que J_T e J_S são as identidades genéticas médias total e dentro das subpopulações, respectivamente e D_{ST} é a diversidade genética média entre subpopulações. A diversidade genética média na população total pode ser subdividida nas diversidades médias dentro e entre subpopulações,

$$H_T = H_S + D_{ST}$$

Onde $H_T = 1 - J_T$ e $H_S = 1 - J_S$

A diversidade entre subpopulações relativa à população total é obtida pelo coeficiente de diferenciação genética:

$$G_{ST} = \frac{D_{ST}}{HT}$$

De acordo com Nei, (1973) este método não está influenciado pelo número de alelos por *loco*, nem pelo modelo de evolução (mutação, seleção e migração) e revela a magnitude relativa da diferenciação genética entre sub-populações.

2.5.1.5. Índices de fixação ou Estatística F

Nas décadas de 40 e 50, Sewall Wright descreveu a teoria dos índices de fixação ou estatística F. Posteriormente essa teoria foi desenvolvida por outros autores (Weir e Cockerham, 1984). Esta teoria propõe medir a variação existente entre e dentro de populações através de três parâmetros: F_{ST} ; F_{IT} e F_{IS} (Wright, 1969). Estes parâmetros fornecem uma maneira de sumarizar a estrutura da população (Weir e Cockerham, 1984). Os três parâmetros se relacionam por

$$F_{IS} = (F_{IT} - F_{ST}) / (1 - F_{ST}),$$

sendo F_{IT} , o índice de fixação ou coeficiente de consangüinidade nos indivíduos do conjunto populacional (consangüinidade global), F_{ST} , índice de fixação ou coeficiente de consangüinidade entre populações (devido a subdivisão) e F_{IS} , índice de fixação ou coeficiente de consangüinidade intra populacional (consangüinidade a nível populacional). O F_{ST} quantifica o grau de divergência entre populações. Frequências alélicas iguais em todas as populações irão causar $F_{ST} = 0$.

Segundo Weir e Cockerham, (1984) os parâmetros da estatística F (F_{IT} e F_{ST}) não são afetados pela amostragem (número de alelos por locus, número de indivíduos

amostrados por população ou número de populações amostradas). Eles dependem, contudo, da amostragem genética, ou seja, do tamanho da população e de sua história evolutiva. Sendo o F_{IS} o único parâmetro que pode ser estimado a partir de dados de frequência de uma única população.

De acordo com Nei (1977), os três estatísticos F podem ser calculados usando a heterozigosidade observada (H_O) e esperada (H_S).

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_o}{H_s}, \quad F_{IT} = 1 - \frac{H_o}{H_T} \quad \text{e} \quad F_{ST} = 1 - \frac{H_s}{H_T}$$

Onde,

$$H_T = 1 - \sum p_k^{-2}$$

O índice F_{ST} de Wright é semelhante ao coeficiente de diferenciação genética G_{ST} de Nei.

Os valores de F_{IT} e F_{IS} negativos ou próximos de zero indicam que há variabilidade genética na população devido a maior número de heterozigotos, enquanto que valores distantes de zero indicam maiores níveis de homozigose.

2.5.2. Distâncias genéticas

As distâncias genéticas quantificam o grau de diferenciação entre dois grupos populacionais. Sob determinada ótica, podem ser consideradas como mecanismos para reduzir informação, uma vez que transformam todas as informações disponíveis sobre a relação entre duas populações em um único número. Se não há diferença, então a distância entre as duas populações é zero. Contudo, se as populações não possuem alelos em comum em todos os locos, então a distância deve possuir valor próximo de um.

Na teoria de genética de populações, existem quatro forças evolutivas que podem modificar a estrutura genética das populações: deriva genética, mutação, seleção e migração. A diversidade genética observada é determinada principalmente pela deriva genética e mutação, uma vez que a migração é ignorada após a separação das populações, assumindo que os locos em estudo são seletivamente neutros.

Em estudos envolvendo um período relativamente curto de tempo (divergência de raças) então o efeito de mutação pode ser ignorado e assume-se o modelo evolutivo de deriva genética (Reynolds, 1983).

No entanto, para estudos de divergência genética envolvendo períodos mais longos (relação entre espécies) a mutação não deve ser excluída, sendo adotado o modelo de evolução deriva-mutação.

As distâncias evolutivas mais usualmente usadas, são formuladas para estimarem valores com significado evolutivo. As duas fórmulas mais empregadas têm sido as seguintes:

- a) distância de Nei, que estima o número de substituições gênicas que ocorrem em genes de duas populações desde sua divergência, a partir de um ancestral comum; e
- b) distância de Reynolds, que estima o tempo decorrido desde a separação, admitindo que as populações se diferenciam devido à deriva genética.

2.5.2.1. Propriedades matemáticas da distância

Uma função deve ter algumas propriedades para ser considerada uma distância: a) a distância entre uma população X e ela mesma deve ser zero: $d(X,X)=0$; b) a distância entre duas populações X e Y deve ser simétrica: $d(X,Y)=d(Y,X)$. Se a distância está de acordo com essas duas propriedades anteriores, denomina-se distância semimétrica. E além disso,

apresenta uma desigualdade triangular ($d(X,Y) \leq [d(X,Z)+d(Y,Z)]$), denomina-se uma distância métrica (Santos Dias, 1998).

As distâncias métricas são mais utilizadas que as semimétricas em estudos de populações. Em estudos evolutivos e para a construção de árvores filogenéticas, não é necessário apresentar desigualdade triangular.

A distância natural entre dois vetores X e Y no espaço k-dimensional é a distância euclídeana:

$$d(X, Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^k (x_i - y_i)^2}$$

onde x_i e y_i são as frequências do alelo i nas populações X e Y respectivamente.

Esta distância satisfaz as três propriedades anteriores, assim como a distância genética de Rogers (1972), que se deriva da distância euclídeana.

$$D_{Rogers} = \sqrt{\frac{1}{2} \sum_{i=1}^k (x_i - y_i)^2}$$

A raiz quadrada da distância euclídeana: $d^2(X, Y) = \sum_{i=1}^k (x_i - y_i)^2$ satisfaz as duas primeiras propriedades, mas não a desigualdade triangular, assim como as distâncias derivadas desta expressão (distância mínima de Nei, distância de Reynolds, etc.) que são consideradas semimétricas.

Outro fator que se deve levar em consideração é a interpretação biológica das distâncias genéticas, pois depende do modelo de divergência utilizado.

2.5.2.2. Medidas de distâncias genéticas

As medidas de distâncias genéticas são indicadores das proximidades entre populações e úteis para reconstrução das relações históricas e filogenéticas entre grupos. Segundo Eding e Laval (1999), são várias as medidas que podem ser utilizadas para o cálculo de distância genética, dependendo do objetivo de estudo. Nas seguintes fórmulas, os valores de x_i e y_i são as freqüências do alelo i nas populações X e Y respectivamente. Para simplificar, as fórmulas são dadas para apenas um loco. Para ampliar as expressões para vários locos, deve-se somar todas as distâncias e dividir pelo número de locos cujos alelos aparecem nas expressões:

$$\text{Distância Padrão de Nei (D): } D = -\ln \left(\frac{\sum_i x_i y_i}{\sqrt{\sum_i x_i^2 \sum_i y_i^2}} \right)$$

Distância de Goldstein: $(\delta\mu)^2 = (\mu_X - \mu_Y)^2$ onde: $\mu_X = \sum_i i x_i$ e onde $\mu_Y = \sum_i i y_i$ são os tamanhos médios dos alelos de cada população.

Distância média ao quadrado (ASD): $ASD = \sum_{i,i'} (i - i')^2 x_i y_{i'}$ i, i' são os tamanhos dos alelos de um loco.

Distância de Shriver (D_{SW}): $D_{SW} = W_{XY} - (W_X + W_Y)/2$ onde: $W_X = \sum_{i \neq i'} |i - i'| x_i x_{i'}$,

$$W_Y = \sum_{i \neq i'} |i - i'| y_i y_{i'}, \quad W_{XY} = \sum_{i \neq i'} |i - i'| x_i y_{i'}$$

Distância de Cavalli-Sforza (D_C): $D_C = (2/\pi) \sqrt{2 \left(1 - \sum_i \sqrt{x_i y_i} \right)}$

Distância de Nei (D_A): $D_A = 1 - \sum_i \sqrt{x_i y_i}$

Distância mínima de Nei (D_m): $D_m = \frac{1}{2} \sum_i (x_i - y_i)^2$

$$\text{Distância de Reynolds (D}_{\text{Reynolds}}\text{): } D_{\text{Reynolds}} = \frac{1}{2} \frac{\sum_i (x_i - y_i)^2}{1 - \sum_i x_i y_i}$$

Geralmente não existe um consenso sobre qual das distintas medidas de distâncias genéticas é a mais apropriada para análises de populações dentro de espécies, especialmente no caso de raça de animais domésticos e menos ainda entre variedades dentro de raças.

Na tabela I, encontra-se o uso das distâncias genéticas de acordo com o recomendado com o tempo de divergência das populações estudadas (Eding e Laval, 1999).

Tabela I Alguns critérios para eleição da medida de distância genética apropriada

Tempo de divergência	Curto (Raças no continente)	Intermedio (Raças no mundo)	Largo (Espécies)
Modelo aplicado	Deriva genética	Mutação e deriva	Mutação e deriva
D _C	-	+	+
D _A	-	+	+
D	-	+	+
(δμ) ²	-	+	+
D _m	+/-	-	-
D _{Reynolds}	+	-	-

Na prática, recomenda-se calcular duas ou mais distâncias genéticas e avaliar as similitudes e diferenças entre elas, levando em consideração as propriedades matemáticas e biológicas, para eleger uma distância genética apropriada com a realidade, procurando oferecer resultados mais confiáveis.

A distância padrão de Nei (D) é a medida mais utilizada, e sua distância tem um valor linear proporcional ao tempo de divergência, e nas árvores construídas com esta distância espera-se obter a filogenia das espécies.

A distância mínima de Nei (D_m) mede o número mínimo de alelos diferentes de cada loco. Esta medida de distância está sendo utilizada em estudos de conservação de polimorfismo genético, já que sua utilidade é limitada quando se comparam populações intraespecíficas (Nei, 1987).

A distância de Nei (D_A) tem demonstrado ser linear com o tempo. No entanto, apresenta um problema com os dados de microssatélites de populações divergentes devido a alta proporção de mutação e grande número de alelos. As distâncias de Cavalli-Sforza (D_C) e de Reynolds ($D_{Reynolds}$) assumem que não existem mutação e todas as mudanças nas freqüências são produzidas por deriva genética, no entanto, assumem que o tamanho da população continue constante e igual em todas as populações. A medida de Cavalli-Sforza modificada está sendo recomendada como medida alternativa para uso em populações próximas em que a deriva genética é o determinante primário para a diferenciação da evolução (Eding e Laval, 1999).

A distância de Nei e Goldstein ($(\delta\mu)^2$) é mais apropriada que outras distâncias para calcular o tempo de evolução. O problema com os locos de microssatélites é que o padrão mutacional é frequentemente irregular. Alguns locos de microssatélites são altamente polimórficos em algumas populações e espécies, e outros mais monomórficos, não se conhecendo as razões das diferenças de polimorfismo entre populações. Outro fator limitante para o uso de locos de microssatélites é que a proporção de mutação pode mudar de loco a loco e aumentar a variação dos valores da distância (Goldstein et al., 1995).

2.5.3. Árvores de distância genética

As matrizes de distância genética contêm todas as informações fornecidas pelos marcadores genéticos, necessárias para estabelecer as diferenças entre as populações ou

raças estudadas. No entanto, como são muitos dados, torna-se difícil a interpretação das matrizes de distância sem análises adicionais. Segundo Eding e Laval (1999), as árvores de distância são representações gráficas ou mapas da matriz de distância, que em alguns casos podem representar a filogenia. Existem diferentes métodos para construção de árvores a partir de uma matriz de distância. Os mais utilizados são o (Unweighted pair group method with arithmetic means) UPGMA e o (Neighbor-joining) NJ.

2.5.3.1. O método UPGMA

Este método baseia-se no agrupamento sucessivo de pares de táxons, de acordo com o nível de similaridade. O algoritmo opera da seguinte forma: a) O par de táxons mais semelhante (menor distância) é unido, e um nó é posicionado exatamente na metade da distância que separa os dois; b) A distância entre o par de táxons unidos e o táxon ao qual ele está sendo comparado. Novamente, a menor distância na nova matriz determina quais táxons devem ser unidos e um novo nó é posicionado como anteriormente descrito; c) Esse procedimento é repetido até que todos os táxons tenham sido incorporados ao dendograma.

Diferentes métodos para construir árvores filogenéticas foram comparados por Nei et al. (1983), sendo observado que o UPGMA comportava-se melhor quando as taxas de substituição eram as mesmas para todas as árvores. Assim, deve-se assumir que as taxas de substituição sejam iguais para que o método possa ser aplicado.

2.5.3.2 Método Neighbor-joining NJ

O método de NJ, desenvolvido por Saitou e Nei (1987), é utilizado para identificar os pares mais próximos ou vizinhos, populações ou grupos de populações (unidades taxonômicas), de forma que se minimize a longitude total da árvore. Um par de vizinhos

são conectados por um simples nó em uma árvore sem raiz e com dois ramos que se unem em um nó interior. Em geral, é possível definir a topologia de uma árvore pela união sucessiva de pares de vizinhos para formar novos pares de vizinhos. A princípio forma-se uma figura em forma de uma estrela em todas as ramas que partem do mesmo ponto. Consideram-se vizinhos um par de grupos que, quando se juntam, produzem uma árvore cuja longitude total é mais curta, e estes se unem para formar uma unidade combinada. O procedimento para identificar os vizinhos entre um número reduzido de unidades é repetido até que restem apenas três unidades, assim obtém-se uma árvore sem raiz.

NJ é um método aplicado para dados puramente aditivos, onde a distância entre cada par de unidades taxionômicas é a soma das longitudes das ramas que as unem na árvore. No caso aditivo, o NJ seria uma árvore de mínima evolução, ou seja, que a soma dos desvios entre as distâncias de pares de taxas e as longitudes de cada passo da árvore é mínima.

2.5.4. O Botstraping

O Bootstrap é uma técnica estatística de reamostragem que permite um ganho de informação acerca dos parâmetros de distribuição em um conjunto de dados. Sua principal função é avaliar a magnitude dos erros amostrais sobre inferências. A técnica de reamostragem é utilizada na construção de árvores para obter valores de confiança dos nós da árvore. Os valores de reamostragem podem ser obtidos dos dados de frequências de alelos de *locos* tomados aleatoriamente. As frequências alélicas para cada *locos* e amostra são utilizadas para o cálculo da nova matriz, que posteriormente será utilizada para construção da árvore, indicando a proporção ou porcentagem de vezes que cada nó formado em todas as árvores calculadas na reamostragem (Eding e Laval, 1999).

2.5.5. Árvores filogenéticas considerando os indivíduos como unidades taxonômicas operativas

Descrito por Bowcock et al.(1994), as árvores individuais são um tipo de análise que avalia a tendência dos animais se agruparem juntos por população. Caso os animais amostrados de uma mesma raça não se agrupam juntos, pode ser um indicativo de que existe um problema na definição da raça ou na amostragem. A possibilidade de avaliação da relação genética interindividuais de uma população baseada em genótipos de vários locos, sugere novos avanços em estudos de genéticas de populações. Esta análise elimina a necessidade *a priori* de definir cada população e facilita a detecção de recentes migrações (Ruiz-Linares, 1999).

Os microssatélites apresentam alto grau de heterozigosidade e muitos alelos para cada loco, assim cada indivíduo pode ser definido de uma forma quase inequívoca. Isto implica em se obter resultados significativos de alelos compartilhados entre indivíduos membros das populações estudadas e que podem construir árvores filogenéticas, usando os indivíduos como unidades taxonômicas.

2.5.6. Análises de correspondência

Aplicada a uma análise clássica multivariada fatorial, a análise de correspondência é uma medida de diversidade genética básica, na qual uma variável qualitativa (raça) é estudada em função de outras variáveis qualitativas (alelos), e em um termo clássico de inércia pode ser assimilada à diversidade. Assim, a análise de correspondência estabelece relações entre categorias de variáveis, definindo similaridades ou diferenças entre elas, permitindo se agruparem, caso exista “correspondência” entre elas.

A análise é efetuada a partir de uma tabela de contingência por raça, em que as linhas estão constituídas pela variável a explicar (raça) e, as colunas, pelo conjunto de variáveis explicativas (alelos). Os resultados permitem obter a importância relativa (inércia) tanto das populações quanto dos alelos com uma representação gráfica, mediante um sistema de pontos situados no espaço euclidiano e a verificação de seu grau de robustez (Khattree e Naik, 2000). Essa metodologia pode ser desenvolvida utilizando o procedimento Corresp do SAS (1999) e o programa Genetix (Belkhir, 2004).

Este sistema é especialmente interessante no caso de populações que sofreram efeito de migração, já que a construção de árvores taxonômica contradiz os princípios de reconstruções de filogenias. Esta situação ocorre com frequência em raças ou populações da mesma espécie. Na literatura podemos encontrar vários trabalhos desenvolvidos em animais domésticos que utilizam esta análise (Cymbron et al., 1999; Yang et al., 1999; Hanslik et al., 2000; Wimmers et al., 2000).

2.5.7. Método bayesiano

Outra forma de definir a variabilidade genética e a estrutura genética das populações, refere-se às probabilidades subjetivas, em que é levado em consideração o “grau de confiança” de um determinado indivíduo fazer parte ou não de uma determinada população. As técnicas Bayesianas utilizam probabilidades subjetivas medindo graus de confiança sobre os valores dos parâmetros desconhecidos (Pritchard, 2000). Essas probabilidades subjetivas são usadas para definir o que é chamado de distribuição *a priori* para o parâmetro. Então, ao trabalhar com métodos Bayesianos, tem-se o parâmetro desconhecido como uma variável aleatória, cuja distribuição *a priori* (antes de se ter os

valores observados da amostra) é conhecida; essa distribuição resume o grau de confiança subjetivo sobre o valor desconhecido do parâmetro.

Se o valor do parâmetro está próximo do verdadeiro, será escolhido um “*prior*” (informação possuída antes da coleta dos dados) com pequena variância; se não se tem muita certeza sobre o valor do parâmetro, será escolhido um “*prior*” com variância maior. Após o “*prior*” ter sido especificado, os valores amostrais são observados e usados para computar o que se chama de distribuição *a posteriori* do parâmetro. Essa distribuição *a posteriori* é construída tanto com a informação subjetiva a priori (grau de confiança) do parâmetro, quanto com a informação objetiva da amostra (função de verossimilhança). A distribuição *a posteriori* então é usada para construir um estimador do parâmetro desconhecido (Larson, 1982).

3. Bibliografias

- Aranguren-Méndez, J.; M. Gómez and J. Jordana. 2002. Hierarchical analysis of genetic structure in spanish donkey breeds using microsatellite markers. *Heredity* 89:207–211.
- Arranz, J. J., Y. Bayón, & F. San Primitivo. 1998. Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites. *Animal Genetics*. 29: 435-40.
- Barker, J. S. F. 1994. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In : World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5th., *Proceedings...* Guelph, 1994. 21: 501-508.
- Barker, J. S.F., S. G.Tan, S.O.S. Moore. 2001. Genetic variation within and relationship among populations of Asian goats (*Capra hircus*). *Journal of Animal Breeding Genetics*.118: 213-233.
- Belkhir, K. 2004. *Genetix*: Logiciel sous windowstm pour la genetique des populations. laboratoire genome, populations, interactions. Cnrs Upr 9060
- Bjornstad G. and K. H. Roed. 2000. Breed demarcation and potential for breed allocation of horses assessed by microsatellite markers. *Animal Genetics*, 32: 59-65
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, H. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 32: 314-331.
- Bowcock, A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde. 1994. High resolution of human evolution with polymorphic microsatellites. *Nature*. 368: 455-457.

Buchanan, F. C., L. J. Adams, R. P. Littlejohn, 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. *Genomics*. 22: 397-403.

Cunha, M. C. 1999. Populações tradicionais e a Convenção da Diversidade Biológica. *Estud. av.*, São Paulo, v. 13, n. 36, 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-0141999000200008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 07 junho 2006. Pré-publicação.

Cymbrom, T., R. T. Loftus, M. I. Malheiro, 1999. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. *Proceedings of the Royal Society of London. Biological Sciences*. 22: 597-603.

Dantas Silva, S. 1995. Pero Magalhães de Câdidavo: *Tratado da Terra e Historia do Brasil*. Recife. Editora Massangana- FUNDAGE. 1995. p. 15 e 16.

Delgado, B.J. V. 2002. Gestión genética de las poblaciones III: Conservación, Preservación y Mejora. Planificación y programación de la conservación: Organización del substrato; recogida de la información; selección de reproductores. Planificación de los apareamientos. In: III Curso Internacional Sobre Lá Conservación E Utilización De La Razas De Animales Domésticos Locales En Sistemas De Exploración Tradicionales. 23 de septiembre al 18 de octubre de 2002. Cordoba-Espanha. CD ROON.

Díez-Tascón, C., R. P. Littlejohn, P. A. R. Almeida, & A. M. Crawford, 2000. Genetic variation within the Merino sheep breed: analisys of closely related populations using microsatellites. *Animal Genetics*. 31: 243-251.

Domingues, O. 1942. O Caprino do Nordeste. In. _____ *Á Margem da Zootecnia*. Editora Alba LAUR-60-RIO 1942. p 155-170

- Eding, J. H., G. Laval, 1999. Measuring genetic uniqueness in livestock. *In: Genebanks and the conservation of farm animal genetic resources*. Lelystad: Ed. J.K. Oldenbroek. ID.DLO, p. 33-58.
- Falconer, D.S. Constituição genética das populações. In:_____. *Introdução a genética quantitativa*. Viçosa: Impr. Univ. 1987. p 5-8.
- FAO. 1998. Secondary Guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans : Management of small populations at site. Rome : FAO, 1998. 215 p.
- Farid, A., L. C. Really, Jr. C.R. Kelsey. 2000. Genetic analysis of ten sheep breeds using microsatellite markers. *Canadian Journal of Animal Science*. 80 : 9- 17.
- Ferreira, M.E.; D. Grattapaglia. 1995. Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. EMBRAPA - CENARGEN, Brasília, 1995. 220p.
- Ferreira, M. A. J. F. *Utilização das técnicas de marcadores moleculares na genética de populações, na genética quantitativa e no melhoramento de plantas*. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2003. 63p. (Embrapa Roraima. Documentos, 1).
- Fialho, J.B.R. 2000. *A Cabra Serpentina - Origem, Efectivos, Registo Zootécnico, Características Genéticas, Morfológicas e Produtivas*. Centro de Experimentação do Baixo Alentejo Herdade da Abóbada.
- Goldstein, D. B., A. Ruiz Linares, L. L. Cavalli-Sforza, & M. W. Feldman. 1995. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics*. 139: 463-71.
- Goldstein B.D., Schlotterer C. 1999. *Microsatellites : evolution and applications*. Oxford Urdversity Press, New York ; 352 p.

- González-Candelas, F. E., A. Montolio. 2000. Genetic differentiation and structure of *Hippocrepis locus* (Leguminosae) populations. *J. Hered.* 91, 134-141.
- Guimarães, S.E.F., 2001. Análise de marcadores genômicos e detecção de QTLs e genes candidados em melhoramento animal. In: Pereira, J.C.C., 2001. *Melhoramento genético aplicado a produção Animal*. 3. Ed. – Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2001. p 445-477.
- Guo, S. W. and E. A. Thompson, 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*. 48: 361-372.
- Hanslik, S., B. Harr, G. Brem. 2000. Microsatellite analysis reveals substantial genetic differentiation between contemporary New World and Old World Holstein Friesian populations. *Animal Genetics*. 31: 31-38.
- Ibeagha-Awemu, E.M., O.C. Jan, C. Weimann, G. Erhardt. 2004. Genetic diversity, introgression and relationships among West/Central African cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 36 (2004) 673–690
- Ishida, N., T. Hasegawa, K. Takeda, M. Sakagami, A. Onishi, S. Inumaru, M. Komatsu, H. Mukoyama. 1994. Polymorphic sequence in the D-loop region of equine mitochondrial DNA. *Animal Genetica* 25 : 215-221.
- Kantanen, J., I. Olsaker, L.E. Holm, S. Lien, J. Vikkii, K. Brusgaard, E. Bythorsdottir, Danell, B., Adalsteinsso, S. 2000. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. *Journal of Heredity*. 91 : 446-457.
- Khattree, R., D. Naik. 2000. Correspondence Analysis. In: *Multivariate data reduction and discrimination. With SAS® Software*. Cary, NC: SAS Institute Inc., p.443-509.

- Kumar, D. 2000. DNA markers for the differentiation of farm animal breeds. In: SAHAI, R., R. K. VIJH, (Ed.) **Domestic Animal Diversity: Conservation And Sustainable Development**. Karnal : SI Publications. P.305-312.
- Larson, H.J. 1982. *Introduction to probability theory and statistical inference*. John Wiley & Sons, Singapore, 3 ed., 1982, 637p.
- Levin, I., L. Bantagelo, H. Cheng, B. Crittenden, B. Domson. 1994. An autosomal genetic linkage map of the chicken. *The Journal of Heredity*. 85 : 79-85.
- Li, M. H., S. H. Zhao, C. Bian, H. S. Wang, H. Wei. 2002. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite. *Genet. Sel. Evol.* 34: 729-744.
- Litt, M., J.A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal Of Human Genetics*. 44 : 397-401.
- Loftus, R.T., D.E. Machugh, D.G. Bradlzy, P.M. Sharp, P. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 91 : 2757-2761.
- Machado, T.M.M., Chakir, M. Lauvergne, J.J. 2000. Genetic, Distance and Taxonomic Tree Between Goats of Ceará State (Brazil) and Goats of Mediterranean Region (Europe and Africa). *Genetics and Molecular Biology*: v. 23, n. 1, p. 121-125.
- Martín-Burriel, I., E. García-Muro, & P. Zaragoza. 1999. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics*. 30 : 177-182.

- Martínez, A. M., J. V. Delgado, A. Rodero. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Animal Genetics*. 31, 295-301.
- Menezes, M.P. 2005. *Caracterização Genética de Cabras Brasileiras Utilizando Microsatélites*. 133 f. Tese (Doutorado Produção Animal) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloe, J. P. Furet, & F. Grosclaude, 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*. 28: 338-345.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Vaiman, D. Mercier. 1994. The conservation of dinucleotide microsatellite among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primers pairs in closely related species. *Genomics*. 10: 654-660.
- Mullis, K.B., F. Faloona, S. Scharf, Saiki, R., G. Horn, H. Erlich. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold. Spring. Hár. Symp. Quant. Biol.* 51 : 263-273.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences o USA*. 70 : 332 1 3323.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human Genetics*. 41: 225-233.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press. New York
- Nei, M., F. Tajima, Y. Tatenno. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *Journal of Molecular Evolution*. 19: 153-70.
- Neuman, K., J.H. Wetton, 1996. Highly polymorphic microsatellites in the house sparrow,

Passer domesticus. *Molecular Ecology*. 5 : 307-309.

Oliveira, J.C.V. 2004. Caracterização e perfil etnológico de rebanhos caprinos nos municípios de Ibirimir e Serra Talhada, estado de Pernambuco. 60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife-PE.

Oliveira, J.C.V., L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A. Gomes Filho, S. E. F. 2006. Guimarães Divergência genética entre caprinos da Raça Moxotó através da utilização de marcadores microssatélites. In: Simpósio Internacional de Conservação de Recursos Genéticos -Raças Nativas para o Semi-Árido. 2, *Anais...* Recife-Pernambuco. II SINCORGE. CR-ROM

Ott, J. 1992. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. *American Journal of Human Genetics*. 51: 283-290.

Ouaf, A.T., J.M. Babilliot, C. Leroux, P. Martin, 2002. Genetic diversity of the two main Moroccan goat breeds : phylogenetic relationships with four breeds reared in France. *Small Ruminant Research* 45 : 225–233.

Pires, M.I.C. *Guerra dos Bárbaros: Registância Indígena e conflitos no Nordeste Colonial*. Recife: FADURPE, 1990. 146p.

Ponsuksili, S., K. Wimmers, F. Schmoll, Horst, P., Schellander, K. 1999. Comparison of multilocus DNA fingerprints and microsatellites in an estimate of genetic distance in Chicken. *The Journal of Heredity*. 90 : 656-659.

Primmer, C.R., and H. Ellegren, 1998. Patterns of molecular evolution in avian microsatellites. *Molecular Evolution and Evolution*. V. 15, p: 997-1008.

Primo, A. T. Introdução de animais domésticos no novo mundo. In: II Simposio De

- Recursos Genéticos Para América Latina e Caribe – Sirgealc. Brasília, 1999. *Proceeding...* Brasília, 1999. CD-ROM.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155: 945–959.
- Renwick, A., L. Davinson, H. Spratt, J. Patrick King, M. Kimmel. 2001. Dna Dinucleotide evolution in Humans : fitting theory to fácts. *Genetics*. 159 : 737-747.
- Regitano, L.C.A. & L.L. Coutinho. 2001. *Biologia molecular aplicada à produção animal*. Brsília: Embrapa Informações tecnologias. 215p.
- Reynolds, J. 1983. Estimation of the coancestry coefficient basis for a short-term genetic distance. *Genetics*. 105: 767-779.
- Rodero, A., J. V. Delgado, E. Rodero. 1992. Primitive Andalusian livestock and their implications in the discovery of America. *Archivos de Zootecnia*. 41(extra) : 383-400.
- Rogers, J.B. 1972. *Measures of genetic similarity and genetic distance*. En : Studies in Genetics VII. University of Texas Publication 7213, p. 145-153.
- Ruiz-Linares, A. 1999. *Microsatellites and the reconstruction of the history of human populations*. Microsatellites. Schlötterer, D. Ed. 183-197. Oxford University Press. Oxford.
- Saitbekoba, N., C. Gaillard, G. Obexer-Ruff, G. Dolf. 1999. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics*. 30: 36-41.
- Santos Dias, L.A. 1998. Análise Multidimensionais. In: Alfenas A.A., *Eletroforese de isoensimas: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos*. Viçosa, UFV,

1998. p. 405-473.

Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4: 406-25.

SAS® 1999. Institute Inc., SAS® User's Guide : Statistics. Version 8. Cary, NC, USA.

Schlotterer, C., and D.Tautz, 1992. Slippage synthesis of simple sequence : *DNA. Nucleic Acids Research* 20 : 211-215.

Sereno, J. R. B. 2002. Status-Quo de la conservación genética de los caballos y bovinos pantaneiros en Brasil. *Archivos de Zootecnia*. 51: 65-82.

Serrano, G.M.; A.A. Egito, C. McManus; A. da S. Mariante. 2005. Genetic population structure of brazilian bovine breeds inferred by rapid markers. *Arch. Zootec*. 54: 409-414. 2005.

Shrestha J.N.B. 2005. Conserving domestic animal diversity among composite populations. *Small Ruminant Research* 56 (2005) 3–20

Simonsen, R.C. O Ciclo da Mineração. In_____ *História Econômica do Brasil: 1500-1820*. 5a. ed. Vol 100-a , 1937

Sollero, B.P., S. R. Paiva, D.A. Faria, S.E.F. Guimarães, A.A. Egito, M.S.M. Albuquerque, M.A. P. Neto, G.R. Bertani, U. Pivezan, A.S. Mariante, 2006. Estrutura genética de cinco raças naturalizadas e comerciais de suínos do Brasil. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 43., 2006, João Pessoa – PB. *Anais...* João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, CD-ROM.

Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research*. 17: 6463-6471.

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frigters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*. 23: 4407-4414.
- Weir, B. S. and C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for analysis of population structure. *Evolution*. 36: 1358-1370.
- Wimmers, K., Ponsuksili, S., Hardge, T. 2000. Genetic distinctness of African, Asian and South American local chickens. *Animal Genetics*. 31(3): 159-165.
- Wright, S. 1969. *The theory of gene frequencies II*. Ed. The University of Chicago press. 511p.
- Zabeau, M. 1993. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprint. European Patent Application n. 92402629.7. (Publication n. 0534858 A1). 1993. Disponível em: <<http://www.wipo.int/ipdl/IPDL-IMAGES/PCT-PAGES/1993/091993/93006239/93006239.pdf>> Acesso em: 21/07/2006.
- Yang, L., S. H. Zhao, K. Li, 1999. Determination of relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Animal Genetics*. 30: 452-456.

CAPÍTULO I

RELAÇÕES GENÉTICAS ENTRE CAPRINOS MOXOTÓ E SERPENTINA

*Oliveira, J.C.V. L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A. Gomes Filho, A.M. Martinez, J. V. Delgado M.P. Carrera

* Pesquisador do IPA Email: juliooliveira@ipa.br, Endereço: Estação Experimental de Arcoverde, Cep 56500- 000, C.P. 51 Arcoverde –PE Br 232 Km 253

Resumo

Foram avaliados 187 caprinos da raça Moxotó, dos estados da Paraíba, Pernambuco e Mossoró-RN, e 46 animais da raça Serpentina, de Portugal com a finalidade de verificar a relação filogenéticas existente entre os rebanhos da raça Moxotó e Serpentina através da análise de 25 microssatélites. As amostras de DNA foram extraídas de pêlos. Os microssatélites utilizados amplificaram normalmente nas populações em estudo. O número de alelos por loco variou de 3 (MAF209 e ETH225) a 24 (CSSM66). 70% dos microssatélites utilizados foram bastante polimórficos apresentando valores de PIC acima de 0,5. A H_o foi superior 0,5 em 80% dos marcadores. A divergência genética estimada (G_{ST}) com base nos 25 marcadores foi 12,75%. As distâncias genéticas indicaram haver diferenças entre os rebanhos estudados, sendo a menor distância entre os rebanhos dos Municípios de Mossoró-RN e Taperoá-PB (0,0339) e a maior distância entre os rebanhos da raça Serpentina-POR e Patos-PB(0,2247). As árvores filogenéticas indicaram a existência de particularidades entre os rebanhos. Observou-se que pode ter existidos ancestrais da raça Serpentina-POR na formação do rebanho Moxotó. As populações de Patos-PB e Serra-Talhada-PE mostraram-se mais isolados indicando baixo fluxo gênico. Tendo em vista estes aspectos conclui-se que ocorre diferenças genéticas entre os rebanhos de caprinos da Moxotó estudados. Os animais de Mossoró-RN, Ibimirim-PE, Taperoá-PB podem ser utilizados para recuperar a variabilidade genéticas dos rebanhos de Serra-Talhada e Patos-PB e dar início a um programa de conservação e melhoramento genético.

Palavras Chave: Diversidade, distância, Brasil, marcadores microssatélites.

GENETIC RELATIONSHIPS AMONG GOATS MOXOTÓ AND SERPENTINA

*Oliveira, J.C.V. L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A. Gomes Filho, A.M. Martinez, J. V. Delgado M.P. Carrera

* Pesquisador do IPA Email: juliooliveira@ipa.br, Endereço: Estação Experimental de Arcoverde, Cep 56500- 000, C.P. 51 Arcoverde –PE Br 232 Km 253

ABSTRACT

They were appraised 187 goats Moxotó breed, of the states of Paraíba, Pernambuco and Mossoró-RN, and 46 animals of the Serpentine breed, of Portugal with the objective of verifying the existent phylogenetic relationship among the flocks of the Moxotó and Serpentina breeds through the analysis of 25 microsatellites. The samples of DNA were extracted of hair. The microsatellites used amplified well in the populations in study. The alleles number for loco varied of 3 (MAF209 and ETH225) to 24 (CSSM66). 70% of the used microsatellites were plenty polymorphic presenting values of PIC above 0,5. Ho was superior 0,5 in 80% of the markers. The genetic divergence estimated (GST) with base in the 25 markers was 12,75%. The genetic distances indicated there differences among the studied flocks, being at smallest distance between the flocks of the Municipal of Mossoró-RN and Taperoá-PB (0,0339) and the largest distance among the flocks of the Serpentinar and Patos-PB(0,2247). The phylogenetic trees indicated the existence of particularities among the flocks. It was observed that might have existed ancestral of the race Sereptina in the formation of the Moxotó breed. The populations of Patos-PB and Serra-Talhada-PE was more isolated indicating low flow genic. Happens genetic differences among the flocks of goats Moxotó. The animals of Mossoró-RN, Ibimirim-PE, Taperoá-PB can be used to recover the variability genetic of the flocks of Serra-Talhada-PE and Patos-PB and to give beginning to a conservation program and genetic improvement.

KEYWORDS: Genetic distance, Brazil, microsatellites markers

INTRODUÇÃO

O mundo tem dado um avanço muito importante nos estudos dos recursos genéticos animais. Considerando a importância de tais recursos, estes ainda têm sido pouco estudados e pouco caracterizados, principalmente no que diz respeito às populações nativas, as quais desempenham papel socioeconômico muito importante para as comunidades mais pobres, que geralmente trabalham com esses animais. Sendo assim, estudos sobre os recursos genéticos animais são prioridade nacional de muitos países, ao entenderem que atendem às necessidades humanas e beneficiam o meio ambiente e que por eles deve-se cuidar, resgatar fomentar e melhorar, se for o caso (Henson, 1992). No Brasil, essa necessidade é ainda maior, haja vista que é um país que concentra a maior biodiversidade do planeta, e também é o que mais perdas tem tido desse material genético, e sua conservação é imprescindível e urgente.

A obtenção de informações sobre os recursos genéticos animais fornece suporte analítico e estratégias para a conservação e uso sustentado desses animais, sendo, portanto, de grande necessidade. A biodiversidade em todos os níveis representa um importante recurso econômico, cuja perda consiste em prejuízo econômico social que será pago pela humanidade, e cuja manutenção pode ser comparada como um investimento financeiro, que será útil tanto no presente como no futuro (Setshwaelo, 2002).

Tendo em vista estes aspectos, fica clara importância da biodiversidade das raças domésticas para a pecuária do futuro, onde novas mudanças e obstáculos ditados pelo mercado e/ou pelas mudanças climáticas, podem ser superados com o auxílio de genes ou combinações gênicas presentes nas raças ou tipos nativos. Dentro deste ponto de vista, é desejável manter o máximo de diversidade genética dentro de cada espécie (Eding e Laval, 1999).

A variabilidade entre populações ou raças pode ser avaliada e mensurada através de ferramentas matemáticas, que traduzem as diferenças em medidas de distância entre um par de populações. Dada a distinção entre diversidade genética e fenotípica, a distância também pode ser designada por genética ou fenotípica, dependendo da metodologia adotada na observação da variabilidade. Segundo a definição da FAO (1998), em relação aos genes, o maior número de alelos deve ser preservado, o que implica num esforço de preservar a diversidade total.

Segundo Eding e Laval (1999), a razão para este esforço de conservação na Europa é manter a flexibilidade para atender a mudanças de demanda do mercado e do sistema produtivo. Um parâmetro importante para as estratégias de preservação de recursos genéticos é a singularidade genética das raças, no sentido de quão diferente a raça é de todas as outras. Deste ponto de vista, é importante estimar as distâncias genéticas entre os pares de raças e construir árvores filogenéticas, visando escolher populações que cobrem a maior proporção de variabilidade genética, buscando-se assim otimizar os recursos e preservar o máximo desta variabilidade. (Nei e Takezaki, 1994).

Para medir a singularidade, deve-se estudar a diversidade do conjunto de raças, o que pode ser matematicamente traduzido em medidas de distância genética, como será discutido a seguir. Os métodos para cálculo de distância genética utilizam a diferença das frequências alélicas em diferentes populações. Em princípio, qualquer seqüência de DNA que demonstre polimorfismo pode ser utilizada. Os marcadores genéticos são extremamente importantes para a caracterização das raças/tipos, pois não são afetados pelo ambiente, como as características fenotípicas.

As análises de DNA revelam diretamente a fonte de variabilidade genética, sendo, portanto ideal para medidas de distância genética, embora sejam dispendiosas (Nei e Takezaki, 1994).

No Brasil, existem poucos estudos a respeito da similaridade entre populações de animais de raças nativas. Alguns trabalhos foram desenvolvidos para a caracterização genética de bovinos das raças Caracu e Mantiqueira, através de polimorfismo bioquímico (Lara et al., 1998); ainda em bovinos, pode ser citado a caracterização da raça Crioulo Lageano (Spritze et. al., 2003). Em ovinos, a caracterização genética da Raça Santa Inês (Paiva et. al., 2004). Em caprinos, Igarashi et al. (2000) estudou a relação genética entre raças nativas e importadas através de polimorfismo bioquímico. Oliveira (2003) estudou as relações genéticas entre caprinos da raça Moxotó utilizando marcadores RAPD. Araújo (2004) verificou a diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microssatélites. Menezes (2005) estudou as relações genéticas entre cabras brasileiras utilizando marcadores microssatélites. Nesta mesma linha de pesquisa, Oliveira et. al. (2006) estudou a divergência genética de caprinos da raça Moxotó, e recentemente Rocha et. al. (2007) estudou o plimorfismo protéico, também na raça Moxotó. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar a distância genética entre caprinos da raça Moxotó dos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco, utilizando como grupo controle a Raça Serpentina de Portugal, como forma de aprofundar os estudos sobre a diversidade genética existente na raça Moxotó, e suas relações com a raça Serpentina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados pêlos de 233 caprinos da raça Moxotó e Serpentina: 40 em Patos e 40 em Taperoá no Estado da Paraíba; 28 em Ibimirim e 40 em Serra-Talhada no Estado de Pernambuco; 39 no Estado do Mossoró-RN e 46 animais da raça Serpentina de Portugal. O DNA foi extraído de pêlos selecionados, segundo a metodologia estabelecida por Walsh et al. (1991). Todos os animais são mantidos em sistema semi-extensivo de criação, com

excessão do rebanho localizado no município de Ibirimir-PE, região que se caracteriza por apresentar sistemas de criação mistos, em que os caprinos são criados extensivamente. As amplificações via PCR (Polymerase Chain Reaction) foram otimizadas e realizadas para 25 marcadores Microssatélite (Tabela I). As reações de PCR continham: 5 µL de DNA, 2,5 mM de cloreto de magnésio, 1 unidade de Taq Polimerase, 200 mM de dNTPs e 0,25 mM de primers, para um volume final de 25 µL. As condições de amplificação no termociclador foram as seguintes: inicialmente, incubou-se por 10 minutos a 94°C, para desnaturação completa do DNA molde, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 30", 55°C para a maioria dos marcadores e a 60°C (CSRM60) por 45" e 72°C por 30" e finalmente, após os 35 ciclos, acrescentou-se 10' a 72°C, para extensão completa dos produtos amplificados.

Tabela I. Loco, primers utilizados e dados na literatura para cada loco estudado em caprinos (*Loco, used primers and data in the literature for each loco studied in goats*)

<i>Loco</i>	PRIMER	
BM1329	F: TTGTTTAGGCAAGTCCAAAGTC R: AACACCGCAGCTTCATCC	Bishop et al., (1994)
BM1818	F: AGCTGGGAATATAACCAAAGG R: AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	Li et al., (2002)
BM6506	F: GCACGTGGTAAAGAGATGGC R: AGCAACTTGAGCATGGCAC	Bishop et al., (1994)
BM6526	F: CATGCCAAACAATATCCAGC R: TGAAGGTAGAGAGCAAGCAGC	Bishop et al. (1994)
BM8125	F: CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG R: GGGGGTTAGACTTCAACATACG	Bishop et al. (1994)
CSR247	F: GGAATGCGCAGAACTCTGCAAT R: CACTGTGGTTTGTATTAGTCAGG	Fao, (2004)
CSRM60	F: AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA R: AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	Moore et al. (1994)
CSSM66	F: ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA R: AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	Barendse et al. (1994)
ETH10	F: GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA R: CCTCCAGCCACTTTCCTCTCTC	Solinas et al. (1993)
ETH225	F: GATCACCTTGCCACTATTTCCT R: ACATGACAGCCAGCTGCTACT	Barendse et al. (1994)
HAUT27	F: TTTTATGTTTATTTTTGACTGG R: AACTGCTGAAATCTCCATCTTA	Thieven et al. (1997)
HSC	F: CTGCCAATGCAGAGACACAAGA R: GTCTGCTCCTGCTGTGTCATC	Isag (2002)
ILSTS011	F: GCTTGCTACATGGAAAGTGC R: CTAAAATGCAGAGCCCTACC	Luikart et al. (1999)
INRA6	F: AGGAATATCTGTATCAACCTCAGTC R: CTGAGCTGGGGTGGGAGCTATAAATA	Bishop et al. (1994)

<i>Continuação...</i>		
<i>Loco</i>	PRIMER	
INRA63	F: ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC R: AAACCACAGAAATGCTTGGGAAG	Vaiman et al. (1994)
MAF209	F: GATCACAAAAAGTTGGATACAACGTGG R: TCATGCACTTAAGTATGTAGGATGCTG	Luikart et. al. (1999)
MAF65	F: AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG R: CCACTCCTCCTGAGAATATAACATG	Luikart et. al. (1999)
McM527	F: GTCCATTGCCTCAAATCAATTC R: AAACCACTTGACTACTCCCAA	Isag (2002)
MM12	F: CAAGACAGGTGTTTCAATCT R: ATCGACTCTGGGGATGATGT	Mommens et al., (1994)
OarFCB48	F: GAGTTAGTACAAGGATGACAAGAGGCAC R: GACTCTAGAGGATCGCAAAGAACCAG	Yang et al., (1999)
SPS115	F: AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG R: AACGAGTGTCTAGTTTGGCTGTG	Moore Et AL., (1993)
SRCRSP8	F: TGCGTCTGGTTCCTGATTTCAC R: CCTGCATGAGAAAGTCGATGCTTAG	Luikart et al. (1999)
TGLA122	F: CCTCCTCCAGGTAAATCAGC R: AATCACATGGCAAATAAGTACATAC	Georges et al., 1992
OarFCB11	F: GGCCTGAACTCACAAGTTGATATATCTATCAC R: GCAAGCAGGTCTTTACCACTAGCACC	Yang et al., 1999
OarFCB304	F: CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGG R: CGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	Yang et al. (1999)

Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de poli-acrilamida em, um seqüenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City CA, USA) para realizar a separação por tamanhos de fragmentos obtidos mediante as PCRs. As análises de fragmentos e a tipificação alélica realizaram-se mediante os programas informáticos GeneScan Analisis v. 3.7 e Genotyper v. 2.5, respectivamente.

Análise Estatística

As estimativas de frequências alélicas e valores de heterozigidade esperadas segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_E) e observadas (H_O) para cada loco, índices de fixação de Wright F_{IS} (consangüinidade ou perda de heterozigidade dentro da população) foram estimadas segundo Weir e Cockerham (1984), utilizando o programa Genetix 4.05.2 (Belkhir, 2004). O conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) e desvios do Equilíbrio de Hardy-Weinberg foram estimados utilizando o programa Cervus (Marshall et al., 1998).

A distância genética corrigida para amostras de tamanho pequeno (D_A) foi estimada segundo Nei (1978). Para a análise de agrupamento e *bootstrapping* utilizou-se o programa Population v. 1.2.29 (Olivier, 1999) e os métodos de grupamento com média aritmética não ponderada (UPGMA-Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean). Para construção das árvores filogenéticas e seus respectivos *bootstrapping*, utilizou-se o o programa TreeView (Page, 2001)

As árvores filogenéticas foram construídas considerando os indivíduos como unidades taxonômicas operativas (OTU), utilizando o programa informático Microsat, desenvolvido por Minch (1998). Os pares de distâncias genéticas entre indivíduos foram obtidos baseados na proporção de alelos compartilhados (D_{SA}) (Bowcock et al., 1994). Para essa análise utilizou-se o método de agrupamento Neighbor-Joining contido no programa Phylip versão 3.67 (Felsenstein, 2007), aplicando-se o procedimento Neighbor. Neste caso utilizou-se o progrma HiperTree 1.0.0 (Sugen 1999) para a construção da árvore filogenética.

Para estabelecer relações entre categorias de variáveis nas populações estudadas, definindo similaridades ou diferenças entre elas, foi feito uma análise de correspondência, permitindo depois a construção de um gráfico, o qual demonstra o agrupamento daqueles indivíduos e populações, nas quais existe “correspondência” entre elas. Essa análise foi feita com o auxílio do programa Genetix 4.05.2 (Belkhir, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 25 locos de microssatélites utilizados, todos amplificaram normalmente nas populações em estudo. Como pode ser visto na Figura I, o número de alelos por loco variou de 3 (MAF209 e ETH225) a 24 (CSSM66).

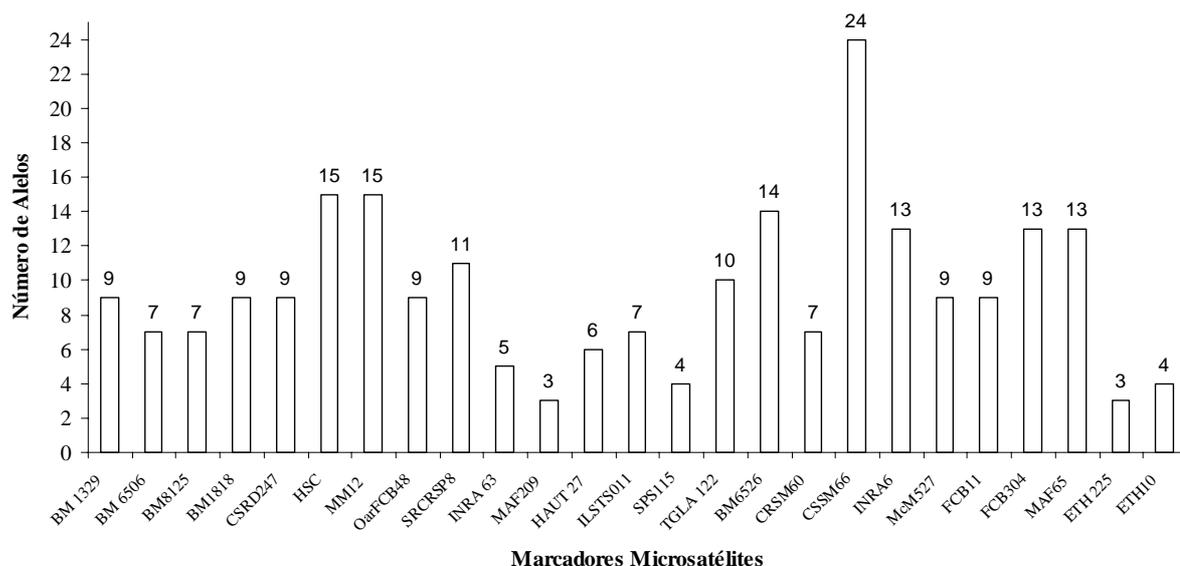


Figura I Número médio de alelos por *locus* (*Alelic number by locus*)

Na Tabela I, encontra-se o número e variação do tamanho de alelos por loco, e número de alelos compartilhados nas populações estudadas. Observa-se que todos os locos apresentaram elevada amplitude alélica, com exceção dos locos MAF209, INRA63, ETH225, SP115 e ETH10 que apresentaram variação de 105-109, 159-171, 146-150, 234-252, e 207-215 pb, respectivamente(Anexo).

Os alelos do loco MAF209 apresentaram alelos de 105 e 107 pb nos rebanhos de Ibimirim-PE, sendo o alelo de 105 pb exclusivo desse rebanho, com frequência de 0,0536. No rebanho da raça Serpentina-POR, esse locus apresentou alelos de 107 e 109 pb, sendo esse último exclusivo dessa raça com frequência de 0,0326. Já nos rebanhos de Mossoró-RN, Taperoá - PB, Patos-PB e Serra Talhada, esse loco apresentou apenas o alelo de 107 pb com frequência máxima. O locus MAF209 é um marcador de ovinos, e apesar de ser utilizado em estudos da espécie caprina, mostrou-se pouco polimórfico neste estudo; tais resultados estão semelhantes aos reportados por Luikart et al., (1999) em cabras espanholas e Menezes (2005) estudando a diversidade genética de cabras. Segundo esse autor,

possivelmente este locus se encontra em uma zona com baixa variabilidade genética em caprinos.

Os 5 alelos do loco INRA63 apresentaram-se no rebanho da raça Serpentina, compartilhando 3 alelos com os rebanhos da raça Moxotó (163, 165 e 167 pb)

O loco ETH225 compartilhou todos os seus alelos com as demais rebanhos, com exceção do alelo de 150 pb, que não foi encontrado nos rebanho de Mossoró-RN, Patos-PB e Serra-Talhada-PE.

O loco ETH10 também teve seu alelos compartilhados em todas as populações, com exceção do alelo de 215 pb, que foi exclusivo do rebanho e Ibimirim-PE.

Já o loco CSSM66 apresentou grande quantidade de alelos que variaram de 183-257 pb, com alelos compartilhados por todos os rebanhos, destacando os alelos de 189 e 229 pb, cujas maiores frequências foram no rebanho de Ibimirim, PE(0,2143) e Patos, PB (0,3571), respectivamente. Os alelos de 255 pb foram exclusivos da população de Serra – Talhada-PE e o de 221 pb exclusivo de Patos, PB. A raça Serpentina também apresentou particularidades apresentando seis alelos exclusivos (185, 213, 217, 249, 251 e 253 pb).

Tabela I. Número e variação do tamanho de alelos por locus, e número de alelos compartilhados nas populações estudadas (*Number and variation of the alelos size for locus, and alelos number shared in the studied populations*)

Locus	N	Tamanho dos alelos (P)	Número de Alelos compartilhados população*					
			MO	TA	PA	IB	ST	SE
BM1329	9	157 169 171 173 175 177 179 181 183	6	8	6	5	3	9
BM6506	7	208 210 212 214 216 218 220	3	5	2	4	3	7
BM8125	7	110 114 116 118 120 122 124	5	5	5	4	4	7
BM1818	9	254 256 258 260 262 264 266 268 270	7	6	4	8	5	9
CSRD247	9	218 230 232 234 236 238 240 242 244	6	6	4	6	5	7
HSC	15	276 278 280 282 284 286 288 290 292 294 296 298 300 302 304	8	7	4	5	6	14
MM12	15	92 94 96 98 100 102 104 106 108 112 114 116 118 120 122	8	4	5	6	7	15
OarFCB48	9	145 149 151 153 155 157 159 161 163	5	7	4	5	4	9
SRCRSP8	11	216 224 226 228 230 232 234 238 242 244 246.	8	5	6	6	4	8
INRA63	5	159 163 165 167 171.	3	2	3	2	2	5
MAF209	3	105 107 109	1	1	1	2	1	2

Continuação...

Locus	N	Tamanho dos alelos (P)	Número de Alelos compartilhados população*					
			MO	TA	PA	IB	ST	SE
HAUT27	6	132 134 136 138 140 142	3	3	3	5	4	3
ILSTS011	7	270 272 274 280 282 284 286	6	4	4	6	6	7
SPS115	4	234 248 250 252	4	2	3	3	2	2
TGLA122	10	134 136 138 140 142 144 146 148 150 152	5	6	8	7	5	6
BM652	14	159 161 163 165 167 169 173 175 177 179 181 183 185 187	11	10	4	7	7	12
CRSM60	7	77 79 81 83 85 87 89	6	7	3	4	4	7
CSSM66	24	183 185 187 189 191 193 195 197 199 213 215 217 221 225 227 229 231 233 235 249 251 253 255 257	7	9	9	10	11	14
INRA6	13	101 105 107 109 111 113 115 117 119 121 123 125 127	8	9	7	8	3	10
McM527	9	156 158 164 166 168 170 172 174 182	7	5	5	5	4	8
FCB11	9	133 135 141 145 147 149 151 155 157	6	5	5	5	4	8
FCB304	13	133 137 139 141 143 145 153 155 157 159 161 163 167	8	7	6	7	5	8
MAF65	13	124 126 128 130 132 134 136 138 140 142 146 148 150	9	4	3	5	4	11
ETH225	3	146 148 150	2	3	2	3	2	3
ETH10	4	207 209 211 215	3	3	3	4	3	3

*MO=Mossoró-RN; TA=Taperoá-PB; PA=Patos-PB; IB=Ibimirim-PE; ST=Serra-Talhada-PE e SE=Serpentina-POR.

Por outro lado, o marcador CSSM66 apresentou um elevado número de alelos (24). Essa quantidade é considerada excessiva, o que não é interessante do ponto de vista prático nos estudos de caracterização, uma vez que a maioria dos alelos são compartilhados pelos indivíduos, dificultando a classificação destes às suas respectivas populações.

Resultado semelhante foi observado por Menezes (2005), estudando a diversidade genéticas de cabras brasileiras dos Estados da Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Bahia e Piauí, tendo encontrado 23 alelos no marcador CSSM66. Possivelmente este locus encontram-se em uma zona hipervariável do DNA no genoma dos caprinos

Araújo (2004), estudando paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil, por meio de marcadores microssatélites, observou menores ocorrência de alelos para os locos INRA6 (4 alelos) INRA063 (3 alelos) e OARFCB48 (2 alelos) na raça Moxotó. Os

valores encontrados para número de alelos também estão de acordo com os observados por alguns autores que estudaram diversidade genética em caprinos (Saitbekova et al., 1999; Yang et al., 1999; Li et al., 2002).

Verificou-se também que as populações compartilharam a maioria dos alelos, contudo o rebanho de caprinos de Serra-Talhada apresentou o menor número de alelos, compartilhando dessa forma menor número de alelos com o restante das populações. Isto ocorre, provavelmente, por ser um rebanho isolado, no qual é freqüente os acasalamentos consangüíneos, favorecendo o aumento da homozigose e a fixação de alelos nos indivíduos desse rebanho.

Segundo Buchman et al. (1994), as diferentes freqüências alélicas que ocorrem entre populações indicam que os marcadores podem ser utilizados para identificar ou alocar indivíduos dentro de raças, ou na sua região de origem. Essas diferenças ou variabilidade deve ser utilizada como ferramenta básica de um programa de conservação, através de um sistema de gestão que considere e utilize essas diferenças acasalando os animais mais diferentes possíveis.

Os marcadores MM12, SRCRSP8, INRA6, TGL122 e FCB11 apresentaram elevado grau de heterozigosidade observada com valores superior a 0,7 (Tabela II). Já os marcadores BM6506, INRA63, MAF209, SPS115, ETH225 apresentaram baixos níveis de heterozigosidade com valores inferiores a 0,5.

No entanto, os valores de heterozigosidade observada foram ligeiramente inferiores aos da esperada, o que pode refletir deficiência de heterozigotos nessas populações.

Resultados semelhantes foram encontrados por Menezes (2005), que observou bons níveis de heterozigosidade média observada por loco, revelando elevado grau de polimorfismo, os quais apresentaram valores superiores a 0,5 em mais de 70% dos locos analisados.

Araújo (2004), estudando a diversidade genética das raças Alpina, Saanen e Moxotó, verificou valores aproximados da heterozigosidades esperada e observada para os mesmo locos em estudo, indicando haver perda global de variabilidade. Arranz et al. (1998) também verificou comportamento semelhante entre as heterozigosidades observadas e esperada em ovinos espanhóis.

Estes mesmos autores citam que baixos valores de heterozigosidade podem ocorrer devido ao efeito gargalo de garraga (*bottleneck*). Estudando a diversidade genética em cabras asiáticas, Barker et al. (2001) também observou altos níveis de heterozigosidade.

Os valores de conteúdo de informação polimórfica (PIC) (Tabela II) apresentaram valores superiores a 0,5, em 84 % dos locos analisados, indicando que os marcadores são informativos e podem ser utilizados para as análises de diversidade genética, já que o PIC fornece a idéia de qualidade do marcador em estudos genéticos (Moazami-Goudarzi et al. 1997).

A maioria dos marcadores apresentou desvios significativos para o EHW ($p < 0,05$), com exceção dos marcadores BM1329, HAUT27, TGLA122, FCB30, ETH225 e ETH10 (Tabela II). Os desvios das proporções genótípicas EHW podem ter ocorrido devido à existência de subdivisão na população em estudo, presença de alelos nulos, erros de amostragem, migração, deriva genética e presença de ancestrais comuns na população. Menezes (2005), estudando um painel de 27 microssatélites em cabras brasileiras, observou que a raça Moxotó foi a que apresentou maior número de locos (11) em desequilíbrio, seguidos por Serrana Azul, Marota e Repartida (9), Canindé (8) e Graúna (7).

Na Tabela III, observa-se que em média, a divergência genética estimada (G_{ST}) com base nos 25 locos microssatélites, foi cerca de 12,75 %. Este resultado indica que 12,75 % da diversidade total é decorrente de diferenças genéticas entre as populações, e 87,75% da

variabilidade existente dentro das populações. Em 68 % dos locos analisados, os valores de G_{ST} foram superiores a 0,1. Os maiores valores foram observados para os locos BM6506 (0,2443), SPS115 (0,2275), HAUT27 (0,2050) e INRA63 (0,1865), demonstrando que estes locos foram os mais informativos, pois expressaram maiores índices de divergências entre as populações investigadas, sendo extremamente importantes em estudo de caracterização genética em caprinos.

Menezes (2005) encontrou valor médio de G_{ST} de 0,075, revelando uma baixa proporção relativa da variação genética inter-populações. Em estudos de diversidade genética, Saitbekova *et al.*, (1999) encontraram diferenças entre nove raças de cabras Suíças de 17%, possivelmente, indicando maior heterogeneidade.

Tabela II. Número de Alelos (k) número de indivíduos (N), Número de Heterozigotos (Hets), Número de Homozigotos (Homs) Heterozigosidade observada (Ho), Heterozigosidade esperada (He), Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) em função dos loco analisados (*Allele number (k), Individual number (N) observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), Polymorphyc Information content (PIC) in function of analyzed Loco*)

Locus	k	N	Hets	Homs	Ho	He	PIC	HW
BM132	9	223	155	68	0.695	0.737	0.698	NS
BM650	7	227	91	136	0.401	0.576	0.546	**
BM812	7	230	142	88	0.617	0.721	0.679	**
BM181	9	220	150	70	0.682	0.825	0.801	**
CSRD247	9	219	134	85	0.612	0.812	0.784	**
HSC	15	228	143	85	0.627	0.793	0.765	**
MM12	15	217	153	64	0.705	0.822	0.798	**
OarFCB48	9	229	151	78	0.659	0.748	0.712	**
SRCRSP8	11	227	168	59	0.740	0.811	0.781	**
INRA63	5	231	78	153	0.338	0.463	0.385	**
MAF209	3	233	4	229	0.017	0.026	0.025	**
HAUT27	6	185	94	91	0.508	0.513	0.445	NS
ILSTS011	7	233	128	105	0.549	0.712	0.671	**
SPS115	4	233	87	146	0.373	0.618	0.540	**
TGLA122	10	225	169	56	0.751	0.809	0.781	NS
BM652	14	228	152	76	0.667	0.737	0.717	**
CRSM60	7	230	151	79	0.657	0.798	0.771	**
CSSM66	24	218	118	100	0.541	0.884	0.871	**
INRA6	13	190	136	54	0.716	0.779	0.754	**
McM527	9	222	147	75	0.662	0.791	0.757	**
FCB11	9	230	161	69	0.700	0.805	0.774	**
FCB30	13	223	144	79	0.646	0.720	0.694	NS
MAF65	13	221	115	106	0.520	0.696	0.650	**
ETH225	3	230	91	139	0.396	0.423	0.354	NS
ETH10	4	222	132	90	0.595	0.659	0.585	NS

* ($p < 0,05$), NS = Não significativo

Tabela III. Estimativas de H_S , H_T , G_{ST} , para os loco analisado (*Estimates of H_S , H_T , G_{ST} , for each analyzed loco*)

<i>Loco</i>	H_S	H_T	G_{ST}
BM 1329	0,682	0,729	0,066
BM 6506	0,421	0,557	0,244
BM 8125	0,605	0,718	0,157
BM1818	0,745	0,820	0,092
CSR247	0,684	0,804	0,149
HSC	0,681	0,790	0,138
MMA12	0,700	0,809	0,134
OarFCB48	0,648	0,730	0,113
SRCRSP8	0,744	0,809	0,080
INRA63	0,373	0,459	0,186
MAF209	0,027	0,028	0,035
HAUT27	0,469	0,591	0,205
ILSTS 01	0,582	0,696	0,164
SPS115	0,474	0,613	0,228
TGLA 122	0,716	0,801	0,106
BM6526	0,628	0,726	0,136
CRSM60	0,677	0,785	0,137
CSSM66	0,759	0,874	0,132
INRA6	0,701	0,774	0,095
McM527	0,695	0,787	0,118
FCB11	0,727	0,803	0,095
FCB304	0,659	0,723	0,088
MAF65	0,644	0,682	0,056
ETH 22	0,384	0,430	0,107
ETH10	0,574	0,650	0,117
Média	0,600	0,688	0,126

Na Tabela IV, encontra-se a matriz de distância genética calculada de acordo Nei, (1978) e Reynolds (1983), representando a variação existente entre rebanhos. De acordo com a distância de Nei, é observado que a menor distância ocorre entre os rebanhos dos Municípios de Mossoró-RN e Taperoá-PB (0,0339), e a maior entre os rebanhos da raça Serpentina e Patos – PB (0,2247). Resultados superiores foram obtido pela distância de Reynolds.

Os altos valores de distâncias genéticas obtidos revelaram que existe diferença entre os rebanhos da raça Moxotó, devido, principalmente, ao isolamento geográfico. No

presente estudo, as maiores distâncias entre os indivíduos da raça Moxotó foram observadas nos rebanhos dos municípios de Serra-talhada-PE e Patos-PB, quando comparados com os demais. Isto pode ter ocorrido devido ao fato destas populações estarem em acelerado processo de diluição genética, causada pelo isolamento, e acasalamentos consangüíneos praticados.

Estes resultados também refletem a ausência de permuta de reprodutores entre os rebanhos vizinhos, a exemplo dos rebanhos de Taperoá-PB e Patos-PB, que estão geograficamente próximos e apresentam elevada distância genética (0,1093 e 0,1647). O mesmo comportamento é observado nos rebanhos de Ibimirim-PE e Serra-Talhada-PE, que apresentaram distância genética de (0,0627 e 0,0874).

Oliveira et. al., (2006), estudando a divergência genética entre caprinos da raça Moxotó, utilizando 11 marcadores microssatélites, observaram valores de distância genética inferiores entre os animais de Taperoá-PB e Patos-PB (0,017) e entre aqueles de Ibimirim-PE e Serra-Talhada-PE (-0,057). Oliveira (2003) ,estudando populações caprinas da raça Moxotó através de RAPD, encontrou valores de distâncias genéticas entre 0,0546 e 0,1868. Já Rocha et. al. (2007) ,estudando polimorfismo protéico em caprinos Moxotó da mesma região, obtiveram distâncias genéticas de Nei (1978) bem inferior (0,009 a 0,044).

Tabela IV. Distância de Nei (1978) (diagonal inferior) e Reynolds J., (1983) (diagonal superior) entre as populações estudadas (*Distance of Nei (1978) (below diagonal) and Reynolds J., (1983) (above diagonal) among populations studied*)

	MO	TA	PA	IB	ST	SE
MO	*	0.0409	0.0931	0.0664	0.0921	0.1674
TA	0,0339	*	0.164768	0.1274	0.1442	0.2083
PA	0,0645	0,1093	*	0.1199	0.12661	0.3051
IB	0,0528	0,0923	0,0808	*	0.08704	0.1852
ST	0,0662	0,0991	0,0816	0,0627	*	0.2449
SE	0,1280	0,1569	0,2247	0,1423	0,1821	*

*MO=Mossoró-RN; TA=Taperoá-PB; PA=Patos-PB; IB=Ibimirim-PE; ST=Serra-Talhada-PE e SE=Serpentina-POR.

A Figura II representa o dendrograma construído utilizando o algoritmo UPGMA através da distância genética de Nei (1978), mostrando o relacionamento entre as seis populações estudadas. Os números nas bifurcações do dendrograma representam os valores do *bootstrapping* após 10.000 permutações sobre os locos analisados. As relações observadas nas Figura 4 e 5 são semelhantes aos valores obtidos na matriz de distância genética, com a formação de dois grupos, sendo o primeiro grupo formado pelas populações da raça Moxotó, e um grupo isolado para a raça Serpentina. Destaca-se a formação de um grupo forte (56% de confiança), que agrega as populações de Mossoró-RN, Taperoá-PB e Ibimirim-PE, o que se atribui à migração que existe entre esses grupos, já que é prática comum a compra de animais de Ibimirim por criadores do Estado da Paraíba. Os rebanhos de Patos-PB e Serra-Talhada estão mais distantes, resultado do isolamento genético a que estão submetidas essas populações, além do seu tamanho bastante reduzido, conforme relata Oliveira et al. (2006). Além disso, os acasalamentos consanguíneos ocorrem frequentemente, bem como o efeito da deriva genética. Esse fato também ocorre no rebanho de Patos-PB, entretanto com menor intensidade.

Apesar da semelhança fenotípica da raça Moxotó com a Serpentina de Portugal, foi observado baixa relação genética entre as duas raças; entretanto, os valores das distâncias genéticas obtidos indicam que esses valores não são tão elevados quando comparados aos observados entre essa população e as populações dos municípios de Mossoró-RN (0,1280) e Ibimirim (0,1423). A distância genética obtida entre os rebanhos brasileiros é muitas vezes superior, se comparada com as distâncias destes com a raça Serpentina, o que nos leva a crer na real possibilidade da existência de ancestrais da raça Serpentina na formação do rebanho Moxotó.

Esse resultado vem a confirmar as conjecturas de Mariante e Cavalcante (2000), os quais reportaram que as primeiras cabras brasileiras originaram-se de animais das atuais

raças portuguesas (Alentejana, Ribatejana e Serrana), com datas da época do governo geral de Tomé de Souza (em 1549). Já Rodero et al., (1992) relatam que os caprinos do continente americano possivelmente são procedentes das Canárias, Andalucía e outras populações de Cabo Verde e Guinéa.

As características morfológicas similares entre as populações atuais e as populações originais são evidentes.

Menezes (2005), estudando as relações genéticas entre cabras brasileiras, Ibéricas e Canárias via microssatélites, observou que, apesar da semelhança das cores da pelagem entre as raças Moxotó e Serpentina, estas são geneticamente distintas, fato que pode ser atribuído a efeito de amostragem, deriva e isolamento geográfico, ocorrido ao longo de mais de 500 anos. Esse mesmo autor verificou valores de distância D_A Nei entre as duas raças de 0,191.

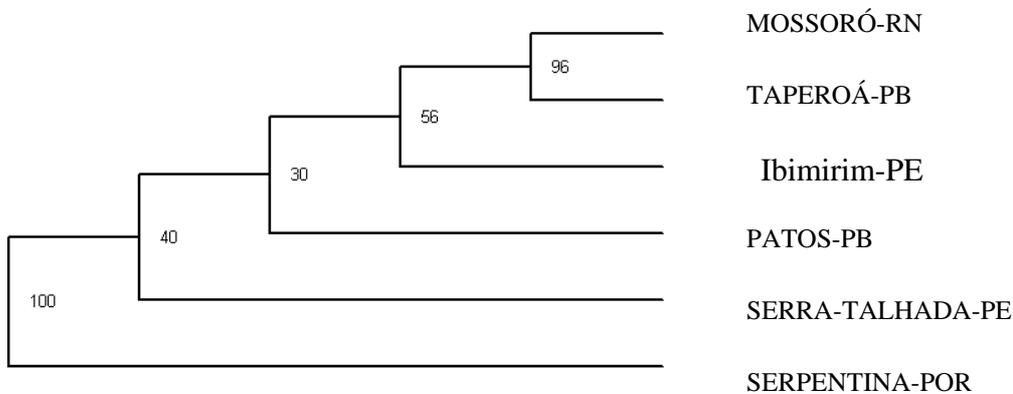


Figura II. Dendrograma construído através da distância de Nei (1978) e o Método UPGMA exibindo a relação genética existente entre as populações estudadas. (*Dendrograma constructed through Nei's distance (1978) and the Método UPGMA exhibiting the existent genetic relationship among the studied populations*).

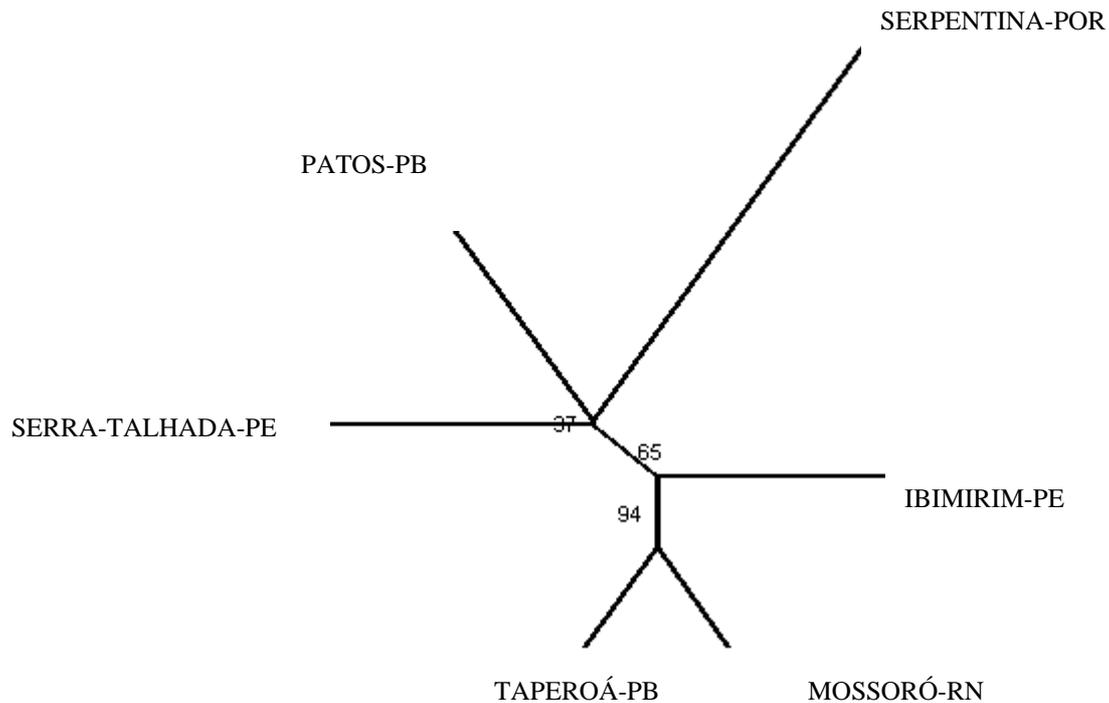


Figura III. Dendrograma construído através da distância de Reynolds, (1983) através do método neighbour-joining com 10.000 permutações exibindo a relação genética existente entre as populações estudadas. (*Dendrograma constructed through Reynolds distance (1978) and the neighbour-joining method exhibiting the existent genetic relationship among the studied populations*)

Na Figura IV, encontra-se o dendrograma de indivíduos como unidade taxonômica, construído de acordo com os pares de distâncias genéticas entre indivíduos, baseados na proporção de alelos compartilhados D_{SA} (Bowcock et al. 1994), onde a maioria dos indivíduos se agrupou com suas respectivas populações. No entanto, observa-se relações entre indivíduos de algumas populações, a exemplo do que ocorre entre as populações de Mossoró-RN e Taperoá-PB, sendo a população de Mossoró-RN a que apresenta maiores níveis de mistura com restante das populações da raça Moxotó. As populações da raça Moxotó que se apresentam mais isoladas foram as de Patos-PB e Serra-Talhada, confirmando os resultados já descritos. O população Moxotó que mais se aproximou da raça Serpentina foi aquela de Mossoró-RN.

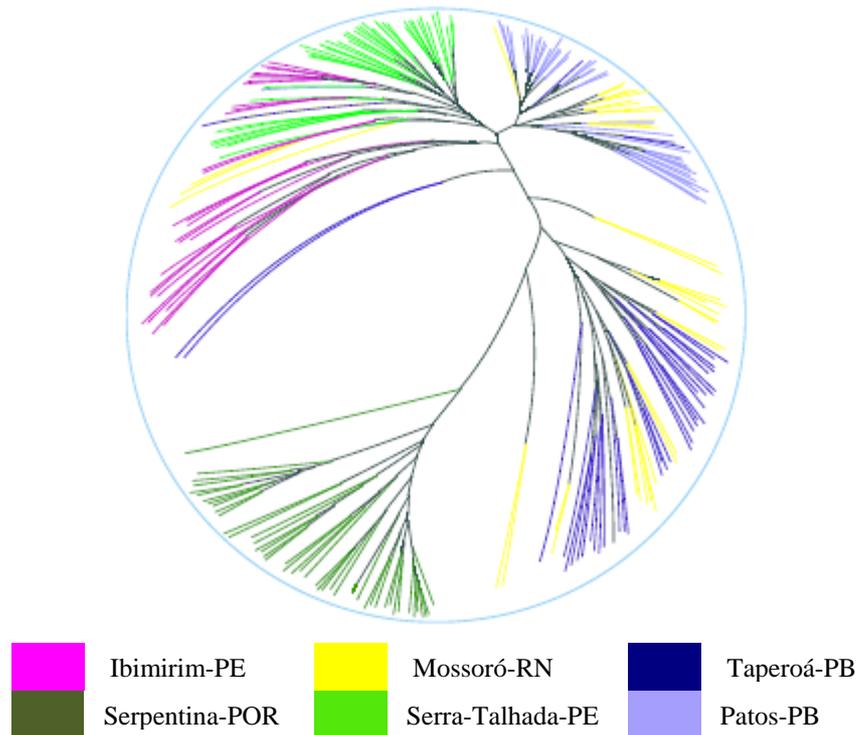


Figura IV - Arvore filogenética Hiperbólica contruida através da distância D_{SA} de Bowcock et al. (1994) e o método neighbour-joining. (Hyperbolic phylogenetic tree through the distance D_{SA} of Bowcock et al. (1994) and the method neighbour-joining)

As relações genéticas entre as populações também são representadas graficamente no espaço bidimensional canônico pela análise fatorial de correspondência, como pode ser visto na Figura V. Nesta figura é observado que os dois primeiros fatores responderam por 49,54% e 21,42% da variação total, respectivamente, distinguindo claramente as relações genéticas entre as populações de caprinos Moxotó estudadas.

Verifica-se que os rebanhos da raça Moxotó apresentam-se separados no gráfico, revelando que cada população apresenta particularidades que os tornam distintos, sendo que os animais do município de Taperoá- PB apresentam-se mais distintos, seguidos pela população de Mossoró-RN, que apresentaram maior mistura com restante das populações.

As populações de Serra-Talhada e Patos-PB também se mostraram distintas entre si, porém com maior similaridade com a população de Ibimirim-PE.

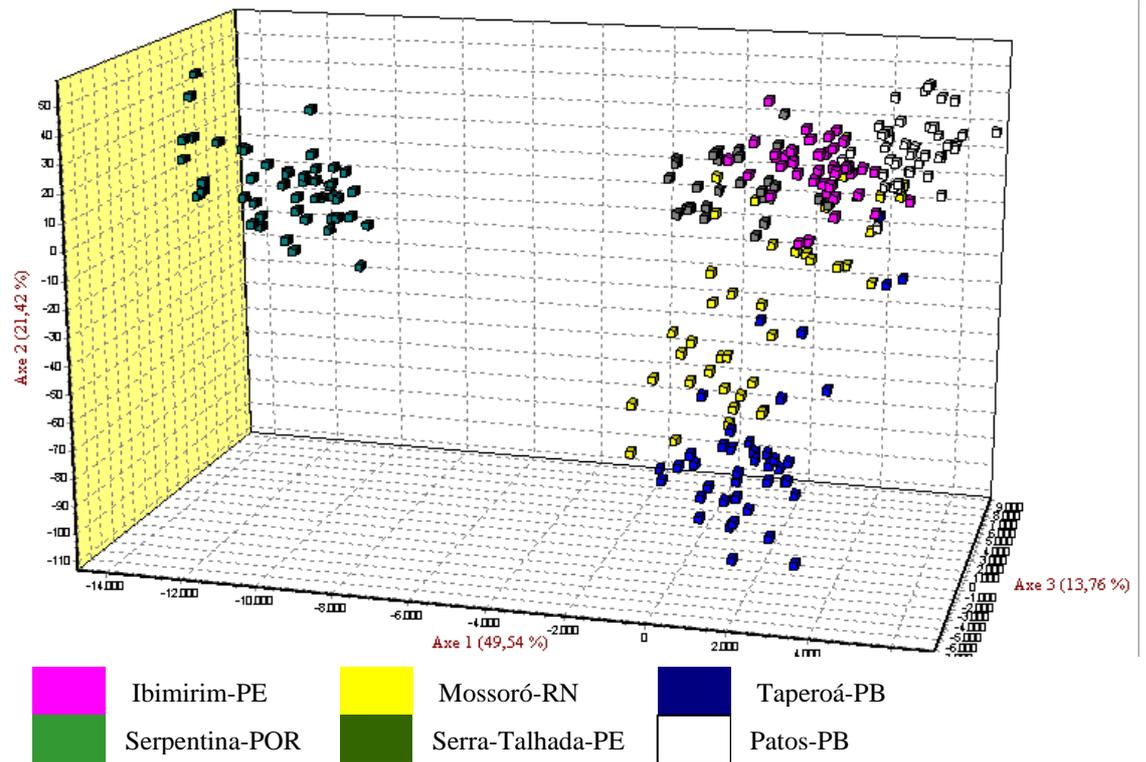


Figura V. Representação espacial das populações estudadas da raça Moxotó e Serpentina-POR segundo a análise fatorial de correspondência. (*Spatial representation of the studied populations of Moxotó and Serpentina-POR breed using factorial correspondence analysis*)

CONCLUSÃO

Os rebanhos da raça Moxotó estudados são distintos geneticamente.

Apesar da grande semelhança fenotípica entre as raças Moxotó e Serpentina, essas são distintas geneticamente.

Pode ter ocorrido participação de ancestrias da raça Serpentina na formação da raça Moxotó.

Existe ainda grande variabilidade intra e inter-rebanhos na raça Moxotó, que pode ser utilizada para conservação da raça, pelo uso de estratégias adequadas de acasalamentos.

BIBLIOGRAFIA

- Araujo, A.M. 2004. *Paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microssatélites de DNA*. Tese (Genética e Melhoramento) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa- Viçosa –MG.
- Arranz, J. J., Y. Bayón, and F. San Primitivo. 1998. Genetic relationships among spanish sheep using microsatellites. *Animal Genetics*. 29: 435-40.
- Barendse, W., S.M. Armitage. 1994. a genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics*. 6: 227-235.
- Barker, J. S.F., S. G. Tan., S.O.S. Moore. 2001. Genetic variation within and relationship among populations of asian goats (*Capra hircus*). *Journal of Animal Breeding Genetics*.118: 213-233.
- Belkhir, K. 2004. Genetix: Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UPR 9060.
- Bishop, M.D., S. M. Kappes, J.W. Keele. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, V. 136, P. 619-639, 1994.
- Bowcock, A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde. 1994. High resolution of human evolution with polymorphic microsatellites. *Nature*. 368: 455-457.
- Eding, J. H.; G. Laval, 1999. Measuring genetic uniqueness in livestock. In: *Genebanks and the conservation of farm animal genetic resources*. Lelystad: Ed. J.K. Oldenbroek. ID.DLO, p. 33-58.
- FAO. 1998. *Secondary Guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans: Management of small populations at site*. Rome : FAO, 1998. 215 p.

- FAO. 2004. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans: measurement of domestic animal diversity (Modad): *Recommended Microsatellite Markers*, FAO. Rome.
- Felsenstein, J. (2007). PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.67. University of Washington.
- Georges, M. And J.M. Massey. 1992. Polymorphic DNA markers in bovidae. Patent WO 92/13102.
- Henson, E.L. 1992. In situ conservation of livestock and poultry. FAO UNEP. *Animal production and health paper*, 99, 112. p
- Igarashi, M. L. S. P., T. M. Machado, S. R. Castro, J. A. Ferro, E. P. B. Contel. 2000. Genetic characterization of goats herds of the Brazil. In: Global conference on conservation of domestic animal genetic resources, 5., 2000, Brasília. *Proceedings...* Ed. Mariante, A. S., C. Mcmanus, A. N. Salomão. Brasília: Embrapa. 2000. CD-Rom.
- Isag. (2002). [Http://Www.Isag.Org.Uk](http://www.isag.org.uk)
- Lara, M. A. C., R. H. Heichert, L. A. Figueiredo, E. P. B. Contel. 1998. Caracterização genética de bovinos Caracu através de polimorfismos protéicos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35., 1998, Botucatu: SBZ. *Anais...* Ed. Moura, A. S. A. M. T., F. S.; wechsler, W. Levezzo, 4 vol. 1998. p.568-571.
- Li, M. H., S. H. Zhao, C. Bian, H. S. Wang, H. Wei. (2002). Genetic relationships among twelve chinese indigenous goat populations based on microsatellite. *Genet. Sel. Evol.* 34: 729-744.
- Luikart, G., M.P. Biju-Duval, O. Ertugru. 1999. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics.* 30: 431-438.

- Marshall, T. C., J. Slate, L. E. B. Kruuk, J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, V. 7, P. 639-655, 1998.
- Mariante, A. S., N. Cavalcante. 2000. Animais do descobrimento Raças domésticas da história do Brasil. Brasília- DF: EMBRAPA Sede/ EMBRAPA *Recursos genéticos e Biotecnologia*. 232p.: il.
- Menezes, M.P. 2005. *Caracterização Genética de Cabras Brasileiras Utilizando Microssatélites*. 133 f. Tese (Doutorado Produção Animal) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba.
- Minch E., A. Ruiz-Linares, D. Goldstein, M. Feldman, L.L. Cavalli-Sforza. 1998. MICROSAT (version 1.5b): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. <http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat/programs/msat15.c>.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloe, J. P. Furet and F. Grosclaude. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*. 28: 338-345.
- Mommens, G.W., and A.Coppieters. 1994. Dinucleotide repeat polymorphism at the bovine MM12E6 and MM8D3 locos. *Animal Genetics*. 25: 368.
- Moore, S.S., K. Byrne. 1993. Dinucleotide polymorphism at the bovine calmodulin independent adenylylase loco. *Animal Genetics*. 24: 150.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, v. 89, p. 583-590, 1978.
- Nei, M., N. Takezaki, 1994. Estimation of genetic distances and phylogenetic trees from DNA analysis. In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5th, v. 21. *Proceedings...* Guelph, 1994. p.405-412, 1994.

- Oliveira, J.C.V., L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A Gomes Filho, S. E. F. 2006. Guimarães Divergência genética entre caprinos da Raça Moxotó através da utilização demarcadores microssatélites. In: Simpósio Internacional de Conservação de Recursos Genéticos -Raças Nativas para o Semi-Árido. 2, *Anais...* Recife-Pernambuco. II SINCORGE. CR-ROM
- Oliveira, R. R. 2003. *Caracterização genética de populações de caprinos da raça Moxotó usando marcadores moleculares*. Areia-Paraíba: Centro de Ciências Agrárias, 2003. 59p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal da Paraíba. 2003.
- Olivier Langella. 2002. *Populations v 1.2.28*. Copyright (C) 1999, CNRS UPR9034 . http://bioinformatics.org/project/?group_id=84 Acesso em 4/09/2007.
- Page R.D.M. (2001). Tree drawing software for Apple Macintosh and Microsoft Windows. In: <http://taxonomy.zoology.gla.uk/rod/rod.html>. Division of Environmental and Evolutionary Biology, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow G128QQ, Scotland, UK.
- Paiva, S. R., V. C. Silvério, A. A. Egito. 2004. Caracterização Genética da Raça Santa Inês. In: 2º SINCORTE, João Pessoa-PB. Anais... p. 487-499.
- Reynolds, J. 1983. Estimation of the coancestry coefficient basis for a short-term genetic distance. *Genetics*. 105: 767-779.
- Rocha, L.L., R.C. Benício, J.C.V. Oliveira, M.N. Ribeiro, M.A.C. Lara, M.A. Gomes Filho E J.A. Ribeiro. 2007 Uso de polimorfismo de proteínas no estudo Genético de caprinos da raça Moxotó. *Arch. Zootec*. 56 (215): 287-298.
- Rodero, A., J. V. Delgado, E. Rodero. 1992. Primitive Andalusian livestock and their implications in the discovery of America. *Archivos de Zootecnia*. 41(extra) : 383-400.

- Saitbekoba, N., C. Gaillard, G. Obexer-Ruff and G. Dolf. 1999. Genetic Diversity In Swiss Goat Breeds Based On Microsatellite Analysis. *Animal Genetics*. 30: 36-41.
- Setshwaelo L. L., 2002. Preservation and conservation of animal genetic resources. In: *Anais de Palestra*. XXXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Recife, Recife-Pe, Pág 270-280.
- Solinas Toldo, S., Fries, R. 1993. Physically Mapped, Cosmid-Derived Microsatellite Markers As Anchor Locus On Bovine Chromosomes. *Mammalian Genome*. 4: 720-727.
- Spritz, A., Egito, A. A., Mariante, A. S., et al. (2003). Caracterização genética da raça Crioulo Lageano por marcadores moleculares RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 38 (10): 1157-1164.
- Sugen. 1999. Hipertree 1.0.0. Visualizing large hierarchical cluster hyperbolic space. Disponível em : <<http://www.kinase.com/tools/hypertree.html>. Acesso em 23/8/2007.
- Thieven, U., S. Solinas-Toldo. 1997. Polymorphic Ca-Microsatellites For The Integration Of The Bovine Genetic And Physical Map. *Mammalian Genome*. 8: 52-55.
- Vaiman, D., L. Schibler, F. Bourgeois, A. Oustry, Y. Amigues, E. P. A. Cribiu. 1996. Genetic Linkage Map Of The Male Goat Genome. *Genetics*, V. 144, P. 279-305.
- Walsh, P. S., D. A. Metzger, R. Higuchi. 1991. Chelex 100 as a medium for a simple extraction of DNA for PCR-based typins from forensic material. *Biotecchniques*. 10: 506-513.
- Yang, L., S. H. Zhao, K. Li. 1999. Determination Of Relationships Among Five Indigenous Chinese Goat Breeds With Six Microsatellite Markers. *Animal Genetics*. 30: 452-456.

Anexos

Tabela. Frequências alélica por loco e população

	LOCUS	MO	TA	PA	IB	ST	SE
BM1329	157	-	-	-	-	-	0,0341
	169	-	0,0135	0,0125	-	-	0,1477
	171	0,4359	0,2568	0,3625	0,5741	0,3472	0,4091
	173	0,0128	0,0270	0,1500	0,0185	-	0,0227
	175	0,0128	0,0676	-	-	-	0,0227
	177	0,0641	0,0405	0,0500	0,0370	-	0,0114
	179	-	0,0405	0,0125	0,1111	0,3750	0,1250
	181	0,4103	0,3108	0,4125	0,2593	0,2778	0,1477
	183	0,0641	0,2432	-	-	-	0,0795
BM6506	208	-	-	0,0125	0,1429	0,0625	0,2500
	210	-	-	-	-	-	0,0543
	212	-	0,3235	-	-	-	0,0109
	214	0,1667	0,0294	-	0,0714	0,1125	0,0761
	216	0,6154	0,5735	0,9875	0,7500	0,8250	0,0978
	218	0,2179	0,0588	-	-	-	0,4891
	220	-	0,0147	-	0,0357	-	0,0217
BM8125	110	-	-	-	-	-	0,0109
	114	0,6282	0,7500	0,6622	0,2143	0,2250	0,1196
	116	0,1026	0,0875	0,1351	0,1786	0,3125	0,0652
	118	0,1026	0,0625	0,1081	0,4286	0,3250	0,3913
	120	0,1410	0,0875	0,0270	-	-	0,3696
	122	-	-	-	-	-	0,0109
	124	0,0256	0,0125	0,0676	0,1786	0,1375	0,0326
BM1818	254	0,0513	0,1212	-	0,0185	0,0375	0,0111
	256	0,0256	-	-	0,1667	0,1125	0,0111
	258	0,2179	0,4091	-	0,1667	-	0,1556
	260	0,2564	0,2121	0,2222	0,2037	0,2750	0,1111
	262	0,0256	0,0152	0,0972	0,0370	0,0625	0,2000
	264	-	-	-	0,0370	-	0,3000
	266	0,1154	0,0606	0,2083	0,1481	-	0,1222
	268	-	-	-	-	-	0,0444
	270	0,3077	0,1818	0,4722	0,2222	0,5125	0,0444
CSR247	218	0,0513	0,0375	0,1731	0,1964	0,1000	0,0217
	230	0,1410	0,4000	-	-	-	-
	232	0,0128	0,0125	-	0,0893	0,0125	0,5870
	234	0,1795	0,0500	-	0,0536	0,2125	0,2065
	236	-	-	-	-	-	0,0109
	238	-	-	0,0577	0,0893	-	-
	240	0,3462	0,3375	0,5192	0,1071	0,2625	0,0435
	242	0,2692	0,1625	0,2500	0,4643	0,4125	0,1087
	244	-	-	-	-	-	0,0217
HSC	276	0,1081	0,0875	-	0,2679	-	0,1395
	278	-	-	-	-	-	0,0349
	280	0,0270	-	-	0,1250	-	0,0349
	282	-	-	-	-	-	0,1744
	284	0,0270	-	0,0625	-	0,0125	0,0116
	286	-	-	-	0,1607	0,2250	0,1395
	288	0,5270	0,6000	0,5375	0,1071	0,0750	0,0465
	290	0,0676	0,0125	0,0625	-	0,0750	0,0349
	292	0,2162	0,1750	0,3375	0,3393	0,5875	0,1163
	294	0,0135	0,0500	-	-	0,0250	0,0349
	296	-	-	-	-	-	0,1279
	298	-	-	-	-	-	0,0581
	300	-	0,0500	-	-	-	0,0233
	302	0,0135	0,0250	-	-	-	-
304	-	-	-	-	-	0,0233	
	92	0,2027	0,3333	-	-	0,0875	0,1848
	94	-	-	-	0,0357	0,0125	0,0761
	96	0,0270	-	0,1538	0,1250	0,0125	0,1522
	98	0,0135	-	-	0,0179	-	0,0870

<i>Continuação...</i>							
	LOCUS	MO	TA	PA	IB	ST	SE
MM12	100	0,1351	0,1296	0,2821	0,0714	0,0625	0,0543
	102	0,0270	-	-	-	-	0,0543
	104	0,3108	0,5185	0,3077	0,1250	0,2125	0,1087
	106	-	-	-	-	-	0,0109
	108	-	-	-	-	-	0,0109
	112	0,0270	-	0,0513	-	0,0250	0,0326
	114	0,2568	0,0185	0,2051	0,6250	0,5875	0,0109
	116	-	-	-	-	-	0,0326
	118	-	-	-	-	-	0,0978
	120	-	-	-	-	-	0,0435
	122	-	-	-	-	-	0,0435
OarFCB48	145	-	-	-	-	-	0,0435
	149	0,0513	0,1000	-	-	-	0,1739
	151	-	0,0125	-	-	-	0,0109
	153	0,2308	0,2625	-	0,0179	0,0125	0,0543
	155	-	0,0125	0,0417	0,0179	0,1000	0,2065
	157	0,0256	0,0875	0,1528	-	-	0,1196
	159	0,2564	0,4250	0,4028	0,7679	0,4375	0,1957
	161	0,4359	0,1000	0,4028	0,1607	0,4500	0,1196
	163	-	-	-	0,0357	-	0,0761
SRCRSP8	216	0,0152	-	-	-	-	0,0109
	224	0,1667	0,1625	0,0625	0,3571	0,2250	0,1957
	226	0,0758	0,0500	0,1625	0,1250	0,1000	0,0978
	228	0,1818	0,3625	0,1750	0,0714	0,3250	0,2065
	230	0,2727	0,1750	0,4750	0,1250	0,3500	0,0109
	232	0,0303	-	0,1125	-	-	-
	234	0,0455	-	-	-	-	-
	238	-	-	-	-	-	0,0435
	242	-	-	-	0,0179	-	-
	244	0,2121	0,2500	0,0125	0,3036	-	0,3913
	246	-	-	-	-	-	0,0435
INRA63	159	-	-	-	-	-	0,0652
	163	0,0385	-	0,0500	-	0,0250	0,0109
	165	0,7051	0,9079	0,5750	0,5357	0,9750	0,3587
	167	0,2564	0,0921	0,3750	0,4643	-	0,5543
	171	-	-	-	-	-	0,0109
MAF209	105	-	-	-	0,0536	-	-
	107	1,0000	1,0000	1,0000	0,9464	1,0000	0,9674
	109	-	-	-	-	-	0,0326
HAUT27	132	-	-	-	0,0185	0,0500	0,4000
	134	-	0,0132	0,0125	-	0,0125	-
	136	0,0500	-	-	0,0741	-	0,3000
	138	-	-	-	0,0185	-	-
	140	0,7333	0,7105	0,7625	0,7593	0,4500	-
	142	0,2167	0,2763	0,2250	0,1296	0,4875	0,3000
ILSTS011	270	0,0256	-	-	0,0179	0,0875	0,1087
	272	0,4359	0,2000	0,8500	0,6429	0,6000	0,0652
	274	0,0128	-	0,0125	0,0179	0,0125	0,1413
	280	0,0256	0,0500	-	0,0357	0,1125	0,2391
	282	0,3846	0,5375	0,0875	0,1964	0,0750	0,2717
	284	0,1154	0,2125	0,0500	0,0893	0,1125	0,0543
	286	-	-	-	-	-	0,1196
SPS115	234	-	-	0,2750	-	-	-
	248	0,3974	-	0,6375	0,3036	0,3375	0,7283
	250	0,5385	0,5500	0,0875	0,6786	0,6625	0,2717
	252	0,0641	0,4500	-	0,0179	-	-
TGLA122	134	0,0128	-	-	-	-	-
	136	0,2051	0,3125	0,0156	0,0714	-	0,3152
	138	0,1026	0,0250	-	0,2679	0,1750	0,2500
	140	-	-	0,1094	0,0357	0,0750	0,0978
	142	0,2051	0,2125	0,1094	0,0357	0,2250	0,1304
	144	0,2949	0,1750	0,0156	0,1250	0,3250	-
	146	-	-	0,0156	-	-	0,0109
	148	-	0,0250	0,0156	0,0179	-	-
150	0,1795	0,2500	0,6875	0,4464	0,2000	0,1957	

Continuação...

	LOCUS	MO	TA	PA	IB	ST	SE
	152	-	-	0,0313	-	-	-
	159	0,0147	0,0375	-	-	0,0250	0,0109
	161	0,4706	0,6250	0,7625	0,4643	0,5875	0,0109
	163	-	0,0375	-	0,1786	0,0500	0,3696
	165	0,0147	0,0125	-	0,0893	0,1625	0,2391
	167	0,0441	-	-	-	-	0,0435
BM6526	169	0,1765	0,1375	-	-	-	0,0109
	173	-	0,0125	-	-	-	0,0326
	175	0,0441	0,0125	-	-	0,0125	0,2065
	177	0,0294	-	0,0250	-	-	0,0217
	179	-	-	-	0,0179	-	0,0217
	181	0,0441	0,0125	0,1500	0,0536	-	0,0109
	183	0,0294	0,0250	-	0,0179	0,0125	0,0217
	185	0,1176	0,0875	0,0625	0,1786	0,1500	-
	187	0,0147	-	-	-	-	-
	77	0,3846	0,3375	0,7297	0,4286	0,3000	-
	79	0,1282	0,1750	0,0135	0,2321	0,2500	0,0761
CRSM60	81	0,1154	0,1500	-	-	-	0,2391
	83	-	0,0125	-	-	0,1500	0,0326
	85	0,0128	0,0125	-	0,0714	-	0,4457
	87	0,1667	0,2375	-	-	-	0,1413
	89	0,1923	0,0750	0,2568	0,2679	0,3000	0,0652
	183	-	-	-	0,0714	-	0,0667
	185	-	-	-	-	-	0,0111
	187	-	0,0263	-	-	-	0,0222
	189	0,0469	0,0395	0,0429	0,2143	0,0125	0,0444
	191	-	-	-	-	0,0125	-
	193	0,4688	0,3026	0,1571	0,4464	0,0125	-
	195	-	-	0,0429	0,0357	-	-
	197	0,0156	0,1184	-	-	-	0,2000
	199	-	-	-	0,0179	-	0,0333
	213	-	-	-	-	-	0,4111
	215	0,1250	0,1579	0,2000	0,0893	0,1375	0,1111
	217	-	-	-	-	-	0,0111
	221	-	-	0,0286	-	-	-
CSSM66	225	-	-	-	0,0179	-	-
	227	0,1094	0,0132	0,0857	-	0,0125	-
	229	0,2031	0,1184	0,3571	0,0357	0,1625	0,0111
	231	0,0313	0,1974	0,0429	0,0536	0,4375	-
	233	-	-	0,0429	-	0,0250	-
	235	-	-	-	0,0179	0,1625	-
	249	-	-	-	-	-	0,0222
	251	-	-	-	-	-	0,0333
	253	-	-	-	-	-	0,0111
	255	-	-	-	-	0,0125	-
	257	-	0,0263	-	-	0,0125	0,0111
	101	-	-	-	-	-	0,0233
	105	-	0,1429	-	-	-	-
	107	-	0,0476	-	-	-	0,0116
	109	0,1034	0,2857	0,1552	0,1964	0,4875	-
	111	0,1552	-	-	0,0357	0,0125	0,0698
	113	0,0172	0,0238	0,1034	-	-	0,0233
	115	0,0517	0,0238	-	0,0714	-	0,4186
INRA6	117	0,1207	0,0238	0,0345	0,0893	-	0,0814
	119	-	-	-	0,0179	-	0,0233
	121	0,4655	0,3095	0,5517	0,4107	0,5000	0,1744
	123	0,0517	0,0952	0,0345	0,1071	-	0,1047
	125	0,0345	0,0476	0,0345	0,0714	-	0,0698
	127	-	-	0,0862	-	-	-
	156	0,2414	0,2500	0,0125	0,4074	0,3000	0,4348
	158	0,2414	0,2750	0,5250	0,1667	0,4250	0,0109
	164	0,0172	-	-	-	-	-
	166	-	-	-	-	-	0,0217
MCM527	168	0,0345	-	-	0,0741	0,0375	0,4348

Continuação...

	LOCUS	MO	TA	PA	IB	ST	SE
	170	0,1724	0,1250	0,3625	0,2963	0,2375	0,0543
	172	0,1034	0,2375	0,0250	-	-	0,0109
	174	0,1897	0,1125	0,0750	0,0556	-	0,0217
	182	-	-	-	-	-	0,0109
	133	0,0897	0,0500	0,2375	-	0,2250	0,0778
	135	0,2436	0,2000	0,3000	0,2115	0,4250	0,0556
	141	-	-	-	-	-	0,0222
FCB11	145	0,2564	0,2875	0,0125	0,1154	-	0,5222
	147	0,2179	0,3375	0,3500	0,3269	0,3375	0,0222
	149	-	-	-	-	-	0,0667
	151	0,0256	-	-	0,1923	-	-
	155	0,1667	0,1250	0,1000	0,1538	0,0125	0,1889
	157	-	-	-	-	-	0,0444
	133	0,0256	-	-	0,0357	-	-
	137	0,1282	0,1625	0,1774	0,2143	-	0,1778
	139	0,0256	0,0125	-	-	-	0,2222
	141	0,6154	0,7125	0,2742	0,4464	0,3125	0,4778
	143	-	-	-	-	-	0,0444
FCB304	145	-	-	-	-	-	0,0444
	153	-	-	-	0,0179	-	0,0111
	155	0,0128	0,0125	-	0,0179	-	0,0111
	157	0,0769	0,0625	0,3065	0,2143	0,1625	-
	159	0,0128	-	0,0323	-	0,0125	-
	161	0,1026	0,0250	0,1129	-	0,2750	0,0111
	163	-	0,0125	0,0968	-	0,2375	-
	167	-	-	-	0,0536	-	-
	124	0,0132	-	-	0,0357	0,0125	0,0444
	126	0,0263	-	-	-	-	0,0222
	128	0,1842	0,3375	0,3833	0,3750	0,4125	0,1889
	130	-	-	-	-	-	0,0333
	132	0,0658	0,1250	-	0,0179	-	0,0333
	134	-	-	-	-	0,0125	0,0667
MAF65	136	-	-	-	-	-	0,0333
	138	0,0658	0,1875	-	-	-	0,2444
	140	0,5526	0,3500	0,5667	0,4643	0,5625	0,2444
	142	0,0526	-	-	0,1071	-	0,0778
	146	-	-	-	-	-	0,0111
	148	0,0132	-	-	-	-	-
	150	0,0263	-	0,0500	-	-	-
ETH225	ETH225						
	146	0,2179	0,1125	0,5541	0,3036	0,3250	0,0870
	148	0,7821	0,7500	0,4459	0,6786	0,6750	0,9022
	150	-	0,1375	-	0,0179	-	0,0109
	207	0,2821	0,3077	0,1290	0,0536	0,4125	0,3667
ETH10	209	0,2949	0,2821	0,1290	0,3571	0,1625	0,5556
	211	0,4231	0,4103	0,7419	0,5714	0,4250	0,0778
	215	-	-	-	0,0179	-	-

CAPÍTULO II

ESTRUTURA GENÉTICA DAS RAÇAS MOXOTÓ E SERPENTINA

*Oliveira, J.C.V. L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A. Gomes Filho, A.M. Martinez, J. V. Delgado M.P. Carrera

* Pesquisador do IPA Email: juliooliveira@ipa.br, Endereço: Estação Experimental de Arcoverde, Cep 56500- 000, C.P. 51 Arcoverde –PE Br 232 Km 253

Resumo

Foram avaliados 187 caprinos da raça Moxotó, dos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, e 46 animais da raça Serpentina de Portugal com a finalidade de verificar a relação genética existente entre os rebanhos de cada Estado e também com a raça Serpentina. Utilizou-se 25 microssatélites e, todos mostraram-se polimórficos apresentando bons níveis de equilíbrio, uma vez que, 60 % dos marcadores apresentaram-se em equilíbrio dentro de rebanho. O marcador MAF209 apresentou-se monomórfico para as populações de Mossoró-RN, Taperoá-PB e Serra-Talhada-PE e apresentou 3 alelos nos rebanhos de Ibimirim –PE e Serpentina-POR. Dentre os rebanhos estudados, o da raça Serpentina foi o que apresentou maiores níveis de consaguinidade, com valores elevados de F_{IS} para 9 dos locos estudados, em seguida Mossoró-RN e Ibimirim-PE, para 8 locos Taperoá-PB e Serra Talhada, para 7 dos locos investigados. Os rebanhos de Mossoró-RN, Taperoá-PB, Ibimirim-PE e Serpentina-POR apresentaram níveis significativos ($p < 0,05$) para déficit de heterozigotos indicados pelo alto e positivo valor F_{IS} . Os Valores de F_{ST} obtido confirmaram maior distância genética entre os caprinos Moxotó de Serra Talhada e Serpentina de Portugal (0,275). A Análise Molecular de Variância mostrou que 10,48% ($P < 0,001$) da variação genética existente ocorre devido diferenças inter-grupos, o que indica a existência de sub-populações dentro da raça Moxotó. Os animais amostrados foram designados probabilisticamente por meio de inferência Bayesiana, a uma ou mais populações por meio do programa Structure. Quatro populações foram sugeridas ($K=4$), de forma que a sub divisão foi mais acentuada nos rebanhos do município de Mossoró, no Estado do Rio Grande do Norte. A detecção de divisão da raça em sub-populações demonstra a necessidade de definição de um programa de conservação para promover fluxo gênico entre elas e aumentar a diversidade genética global da raça.

Palavras Chave: Caprino, Moxotó, Diversidade genética

GENETIC STRUCTURE OF THE MOXOTÓ AND SERPENTINA BREEDS

*Oliveira, J.C.V. L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A. Gomes Filho, A.M. Martinez, J. V. Delgado M.P. Carrera

* Pesquisador do IPA Email: juliooliveira@ipa.br, Endereço: Estação Experimental de Arcoverde, Cep 56500- 000, C.P. 51 Arcoverde –PE Br 232 Km 253

ABSTRACT

They were appraised 187 animals of Moxotó breed raised on Paraíba, Pernambuco and Mossoró-RN State, and 46 Serpentina goats in Portugal with the objective of verify the genetic relationship among Moxotó herds and those ones with the Serpentina breed. 25 microsatellit was used and, all were shown polimorphyc and good equilibrium levels once 60% of the markers are presented in equilibrium within of herd. The marker MAF209 show monomorphyc for the populations of Mossoró-RN, Taperoá-PB and Serra-Talhada-PE, and show 3 aleles in herd of Ibimirim - PE and Serpentina. Among the studied flocks, the one of the Serpentine breed was it that show larger consanguinity levels, with high value of F_{IS} for 9 of the studied locos, soon afterwards Mossoró-RN and Ibimirim-PE, for 8 locos Taperoá-PB and Serra-Talhada-PE, for 7 of the investigated locos. The flocks of Mosoró-RN, Taperoá-PB, Ibimirim-PE and Serpentina for they presented levels significant ($p < 0,05$) for heterozygots deficit demonstrate for the high and positive value F_{IS} . The F_{st} values confirmed a larger genetic distance among Moxotó goats on Serra-Talhada-PE and Serpentina breed from Portugal (0,275). The molecular variance analysis showed that 10,48% of the observed genetic variation is due to differences inter-groups, indicating that exist sub-division in Moxotó breed probable due to lack of gene flow in the breed. The animals studied were assigned probabilistically through Bayesian inference to one or more populations using the Structure program. Four populations were suggested ($K=4$), so that the sub division was more strong in the herds located in Mossoró-RN State. The detection of sub-division in the Moxotó breed in sub-populations shows the necessity of a conservation program to promote gene flow among them and to increase the global genetic diversity in the breed.

KEYWORDS: Structure genetic, genetic diversity, native.

INTRODUÇÃO

A partir da segunda viagem de Cristóvão Colombo à América, houve um fluxo intenso de animais da Península Ibérica que partiam dos portos do sul da Espanha e dos principais portos portugueses e geralmente, nessas viagens, havia uma parada na ilha da Madeira e ilhas Canárias, e daí seguiam os espanhóis com destino às ilhas do Caribe, enquanto os portugueses partiam diretamente para as colônias brasileiras (Rodero et al., 1992 e Primo, et. al., 1992). Estas populações foram as que deram origem às principais raças ou grupos de animais domésticos do Brasil.

Das raças nativas remanescentes no Nordeste do Brasil, a que se destaca devido a apresentar maior efetivo é a Moxotó. Esta desenvolveu-se na região do sertão de Pernambuco e se espalhou por todo o Nordeste, dado a sua grande capacidade adaptativa. Devido a acasalamentos desordenados com raças de caprinos exóticos praticados pelos criadores em busca de animais de maior produção, o efetivo da raça Moxotó foi reduzido drasticamente, resultando em grandes rebanhos de caprinos sem padrão racial definido (Oliveira et al., 2002).

Nos rebanhos remanescentes da raça Moxotó, grande parte não possuem controle zootécnico, dificultando o acesso a informações de parentesco, que permitiria elucidar o grau de conservação dos rebanhos e estabelecer um programa de gestão genética adequado, com a finalidade de recuperar e manter a variabilidade genética dos rebanhos. Nessa situação, pressupondo-se que raça Moxotó é geneticamente fechada, surge o interesse de verificar a possível relação entre as classificações subjetivas das regiões onde a raça ocorre e as informações genéticas. Nesse caso é possível acessar o grau de subdivisão que existe na população e identificar a relativa contribuição de cada grupo genético.

Recentemente, nesta linha de trabalho, metodologias baseadas na coalescência têm sido desenvolvidas para estimar a mistura em nível de população, permitindo a estimação das taxas de migração das gerações mais recentes. (Bertorelle e Excoffier, 1998; Beerli e Felsenstein, 1999; Dupanloup e Bertorelle, 2001).

Pritchard e Rosenberg (1999) consideraram que as informações genéticas podem ser usadas para detectar a presença de estrutura desconhecida das populações associadas com mapas. Contudo, é interessante identificar as atuais sub-populações e nomear os indivíduos (probabilisticamente) para tais populações. Segundo Alvarez et al. (2004), a identificação da estruturação de populações é de grande valia para a formação de unidades de conservação. Assim, é importante identificar e caracterizar essas populações geneticamente, considerando também informações subjetivas, como características fenotípicas e/ou localizações geográficas.

As relações genéticas entre raças e dentro de raças nativas brasileiras têm sido estudadas através de diversas metodologias (Oliveira et al., 2003, Menezes 2005, Oliveira et al., 2005 e Rocha et al., 2007). Devido ao processo de formação das raças de caprinos nativos, que teve início no período colonial do Brasil e ao isolamento, geográfico dos rebanhos da raça Moxotó, espera-se ocorrer diferenças entre eles, de acordo com sua localização.

Muito se discute sobre a similaridade fenotípica entre as raça Moxotó e Serpentina de Portugal. Esta raça encontra-se distribuída numa faixa geográfica que se estende desde o Sul do Tejo até ao Algarve, particularmente nas zonas mais montanhosas do interior. Como é comum noutras etnias desta espécie, resultou de cruzamentos de animais trazidos em tempos remotos para a Península Ibérica por povos de várias origens, e aí, face ao condicionamento ambiental e à seleção morfológica, deu origem a uma população de acentuada homogeneidade. O sistema de exploração predominante é o extensivo, com

longas épocas de carência alimentar que, em última análise, condicionam o potencial produtivo deste genótipo caprino.

Os animais da raça Serpentina são em geral explorados na dupla função carne - leite, notando-se nos últimos anos na maioria dos produtores um interesse crescente por esta raça (Fialho, 2000). Devido à grande semelhança de morfologia com a raça Moxotó, provavelmente a raça Serpentina foi uma das raças de caprinos que deram origem a Raça Moxotó. Os estudos comparativos existentes entre a Moxotó e Serpentina (Menezes, 2005) mostram que são grupamentos distintos, o que certamente, se deveu ao isolamento geográfico, promovendo grande diferenciação morfo-estrutural, apesar da grande semelhança de pelagem. Entretanto, os estudos realizados, não são conclusivos.

Neste contexto, as técnicas para a análise da variabilidade genética são elementos essenciais para programas de conservação e melhoramento genético, e estes devem estar baseados na combinação de dados fenotípico e genéticos (Serrano et al., 2005). Atualmente, muitos destes estudos se baseiam nas análises genéticas, através do uso de marcadores moleculares de DNA. Entre estes marcadores se cita o uso dos microssatélites, descritos por Tautz (1989).

Estudos referentes a relações genéticas de populações geralmente utilizam árvores filogenéticas para inferir diferenças genéticas entre populações. No entanto, recentemente, métodos de agrupamentos alternativos têm sido propostos, os quais permitem a inferência de estrutura de populações e a designação de indivíduos a determinadas populações com base em métodos bayesianos de agrupamentos (Pritchard et al., 2000).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar a estrutura genética existente entre os animais da raça Moxotó, comparando com uma população da raça Serpentina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados pêlos de 233 caprinos da raça Moxotó e Serpentina: 40 em Patos e 40 em Taperoá, no Estado da Paraíba; 28 em Ibimirim e 40 em Serra-Talhada, no Estado de Pernambuco; 39 em Mossoró, Rio Grande do Norte e 46 animais da raça Serpentina, de Portugal. O DNA foi extraído de pêlos selecionados, segundo a metodologia estabelecida por Walsh et al. (1991). Todos os animais são mantidos em sistema semi-extensivo de criação, com excessão do rebanho localizado no município de Ibimirim-PE, região que se caracteriza por apresentar sistemas de criação mistos, em que os caprinos são criados extensivamente. As amplificações via PCR (Polymerase Chain Reaction) foram otimizadas e realizadas para 25 marcadores Microssatélite: BM1329, BM6506, BM8125, BM6526 e INRA6 (Bishop et al., 1994); CSSM66 e ETH225 (Barendse et al., 1994); CSRD247 (FAO, 2004); TGLA122 (Georges et al., 1992); HSC e McM527 (Isag, 2002); BM1818 (Li et al., 2002); MAF209, ILSTS011, MAF65 e SRCRSP8 (Luikart et al., 1999); MM12 (Mommens et al., 1994); SPS115 e CRSM60 (Moore et al. 1993 e 1994); HAUT27 (Thieven et al., 1997); INRA63 (Vaiman et al., 1994); OarFCB48, OarFCB11, OarFCB304 (Yang et al., 1999) e ETH10 (Solinas et al. 1993). As reações de PCR continham: 5 µL de DNA, 2,5 mM de cloreto de magnésio, 1 unidade de Taq Polimerase, 200 mM de dNTPs e 0,25 mM de primers, para um volume final de 25 µL. As condições de amplificação no termociclador foram as seguintes: inicialmente, incubou-se por 10 minutos a 94°C, para desnaturação completa do DNA molde, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 30", 55°C para a maioria dos marcadores e a 60°C (CSRM60) por 45" e 72°C por 30" e finalmente, após os 35 ciclos, acrescentou-se 10' a 72°C, para extensão completa dos produtos amplificados.

Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida em um seqüenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City CA, USA) para realizar a separação por tamanhos de fragmentos obtidos mediante as PCRs. As análises de fragmentos e a tipificação alélica realizaram-se mediante os programas informáticos GeneScan Analysis v. 3.7 e Genotyper v. 2.5, respectivamente.

Para a análise molecular de variância (AMOVA) e teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg usando a cadeia de Markov de 100 000 passos e 1000 demomorizações foi feita através do programa Arlequin (Excoffier et al., 2006). As estimativas de heterozigosidade esperadas sob equilíbrio de Hardy-Weinberg (HE) e observadas (HO) para cada loco foram calculadas segundo método de Weir e Cockerham (1984), foram obtidas utilizando o programa Genetix 4.05.2 (Belkhir, 2004). As estimativas de índices de fixação de Wright F_{IS} e os P - valores de F_{IS} foram obtidos através do programa FSTAT.

A estruturação genética das raças com base na informação individual dos genótipos para cada loco foi feita por meio do programa Structure (Pritchard et al., 2007). Este programa estima o logaritmo natural da probabilidade de que um dado genótipo X faça parte de uma dada população K : ($\ln \Pr(X|K)$), assegurando que os grupos sejam, representativamente, possíveis amostras de uma única população. O programa assume que existem K populações com distribuição de frequências gênicas desconhecidas em cada loco p_{kl} para $k = 1 \dots K$ populações e $l = L \dots$ loco contribuindo para o conjunto gênico da população estudada. Os alelos de cada loco são amostrados independentemente para cada indivíduo, condicionado pela proporção q_i dos seus genótipos na população estudada. Desta forma, por inferência Bayesiana, os indivíduos foram designados (probabilisticamente) a determinadas populações, ou agrupados a uma ou mais populações. Para estimar os cálculos de estruturação, foram utilizados os métodos de cadeia de Markov e Monte Carlo, de maneira que foi calculado, para cada indivíduo, a probabilidade de um

dado genótipo X fazer parte de uma dada população K : $\ln \Pr(X/K)$. Foram estimadas as probabilidades para valores de K que variaram de um até dez. Para testar a regularidade dos resultados, cada valor de K foi estimado duas vezes independentemente, a partir de 100.000 interações.

As taxas de migrações recentes nas populações estudadas foram estimadas através da utilização do programa BayesAss+ (Wilson e Rannala, 2003). Essa análise emprega o método Bayesiano para calcular as taxas de migração recentes entre populações a partir de informação de genótipo multiloco. Este método não necessita de suposições prévias de designação metodológicas, isto é, se os genótipos estão em equilíbrio Hardy-Weinberg dentro de populações. O programa calcula simultaneamente a probabilidade de distribuição das frequências alélicas para cada loco, taxa de migração entre populações (m_{ij}) e coeficiente de consangüinidade para cada população (F_i), avaliando a importância relativa de padrões específicos de dinâmica de população. O programa BayesAss+ foi executado com período de 3×10^6 interações.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A descrição dos marcadores usados, número de alelos por marcador, estimativas de F_{IS} e P -valores de F_{IS} para déficit ou excesso de heterozigotos, desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg por raças, são apresentados na Tabela I e II. Dentro de raças, o número de marcadores que mostram desvio significativo ($p < 0,05$) de equilíbrio de Hardy-Weinberg variaram de 4 nos rebanhos de Taperoá-PB e Ibimirim-PE, a 10 no rebanho de Mossoró-PE (Tabelas I e II), indicando que ocorre sub-estruturação dentro das populações estudadas.

Dos 25 marcadores utilizados, 21 apresentaram desequilíbrio de Hardy-Weinberg em toda a população de caprinos, sendo o marcador MAF209 monomórfico nos rebanhos

de Mossoró-RN, Taperoá, e Serra-Talhada-PE, podendo ser considerado como um importante marcador para a caracterização das populações de Ibimirim-Serpentina que apresentaram 3 alelos para esse marcador.

Apenas o marcador CSSM66 apresentou desequilíbrio de Hardy-Weinberg em todos os rebanhos. Os marcadores MM12, BM6526, CRSM60 e ETH10 não apresentaram desvios significativos ($p > 0,05$) do equilíbrio Hardy-Weinberg, indicando certo grau de heterogeneidade entre os animais estudados e, possível subestruturação dentro dos rebanhos. De uma forma geral os marcadores apresentam bom níveis de equilíbrio dentro de rebanho, indicando que podem ser utilizados com sucesso para identificar os níveis de sub estruturação nas populações.

Os desvios das proporções Hardy-Weinberg observadas para os marcadores podem ser explicados pela presença de alelos nulos não detectados, erro de amostragem, presença de ancestrais comuns e os efeitos da deriva genética. Tais fatores podem ter sido causadores dos altos valores F_{IS} dentro de raça, que apresentou valor máximo de 0,694 para a população de Patos-PB, com o marcador MAF65.

Dentre os rebanhos estudados, o da raça Serpentina foi o que apresentou maiores níveis de consangüinidade, com valores elevados de F_{IS} para 9 dos locos estudados, em seguida Mossoró-RN e Ibimirim-PE, para 8 locos, Taperoá-PB e Serra Talhada, para 7 dos locos investigados. Dessa forma, os rebanhos de Mosoró-RN, Taperoá-PB, Ibimirim-PE e Serpentina-POR apresentaram níveis significativos ($p < 0,05$) para déficit de heterozigotos (Tabelas I e II) indicados pelo alto e positivo valor F_{IS} . Essa hipótese pode ser confirmada na Tabela III através dos valores de heterozigosidade observada, que foi ligeiramente inferior aos de heterozigosidade esperada para estes rebanhos.

Esses resultados podem ser decorrentes de acasalamentos entre indivíduos parentes, uma vez que o número de reprodutores é pequeno, limitando, dessa forma, a variabilidade

genética desses rebanhos e proporcionando a fixação de determinados alelos. Resultados semelhantes foram reportados por Rocha et al. (2007), estudando o polimorfismo protéico em caprinos da raça Moxotó.

Os valores negativos de Fis (Tabelas I e II) indicam que pode ocorrer excesso de heterozigotos nas populações para alguns marcadores, entretanto não ocorreu diferenças significativas ($p > 0,05$) para a maioria dos marcadores. Dos rebanhos estudados, o que apresentou heterozigotidade observada ligeiramente maior que a esperada, indicando um pequeno excesso de heterozigotos que não demonstrou efeito significativo ($p > 0,05$) foi a de Patos-PB. O excesso de heterozigotos pode ter sido ocasionado por recente introdução de genótipos de outra população, com intenção de melhorar os índices produtivos dos rebanhos.

Tabela 1. Número de alelos por loco, deficiência de heterozigotos dentro da população (F_{is}) de equilíbrio de Hardy-Weinberg por marcador e população (*Alelos number for loco, heterozigotos deficiency within of the population (F_{is}) disequilibrium of Hardy-Weinberg for marker and population*)

Loco	N	Mossoró RN				Taperoá PB				Patos PB			
		DH	EH	HE	F_{is}	DH	EH	HE	F_{is}	DH	EH	HE	F_{is}
BM 1329 *	9	ns	ns	ns	-0,040	ns	ns	ns	-0,005	ns	ns	ns	-0,139
BM 6506*	7	ns	ns	ns	0,074	**	ns	**	0,333	ns	ns	ns	0,000
BM8125*	7	ns	ns		-0,033	ns	ns	ns	-0,004	ns	ns	**	0,089
BM1818*	9	ns	ns	ns	0,053	**	ns	**	0,355	ns	ns	ns	-0,180
CSRD247*	9	ns	ns	**	0,059	**	ns	ns	0,257	ns	ns	ns	0,050
HSC 1*	15	ns	ns	ns	0,109	ns	ns	**	0,131	ns	ns	ns	0,122
MM12 1	15	ns	ns	ns	0,073	ns	ns	ns	-0,087	ns	ns	ns	-0,003
OarFCB48*	9	**	ns	**	0,340	ns	ns	ns	0,009	ns	ns	ns	-0,096
SRCRSP8*	11	ns	ns	ns	0,081	ns	ns	ns	-0,025	ns	ns	ns	-0,129
INRA 63*	5	ns	ns	ns	0,071	ns	ns	ns	-0,088	ns	ns	ns	-0,128
MAF209*	3	ns	na	na	na	ns	ns	ns	na	ns	ns	ns	na
HAUT 27*	6	ns	ns	**	0,289	ns	**	**	-0,372	ns	ns	ns	-0,075
ILSTS 01*	7	ns	ns	**	-0,017	ns	ns	ns	0,130	ns	ns	ns	-0,017
SPS115*	4	**	ns	**	0,310	ns	ns	ns	0,204	ns	ns	ns	0,228
TGLA 122*	10	ns	ns	**	-0,064	ns	ns	ns	0,029	ns	ns	**	0,081
BM6526	14	ns	**	ns	-0,161	ns	ns	ns	0,019	ns	ns	ns	-0,009
CRSM60	7	ns	ns	ns	-0,044	ns	ns	ns	0,007	ns	ns	ns	0,205
CSSM66 *	24	**	ns	**	0,396	**	ns	**	0,524	ns	ns	**	-0,104
INRA6*	13	ns	ns	ns	-0,026	ns	ns	ns	0,056	ns	ns	**	0,168
McM527*	9	ns	ns	ns	0,076	ns	ns	ns	0,080	ns	ns	ns	-0,053
FCB11*	9	ns	ns	**	0,170	ns	ns	ns	-0,027	ns	ns	ns	-0,028
FCB304*	13	ns	ns	ns	-0,123	ns	ns	ns	0,036	ns	ns	ns	0,019
MAF65*	13	**	ns	**	0,200	ns	ns	ns	-0,004	**	ns	**	0,694
ETH 225*	3	**	ns	**	0,483	ns	ns	ns	0,150	ns	ns	ns	0,245
ETH10	4	ns	ns	ns	-0,084	ns	ns	ns	-0,157	ns	ns	ns	0,009
Todos os locos		**	ns	-	0,079	**	ns		0,078	ns	ns		0,013

* = Loco em desequilíbrio; ** = $p < 0,05$; ns=não significativo; na = não avaliado

DH- Déficit de heterozigotos; EH= Excesso de heterozigotos; HE=teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg

Tabela II. Número de alelos por loco, deficiência de heterozigotos dentro da população (F_{is}) desequilíbrio de Hardy-Weinberg por marcador e população (Alelos number for loco, heterozigotos deficiency within of the population (F_{is}) disequilibrium of Hardy-Weinberg for marker and population)

Loco	N	Ibimirim-PE				Serra-Talhada-PE				Serpentina			
		DH	EH	HE	F_{IS}	DH	EH	HE	F_{IS}	DH	EH	HE	F_{IS}
BM 1329 *	9	**	ns	**	0,263	ns	ns	ns	-0,036	ns	ns	ns	0,060
BM 6506*	7	ns	ns	ns	0,062	ns	ns	ns	-0,061	ns	ns	ns	-0,045
BM8125*	7	ns	ns	ns	0,007	ns	ns	ns	0,050	ns	ns	ns	-0,123
BM1818*	9	ns	ns	ns	0,080	ns	ns	ns	0,042	**	ns	**	0,192
CSRD247*	9	ns	ns	ns	0,120	ns	ns	ns	0,056	ns	ns	ns	0,138
HSC 1*	15	ns	ns	ns	0,015	ns	ns	ns	0,126	ns	ns	ns	0,070
MM12 1	15	ns	ns	ns	-0,044	ns	ns	ns	-0,034	**	ns	ns	0,137
OarFCB48*	9	ns	ns	ns	-0,196	ns	ns	ns	-0,036	ns	ns	ns	-0,013
SRCRSP8*	11	ns	ns	ns	0,058	ns	ns	**	0,028	ns	ns	ns	0,086
INRA 63*	5	ns	ns	ns	0,299	ns	ns	ns	-0,013	**	ns	**	0,272
MAF209*	3	ns	ns	ns	-0,038	ns	ns	ns	na	**	ns	ns	0,662
HAUT 27*	6	ns	ns	ns	0,094	ns	ns	ns	-0,199	ns	**	ns	-0,475
ILSTS 01*	7	ns	ns	ns	0,089	**	ns	**	0,222	ns	ns	ns	0,052
SPS115*	4	ns	ns	ns	0,060	**	ns	**	0,396	ns	ns	ns	0,077
TGLA 122*	10	ns	ns	ns	0,006	ns	ns	ns	-0,128	ns	ns	ns	-0,001
BM6526	14	ns	ns	ns	-0,090	ns	ns	ns	-0,025	ns	ns	ns	-0,049
CRSM60	7	ns	ns	ns	0,184	ns	ns	ns	-0,042	ns	ns	ns	0,096
CSSM66 *	24	**	ns	**	0,336	**	ns	**	0,264	**	ns	**	0,373
INRA6*	13	ns	ns	ns	-0,108	ns	ns	ns	-0,061	ns	ns	ns	-0,082
McM527*	9	ns	ns	ns	0,028	ns	ns	ns	-0,142	**	ns	**	0,271
FCB11*	9	ns	ns	ns	0,076	ns	ns	ns	0,134	ns	ns	ns	-0,042
FCB304*	13	**	ns	**	0,357	ns	ns	ns	-0,029	ns	ns	ns	-0,025
MAF65*	13	ns	ns	ns	0,168	ns	ns	ns	0,135	**	ns	**	0,259
ETH 225*	3	ns	**	**	-0,423	ns	**	**	-0,357	**	ns	**	0,400
ETH10	4	ns	ns	ns	0,162	ns	ns	ns	0,129	ns	ns	ns	-0,038
Todos os locos		**	ns	-	0,073	ns	ns	-	0,021	**	ns	-	0,060

* = Loco em desequilíbrio; ** = $p < 0,05$; ns=não significativo; na = não avaliado

DH- Déficit de heterozigotos; EH= Excesso de heterozigotos; HE=teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg

Oliveira et al. (2006) e Menezes (2005) também observaram desvios significativos do EHW em rebanhos da raça Moxotó, ocorridos devido à existência de subdivisão na população e presença de alelos nulos e deficiência de heterozigotos.

O F_{ST} global estimado para todos os dados foi 0,156. As menores distâncias observadas de F_{ST} foram entre as populações de Patos-PB e Ibimirim-PE. A proximidade observada entre esses grupos deve-se certamente à troca (cessão ou venda) de animais entre criadores dos Estados da Paraíba e Rio Grande do Norte. As distâncias F_{ST} revelaram que ocorrem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os rebanhos da raça Moxotó estudados, sendo os maiores valores de F_{ST} obtidos entre os rebanhos de Serra-Talhada e Taperoá-PB (0,216), seguidos de Mossoró-RN (0,157) e Ibimirim-PE (0,137).

Os elevados valores de distância observados, ocorrem devido ao rebanho da raça

Moxotó ter sofrido ao longo dos anos cruzamentos com diferentes raças de caprinos exóticos, com a finalidade de aumentar os índices produtivos dos rebanhos, levando a diluição do patrimônio genético da raça (Ribeiro et al., 2004, Oliveira et al., 2005).

Devido ter-se dado grande atenção nos últimos anos à conservação de raças nativas, e também ter ocorrido concientização dos criadores, alguns núcleos de conservação foram formados com os animais remanescentes da raça Moxotó, que, apesar de apresentar perfeitamente os padrões fenotípicos da raça, apresentam também um certo grau de mestiçagem, ocasionados pelos cruzamentos desordenados. Tal fato explica os elevados valores de distância genética, fazendo com que cada rebanho, nas regiões estudadas, apresentem suas particularidades.

O rebanho da raça Serpentina apresentou maior distância com o rebanho de SerraTalhada (0,275) seguido de Ibimirim (0,173) e as menores ocorream com o rebanho de Patos-PB (0,101).

As estimativas de diferenciação genética usando F - estatísticos são criticadas pelo fato destes parâmetros não permitirem que padrões de fluxo gênico entre raças sejam averiguados. Desta forma, a alta variabilidade de microsátélites intra-populacional resulta em uma baixa magnitude para medidas de diferenciação (MacHugh et al. 1998, Hedrick, 1999; Balloux et al., 2002, Arranz et al., 2001, Alvarez et al. 2004)

Tabela III. Número de indivíduos genotipados por população, Heterozigosidade, esperada, média, e observada por população (*Number of individuals genotyped for population, Heterozigosidade, expected, unbiased, and observed by population*)

Populações	N	Heterozigosidade		
		Esperada	Média	Observada
Mossoró-RN	39	0,6310	0,6398	0,5886
Taperoá-PB	40	0,6010	0,6094	0,5623
Patos – PB	40	0,5265	0,5340	0,5274
Ibimirim – PE	28	0,6040	0,6151	0,5711
Serra-Talhada-PE	40	0,5676	0,5748	0,5628
Serpentina	46	0,6697	0,6783	0,6376

Tabela IV. Distâncias pareadas de Fst de acordo com o grupo de caprinos estudados
(Distances paired of Fst in agreement with the group of bovid studied)

	Mossoró	Taperoá-PB	Patos-PB	Ibimirim-PE	Serra-Talhada- PE
Mossoró-RN	0	**	**	**	**
Taperoá-PB	0,079	0	*	**	**
Patos-PB	0,072	0,082	0	**	**
Ibimirim-PE	0,123	0,135	0,036	0	**
Serra-Talhada-PE	0,157	0,216	0,137	0,185	0
Serpentina-POR	0,123	0,119	0,101	0,173	0,275

** ($p < 0,05$)

Em uma população subdividida, o estudo de diversidade genética é focado na partição dos componentes entre e dentro das sub-populações; dessa forma, a análise de variância molecular indicou que 10,48% ($P < 0,001$) da diversidade genética existente ocorreu em razão de diferenças inter-grupos (Tabela V), mostrando complexa estrutura genética. O programa Structure foi executado inicialmente com várias opções de populações esperadas, percorrendo de $K = 1$ para $K = 10$ e mostrou que o melhor valor de K para explicar o conjunto de dados fornecidos foi igual a 4 ($\ln P(X/K) = -14075,6$). Com base neste valor, foram desenvolvidas as análises de agrupamento. Estas quatro populações deduzidas corresponderiam às populações “ancestrais” das quais as populações atuais foram derivadas. Porém, as populações inferidas necessariamente não correspondem as “reais” populações ancestrais, elas simplesmente são determinadas pelo esquema de amostragem (Pritchard et al., 2000).

O programa Structure calcula as freqüências alélicas esperadas para cada loco, para as quatro populações inferidas, estimando a proporção das seis populações estudadas em cada uma das 4 populações inferidas (Tabela VI).

Tabela V. Análise de Variância para as populações estudadas (*Analysis of Variance for the studied populations*)

Fonte de Variação	G,L	Soma de Quadrados	Componentes de Variância	Porcentagem de Variação
Entre grupos	3	299,445	0,61972	10,48
Entre pop/grupo	2	53,833	0,30267	5,12
Dentro populações	460	2296,560	4,99252	84,41
Total	465	2649,839	5,91492	

Dessa forma, observa-se que a população quatro (P4) está diretamente relacionada aos animais de Patos-PB e Serra Talhada-PE, contendo ainda uma porção dos alelos dos animais de Mossoró-RN com os valores de 0,968; 0,967 e 0,373, respectivamente.

Tabela VI. Proporção de indivíduos de cada região estudada nas populações inferidas (*Individuals proportion of each area studied in the inferred populations*)

Grupo de Animais estudados	Populações Inferidas			
	P1	P2	P3	P4
Mossoró-RN	0,025	0,080	0,523	0,373
Taperoá-PB	0,011	0,015	0,884	0,091
Patos-PB	0,003	0,017	0,013	0,967
Ibimirim-PE	0,008	0,848	0,011	0,134
Serra-talhada-PE	0,010	0,015	0,006	0,968
Serpentina-Portugal	0,980	0,007	0,008	0,005
F _{ST}	0,0983	0,1671	0,2281	0,2304

Esses valores demonstram a alta contribuição genética dessas populações nas populações inferidas, refletindo uma maior identidade genética entre elas. A população dois (P2) contém grande proporção dos indivíduos de Mossoró-RN e Taperoá-PB. No restante das populações inferidas também se observa clara sub-estruturação dos animais da raça Moxotó, as quais se concentram em duas populações inferidas a P2 e P3. Esses resultados evidenciam a particularidade dos rebanhos da raça Moxotó, de acordo com a região de origem, refletindo isolamento genético em grande parte da população. Uma vez que o desempenho do Structure está baseado no suposto equilíbrio Hardy - Weinberg, a

confiança dos resultados informados foram conferidos executando o programa Structure três vezes, uma vez que a maioria dos marcadores apresentaram-se em desequilíbrio.

Com relação à raça Serpentina, maior proporção dos seus alelos foram alocados na população P1, refletindo a baixa sub estruturação do grupo estudado. Pode-se observar que todas as populações da raça Moxotó apresentam baixas proporções na população inferida P1, indicando uma maior distância com relação à raça Serpentina. Os valores de F_{st} para as K populações estão na Tabela VI. Nesta tabela, é observado que as populações que apresentaram maior diversidade genética foram as populações P3 e P4, as quais apresentaram maior proporção de alelos para as populações de Taperoá-PB e Mossoró-RN e Patos-PB e Serra Talhada-PE, respectivamente. Essa maior diversidade ocorre devido ao fato dessas populações terem recebido alelos das outras populações, ao contrário das demais, nas quais não ocorre fluxo gênico, ou ocorre com menor intensidade.

Segundo Alvarez et al. (2004), quando as populações não são bem diferenciadas ou uma grande proporção de indivíduos apresentam certo grau de mestiçagem, torna-se difícil calcular as frequências alélicas para as populações “originais”. Sendo assim, a estrutura genética observada para a raça Moxotó pode estar refletindo a absorção de indivíduos de outras população e posterior isolamento reprodutivo, produzindo gargalos genéticos em relação à de população. Ambos os aspectos poderiam afetar os presentes resultados.

Segundo Oliveira et al. (2006), os rebanhos das raças caprinas nativas brasileiras sofreram uma acentuada redução e encontram-se em processo acelerado de diluição genética, devido à introdução de raças exóticas e à falta de orientação no manejo reprodutivo, sendo a Moxotó a raça de maior efetivo na região (10,81 %).

Estimativas das taxas de migração recentes entre populações (até a segunda geração de migrantes) são apresentadas na Tabela VII, bem como as médias e desvios-padrão da distribuição posterior do coeficiente de consangüinidade (F) para cada população. Estes

parâmetros foram calculados assumindo que cada população foi derivada uma da outra. Os resultados demonstraram que as populações não receberam proporções significativas de migrantes. Taxas significativas de recentes introgressões são de aproximadamente 30% (Alvarez et al., 2004).

Dessa forma, as maiores taxas de migração observadas ocorreram na população de Mossoró-RN, que apresenta fluxo gênico entre as populações de Patos e Taperoá, Estado da Paraíba. A população do Mossoró-RN também apresentou estimativas elevadas de F (0,5), com elevado desvio-padrão (0,2929). Desvios padrões altos de F são relacionados à presença de alta proporção de migrantes de primeira e segunda geração (Wilson e Rannala, 2003). Tal fato pode ocorrer devido à proximidade entre regiões, o que facilita a troca de reprodutores, promovendo fluxo gênico entre as populações. Os valores observados para os animais da Serra Talhada indicaram que os animais apresentam um elevado grau de isolamento que justifica a ocorrência dos elevados valores de distância F_{ST} observados. Com relação à raça Serpentina, observa-se que essa não apresentou contribuições significativas de migrantes para as populações estudadas.

Tabela VII. Média de distribuição posterior da taxa de migração(m) e médias e desvio padrão da distribuição posterior do coeficiente de consangüinidade (F) de cada população utilizando o programa BayesAss+ (Means of posterior distribution of the migration (m) and means and standard deviation of the posterior distribution of the consanguinity coefficient (F) of each population using the program BayesAss+)

População Parental	Populações Derivadas ¹						F	
	1	2	3	4	5	6	\bar{X}	DP
1-Mossoró-RN	0,6749	0,1771	0,0803	0,0451	0,0175	0,0052	0,50	0,2929
2-Taperoá-PB	0,0029	0,9665	0,0207	0,0036	0,0032	0,0030	0,18	0,0167
3-Paraíba	0,0017	0,0016	0,9915	0,0017	0,0018	0,0017	0,21	0,0191
4- Ibimirim-PE	0,0039	0,0044	0,0043	0,9548	0,0285	0,0041	0,12	0,0245
5-Serra-Talhada	0,0017	0,0015	0,0017	0,0017	0,9919	0,0016	0,07	0,0228
6-Serpentina	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,9930	0,12	0,0170

1- As populações dentro das quais os indivíduos estão migrando(Populações Derivadas) estão na coluna, e as origens dos migrantes estão nas linhas. Os valores na diagonal são as proporções de indivíduos derivados das populações de origem. Contribuições maiores que 0,10 estão em negrito.

CONCLUSÃO

As análises revelaram que existe divergência genética entre os rebanhos da raça Moxotó.

A variabilidade entre os rebanhos da raça Moxotó pode ser utilizada para melhorar os níveis de heterozigidade na população.

Observou-se a formação de sub-populações dentro da raça Moxotó.

Considerando as distâncias F_{ST} dentro da raça Moxotó, podemos afirmar que ainda existe relação genética entre as raça Serpentina e os animais da raça Moxotó

BIBLIOGRAFIA

- Álvarez , I., L. J. Royo, I. Fernández, J. P. Gutie´rrez, E. Gómez, F. Goyache. 2004. Genetic relationships and admixture among sheep breeds from Northern Spain assessed using microsatellites. *Journal of Animal Science*, 82:2246–2252.
- Arranz, J. J., Y. Bayo ´N, And F. Sanprimitivo. 2001. Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites. *Genet. Sel.Evol.* 33:529–542.
- Balloux, F., And N. Lugon-Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11:155–165.
- Barendse, W., S.M. Armitage. 1994. a genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics.* 6: 227-235.
- Beerli, P., and J. Felsenstein. 1999. Maximum likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using coalescent approach. *Genetics* 152:762–773.
- Belkhir, K. 2004. Genetix: Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UPR 9060.
- Bertorelle, G., and L. Excoffier. 1998. Inferring admixture proportions from molecular data. *Mol. Biol. Evol.* 15:1298–1311.
- Bishop, M.D., S. M. Kappes, J.W. Keele. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, V. 136, P. 619-639, 1994. Bowcock, A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde. 1994. High resolution of human evolution with polymorphic microsatellites. *Nature.* 368: 455-457.

- Cornuet J.M. And Luikart G., 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014.
- Di Rienzo, A. Peterson, A.C., Garza,, J.C., Valdes, A.M., Slatkin, M., Freimer, N.B. 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 91 : 3166-3170.
- Dupanloup, I., and G. Bertorelle. 2001. Inferring admixture proportions from molecular data: extension to any number of parental populations. *Mol. Biol. Evol.* 18:672–675.
- Excoffier, L., G. Laval, and S. Schneider. 2006. *Arlequin*, ver.3.1: An Integrated Software Package for Population Genetic Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Berne.
- FAO. 2004. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans: measurement of domestic animal diversity (Modad): Recommended Microsatellite Markers, FAO. Rome.
- Fialho, J.B.R.A. 2000. Cabra Serpentina - Origem, Efectivos, Registo Zootécnico, Características Genéticas, Morfológicas e Produtivas. *Centro de Experimentação do Baixo Alentejo Herdade da Abóbada*.
- Georges, M. And J.M. Massey. 1992. Polimorphic DNA markers in bovidae. Patent Wo 92/13102.
- Hedrick, P. W. 1999. Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* 53:313–318.
- Isag. (2002). [Http://Www.Isag.Org.Uk](http://www.isag.org.uk)

- Li, M. H., S. H. Zhao, C. Bian, H. S. Wang, H. Wei. 2002. Genetic relationships among twelve chinese indigenous goat populations based on microsatellite. *Genet. Sel. Evol.* 34: 729-744.
- Luikart, G., F. W. Alendorf, B. Sherwin, and J. M. Cornuet. 1998. Distortion of allele frequency distributions provide a test of recent population bottlenecks. *J. Hered.* 12:238–247.
- Luikart, G., M.P. Biju-Duval, O. Ertugru. 1999. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics.* 30: 431-438.
- Machugh, D. E., R. T. Loftus, P. Cunningham, and D. G. Bradley. 1998. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Anim. Genet.* 29:333–40.
- Menezes, M.P. 2005. *Caracterização Genética de Cabras Brasileiras Utilizando Microsatélites.* 133 f. Tese (Doutorado Produção Animal) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba.
- Mommens, G.W., and A.Coppieters. 1994. Dinucleotide repeat polymorphism at the bovine MM12E6 and MM8D3 locos. *Animal Genetics.* 25: 368.
- Moore, S.S., K. Byrne. 1993. Dinucleotide polymorphism at the bovine calmodulin independent adenylcyclase loco. *Animal Genetics.* 24: 150.
- Moore, s.s., Byrne, K. 1994. Characterization of 65 bovine microsatellites. *Mammalian genome.* 5: 84-90.

Oliveira, J.C.V. Estrutura genéticas das raças...

Oliveira J.C.V., L.L. Rocha & M.N. Ribeiro. 2002. Etnozootecnia e conservação de caprinos naturalizados no Sertão Pernambucano. In: Iv Simposio Brasileiro de Etnobiologia e Etonoecologia. 4, *Anais...* Recife-Pe: Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etonoecologia. pp: 12

Oliveira. R. R. 2003. *Caracterização Genética De Populações De Caprinos Da Raça Moxotó Usando Marcadores Moleculares*. Areia-Paraíba: Centro de Ciências Agrárias, 2003, 59p, Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal da Paraíba.

Oliveira, J.C.V., L.L. Rocha, R. C. B. Silva, M.N. Ribeiro, M.A Gomes Filho, S. E. F. Guimarães. 2005. Divergência genética entre caprinos da Raça Moxotó através da utilização demarcadores microssatélites. In: Simpósio Internacional de Conservação de Recursos Genéticos -Raças Nativas para o Semi-Árido. 2, *Anais...* Recife-Pernambuco. II SINCORGE. CR-ROM

Oliveira, J.C.V., L.L. Da Rocha, M.N. Ribeiro & M.A. Gomes Filho. 2006. Caracterização e Perfil genético visível de caprinos nativos no Estado de Pernambuco. *Arch. Zootec.* 55 (209): 63-73. 2006.

Primo, A. T. 1999. Introdução de animais domésticos no novo mundo. In: II Simposio De Recursos Genéticos Para América Latina e Caribe – Sirgealc. Brasília, 1999. Procceding... Brasília, 1999. CD-ROM.

Pritchard, J. K., and N. A. Rosenberg, 1999 Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. *Am. J. Hum. Genet.* 65: 220–228.

Pritchard, J. K.; M. Stephens, P. Donnelly, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155: 945–959.

Oliveira, J.C.V. Estrutura genéticas das raças...

Pritchard, J. K. and W. Wen, 2007. Documentation for structure software: Version 2.2
Department of Human Genetics, University of Chicago.

Ribeiro, M. N., J. C. V. Oliveira, L. L. Rocha, A. G. C. Alves, F. F. R. Carvalho, Y J. R. B. Sereno. 2004. Caracterización, evaluación y conservación de caprinos Moxotó en el Estado de Pernambuco, Brasil. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 2004. Vol. 12 (Supl. 1): 54-58

Rocha, L.L., R.C. Benício, J.C.V. Oliveira, M.N. Ribeiro, M.A.C. Lara, M.A. Gomes Filho E J.A. Ribeiro. 2007 Uso de polimorfismo de proteínas no estudo Genético de caprinos da raça Moxotó. *Arch. Zootec.* 56 (215): 287-298.

Rodero, A., Delgado, J. V., Rodero, E. 1992. Primitive Andalusian livestock and their implications in the discovery of America. *Arch. Zootec.* 41(extra): 383-400.

Serrano, G.M., A.A. Egito, C. Mcmanus; A.S. Mariante. 2005. Genetic population structure of brazilian bovine breeds inferred by RAPD markers. *Arch. Zootec.* 54: 409-414. 2005.

Solinas Toldo, S., Fries, R. 1993. Physically Mapped, Cosmid-Derived Microsatellite Markers As Anchor Locus On Bovine Chromosomes. *Mammalian Genome.* 4: 720-727.

Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research.* 17: 6463-6471.

Thieven, U., S. Solinas-Toldo. 1997. Polymorphic Ca-Microsatellites For The Integration Of The Bovine Genetic And Physical Map. *Mammalian Genome.* 8: 52-55.

Vaiman, D., L. Schibler, F. Bourgeois, A. Oustry, Y. Amigues, E. P. A. Crihiu. 1996. Genetic Linkage Map Of The Male Goat Genome. *Genetics,* V. 144, P. 279-305.

Oliveira, J.C.V. Estrutura genéticas das raças...

Walsh, P. S., D. A. Metzger, and R. Higuchi, 1991. Chelex 100 as a medium for a simple extraction of DNA for PCR-based typins from forensic material. *Biotecchniques*. 10: 506-513

Weir, B. S.; C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for analysis of population structure. *Evolution*. 36: 1358-1370.

Wilson, G. A., And B. Rannala. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163:1177–1191.