

LAURA LEANDRO DA ROCHA

Caracterização Genética e Morfoestrutural de Caprinos da Raça Moxotó

UFRPE –RECIFE

FEVEREIRO/2005

LAURA LEANDRO DA ROCHA

Caracterização Genética e Morfoestrutural de Caprinos da Raça Moxotó

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, Área de Concentração: Produção Animal.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Norma Ribeiro

Co-orientadores: Prof. Dr. Manoel Adrião Gomes Filho

Dra. Maria Aparecida Cassiano Lara – Pesquisadora do Instituto de Zootecnia – Nova Odessa – São Paulo.

UFRPE –RECIFE

FEVEREIRO/2005

BIOGRAFIA

Laura Leandro da Rocha nasceu em 22 de agosto de 1977, em São Paulo – SP. Em fevereiro de 1998, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Federal de Pernambuco – UFRPE, concluindo-o em abril de 2003. Durante a graduação foi bolsista do Programa de Iniciação Científica – CNPq. Em março de 2003, foi selecionada para realizar o curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção de Ruminantes, da UFRPE, e concluído em fevereiro de 2005.

Aos criadores rurais pela perseverança em criarem o Moxotó, que hoje fez parte da realização deste trabalho.

Aos meus pais, Francisca e Antônio, a meus irmãos Leandro, Rodrigo e Douglas, e meu tio Zeca, pelo apoio e incentivo nas etapas de minha vida.

Ao meu noivo, Francisco Machado, pela compreensão e incentivo na minha vida profissional.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, a FACEPE pelo apoio financeiro.

Ao Instituto de Zootecnia de Nova Odessa-SP, pelo apoio e permitido parte do desenvolvimento da pesquisa. Aos pesquisadores e diretores desta instituição.

Aos meus novos amigos, Aides, Fabiano-IZ, João, Rodolfo, Taty, Arthur, Zé, Rodrigo, Silvia, Sérgio, e a todos que me ajudaram nos momentos difíceis.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia Nicácio e Cristina, e Setor de Transportes.

À professora Maria Norma Ribeiro, pela amizade, orientação e apoio para a realização deste trabalho.

Aos meus co-orientadores Maria Aparecida Cassiano Lara e Manoel Adrião Gomes Filho, pela amizade, cuidados e empenho no desenvolvimento do trabalho.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia, em especial a professora Lúcia Maia.

Aos meus amigos Júlio César e Regina Cely pelo companheirismo e empenho no desenvolvimento do trabalho, e pelos longos períodos no laboratório.

Aos amigos Carla Pinheiro, Luis Antônio e todos aqueles que participaram das viagens de coletas, que talvez seja uma das tarefas mais cansativas.....

A todos os meus colegas da Pós-graduação, e aqueles que de alguma forma contribuíram para que eu concluísse esta etapa de minha carreira.

*“Há pessoas que nos falam e nem as escutamos;
há pessoas que nos ferem e nem cicatrizes deixam
mas há pessoas que simplesmente aparecem em
nossa vida e nos marcam para sempre”*

Cecília Meirelis

SUMÁRIO

Resumo.....	10
Abstract.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Origem dos caprinos no Brasil.....	19
2.2. Estado de conservação da raça Moxotó no Brasil.....	21
2.3. Polimorfismo Bioquímico das Proteínas.....	22
2.3.1. Conceito.....	22
2.3.2. Marcadores Moleculares.....	23
2.3.2.1. Polimorfismo da Hemoglobina.....	24
2.3.2.2. Tranferrina (Tf).....	25
2.3.2.3. Enzima Málica - Em (E.C.1.1.1.40).....	27
2.3.2.4. Diaforase (DIA) (E.C.1.6.2.2).....	27
2.3.2.5. Albumina (Alb).....	28
2.3.2.6. Esterase - Est-D (E.C.3.1.1.1).....	29
2.3.2.7. Proteína X (XP).....	30

2.3.2.8. Anidrase Carbônica (CA) (E.C. 4.2.1.1).....	30
2.3.2.9. Peptidase-B - PEP-B (E.C.3.4.11 ou 13#).....	31
2.4. Eletroforese de Proteínas	31
2.4.1. Eletroforese Convencional.....	32
2.4.2. Focalização isoeletrica.....	32
2.5. Estudo da Diversidade Genética.....	33
2.6. Associações entre polimorfismo e características de interesse zootécnico.....	34
3. Material e Métodos.....	36
4.1. População Investigada.....	36
3.2. Metodologia.....	37
3.2.1. Estudo Mosfométrico.....	37
3.2.2. Coleta e processamento das amostras sanguíneas.....	38
3.2.2.1. Preparo das amostras.....	39
3.2.3. Métodos de Separação.....	40
3.2.3.1. Eletroforese convencional.....	40
3.2.3.2. Focalização Isoeletrica.....	41
3.3. Método de detecção.....	43
3.4. Análises estatísticas dos dados.....	47
3.4.1. Análise das variáveis morfoestruturais.....	47
3.4.2. Estimativas das frequências gênicas e genótípicas.....	48
3.4.3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	48
3.4.4. Estimativas dos Índices de diversidade.....	49
3.4.5. Análise da diversidade em populações subdivididas.....	49
3.5.5. Relações Genéticas.....	50
3.5.5.1. Estimativas de distâncias genéticas entre as populações.....	50
3.5.5.2. Análise de Grupamento (Clusters).....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1. Análise Morfo-estrutural.....	52
4.2. Análises Eletroforéticas.....	57
4.2.1. Hemoglobina.....	57
4.2.2. Esterase-D.....	60
4.2.3. Enzima málica.....	63

4.2.4. Diaforase I e II.....	65
4.2.5. Proteína-X.....	68
4.2.6. Transferrina.....	70
4.2.7. Albumina.....	73
4.3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	75
4.4. Índice de diversidade.....	78
4.5. Análise da diversidade em populações subdivididas.....	80
4.6. Estimativa da distância genética.....	81
4.7. Análise do cluster	83
5. Conclusões.....	86
6. Referência Bibliográfica.....	87
ANEXO.....	95

Resumo

O presente trabalho visou caracterizar a variabilidade genética e morfométrica de caprinos da raça Moxotó, dos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte e compará-los com três rebanhos da raça Anglo Nubiana.

Onze variáveis de natureza quantitativas (longitude da cabeça, longitude do rosto, largura da cabeça, comprimento do corpo, perímetro torácico, altura da cernelha, altura da região sacra, largura da garupa, longitude da garupa, perímetro da canela e tamanho da orelha) foram investigadas um total de 313 animais adultos da raça Moxotó. Para a caracterização genética, foram coletadas 353 amostras sangüíneas de caprinos da raça Moxotó (326) e Anglo Nubiana (27), foram coletados inteiramente ao acaso. Esse estudo foi realizado com base em oito sistemas de proteínas eritrocitárias: hemoglobina (Hb), anidrase carbônica (CA), esterase D (Est-D), peptidase B (Pep-B), enzima málica (EM), diaforase-I e diaforase-II (DIA-I, DIA-II), proteína X (Px), e duas proteínas séricas: transferrina (Tf) e albumina (Alb), empregando-se análises de eletroforese convencional e focalização isoelétrica.

Os resultados obtidos através das análises morfoestruturais, revelaram que os rebanhos da raça Moxotó, pertencentes aos diferentes estados estão se

distanciando. Este fato pode ser explicado pela falta de interação entre os rebanhos dos diferentes estados e de monitoramentos adequado para os criadores.

Com relação às análises genéticas, 80% dos locos investigados apresentaram-se polimórficos. Os locos da anidrase carbônica (CA) e peptidase-B (PEP-B) não apresentaram variabilidade, caracterizando-se como monomórficos. O teste de Fisher revelou diferenças significativas entre rebanhos das raças Moxotó e Anglo Nubiana em relação às frequências gênicas estimadas para os locos Hb, Est-D, XP e Alb. Entretanto, com base nos valores de G_{st} pode-se concluir que os locos Est-D, Alb e Tf foram os mais informativos podendo ser considerados ferramentas muito úteis para o estudo de caracterização e de relações genéticas entre raças caprinas.

O dendograma construído a partir de estimativas de frequências alélicas com base nos oito locos polimórficos apresentou dois clusters principais: um agrupando todos os rebanhos da raça Moxotó, exceto um dos rebanhos de Ibimirim do estado de Pernambuco e, o outro, os três rebanhos da raça Anglo Nubiana.

As maiores similaridades genéticas foram observadas entre animais pertencentes aos rebanhos de mesma raça e origem, cujas procedências estariam facilitando o fluxo gênico entre os mesmos, homogenizando as suas composições genéticas. O cruzamento entre reprodutores da raça Moxotó de diferentes estados poderia propiciar no aumento da variabilidade genética além de proporcionar um aumento do tamanho efetivo da população, favorecendo a conservação da raça Moxotó.

Abstract

The present work aimed at to the characterize genetic variability and morphostructural of goat of the Moxotó breed, the states of the Paraíba, Pernambuco and Great River of the North and to compare them with three flocks of the race Nubiana Anglian. Eleven quantitative variable of nature (head, face length, head width, body length, thoracic perimeter, withers height, region sacra height , rump width, rump length, shin circumference of the cinnamon and ear size) had been investigated a total of 313 adult animals of the Moxotó breed. For the genetic characterization, had been collected 353 sanguine samples of goat of the Moxotó (326) breeds and Nubiana Anglian (27), had been collected entirely to perhaps. This study he was carried through on the basis of eight eritrocitárias proteic systems: hemoglobine (Hb), carbonic anhydrase (CA), esterase - D (Est-D), peptidase - B (Pep-B), malica enzyme (IN), diaphorase-I and diaphorase-II (Dia-I, Dia-II), sericas protein X (Px), and two proteins: transferrin (Tf) and albumin (Alb), using analyses of conventional eletroforese and isoelectric focusing. The results gotten through the morphostructural analyses, had disclosed that the flocks of the Moxotó, pertaining to the different states are distanciando. This fact can be explained by the interaction lack enters the flocks of the different states

and adjusted monitoramentos for the creators. With relation to the genetic analyses, 80% were polimorphic. The loci of carbonic anhydrase (CA) and peptidase-B (Pep-b) had not variability presented, characterizing themselves monomorphic. The test of Fisher presented difference significant between flocks of the Moxotó breeds and Anglo Nubiana in relation to the genic frequency estimates for the loci Hb, Est-D, XP and Alb. However, on the basis of the values of Gst can itself be concluded that the loci Est-D, Alb and Tf had been most informative being able to be considered very useful tools for the study of characterization and genetic report between goat breeds. Dendograma traced with the use of allelic frequency on the basis of the eight loci polimorphic two presented clusters: one grouping all the flocks of the Moxotó breeds, except one of the flocks of Ibimirim of the state of Pernambuco and, the other, the three flocks of the Nubiana Anglian. The large genetic similarity had been observed between pertaining animals to the flocks of same breeds and origin, whose origins they would be facilitating the genic flow between the same ones, homogeneous its genetic compositions. The crossing between reproducers of the Moxotó breeds of states different could propitiate in the increase of the genetic variability besides proporcionar an increase of the so great cash of the population, favoring the conservation of the Moxotó race.

1. INTRODUÇÃO

A biodiversidade é o complexo resultante das variações das espécies e dos ecossistemas existentes em determinada região (SANTOS, 1994). Seu estudo tem importância direta para a preservação ou conservação das espécies, fato que contribui para melhor aproveitamento dos recursos biológicos, permitindo a harmonia entre o desenvolvimento da atividade humana e preservação.

O mundo tem dado importante avanço nos estudos em recursos genéticos animais, uma vez que, tem-se compreendido a relevância do “*pool*” genético tão extenso que eles representam. Mas, esses recursos são ainda pouco caracterizados, principalmente em relação às populações nativas que desempenham papel sócio-econômico muito importante para comunidades mais pobres, que deles dependem. Desta forma, estudos sobre recursos genéticos animais têm se tornado prioridades de muitos países ao entender que, atendem as necessidades humanas e beneficia o meio ambiente, sendo responsabilidade cuidar, resgatar, fomentar e melhorar se for o caso (HENSON, 1992).

A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) reconhece e prioriza a identificação e desenvolvimento de germoplasma animal e vegetal que sejam altamente produtivo e adaptado às condições ecológicas em que vivem. O que vem ocorrendo em vários locais do mundo é a perda de diversidade de recursos genéticos animais adaptados, e nos países em desenvolvimento este fato vem ocorrendo aceleradamente, onde animais ainda não caracterizados estão desaparecendo, antes mesmo de serem identificados e caracterizados. Isto devido à falta de informações, monitoramento e acompanhamento técnico especializado para criadores e populações locais.

O uso de raças ou “tipos” nativos se torna importante para as regiões tropicais, pois segundo ABREU et al. (1998) é possível determinar combinações genéticas de interesse, tais como: genes de resistência genética à doenças e parasitas; conservação de ecossistemas que exija animais domésticos que produzam harmonicamente com a região e doação de genes capazes de gerar novas combinações genéticas. Estas questões são também enfatizadas por LARA et al. (1999) e EGITO et al. (2002).

Dada a sua importância, a conservação de animais de raças nativas tem sido preocupação das instituições de pesquisa e, o Brasil não escapa dessa necessidade. Sendo assim, a Embrapa-CENARGEN associando-se a essa preocupação mundial sobre a progressiva erosão e perda dos recursos genéticos vem coordenando, desde o ano de 1980, um programa de pesquisa nacional em conservação de recursos genéticos, juntamente com as Universidades e Empresas de Pesquisas Estaduais (MARIANTE et al., 2000). Dentre os projetos de caracterização e avaliação desses animais para conservação, estão incluídos os caprinos das raças e grupos locais como Canindé, Moxotó e Marota

(MARIANTE, 1996) e Azul, Graúna (RIBEIRO e PIMENTA FILHO, 2003), além de raças bovinas tais como, o Curraleiro, Pantateiro, entre outras (LARA, 1999).

Para a FAO (Food and Agriculture Organization) (2002) os elementos considerados importantes nos programas nacionais de conservação são a caracterização, o inventário e a documentação dos dados obtidos. Na pesquisa científica, prioridades são dadas à caracterização e avaliação das populações nativas, além de mensurações entre e dentro das populações ((FITZHUGH e STRAUSS, 1992) citados por OLIVEIRA, 2003). Os estudos etnozootécnicos visam à caracterização, identificação e a diferenciação das populações de animais domésticos, do ponto de vista ecológico, cultural, social e econômico como verdadeiros pilares da existência destas populações de animais domésticos (RODERO e HERRERA, 2000). De acordo com LAUVERGNE (1987), na descrição dos perfis etnológicos, o modo de herança para cada característica deve ser levado em conta.

Segundo ZEPEDA (2000), a caracterização, identificação e diferenciação de raças devem estar baseados em estudos que permitam determinar a origem e a história das raças, seu censo e distribuição geográfica, qualidades e aptidões, caracteres etnológicos, plásticos, descrição fenotípica, estudos morfo-estruturais e o uso de polimorfismos bioquímicos entre as raças. Com isso pode-se definir a especialidade de cada raça ou grupo genético, bem como a situação na qual se encontram no contexto sócio-econômico e cultural onde atuam. Entretanto as pesquisas etnozoológicas brasileiras têm focado animais silvestres em detrimento aos domésticos e, atualmente algumas raças de animais domésticos encontram-se ameaçadas, representando também um risco para muitas populações camponesas que têm nesses animais um patrimônio de alto valor

histórico, cultural, genético e econômico. Este é o caso da espécie caprina naturalizada que se encontra ameaçada devido aos cruzamentos absorventes com raças exóticas (OLIVEIRA et al., 2002).

Atualmente, não se sabe o tamanho efetivo das populações de caprinos das raças nativas do Nordeste, havendo zonas onde não existem mais populações desses animais em estado de pureza. Existem atualmente no semi-árido nordestino apenas alguns rebanhos de raças nativas, fruto da iniciativa de alguns criadores e empresas estaduais de pesquisa (RIBEIRO e PIMENTA FILHO, 2003). Entretanto, essas iniciativas têm contribuído pouco para potencializar a utilização dos tipos e/ou raças nativas nos sistemas de produção. LANARI et al. (2003) diz que a caracterização de raças nativas e naturalizada é a primeira aproximação para um uso sustentável destes recursos genéticos animais. Raros são os trabalhos com a caracterização morfológica, morfo-estrutural e genética, de raças caprinas nativas e grupos nativos.

No Brasil, a caracterização de animais domésticos existentes, por muito tempo, foi baseada nas características morfológicas e produtivas, no entanto, esse pode ser influenciado pelo meio ambiente ou insuficiente para distinguir raças puras. Os trabalhos sobre caracterização genética, até pouco tempo envolviam apenas raças comerciais, apenas.

Atualmente, a biotecnologia vem ganhando cada vez mais espaço nos programas de conservação de recursos genéticos; criopreservação de sêmen, óvulos e embriões, manipulação de embriões, caracterização genética e identificação de genes de resistência são algumas das técnicas usadas para identificar e proteger as populações de animais nativos (OLIVEIRA, 2003).

Segundo SPRITZE et al. (2003), a caracterização genética é importante para os programas de conservação de recursos genéticos animais, pois permite avaliar a distância entre as populações e auxilia na escolha dos animais a serem utilizados na conservação “in situ” e “ex situ”, mediante a estimativa de índices de similaridade entre indivíduos. Com isso, possíveis acasalamentos podem ser indicados, evitando assim a manutenção de amostras geneticamente similares.

Os marcadores moleculares (polimorfismos bioquímicos e microssatélites) têm se mostrado uma ferramenta eficaz na quantificação da diversidade genética em diferentes populações (SAITBEKOVA et al., 1999; BARKER et al., 2001). Estas populações podem ser ou não geneticamente similares, mesmo que pertençam à mesma raça, devido ao isolamento geográfico e adaptações a diferentes nichos ecológicos, podendo ter acumulado diferentes alelos ao longo de processos adaptativos. Os marcadores protéicos (isoenzimáticos) Têm sido considerados muito informativos nos estudos de relação genética entre raças bovinas (LARA et al., 2001). Além de ser uma técnica de custo relativamente baixo e de grande aplicação nos estudos de caracterização genética de populações de animais zootécnicos.

O presente estudo visou caracterizar a variação genética e morfométrica de sete rebanhos de caprinos da raça Moxotó de três estados do Nordeste das regiões semi-áridas (Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte) e compará-los geneticamente com três rebanhos da raça Anglo Nubiana.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem dos caprinos no Brasil.

A formação das raças e tipos nativos no país desenvolveu-se a partir de raças trazidas pelos colonizadores portugueses, franceses e holandeses por volta de 1535 (PORTER, 1996). Esses animais foram então se distribuindo por todo o território brasileiro adaptando-se às condições ambientais e culturais da região (MARIANTE et al., 2000). Segundo MIRANDA DO VALE (1949), citado por OLIVEIRA (2004), as principais entradas de animais domésticos ocorreram em três pólos de colonização: São Vicente, em 1534; Recife, em 1535 e Salvador, em 1550. Desta forma, a pecuária se espalhou pelo interior, agreste e sertão do Brasil, exceto o litoral, que já era ocupado pela monocultura da cana de açúcar, sendo esta mais lucrativa que a criação de gado, pois este necessitava de muito espaço. Além do gado causa estragos aos canaviais (MARCÍLIO et al., 1986).

A introdução de caprinos pode ser considerada elemento importante e essencial ao desenvolvimento rural. Além do importante papel no desenvolvimento de algumas cidades localizadas no semi-árido, através do

comércio de pele trazido por Delmiro Golveia, que estabeleceu várias agências de compras em vários municípios, contribuindo para o incremento de atividade comercial em algumas cidades (MENEZES et al., 1969).

Os caprinos de raças nativas têm demonstrado capacidade de sobrevivência ao clima semi-árido, pois nos períodos prolongados de escassez de alimentos têm seus índices produtivos diminuídos, mas logo são recuperados (OLIVEIRA, 2004). Isso devido à seleção natural que promoveu a fixação de características que asseguram o aumento do sucesso reprodutivo em diferentes ambientes (MAZZA et al., 1992).

No início da década de 30 e 40 os caprinos da raça Moxotó eram encontrados de Pernambuco a Ilha de Marajó, no Pará, sendo mais freqüente no Vale do Moxotó, origem de seu nome. Neste período encontrava-se ainda em pequena escala, os mestiços de Toggenburg, Nubiana, Murciana, Malteza e Angorá (DOMINGUES, 1942).

No século XIX, período de abertura econômica da colônia (Brasil) as raças nativas e grupos nativos que aqui se formaram, passaram a sofrer com introdução de raças exóticas, dentre elas as raças caprinas vindas de países de clima temperado, divulgadas por seus elevados índices produtivos, por empresas que visavam seu comércio nas regiões. Em busca de lucros rápidos, muitos criadores introduziram esses animais de forma inadequada, que hoje contribuem para a diluição do patrimônio genético dos grupos e raças locais, também observados por MARIANTE (1996).

2.2. Estado de conservação da raça Moxotó no Brasil

A semelhança fenotípica da raça Moxotó com a raça portuguesa Serpentina tem sido relatada por EGITO (2002).

A raça Moxotó por demonstrar características adaptativas que permitem a sobrevivência e a reprodução em condições ambientais restritas, representa importante recurso genético que precisa ser conservado, uma vez que, a variabilidade genética desses rebanhos vem decrescendo a cada geração, pela introdução de genes de raças exóticas de forma descontrolada, favorecendo a miscigenação (CASTRO, 1984; BARROS, 1987) citados por OLIVEIRA et al. (2003). A mesma autora relata que há poucos exemplares da raça na região Nordeste, devido a falta de monitoramento quanto ao manejo produtivo e reprodutivo. O mesmo foi relatado por IGARASHI (1997), que ao estudar a variabilidade genética em caprinos no Nordeste, não pode realizar análise de segregação para os sistemas protéicos, pois o controle dos rebanhos era falho, não havendo controle genealógico.

Segundo OLIVEIRA (2004), ao avaliar a caracterização e perfil etnológico de rebanhos caprinos nos municípios de Ibimirim e Serra Talhada, do estado de Pernambuco, observou que dos 8455 animais pesquisados, apenas 10,81% apresentaram o padrão da raça Moxotó enquanto que 77% eram de constituição SPRD (Sem Padrão Racial Definido), cujo fator responsável pela diluição dos rebanhos nativos dos municípios tem sido a raça Anglo Nubiana.

2.3. Polimorfismo Bioquímico das Proteínas

2.3.1. Conceito

Cada população constitui-se de certa quantidade de gene, podendo em uma população, conter um ou mais alelos comuns. Desta forma, a coexistência de vários fenótipos distintos, comuns e geneticamente determinados em uma população, é chamada de polimorfismo genético. FORD (1965), citado por LARA (1998) diz que “o polimorfismo é a presença simultânea de duas ou mais formas descontínuas em uma espécie, de tal modo que a menos freqüente não pode ser mantida unicamente por mutação”.

Em termos de freqüências alélicas, um loco é considerado polimórfico quando apresentar dois ou mais alelos com freqüências superiores a 1%. O ideal seria aquele em que na amostra investigadas houvesse pelo menos dois indivíduos heterozigotos ou que no mínimo 2% dos membros de uma população fossem heterozigotos para um determinado loco (HARRIS, 1955), citado em LARA (1998).

Em algumas espécies e raças, alguns sistemas manifestam-se de forma monomórfica, que segundo BORTOLOZZI et al. (1982) não têm valor como marcador genético.

Os polimorfismos são na verdade variantes de proteínas geneticamente determinadas, geralmente identificadas por métodos de fracionamento eletroforéticos associados às técnicas histoquímicas, que permitem a revelação das atividades de enzimas específicas. Estes tem sido fonte de inúmeras investigações, tanto no homem como nos animais, principalmente de interesse zootécnico (ROCHA, 1997).

Os genes que controlam os polimorfismos protéicos, geralmente se expressam codominantemente, ou seja, é possível a identificação dos indivíduos heterozigotos, permitindo inferir os genótipos dos indivíduos a partir de seus respectivos fenótipos, que são visualizados no gel de eletroforese.

A heterose e a seleção disruptiva são considerados os principais mecanismos genéticos responsáveis pelos polimorfismos. A seleção disruptiva tem desempenhado importante papel no aparecimento de muitos polimorfismos e, a heterose, a retenção de mais de um alelo em determinado loco, resultando em um polimorfismo que aumenta a capacidade adaptativa de uma população em seu habitat (ROCHA, 1997).

2.3.2. Marcadores Moleculares e Genéticos

Vários são os tipos de marcadores que podem ser utilizados, para a quantificação da diversidade, tais como, os marcadores morfológicos, fisiológicos, bioquímicos ou moleculares.

Por marcador molecular define-se todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, como no caso das isoenzimas e proteínas, ou um segmento específico de DNA, correspondentes á regiões expressas ou não do genoma (FERREIRA e GATTAPAGLIA, 1996). Marcador genético é todo marcador molecular que se comporta segundo as leis de herança de Mendel.

O marcador genético caracteriza-se por ser capaz de detectar diferenças entre dois ou mais indivíduos. No entanto, o princípio básico envolvido na obtenção e detecção de cada classe de marcador bioquímico ou DNA, consiste no uso de eletroforese. Este termo foi criado por Michaelis em 1909, onde descreve a migração de colóides sob a influência de um campo elétrico. Entretanto, foi o

físico russo Reus, que em 1807 iniciou o estudo da migração produzida pela ação de um campo elétrico em diversos colóides minerais (MARTÍNEZ et al., 1985). Foi na década de 60 que os estudos de variação genética foram facilitados pelo desenvolvimento dos marcadores isoenzimáticos, e no início da década de 80 houve o desenvolvimento dos marcadores moleculares em nível de DNA (VASONCELOS, 2002). Esta técnica contribuiu para avanços expressivos na área da genética de populações, revelando uma quantidade significativa da variação nos mais diferentes organismos (PINTO et al., 2001).

Em estudos genéticos e no melhoramento animal, diferentes técnicas moleculares têm sido empregadas com sucesso, as quais revelam classes distintas de marcadores moleculares. Este tem sido fonte de inúmeras investigações, principalmente nos estudos de caracterização genética, parentesco, relações filogenéticas, associações com genes de interesse zootécnico. O uso eficiente de marcadores moleculares deve considerar: a base genética dos polimorfismos revelados por estes marcadores; os aspectos técnicos dos métodos que os definem e as vantagens e limitações de cada classe.

2.3.2.1. Polimorfismo da Hemoglobina

A hemoglobina é o maior componente protéico dos glóbulos vermelho, sendo esta responsável pelo transporte do oxigênio dos pulmões para os tecidos. Sua molécula é constituída de quatro cadeias semelhantes de aminoácidos duas a duas, onde os membros de um par formam a cadeia alfa (α) e os outros a cadeia beta (β), que diferem entre si apenas na seqüência de aminoácidos (BRAEND e TUCKE, 1988).

Segundo CARVALHO (2000), esta proteína por ser a mais abundante nos eritrócitos torna-se de fácil detecção, sendo por isto a mais estudada a nível do seu polimorfismo. Em animais domésticos, apresenta polimorfismo nas espécies: bovina (LARA, 1998 e CARVALHO, 2000), ovina (LARA, et al., 2004) caprinos (IGAHASHI, 1997 e MENRAD et al., 2002), entre outras.

Atualmente é aceito que há cinco tipos de hemoglobina em caprinos: hemoglobina α 1A (HbA1A), hemoglobina α 1B (HbA1B), hemoglobina β D (HbBD), hemoglobina β Dmalta (HbBDM) e hemoglobina β E (HbBE) em animais adultos não anêmicos. A HbA1A e a HbB1b são variantes da cadeia alfa e as outras da cadeia beta (HUISMAN, 1970), citado por IGASHI (1997). Um outro tipo de hemoglobina HbC tem sido detectado em animais, quando estes estão em condições anêmicas (HUISMAN, 1970), citado por BARBANCHO et al. (1984).

No entanto, estas hemoglobinas só podem ser separadas pela técnica de focalização isoelétrica (IEF), cujo gradiente de pH permite a detecção de pelo menos quatro alelos mais comuns em caprinos, razão pela qual esta técnica foi adotada no presente estudo.

2.3.2.2. Transferrina (Tf)

A transferrina sérica é uma β -globulina, cujas funções principais são o transporte de ferro para as células receptoras da medula e tecidos de estocagem, regulação e controle da absorção do ferro, proteção contra intoxicações férricas (FLETCHER e HUEHNS, 1968, citados por CARVALHO, 2000; HENKES, 1992). Há também evidências de sua atividade bacteriostática, exercida através do sequestro do ferro circulante, necessário ao desenvolvimento de muitos microorganismos (HENKES, 1992). O sistema da transferrina tem sido muito

investigado em animais domésticos devido a sua diversidade, salientando os estudos realizados em bovinos e bubalinos (DEL LAMA, 1992; LARA, 1998), em ovinos (HENKES, 1992; LARA et al., 2004), em suínos (KRISTJANSSON, 1963) e em caprinos (IGARASHI, 1997).

Para a espécie caprina foram descritos quatro alelos autossômicos codominantes, denominados Tf^A , Tf^B , Tf^C e Tf^D (WATANABE e SUZUKI, 1966; OSTERHOFF e WARD-COX, 1972).

Segundo a literatura, o alelo Tf^A é o mais comum em raças exóticas (SALERNO et al., 1968, citado por IGARASHI (1997)). O alelo Tf^B está associado a raças indianas, tais como Jamupari, Barbari e Bengal Negra, cujas frequências variaram de 0,27 a 0,44 (BARUAH e BHAT, 1980, citados por IGARASHI (1997)), ocorrendo em frequências próximas a 0,55 na raça Malabari (SHAMSUDDIN et al., 1988). O alelo Tf^C pode estar associado também as raças exóticas, tais como, a raça Angora do Sul da África (OSTERHOFF e WARD-COX, 1972), sendo esse alelo presente em várias raças espanholas (BARBANCHO et al., 1984). Já o alelo Tf^D parece ser restrito à raça Angorá (OSTERHOFF e WARD-COX, 1972).

VANKAN e BELL (1992) encontraram um novo alelo em cabras australianas, da raça Angorá, Cashmere e Dairy. Pela técnica de focalização isoelétrica, esses autores conseguiram separar o alelo Tf^B em dois, os quais foram denominados Tf^{B1} e Tf^{B2} . Sendo o primeiro mais anódico que o segundo.

O polimorfismo da transferrina tem recebido muita atenção, principalmente em estudos de associação com características produtivas. ASHTON (1960) relacionou o loco da transferrina em bovinos ao controle genético de produção de leite, confirmando esta relação quatro anos depois, quando observou que animais com fenótipo Tf^{DD} produziam mais leite, em relação ao tempo de lactação. Em

ovinos, RAHMAN e KONUK (1972), relacionaram o loco da transferrina com ganho de peso.

Em caprinos, SHAMSUDDIN et al. (1988), observaram na raça Malabari e em seus cruzamentos com a raça Alpina, que animais com o fenótipo TfAA apresentaram maior produção de leite na primeira lactação.

2.3.2.3. Enzima Málica - Em (E.C.1.1.1.40)

A enzima málica, também denominada de Malato desidrogenase dependente de NADP, é uma óxido-redutase, que catalisa a reação:



Em humano, os locos autossômico Em S e Em M determinam as formas solúveis e mitocondrial da enzima, respectivamente (HARRIS e HOPKINSON, 1976). Na espécie ovina, apenas o loco Em S tem sido investigado, sendo relatados dois alelos codominantes, denominados Em^F e Em^S (HENKES, 1992; LARA et al., 2004).

Em caprinos, a variabilidade observada para o loco Em tem sido explicada pela existência de três alelos codominantes, denominados Em^A , Em^B e Em^C , cujos produtos apresentam mobilidades anódicas crescentes em gel de eletroforese (DEZA et al., 2000; MENRAD et al., 2002).

2.3.2.4. Diaforase (DIA) (E.C.1.6.2.2)

Esta enzima é também conhecida como citocromo b5 redutase, faz parte do grupo de enzimas que catalisam a redução da metahemoglobina. A diaforase é uma enzima monomérica, codificada por três locos autossômicos: DIA-I, DIA-II e DIA-III, sendo que as duas primeiras ocorrem em todos os tecidos, onde a DIA-I é

considerada mais ativa que DIA-II, enquanto que DIA-III tem maior atividade em testículos, ovários e cérebro (HARRIS e HOPKINSON,1976).

Em humanos, a investigação desta proteína tem sido intensa, já em outras espécies seu estudo é limitado (CEPICA et al., 1978). Em caprinos, MENRAD et al. (2002), observaram polimorfismo para o loco DIA-I, em que o alelo S apresentou maior mobilidade em relação ao *DIA-I^F*. Já, em ovinos, o polimorfismo para o loco DIA-I tem sido explicado pela presença de dois alelos co-dominantes, denominados *DIA-I^{F1}* e *DIA-I^{S2}*, que codificam DIA-I 1, DIA-I 1/2 e DIA-I 2. (CEPICA et al., 1978). Com relação ao loco DIA-II, ao nosso conhecimento não há relatos na literatura para a espécie caprina, até o momento.

2.3.2.5. Albumina (Alb)

A albumina é a proteína mais abundante no plasma dos mamíferos e apresenta uma estrutura monomérica. Sua função principal função é de regulação do balanço osmótico (CARTER et al., 1989, citado por CARVALHO (2000) e IGARASHI, 1997). Esta proteína possui também função de transporte de ácidos graxos e outros componentes, além de servir como fonte de aminoácidos para os tecidos periféricos (WITE et al., 1973; PETERS, 1975, citados em HENKES, 1992).

Em caprinos há duas nomenclaturas para a caracterização do polimorfismo da albumina. OSTERHOFF e WARD-COX (1972) empregaram a nomenclatura *Alb^A* e *Alb^B* para descrever os alelos da albumina, em que *Alb-A* apresenta banda de migração mais anódica. SALERNO et al. (1968), citado por IGARASHI (1997), chamam os alelos de *Alb^F* e *Alb^S*, cujo produto gênico de *Alb^F*,

denominado Alb-F, foi caracterizado por uma banda de maior migração anódica, cujo padrão eletroforético foi semelhante ao tipo Alb-A.

OSTERHOFF e WARD-COX (1972) observaram frequência baixa do alelo *Alb^A* em cabras do Sul da África e frequência alta em cabras da raça Angorá. Em oposição, nos estudos realizados em vários países, como Noruega (EFREMOV e BRAEND, 1964), Espanha (GARRIDO-ESPIGA et al., 1976) e Brasil (IGARASHI, 1997), os autores não detectaram variabilidade genética para o loco da albumina, sendo este considerado monomórfico para diversas raças caprinas.

MILLER e GEMEINER (1993) comparando o comportamento eletroforético da albumina em amostras de diferentes espécies, observaram mobilidade eletroforética muito semelhante entre as amostras de bovinos, caprinos e ovinos além de possuírem massa molecular e o pI (ponto isoelétrico) muito semelhantes.

2.3.2.6. Esterase - Est-D (E.C.3.1.1.1)

As esterases são enzimas que hidrolisam ligações tipo Ester. A técnica de eletroforese em gel de amido e substratos acoplados a corantes tem permitido estudar a variabilidade de diferentes tipos de esterases com atividades carboxilesterases atuando em diversos tecidos. De acordo com suas propriedades eletroforéticas, especificidade por substratos e características de inibição elas foram classificadas em esterases A, B, C, D e Anidrase Carbônica (HARRIS e HOPKINSON, 1976). Outras nomenclaturas têm sido relatadas para as esterases (1, 2, 3 e 4), que poderiam corresponder as anteriores dependendo do tipo de substrato utilizado na revelação de sua atividade.

A Esterase D, cuja atividade enzimática é caracterizada com o substrato acetato de umbeliferona tem revelado uma grande variabilidade, principalmente

para as espécies humana (HARRIS e HOPKENSOn, 1976), bovina (DEL LAMA et al., 1996) e caprina (IGARASHI, 1997).

Em caprinos, o polimorfismo genético da Est-D é determinado por um loco autossômico codominante, com dois alelos *Est-D*¹ e *Est-D*², que codificam três fenótipos eletroforéticos distintos: Est-D 1 e Est-D 2, que representam respectivamente os homozigotos lento e rápido, e Est-D 1/2 que representa o heterozigoto (IGARASHI, 1997).

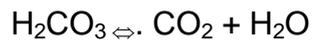
2.3.2.7. Proteína X (XP)

A proteína X é uma proteína eritrocitária muito estudada em caprinos (IGAHASHI, 1997). Sua função ainda não é bem definida, supõe-se que tenha função esterásica, sendo descrita por TUCKER e CLARKE (1980) e TUCKER et al. (1983). Segundo estes autores há dois fenótipos para XP: um com três bandas, denominado X⁺ e, o outro, com duas bandas, denominado XP⁻. Dois novos fenótipos foram descritos por HASHIMA et al. (1988) e com base nesta descoberta propuseram uma nova nomenclatura.

IGAHASHI (1997) estudando amostras de caprinos criados na região nordeste do Brasil, detectou três fenótipos para o loco XP, cuja variação observada foi explicada pela hipótese proposta HASHIMA et al. (1988). Nestes trabalhos são propostos a existência de um loco com dois alelos autossômicos codominantes (XP¹ e XP²) e um alelo autossômico recessivo (XP⁰). Por este modelo são esperados quatro fenótipos, denominados XP1-1, XP1-2, XP-2-2 e XPO-O, o qual não apresenta nenhuma banda detectável.

2.3.2.8. Anidrase Carbônica (CA) (E.C. 4.2.1.1)

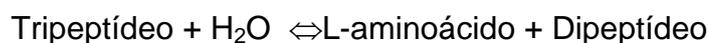
A anidrase carbônica é o segundo maior componente protéico dos eritrócitos e apresenta um função importante na conversão reversível do ácido carbônico em dióxido de carbono, sendo responsável pela rápida liberação do CO₂ do sangue :



Em mamíferos essa enzima é normalmente codificada por dois locos autossômicos, denominados CA-I e CA-II. Para as espécies bovina e bubalina, o loco CA-II tem revelado variabilidade, cujos alelos tem sido considerados marcadores genéticos muito informativos nos estudos de caracterização genética (LARA, 1998). Para a espécie caprina esses locos têm sido considerados monomórficos (IGARASHI, 1997 e TUCKER et al., 1980), sendo pouco estudado.

2.3.2.9. Peptidase-B - PEP-B (E.C.3.4.11 ou 13[#])

A enzima peptidase-B, também denominada tripeptidase é uma aminopeptidase que hidrolis ligações peptídicas, cujos produtos formados estão representados a seguir:



As diferentes peptidases descritas na literatura são identificadas através de suas propriedades eletroforéticas e afinidades a substratos específicos (HARRIS e HOPKINSON,1976). Nos estudos realizados por LEWIS e HARRIS (1967) em hemolisados humanos, por DEL LAMA (1992) e LARA e CONTEL (1997) em bovinos, o substrato empregado foi o L-leucilglicil-glicina, que é considerado específico para o loco Pep-B. Esse loco é considerado muito informativo nos estudos de caracterização de raças bovinas, pois é monomórfico para algumas

raças especializadas européias e polimórfico para as raças zebuínas e nativas brasileiras (LARA e CONTEL, 1997), sendo detectados três alelos autossômicos codominantes, denominados *Pep-B*¹, *Pep-B*² e *Pep-B*³. IGASHI (1997) estudando hemolisados de caprinos com o mesmo substrato empregado em estudos anteriores detectou apenas uma banda com migração anódica, revelando o caráter monomórfico para o loco *Pep-B*, que segundo a mesma autora, há outras evidências que sugerem monomorfismo desta enzima para a espécie caprina.

2.4. Eletroforese de Proteínas

2.4.1. Eletroforese Convencional

A variação genética ao nível molecular permaneceu oculta até que SMITHIES (1955) introduziu a técnica de eletroforese. HUNTER e MARKERT (1957)) propõem, logo após, a combinação da eletroforese com a coloração histoquímica; ao invés de usar um corante inespecífico de proteínas (Amido Negro, Coomassie) empregam-se soluções de substratos acoplados a substâncias cromogênicas os quais, sofrem ação enzimática específica, precipitam na forma de complexos coloridos naquele local do gel onde se encontram as enzimas capazes de agir sobre o substrato empregado.

2.4.2. Focalização isoeletrica

Esta técnica se diferencia do processo anterior pelo fato de ser realizada em um meio em que o pH é variável enquanto que na eletroforese convencional o pH é o mesmo em qualquer ponto do gel. Na focalização isoeletrica (IEF) há um gradiente de pH, sendo o polo positivo, denominado

ânodo, cujo pH é ácido e o polo negativo, denominado cátodo, cujo pH é básico (SIMÕES, 1994). As proteínas iniciam a migração em direção a um dos polos e quando passam pela região onde o pH é igual ao seu ponto isoelétrico (pI) ficam com carga nula e, por isso, se tornam insensíveis ao campo elétrico, interrompendo a migração. Deste modo, separa-se os diferentes tipos moleculares pelo seu pI e não pela sua carga e/ou peso molecular. É um método com poder de resolução maior que o da eletroforese convencional.

2.5. Estudo da Diversidade Genética

No sentido genético, entende-se por população, um conjunto de indivíduos que possam transmitir seus genes de uma geração à outra. As frequências gênicas podem ser estimadas a partir de suas frequências genotípicas (MARTÍNEZ et al., 1985). Um dos conceitos mais antigos para diversidade genética refere-se à riqueza de espécies existentes em um ecossistema. NEI (1973), propôs um novo conceito, que se refere ao nível de heterozigotidade esperada de uma população estimada a partir das frequências gênicas independente dos efeitos de migração, seleção ou mutação.

LARA (1997) relata que a manutenção e a dinâmica da estrutura genética de uma população são resultantes da interação entre um conjunto de fatores evolutivos, sendo eles: variação no conjunto gênico, organização dessa variação nos genótipos e distribuição espacial desses genótipos, o sistema de acasalamento, eventos casuais e, processos de seleção, mutação e migração.

FUTUYMA (1992) diz que a variabilidade genética mantida por seleção é importante para fornecer a base para adaptação a alteração no ambiente, desta forma, a seleção poderá eliminar alelos que não sejam adaptados, podendo

também manter o polimorfismo genético estável ou interagir com a mutação ou com o fluxo gênico.

2.6. Associações entre polimorfismo e características de interesse zootécnico

Os polimorfismos protéicos ou polimorfismos bioquímicos, também denominados marcadores genéticos-bioquímicos são considerados ferramentas úteis para os melhoristas, sendo muito investigados em estudos de associação com características de interesse econômico, por marcarem uma estrutura ou processo biológico, sendo largamente empregados na identificação de paternidade, distância entre raças e endocruzamentos (GROSCLAUDA e TUCKER (1992), citados por IGARASHI, 1997; BORTOLOZZI et al., 1982).

Com a descoberta do polimorfismo bioquímico de proteínas, começou a surgir o interesse na tentativa de verificar possíveis associações entre os diferentes tipos de proteínas e características de produção e reprodução animal.

Estudos baseados no polimorfismo bioquímico e imunogenéticos têm progredido muito rápido à biologia (KHANNA, 1973, citado por BONFIM, 2003). A identificação de sistemas genéticos polimórficos que estejam associados a características desejáveis, com a finalidade de verificar as influências dos fatores genéticos-bioquímicos sobre os caracteres produtivos e reprodutivos, tem contribuído significativamente na seleção de indivíduos geneticamente superiores.

Vários são os trabalhos, com bovinos e suínos, que envolvem polimorfismo bioquímico e características de produção. BORTOLOZZI (1979) estudando transferrinas em bovinos da raça Canchin, observou um aumento significativo de ganho de peso em animais de genótipos Tf- DE e Tf-EE. Os resultados obtidos

nos estudos de associação entre variantes de Tf e características produtivas são promissores, sendo de grande utilidade na seleção de animais com maior produtividade de carne e leite.

KRISTJANSSON (1964), demonstrou em suínos resultante de cruzamentos entre machos homozigotos para o alelo Tf^B e fêmeas heterozigotas Tf-AB apresentaram uma fertilidade reduzida, quando comparadas com outros tipos de cruzamentos. SADYRON et al. (1971) citado por ROCHA (1997), observaram resultados semelhantes em ovelhas.

LARA et al. (1996) avaliando o grau de resistência ou à susceptibilidade ao carrapato, de animais mestiços (europeu x zebu), observaram que esse dependia do grupo genético ao qual pertenciam, e quanto maior a proporção de genes de origem européia, maior a susceptibilidade e quanto menor, maior a resistência.

COSTA et al. (1985) observaram em vacas Jersey, que os animais portadores da hemoglobina Hb-B, apresentaram maiores condições de adaptabilidade a terrenos pobres e clima – áridos, possivelmente essa maior capacidade de adaptação esteja relacionada a uma maior afinidade pelo oxigênio apresentada pela hemoglobina B.

A associação de polimorfismo bioquímico de proteínas sangüíneas e suas relações com características produtivas e reprodutivas em caprinos e ovinos são descritas em alguns trabalhos como (PICCININ et al., 1999, LARA et al., 2002), bem como em bovinos (LARA, 1998) e bubalinos (ROCHA, 1997).

3. Material e Métodos

3.1. População Investigada

O presente trabalho foi conduzido a partir da amostragem de sete rebanhos de caprinos da raça Moxotó e três rebanhos da raça Anglo Nubiana. O número de animais amostrados por rebanhos, raças e, também, as respectivas procedências das populações estudadas, encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização das populações investigadas por raça, número de animais amostrados por rebanho (Nº) e local de origem

Rebanho	Raça	Nº	Município	Estado
RM1	Moxotó	12	Angico	Rio Grande do Norte
RM2	Moxotó	154	Angico	Rio Grande do Norte
RM3	Moxotó	40	Ibimirim	Pernambuco
RM4	Moxotó	6	Ibimirim	Pernambuco
RM5	Moxotó	24	Serra Talhada	Pernambuco
RM6	Moxotó	23	Patos	Paraíba
RA7	Anglo Nubiana	7	Patos	Paraíba
RM8	Moxotó	60	Taperoá	Paraíba
RA9	Anglo Nubiana-Inglês	17	Nazarre da Mata	Pernambuco
RA10	Anglo Nubiana-Canadense	10	Nazarre da Mata	Pernambuco

3.2. Metodologia

O critério adotado para seleção dos animais e coletas das amostras foi o mais casual possível, visando uma amostragem representativa de cada rebanho para os estudos morfo-estruturais e genéticos nas raças Moxotó e Anglo-Nubiana.

3.2.1. Estudo Mosfométrico

As variáveis morfoestruturais avaliadas, segundo metodologia de ZEPEDA et al.(2002) e LANARI (2003), foram:

1. Longitude da cabeça ou comprimento da cabeça (LCb) – medida desde o occipital até o lábio maxilar inferior.
2. Longitude do rosto (LR) – medida entre a linha imaginária que une o ângulo interno dos olhos e o ponto mais rostral da parte nasal.
3. Largura da cabeça (LC) – medida entre os arcos zigomáticos.
4. Comprimento do corpo (CC) – medida da articulação da escápula-humeral até a extremidade posterior do ísquio.
5. Perímetro torácico (PT) – medida que parte do ponto de declividade da região interescapular, envolvendo toda a região torácica.
6. Altura da cernelha (AC) – medido desde o solo até o ponto da região interescapular.
7. Altura da região sacral (ARS) – medida desde o solo até o ponto mais culminante da região sacral.
8. Largura da garupa (LG) – medida entre as tuberosidades laterais da coxa.
9. Longitude da garupa (LoG) – medida entre o ponto mais lateral da tuberosidade coxal e o ponto mais caudal da nádega.

10. Perímetro da canela (PC) – medida do terço médio da região metacarpiana do membro esquerdo.

11. Tamanho da orelha (TO) – medida da base da orelha até a ponta final (externa).

Estes dados foram coletados em uma ficha com a identificação do proprietário, endereço da fazenda, entre outros dados (Anexo 1).

3.2.2. Coleta e processamento das amostras sanguíneas

As amostras foram obtidas por punção na veia jugular do animal, sendo coletadas em tubos a vácuo, contendo EDTA a 10%, como anticoagulante. O sangue total foi centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos, em temperatura ambiente, obtendo-se desta forma o plasma e as hemácias. Os plasmas foram aspirados com auxílio de pipeta Pasteur, sendo transferidos para tubos eppendorf, devidamente identificados. As hemácias foram lavadas, por quatro vezes, em solução salina (0,9% em NaCl) e, em seguida diluídas com volume idêntico de tampão citrato tri-sódico, pH 7,1, contendo glicerol na concentração de 40%. As amostras de plasma e hemácias foram estocadas a – 18°C durante períodos, que variaram de um a três meses, antes de serem analisadas. Estes procedimentos foram realizados no laboratório de Fisiologia Animal Molecular Aplicada (FAMA), da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

As análises genéticas foram realizadas no laboratório de Caracterização Genética, pertencente ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Genética e Reprodução do Instituto de Zootecnia/Apta/Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, localizado a rua Heitor Penteado, 56, Nova Odessa – SP.

3.2.2.1. Preparo das amostras

- Hb (hemoglobina)

Para as análises da hemoglobina, as hemácias foram submetida a técnica de purificação empregando o seguinte protocolo (BASSET et al. 1978):

- 100µl de sangue previamente lavado com salina;
- 100µl de água destilada. Agitar manualmente;
- 50µl de tetracloreto de carbono (Cl₄). Agitar através de vortex;
- Centrifugar a 3.000 rpm por 30 minutos na temperatura de 4°C;
- Transferir a fase superior (Hb) com auxílio de pipeta Pasteur para outro tubo, identificado e acrescentar 15µl de cianeto de potássio.

- Tf (transferrina)

Para as análises da transferrina, o plasma foi diluído 1:3 com uma solução de sulfato de amônio férrico 0,15% em citrato de sódio 0,06 M (10µl de plasma + 30 µl de solução), sendo incubado por 18 horas em temperatura ambiente. Este tratamento tem como finalidade a saturação da molécula transferrina, uma vez que o conteúdo em ferro é também responsável pela variação do comportamento da transferrina. Antes de sua aplicação no gel de IEF, as amostras foram parcialmente purificadas adicionado-se 50µl de rivanol 0,6% em tampão Tris HCl 0,05M, pH 9,1, sendo incubado novamente por 30 minutos e, em seguida centrifugadas por três minutos a 13.000 rpm, na temperatura de 4°C.

- ALB (albumina)

Para as análises da albumina, o plasma foi diluído em água destilada na proporção de 1:70 (690µl de água + 10µl de plasma).

- DIA (diaforase), EM (enzima málica) e PEP (peptidase)

Para as análises das enzimas DIA-I, DIA-II, EM e PEP-B, os hemolisados foram obtidos adicionando-se volumes idênticos de mercaptoetanol na concentração de 2% (100µl de hemácias + 100µl de mercaptoetanol).

- XP (proteína X) CA (anidrase carbônica), EST (esterase),

Para as análises das enzimas Est-D, CA-II e proteína-X, os hemolisados foram obtidos diluindo-se os eritrócitos em água destilada na proporção de 1:1.

3.2.3. Métodos de Separação

3.2.3.1. Eletroforese convencional

Nas análises de eletroforeses convencionais da EM, DIA-I, Dia-II, Est-D, CA e Pep-B foi utilizado o amido de milho, denominado Penetrose, na concentração de 14% (VAL et al., 1981) para o preparo dos géis, e nas análises da proteína X, o amido de batata na concentração de 11,5%. Para as separações eletroforéticas destas proteínas (Tabela 2), os seguintes sistemas de tampão foram empregados:

Tabela 2. Sistemas de tampão e condições eletroforéticas empregadas nas análises das enzimas málica, diaforases, esterase, anidrase carbônica, peptidase e proteína X

Proteína	SistemaTampão	Condições eletroforéticos			
		Voltagem (V)	Corrente (mA)	Voltagem no gel (V)	Tempo (h)
EM	1	120	80	50	15
DIA	2	160	70	40	12
Est-D	3	250	80	50	5
CA	3	250	80	50	5
Pep-B	1	120	80	50	15
XP	4	Início: 150 Final: 300	40 20	50 150	1 4

Tampão 1 - Tampão Fosfato-citrato

Cuba → 0,245 M em fosfato de sódio (NaH₂ PO₄) e 0,15 M em ácido cítrico, pH 5,9

Gel→ tampão da cuba diluído 1:40 (25 ml do tampão de cuba para 1 l de água destilada)

Tampão 2 - Tampão Tris-citrato

Cuba → 0,42M em Tris e 0,063M em ácido cítrico, pH 8,6

Gel→ 0,05 M em Tris e 0,0015 M em ácido cítrico, pH 7,2

Tampão 3 - Tampão Fosfato

Cuba → 0,1 M em fosfato de sódio (NaH_2PO_4), pH 6,5 ajustado com NaOH 10N

Gel→ tampão da cuba diluído 1:10 (100ml do tampão de cuba para 1 l de água destilada)

Tampão 4 - Tampão Citrato-borato

Cuba → Borato (0,3 M em ácido bórico), pH 8,7 ajustado com NaOH 10 N

Gel→ Tris-citrato (0,01395 M em Tris e 0,04M em ácido cítrico), pH7,5 ajustado com NaOH 10 N

3.2.3.2. Focalização Isoelétrica

- HB

A separação da molécula de Hb foi realizada pela técnica de focalização isoelétrica. A composição da solução de polimerização e os parâmetros elétricos empregados na separação da molécula Hb estão apresentados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Solução de polimerização utilizada para a separação da HB por focalização isoelétrica

Composição da solução	Quantidade
Sacarose	2,4g
Acrilamida 28%	2,34ml
Bis 2%	1,04ml
Água purificada	8,3 ml
Anfólito 6,7-7,7 (Pharmacia)	650 μl
Temed	22 μl
PSA (0,0075g/ml)	650 μl

Tabela 4. Parâmetros eletroforéticos utilizados na separação da HB pela técnica IEF

	Voltagem(V)	Corrente(mA)	Potência(W)	Tempo
Pré – focalização	2000	20	10	30 min
			3	7 min
Focalização		20	15	2 h 30 min

As soluções eletrolíticas empregadas no ânodo e cátodo foram o ácido aspártico 0,04M e NaOH 1M, respectivamente.

- Tf

A separação desta molécula foi realizada segundo metodologia de CARVALHO (2000). A composição da solução de polimerização e os parâmetros elétricos utilizados estão apresentados nas tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5. Solução de polimerização utilizada na separação da Tf.

Componentes do gel	Quantidades
Sacarose	2,6 g
Água destilada	10,5 ml
Acrilamida 40% e Bis 3%	1,625 ml
Anfólito -3,5-5,5 (Pharmacia)	100 µl
Anfólito -4,6-5,0 (Pharmacia)	500 µl
Temed	22 µl
PSA (0,0075g/ml)	650 µl

Tabela 6. Parâmetros elétricos utilizados na focalização isoeétrica de Tf.

	Voltagem (V)	Corrente(mA)	Potência(W)	Tempo (min)
Pré-focalização	1500	25	1	20
	1500	25	2	10
	1500	25	3	10
	1500	25	8	30
Focalização	1500	25	10	30
	1500	25	12	30

- ALB

Para a separação da albumina foi utilizada a metodologia descrita por CARVALHO (2000). As tabelas 7 e 8 apresentam a composição da solução de

polimerização empregada na separação da ALB e os parâmetros elétricos utilizado na focalização isoeletrica.

Tabela 7. Solução de polimerização utilizada na separação da ALB por focalização isoeletrica

Composição da solução	Quantidade
Uréia	6,24g
Acrilamida 40% e Bis 3%	1,625ml
Água purificada	6,975 ml
Anfólito 5,0 – 6,0 (Pharmacia)	250 µl
Anfólito 5-8 (pharmacia)	250 µl
Anfólito 6-8 (pharmacia)	125 µl
TEMED	22 µl
PSA (7,5 mg/ ml)	650 µl

Tabela 8. Parâmetros eletroforéticos utilizados na separação da ALB por focalização isoeletrica

	Voltagem(V)	Corrente(mA)	Potência(W)	Tempo
Pré – focalização	1500	25	1	30min
			2	15min
			3	15min
Focalização	1500	25	4	3horas
			5	30min

As soluções eletrolíticas empregadas foram o ácido aspártico 0,04M (ânodo) e NaOH 0,1M (cátodo).

3.3. Método de detecção

- **Hb**

Para a visualização da hemoglobina não foi necessário qualquer tipo de tratamento uma vez que a coloração própria da molécula permitiu a visualização dos diferentes fenótipos. Para impedir a dispersão das bandas, o gel foi colocado em uma solução fixadora de ácido tricloroacético 34,5%, contendo 3,5g de ácido sulfossalicílico por 15 min. e, em seguida, lavado em solução contendo água ultrapura, ácido acético e álcool, nas proporções de 67:8:25.

- **Tf e Alb**

A detecção das proteínas Tf e Alb foi realizada mediante a coloração geral de proteínas, da seguinte forma: coloração do gel durante 5 –10 minutos numa solução de Coomassie Blue (PhastGel Blue R –Pharmacia) 0,115% dissolvido em ácido acético: etanol e água destilada (4:25:71) na temperatura de 60°C. O contraste desejado foi obtido através de sucessivas descolorações numa solução idêntica de ácido acético, etanol e água destilada, também aquecida a cerca de 60°C (Anexo 3).

- **EM, DIA-I, DIA-II e Est-D.**

As atividades enzimáticas destas enzimas foram reveladas segundo HARRIS e HOPKINSON (1976).

Para a revelação da atividade da enzima málica – EM, a mistura de reação continha:

- 100 mg ácido málico dissolvido em 10 ml de tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,0,
- 1,5 ml de cloreto de magnésio 0,2M;
- 0,5 ml NADP (5 mg/ml);
- 0,5 ml MTT (5 mg/ml);
- 0,05 ml PMS (5 mg/ml);
- 12,5 ml de agar 2% em água destilada, dissolvido sob aquecimento.

Esta mistura foi vertida sobre a outra parte homóloga do gel, preparado para Pep-B, sendo incubado a 37°C, até o aparecimento de bandas azuis escuras, decorrentes da redução do metil-tiazoli-tetrazólio (MTT) em Formazan.

Para a revelação da atividade das enzimas DIA-I e DIA-II, a mistura de reação continha:

- 10 mg de NADH dissolvido em 15 ml tampão Tris HCl 0,025M, pH 8,5;
- 350 µl de dichlorophenol indophenol -DCIP (2 mg/ ml);
- 500 µl de MTT (5 mg/ml)
- 12,5 ml de agar 2% em água destilada, dissolvido sob aquecimento.

Esta mistura foi vertida sobre uma das fatias do gel, sendo incubado a 37°C até o aparecimento das bandas azuis escuras.

Para a revelação da atividade da enzima Est-D foi empregado substrato fluorogênico. A mistura foi composta de aproximadamente 2 mg de acetato de umbiliferona, previamente dissolvidos em 0,5 ml de acetona:

- 4 ml de acetato de sódio 0,2M;
- 1 ml de ácido acético 0,2M;
- 5 ml de água destilada.

Esta mistura foi vertida sobre a outra parte homóloga do gel, preparado para CA e, decorridos 5 minutos, aproximadamente, o gel foi examinado sob luz ultra-violeta em ambiente escuro. Os fenótipos foram identificados com o aparecimento de bandas fluorescentes.

• **Proteína X**

A detecção da proteína X foi realizada mediante coloração geral de proteínas, segundo KRISTJANSSON (1963). A metodologia adotada consistiu na incubação do gel, por cerca de 30 minutos, numa solução de amido negro 0,5% dissolvido em ácido acético: etanol e água destilada, na proporção de 1: 5: 5. O contraste desejado foi obtido através de sucessivas descolorações numa solução idêntica de ácido acético: etanol e água destilada. Os géis foram transparentizados, cuja metodologia encontra-se em anexo (Anexo 2).

- **CA**

Para a revelação da atividade enzimática da CA foi empregado substrato fluorogênico, segundo metodologia descrita em LARA (1998). A mistura de reação foi composta de aproximadamente 2 mg de diacetato de fluoresceína, previamente dissolvidos em 0,5 ml de acetona e 5 ml de tampão fosfato, pH 6,5, contendo Na_2HPO_4 0,5 M. e acetona;

- 5 ml de tampão fosfato 0,05 M, pH 6,5.

Esta mistura foi vertida sobre uma das partes homólogas do gel, que envolvido com papel de filtro para evitar o seu ressecamento, foi incubado a 37°C por 10 minutos. Após este período, o gel foi examinado sob luz ultra-violeta, em ambiente escuro. Os fenótipos foram visualizados mediante o aparecimento de bandas fluorescentes.

- **Pep**

Para a revelação da atividade enzimática da PEP-B foi realizada adotando a mesma metodologia descrita em LARA (1998): A mistura de reação continha:-
15mg do tripeptídeo L-Leucil glicil-Glicina;

- 15 ml de tampão fosfato 0,2M, pH 7,5;

- 0,5ml de cloreto de magnésio 0,2M;

- 70 μl de solução de veneno de *Croतालus sp* (20 mg/ml);

- 150 μl solução peroxidase (6 mg/ ml);

- 250 μl orto-dianizidina (25 mg/ ml) ;);

- 12,5 ml de agar 2% em água destilada, dissolvido sob aquecimento.

Essa solução foi vertida sobre uma das partes homólogas do gel e, incubado a 37°C, até o aparecimento das bandas alaranjadas..

3.4. Análises estatísticas dos dados

3.4.1. Análise das variáveis morfoestruturais

Os animais da raça Moxotó foram avaliados por estado e raça, as freqüências medidas de 11 medidas morfométricas de natureza quantitativa, foram estimadas pelos procedimentos MEANS e FREQ do SAS (1999).

Além das estatísticas previamente descritas, foi feita análise discriminante canônica (ADC). Por meio da ADC foi possível estimar as funções lineares (raízes canônicas), permitindo distinguir e relacionar indivíduos, maximizando a variância entre os grupos e minimizando a variância dentro dos grupos (KHANTREE e NAIK, 1999).

Para a análise canônica utilizou-se o procedimento CANDISC do software SAS (1999). As aproximações para a discriminação dos indivíduos basaram-se na distância de Mahalsnobis. Assim, foram obtidas variáveis compostas denominadas raízes canônicas ou funções discriminantes, a partir da combinação dos dados das variáveis originais. Cada raiz canônica consiste numa combinação linear (Z) das variáveis independentes (Y_i), de modo a maximizar a correlação entre Z e Y_i. A combinação linear de i variáveis Y, formando uma função discriminante Z pode ser representada no seguinte modelo:

$$Z = \mu_0 + \mu_1 Y_1 + \mu_2 Y_2 + \mu_3 Y_3 + \dots + \mu_i Y_i$$

Neste modelo, $\mu_1, \mu_2 \dots \mu_i$ são coeficientes canônicos estimados para os dados e Y₁, Y₂ ... Y_i são valores das variáveis independentes.

Para a análise de agrupamento utilizou-se o a distância de Mahalanobis calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\begin{aligned} D_i^2 &= (x - x_i)' C^{-1} (x - \bar{x}_i) \\ &= \sum_{r=1}^p \sum_{s=1}^p (x_x - \bar{x}_i) C^{rs} (x_s - \bar{x}_{si}) \end{aligned}$$

Onde C^{rs} é o elemento na rth linha e sth coluna de C^{-1} que é a inversa da matriz de covariância. O valor de x é alocado nos grupos de acordo com o menor valor de D_i^2 (MANLY, 1994).

Com base nas informações obtidas com a distância de Mahalanobis, foi feita análise de agrupamento utilizando-se o método UPGMA (Unweighted pair-group method using the arithmetic average), e para a construção do dendograma utilizou-se o PROCTREE, ambos contidos no programa CLUSTER do SAS (1999).

3.4.2. Estimativas das freqüências gênicas e genóticas

Para a maioria dos sistemas estudados, o padrão de bandas pode ser explicado por mecanismo simples de herança mendeliana do tipo codominante, permitindo desta forma inferir os genótipos a partir de seus respectivos fenótipos. As estimativas das freqüências gênicas e genóticas foram obtidas pelo programa GENEPOP (versão 1.2) de RAYMONS e ROUSSET (1995), que permitiram caracterizar a variabilidade genética entre os dez rebanhos. Este programa foi também utilizado para verificar diferenciação genotípica e gênica entre as dez populações, pelo teste exato de Fisher.

3.4.3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg

O equilíbrio foi verificado através do programa GENEPOP, empregando-se o algoritmo de LOUIS e DEMPTERS (1987), gerando três análises

simultaneamente, com diferentes zonas de rejeição para a hipótese nula (H_0 : união ao acaso de gametas). Assim no teste geral (sub-opção3), o valor P corresponde à soma de todas as probabilidades, podendo ser igual ou inferior às obtidas nas sub-opções 1 e 2. Estas últimas permitiram a verificação das seguintes hipóteses alternativas (H_1): excesso e déficit de heterozigotos, cujas probabilidades são consideradas mais poderosas do que a anterior (LARA, 1998). Os resultados obtidos permitiram verificar o excesso e déficit de heterozigotos, estimar os valores de F_{is} com base na metodologia de WEIR e COCKERHAM (1984) para todas as populações e locos investigados. Este programa também permitiu estimar a significância total, com base em todos os locos investigados por rebanho, empregando o teste exato de Fisher com probabilidade combinada.

3.4.4. Estimativas dos Índices de Diversidade

Foram estimados as proporções de locos polimórficos ($P\%$), número de alelos por loco polimórfico (A_p), proporção de alelos contidos em cada população (P_A) e heterozigosidade média observada (H_o) e esperada (H_e), além do índice de fixação (F), aplicando-se as seguintes fórmulas :

$P = n^{\circ} \text{ de locos polimórficos} / n^{\circ} \text{ total de locos investigados};$

$A_p = n^{\circ} \text{ total de alelos dos locos polimórficos} / n^{\circ} \text{ de locos polimórficos};$

$P_A = n^{\circ} \text{ de alelos da população} / n^{\circ} \text{ total de alelos descritos para a população};$

$F = (H_e - H_o) / H_e$

3.4.5. Análise da diversidade em populações subdivididas

Essa análise foi realizada segundo NEI (1973) cuja metodologia permitiu a partição de diversidade total (H_t) em seus componentes entre (D_{st}) e dentro (H_s) das raças investigadas, empregando o programa DISPAN (KUMAR et al., 1993).

Os valores G_{st} obtidos para cada loco, foram comparados com os parâmetros F_{st} , visando verificar a correspondência entre os dois parâmetros. Os estimadores para H_t , H_s , D_{st} e G_{st} são descritos em NEI (1987), em que:

$$\hat{H}_s = 2n(1 - \sum_k X_k^2) / 2n - 1$$

$$\hat{H}_t = 1 - \sum_i X_i^2 + \hat{H}_s / 2ns$$

onde:

n = número de indivíduos amostrados;

s = números de subpopulações;

X_k = média ponderada da frequência do alelo k nas subpopulações e;

$\sum_i X_i^2$ = média do somatório da frequência gênica elevada ao quadrado entre as subpopulações.

$$\hat{H}_t = H_s + D_{st}$$

sendo;

G_{st} = proporção da diversidade genética, que é atribuída ao componente entre populações, onde:

$$G_{st} = D_{st} / \hat{H}_t$$

3.5. Relações Genéticas

3.5.1. Estimativas de distâncias genéticas entre as populações

As distâncias genéticas foram calculadas com base nas frequências gênicas obtidas para os oito locos, empregando o programa DISPAN (KUMAR et al., 1993). Foi possível através deste programa estabelecer matrizes de distância genética padronizadas (DA) e da distância genética corrigida (DS), de acordo com a metodologia de NEI (1972 e 1978).

No método de NEI (1972) é utilizada a diferença das freqüências gênicas para estimar o número médio das diferenças de códons por locos. No segundo método (NEI, 1978), as estimativas de distâncias genéticas são corrigidas para pequenas amostras.

3.5.2. Análise de Grupamento (Clusters)

Com o programa DISPAN (KUMAR et al., 1993) foi possível construir os clusters, por sua vez estes, foram determinados através de agrupamentos sucessivos de pares de populações de acordo com o nível de similaridade genética. No presente estudo foi adotado a metodologia de UPGMA para a construção do dendrograma a partir da matriz de distância genética padronizada (NEI, 1972).

O UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) ou metodologia de ligação média, obedecem os seguintes procedimentos (MEYER, 1995; citado por LARA, 1997), o par de taxa mais semelhante é unido. Assim, esse par fica separado por uma distância idêntica ao valor que os separa na matriz de distâncias e um nó é posicionado no meio do caminho entre os dois, este taxa formado passa a ser considerado um novo táxon (táxon composto).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise Morfo-estrutural

As estatísticas descritivas das variáveis morfoestruturais estudadas encontram-se na Tabela 9. Esta tabela apresenta as médias e os desvios padrões para as características quantitativas analisadas. As médias com seus respectivos desvios padrão para o comprimento do corpo (CC), altura da cernelha (AC) e perímetro torácico (PT) foram similares aos encontrados por SILVA et al. (2001), ao estudarem rebanhos Moxotó dos estados da Paraíba e Rio grande do Norte, encontrando $69,1 \pm 4,7$ para CC, $61 \pm 3,4$ para AC e $77,4 \pm 3,8$ para PT, respectivamente. Já HERRERA et al. (1996) encontraram valores maiores para o comprimento do corpo e perímetro torácico ($71,64 \pm 0,34$ a $81,25 \pm 0,52$ (CC) e $85,59 \pm 0,59$ a $96,25 \pm 0,69$ (PT)) em rebanhos espanhóis de caprinos nativos. Os rebanhos RM6 e RM8 apresentaram valores médios maiores para PT, fato este explicado pelo manejo semi-intensivo em que vivem estes rebanhos, quando comparados com os demais.

LANARI et al. (2003) obtiveram valores relativamente maiores para LCb (20,6-22,9cm), CC (66,7-77,7cm) e PC (7,8-9,7 cm) em populações de caprinos criolos da Patagônia (Argentina). Os rebanhos avaliados em nosso trabalho valores menores quanto a CC, LCb e PC.

HERREEA et al. (1996) estudando caprinos das raças Branca Andaluza, Florida, Granada e Negra Andaluza relataram que os maiores valores para CC, LoG, LG, LC, PT e PC foram para os animais do rebanho Branca Andaluza, valores estes superiores aos encontrados em nosso trabalho. ZEPEDA et al (2002) obtiveram maiores valores para ARS (65,26 – 61,28cm) e PT (77,76 – 81,66cm) em caprinos de Puebla (México), estes resultados foram maiores que os achados em nosso trabalho.

De modo geral os caprinos nativos do Brasil apresenta-se em menor estatura quando comparados com seus ancestrais. Isto se deve ao fato do longo período isolamento e seleção natural que sofreram nas regiões brasileiras, além de monitoramento específicos.

Em relação ao tamanho da orelha, SILVA et al. (2001) relataram que as raças Moxotó, Canindé e Azul apresentam comprimentos semelhantes, exceto para o grupo Graúna (13,5cm). Em nossos estudos os rebanhos analisados entre estados, apresentam tamanhos diferentes sendo os rebanhos da Paraíba os de tamanhos superiores, resultados estes diferentes dos encontrados por SILVA et al. (2001), com 12,8 cm, respectivamente.

Tabela 9. Análise da estatística descritiva das variáveis estudadas para cada rebanho (cm)

Variáveis	Rio Grande do Norte N° 159 (RM1 e RM2)	Ibimirim - PE N° 40 (RM3 e RM4)	Serra Talhada - PE N° 24 (RM5)	Patos-PB N° 30 (RM6)	Taperoá-PB N° 60 (RM8)
	Médias ± ds	Médias ± ds	Médias ± ds	Médias ± ds	Médias ± ds
LCb	19,190±1,026	17,225±0,869	17,479±0,699	20,283±1,187	21,092±1,323
LR	16,139±1,004	15,425±0,844	16,042±0,806	16,983±0,987	17,958±1,249
LC	12,382±0,509	10,650±1,172	10,625±0,711	11,733±0,666	12,758±0,686
CC	60,048±4,096	59,662±3,720	63,583±3,322	67,400±4,005	64,483±5,585
PT	77,982±5,687	79,562±4,859	78,333±4,269	86,717±7,095	87,850±5,398
AC	62,173±3,765	62,400±3,449	63,333±3,1300	63,950±3,599	68,8417±3,872
ARS	54,245±3,018	58,787±3,602	60,875±3,143	57,200±3,513	57,917±5,559
LG	14,676±0,964	16,863±1,204	17,375±1,439	15,733±1,350	16,625±1,206
LoG	20,185±1,064	19,775±1,656	20,562±0,516	21,483±1,494	22,483±1,189
PC	7,512±0,629	8,250±0,555	7,875±0,516	7,717±0,486	8,783±0,727
TO	12,539±0,711	11,400±1,045	11,729±0,966	14,300±3,989	13,250±0,836

LCb= longitude da cabeça; LR=longitude do rosto; LC=largura dacabeça; CC=comprimento do corpo; PT= perímetro torácico; AC= altura da cernelha; ARS= altura da região sacral; LG= largura da garupa; LoG=longitude da garupa; PC=perímetro da canela; TO= tamanho da orelha.

A distância de Mahalanobis estimada entre as populações (Tabela 10), mostram-se altas entre estados, como é o caso de RM5 x RM6. Isto se deve, ao fato dos rebanhos não terem contato, com isso não há troca de reprodutores entre os rebanhos, distanciando desta forma as características morfoestruturais dos animais da raça Moxotó. O menor valor encontra-se entre os animais de RM5 (Serra Talhada) e RM3 (Ibimirim), ambos pertencentes ao estado de Pernambuco. Fato este que se justifica já que os rebanhos de Serra Talhada terem sido formados a partir dos animais de Ibimirim. Este resultado concorda com o obtido na análise de distância genética, onde o rebanho RM3 se assemelha com RM5.

Tabela 10. Distância de Mahalanobis entre os rebanhos Moxotó

Local	RM1-RM2 (Angico-RN)	RM3-RM4 (Ibimirim-PE)	RM5 (Patos-PB)	RM6 (SerraTalhada-PE)	RM8 (Taperoá-PB)
Angico-RN	0	27,35669	9,96132	31,15676	9,80819
Ibimirim-PE	27,35669	0	31,25526	2,53014	26,96350
Patos-PB	9,96132	31,25526	0	31,92299	9,16191
Serra-Talhada-PE	31,15676	2,53014	31,92299	0	29,54863
Taperoá-PB	9,80819	26,96350	9,16191	29,054863	0

A avaliação dos indivíduos dentro de cada rebanho e sua interrelação com outros rebanhos, é observada no gráfico 1, obtida a partir da análise discriminante canônica, cuja estrutura é mostrada na Tabela 11, na qual encontram-se as características que foram mais importantes para a separação dos grupos. HERRERA et al. (1996) utilizaram análise de discriminante canônica, onde as variáveis mais discriminativas foram LCb, PT, LC e peso do corpo. Na Tabela 11 as variáveis que mais contribuíram para a construção gráfica foram LCb, LR, CC, PT, AC, ARS, LG, LoG e PC.

Tabela 11. Estrutura canônica total

Variáveis	CAN 1	CAN 2	CAN 3	CAN 4
LCb*	-1,365010209	0,376215418	-0,644410538	-0,611433450
LR*	0,946776447	0,014606862	0,398701582	0,960072664
LC	-0,467283552	-0,403437187	0,636748749	0,228692719
CC*	-0,031713152	0,156661379	-0,578734656	0,353718656
PT*	0,113465853	0,252039637	-0,286840316	-0,663482819
AC*	-0,008054563	0,261192291	0,356992346	0,117443530
ARS*	0,339150192	-0,080235951	-0,164929246	-0,012323088
LG*	0,543262967	0,001196506	0,143998550	0,193986103
LoG*	-0,178546988	0,343971408	0,242566048	0,280593313
PC*	0,349637681	0,371462643	0,426848413	-0,473261419
TO	-0,208555461	0,185384225	-0,340139518	-0,049419031

* $P < ,0001$.

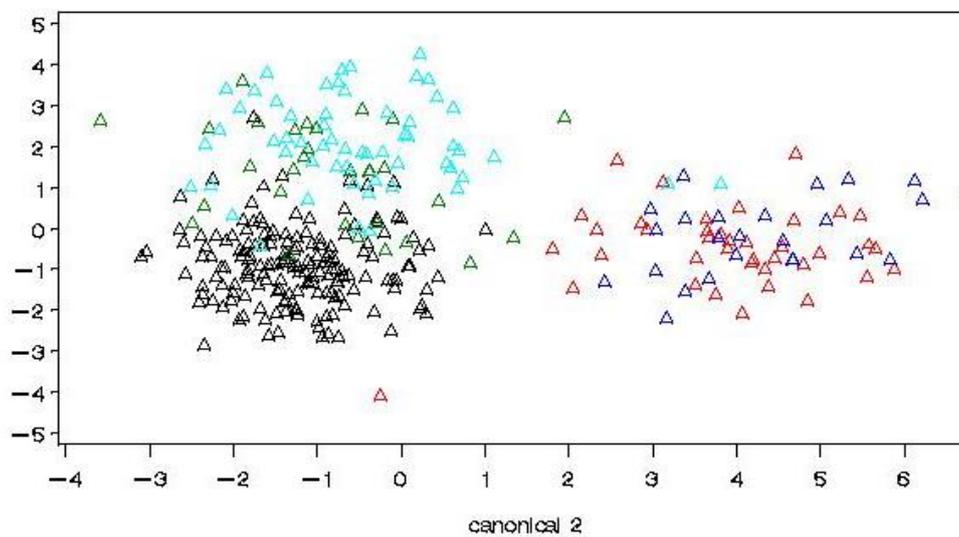
LCb= longitude da cabeça; LR=longitude do rosto; LC=largura da cabeça; CC=comprimento do corpo; PT= perímetro torácico; AC= altura da cernelha; ARS= altura da região sacral; LG= largura da garupa; LoG=longitude da garupa; PC=perímetro da canela; TO= tamanho da orelha.

O gráfico 1 mostra a distribuição dos rebanhos de acordo com o município a que pertencem. Observa-se o agrupamento maior dos rebanhos do estado do Rio Grande do Norte, isto se deve, ao fato da migração de indivíduos entre as propriedades, já que essa é uma prática bastante comum entre os criadores desta região. Já para os animais do estado da Paraíba ocorre uma pequena dispersão nos animais do rebanho RM8 (Taperoá-PB) e RM6 (Patos-PB), entretanto, os animais de Patos são animais constituídos de várias localidades, e os de Taperoá

são animais onde o criador exerce certo manejo, sendo um sistema semi-intensivo.

Em relação aos rebanhos RM5 (Serra Talhada-PE) e RM3 (Ibimirim-PE), observa-se que eles se distanciam dos demais grupos analisados, mas se correlacionam entre si. No gráfico pode-se analisar nitidamente que os animais dentro dos seus respectivos estados se agrupam, no entanto, quando comparados entre estados, há uma dispersão entre eles.

can1



- △ △ △ RM1 e RM2 (Angico-RN)
- △ △ △ RM3 e RM4 (Ibimirim-PE)
- △ △ △ RM5 (Serra Talhada-PE)
- △ △ △ RM6 (Patos-PB)
- △ △ △ RM8 (Taperoá-PB)

Gráfico 1. Representação canônica dos cinco rebanhos da raça Moxotó.

4.2. Análises Eletroforéticas

4.2.1. Hemoglobina

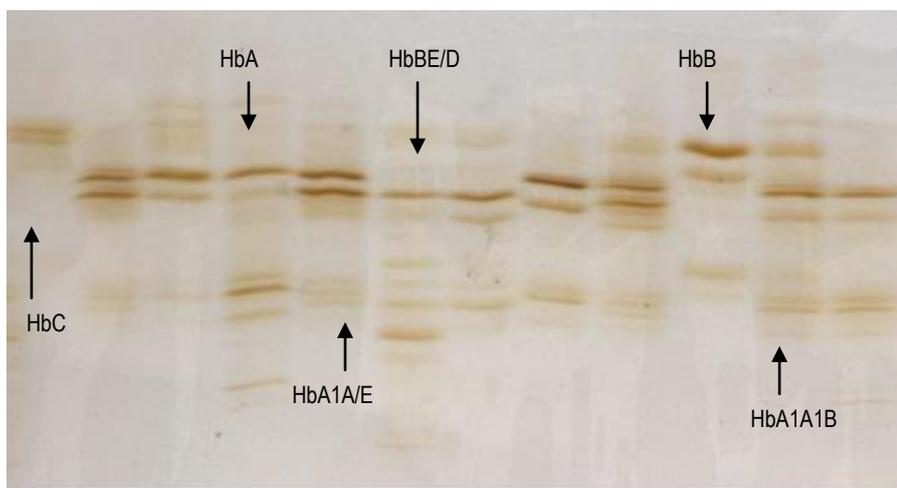
Os padrões isoelétricos para a hemoglobina estão apresentados na Figura 2. O controle genético da hemoglobina em caprinos é complexo, com quatro alelos mais comum, denominados HbA^{1A} , HbA^{1B} , HbB^D e HbB^E , além do tipo HbBC, que só ocorre em indivíduos anêmicos.

O padrão mais comum foi aquele correspondente ao fenótipo para o homozigoto HbA1AA, caracterizado por duas bandas principais, uma mais intensa e outra menos intensa, cuja migração foi menor em relação ao padrão observado para o homozigoto HbA1BB, caracterizado pela sua maior migração anódica. O fenótipo para o homozigoto HbBE foi também caracterizado com duas bandas principais, com ponto isoelétrico muito próximo àquele da banda codificada pelo alelo HbA^{1A} (em eletroforese convencional em gel de amido eles se confundem, impossibilitando a sua diferenciação). O fenótipo para o homozigoto HbBD, também com duas bandas principais apresentou a menor migração em relação aos demais. Os heterozigotos apresentaram com quatro bandas, sendo duas com maior intensidade, correspondentes a seus respectivos homozigotos. Desta forma sete fenótipos foram observados, sendo denominados HbA1AA, HbA1A1B, HbA1A/E, HbA1A/D, HbA1B, HbBE e HbBED, cuja nomenclatura adotada foi a mesma utilizada por IGARASHI (1997). Os padrões isoelétricos foram semelhantes aos achados por essa autora, exceto para o homozigoto HbA1B e heterozigoto HbA1AB. Apenas uma amostra apresentou a variante C, que segundo a literatura, esse tipo de hemoglobina só ocorre em animais em condições anêmicas (HUISMAN *et al.*, 1967; HUISMAN *et al.*, 1968; KILGOUR *et al.*, 1990).

As estimativas de freqüências gênicas e genóticas para as dez populações estão apresentadas nas tabelas 12 e 13.

O alelo HbA^{1A} foi o mais freqüente em todas as populações estudadas, variando de 0,717 a 0,868 na raça Moxotó e, de 0,765 a 0,90, na raça Anglo Nubiana. A predominância desse alelo em populações caprinas nativas do Estado do Ceará havia sido reportado por IGARASHI (1997).

No presente estudo, o alelo HbA^{1B} não foi detectado nos rebanhos da raça Anglo Nubiana, mas ocorreu em todos rebanhos da raça Moxotó. O mesmo foi observado para o alelo HbB^D , que foi restrito aos rebanhos Moxotó RM2 e RM3. Estes resultados sugerem que esses alelos poderiam ser considerados como marcadores para a raça Moxotó embora outros estudos sejam necessários para a sua confirmação de nossa hipótese.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Figura 2. Perfil eletroforético das diferentes hemoglobina. Amostras 3, 4, 8 e 12 – **HbA**. Amostras 2, 5 e 9 – **HbAE**. Amostra 11 – **HbAB**. Amostras 10 – **HbB**. Amostra 1 – **HbC**. Amostra 6 – **HbED**. Amostra 7 - **HbE**.

Tabela 12. Estimativas de frequências alélicas para o loco da hemoglobina (Hb) obtidas para as raças Moxotó e Anglonubiano

População	Alelos			
	<i>HbA^{1A}</i>	<i>HbA^{1B}</i>	<i>HbB^D</i>	<i>HbB^E</i>
RM1	0,792	0,083	0	0,125
RM2	0,828	0,065	0,026	0,081
RM3	0,868	0,080	0,026	0,026
RM4	0,800	0,100	0	0,100
RM5	0,771	0,125	0	0,104
RM6	0,717	0,022	0	0,261
RA7	0,857	0	0	0,143
RM8	0,842	0,008	0	0,150
RA9	0,765	0	0	0,235
RA10	0,900	0	0	0,100

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

O teste exato de Fisher revelou diferenças significativas ($P=0,00429 \pm 0,00256$) na distribuição desses alelos entre os seguintes pares de rebanho: RM1 X RM6, RM2 X RM8, RM2 X RA9, RM3 X RM6, RM3 X RM8, RM3 X RA9, RM5 X RM6, RM5 X RM8 e RM5 X RM6.

Com relação às frequências genotípicas, homocigoto para o alelo *HbA^{1A}*, cuja nomenclatura pode ser simplificada em *Hb^A* foi o mais freqüente tanto na raça Moxotó quanto na Anglo Nubiana, colaborando com a hipótese de que animais com esse genótipo sejam mais adaptados às regiões semi-áridas do Nordeste. O mesmo foi observado por IGARASHI (1997) ao estudar caprinos nativos do Estado do Ceará, onde observou predominância deste genótipo, podendo ser uma das causas pela qual a raça Moxotó mostra-se mais adaptada às condições climáticas do semi-árido nordestino. É sabido que o tipo Hb-A é predominante em raças da montanha e apresenta maior afinidade por oxigênio (ZEPEDA, 2000). O teste exato de Fisher não revelou diferenciação genotípica entre as raças estudadas ($P>0,05$).

Tabela 13. Descrição das freqüências genótípicas observadas e esperadas para o loco Hb para cada rebanho. Dada a complexidade da nomenclatura, os genótipos HbA1A, HbA1A/1B, HbA1A/HbBD, HbA1A/HbBE, HbA1B, HbA1B/HbBD, HbA1B/HbBE, HbBD, HbBE, HbBE/D estão representados HbA, HbAB, HbAD, HbAE, HbB, HbBD, HbBE, HbD, HbE e HbED, respectivamente.

Pop.	Freqüências Genótípicas									
	HbA1AA	HbA1A1B	HbA1A/D	HbA1A/E	HbA1B	HbA1B/D	HbA1B/E	HbBD	HbBE	HbBE/D
RM1	0,5833 (0,6196)*	0,1667 (0,1376)	0	0,25 (0,2065)	0 (0,0036)	0 (0,0217)	0	0	0 (0,011)	0
RM2	0,675 (0,6850)	0,1168 (0,1078)	0,0455 (0,0431)	0,143 (0,1348)	0,0064 (0,004)	0 (0,0038)	0 (0,0106)	0 (0,0005)	0,0065 (0,0062)	0,0064 (0,0042)
RM3	0,7369 (0,7526)	0,1579 (0,139)	0,05260 (0,0463)	0,0526 (0,0463)	0 (0,0053)	0 (0,0042)	0 (0,0042)	0 (0,0003)	0 (0,0004)	0 (0,0014)
RM4	0,6 (0,6222)	0,2 (0,1778)	0	0,2 (0,1778)	0	0	0 (0,0222)	0	0	0
RM5	0,5420 (0,5904)	0,25 (0,1968)	0	0,208 (0,164)	0 (0,0133)	0	0 (0,0266)	0	0 (0,0089)	0
RM6	0,4348 (0,5101)	0,0435 (0,0319)	0	0,5217 (0,3826)	0	0	0 (0,0116)	0	0 (0,0638)	0
RA7	0,7143 (0,7253)	0,2857 (0,2637)	0	0	0	0	0	0	0 (0,011)	0
RM8	0,683 (0,707)	0,017 (0,014)	0	0,3 (0,255)	0	0	0 (0,003)	0	0 (0,021)	0
RA9	0,647 (0,579)	0	0	0,235 (0,371)	0	0	0	0	0,118 (0,050)	0
RA10	0,8 (0,805)	0	0	0,2 (0,190)	0	0	0	0	0 (0,005)	0

*-números entre parênteses referem-se a freqüências genótípicas esperadas.

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos.

4.2.2. Esterase-D

A análise da enzima esterase-D foi realizada no mesmo gel de eletroforese utilizado para o estudo da Anidrase Carbônica. O perfil eletroforético obtido para Est-D está apresentado na figura 3. Observa-se que esta enzima apresenta migração anódica com três padrões eletroforéticos: os homozigotos Est-D1-1 (duas bandas com migração lenta) e Est-D2-2 (duas bandas com migração mais rápida), sendo o heterozigoto Est-D1-2, com três bandas (a primeira e a terceira banda de intensidade mais fraca que a segunda banda). Estes padrões observados para Est-D foram semelhantes aos descritos por IGARAASHI (1997) em amostras de caprinos criados no Ceará.

A esterase eritrocitária avaliada no presente trabalho foi denominada Esterase-D por ter sido detectada com o uso do substrato fluorogênico, denominado acetato de umbeliferona, de maneira análoga a esterase-D humana, bovina e caprina (HARRIS e HOPKINSON, 1976; DEL LAMA, 1992; IGARASHI, 1997).



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Figura 3. Perfil eletroforético da esterase-D. Amostras 2, 4 e 8 (1-2); amostras 1, 3, 5, 6, 7, 10 e 12 (2-2); amostra 9 (1-1)

Esse loco foi bastante informativo, pois apresentou dois alelos co-dominantes, denominados $Est-D^1$ e $Est-D^2$ (Tabela 14), em frequências específicas para as raças Moxotó e Anglo-Nubiana ($P < 0,0001$). O alelo $Est-D^1$ foi mais freqüente nos rebanhos Anglo-Nubiana e, o alelo $Est-D^2$, nos rebanhos da raça Moxotó. As frequências alélicas para $Est-D^1$ variaram de 0,053 (RM3) a 0,333 (RM8) na raça Moxotó e, de 0,500 (RA10) a 0,786 (RA7), na raça Annglo-Nubiana. DEZA *et al.* (2000), estudando as esterases 1 e 2 em populações caprinas Crioulas nativas de diferentes regiões da Argentina Central, observaram que a esterase 2 (ES-2) era polimórfica. No presente trabalho, não foi possível correlacionar a ES-2 com a Est-D, pois os substratos utilizados na revelação de suas atividades não foram os mesmos. No entanto, os resultados obtidos no presente estudo são similares aos obtidos por IGARASHI (1997), não só em relação ao substrato utilizado como também às estimativas de frequências de $Est-D^1$ e $Est-D^2$ reportados para o rebanho da raça Moxotó. No estudo de IGARASHI (1997), esse *loco* apresentou uma grande variabilidade entre os 23 rebanhos

nativos do Ceará, onde foram estimadas freqüências para o alelo *Est-D*² que variaram de 0,2667 (rebanho mestiço da raça Anglo-Nubiana) a 0,8750 (rebanho da raça Moxotó).

Tabela 14. Estimativas de freqüências alélicas da Esterase-D para cada rebanho

Rebanho	Alelos	
	Est-D ¹	Est-D ²
RM1	0,125	0,875
RM2	0,094	0,906
RM3	0,053	0,947
RM4	0,167	0,833
RM5	0,063	0,938
RM6	0,174	0,826
RA7	0,786	0,214
RM8	0,333	0,667
RA9	0,674	0,324
RA10	0,500	0,500

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

Como pode ser visto na Tabela 15, houve a predominância do genótipo *Est-D* 2/2 na raça Moxotó e, do genótipo *Est-D*1/1 na raça Anglo Nubiana (Tabela 14). Este *loco* apresentou freqüências genotípicas específicas para as duas raças ($P < 10^{-5}$), segundo o teste exato de Fisher, sendo este *loco* bastante informativo no estudo de caracterização racial (*Est-D*, Anexo 4).

Tabela 15. Descrição das freqüências genotípicas observadas e esperadas da Esterase-D

Rebanho	Genótipos		
	Est-D-1/1	Est-D1/2	Est-D2/2
RM1	0 (0,0108)	0,250 (0,2282)	0,750 (0,7610)
RM2	0,0195 (0,0086)	0,1494 (0,1711)	0,8311 (0,8203)
RM3	0 (0,0021)	0,1053 (0,1011)	0,8947 (0,8968)
RM4	0 (0,0152)	0,3333 (0,3030)	0,6667 (0,6818)
RM5	0 (0,0026)	0,1250 (0,1197)	0,8750 (0,8777)
RM6	0,0434 (0,0271)	0,2610 (0,2937)	0,6956 (0,6792)

Continuação da Tabela 15.

Rebanho	Genótipos		
	Est-D-1/1	Est-D1/2	Est-D2/2
RA7	0,5714 (0,6044)	0,4286 (0,3626)	0 (0,0330)
RM8	0,1333 (0,1093)	0,40 (0,4482)	0,4667 (0,4425)
RA9	0,4706 (0,4510)	0,4118 (0,4510)	0,1176 (0,0980)
RA10	0,3 (0,237)	0,4 (0,5260)	0,3 (0,2370)

- *números entre parênteses referem-se as freqüências genótípicas esperadas

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos.

4.2.3. Enzima málica

A análise da enzima málica em gel de penetrose foi realizada em condições eletroforéticas que permitiram o estudo simultâneo da enzima Peptidase-B. As análises de eletroforese da enzima málica revelaram seis variantes denominadas EM-A, EM-A/B, EM-B, EM-BC, EM-AC e EM-C (figura 4), resultantes da presença de três alelos codominantes: EM^A , EM^B e EM^C , com mobilidades anódicas decrescentes.

As estimativas de freqüências gênicas e genótípicas para o loco EM estão apresentadas nas Tabelas 16 e 17.



1 2 3 4 5 6 7 8
Figura 4. Perfil eletroforético da enzima málica. Amostras 1, 2 e 5 – EM A; amostras 3 e 4 –EM A/B; amostra 6 –EM B; amostra 3 –EM B; amostra 7-EM B/C; amostra 8-EM C

O alelo EM^B foi o mais freqüente em todos os rebanhos, cujas freqüências estimadas no presente estudo são similares às reportadas por MENRAD *et al.* (2002) e DEZA *et al.* (2000). O alelo EM^A ocorreu em freqüências intermediárias, exceto no RM4. O alelo EM^C apresentou-se em freqüências muito baixas, não

ocorrendo nos rebanhos RM3 e RM4, da raça Moxotó e em RA7 e RA9 da raça Anglo-Nubiana. Resultados semelhantes foram encontrados por DEZA *et al.* (2000) ao estudarem caprinos da raça Crioula da Argentina. Entretanto, MENRAD *et al.* (2002) estimaram freqüências maiores para o alelo EM^C em caprinos da Kashmirira em relação às obtidas no presente estudo. O teste exato de Fisher revelou que os rebanhos das raças Moxotó e Anglo-Nubiana não diferiram ($P>0,05$) quanto as suas composições gênicas, sendo este loco pouco informativo em estudos de caracterização de raças caprinas, embora tenha revelado uma grande diversidade.

Como pode ser visto na Tabela 14, o genótipo EM B/B foi o mais freqüente em todos os rebanhos investigados, com exceção dos rebanhos RM1, RM4 e RA10, em que os genótipos mais comuns foram EM A/B, EM A/A EM A/B, respectivamente.

Tabela 16. Freqüências alélicas da enzima málica estimadas para cada rebanho

Rebanho	Alelos		
	EM^A	EM^B	EM^C
RM1	0,375	0,583	0,042
RM2	0,321	0,614	0,065
RM3	0,211	0,789	0
RM4	0,667	0,333	0
RM5	0,250	0,708	0,042
RM6	0,239	0,696	0,065
RA7	0,286	0,714	0
RM8	0,271	0,712	0,017
RA9	0,382	0,618	0
RA10	0,350	0,600	0,050

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

Nos rebanhos da raça Anglo Nubiana não foram observados animais com genótipo EMC/C, assim como nos rebanhos RM1, RM3, RM4 RM6 E RM8, da

raça Moxotó. O teste exato de Fisher revelou para o loco EM, que os rebanhos não diferiram em ($P>0,05$) em suas composições genóticas.

Tabela 17. Descrição das freqüências genóticas observadas e esperadas do loco EM para cada rebanho

Rebanho	Genótipos					
	EmA/A	EMA/B	EMA/C	EMB/B	EMB/C	EMC/C
RM1	0,1667 (0,1304)	0,4167 (0,4565)	0 (0,0326)	0,3333 (0,3297)	0,0833 (0,0508)	0
RM2	0,1818 (0,1026)	0,2792 (0,3957)	0 (0,0419)	0,4480 (0,3758)	0,052 (0,080)	0,039 (0,004)
RM3	0,0789 (0,0421)	0,2631 (0,3368)	0	0,658 (0,6211)	0	0
RM4	0,6667 (0,4242)	0 (0,4848)	0	0,3333 (0,0910)	0	0
RM5	0,2083 (0,0585)	0,0834 (0,3617)	0 (0,0212)	0,6667 (0,4973)	0 (0,0603)	0,0416 (0,0010)
RM6	0,1305 (0,0531)	0,2173 (0,3401)	0 (0,0319)	0,5217 (0,4792)	0,1305 (0,0927)	0 (0,0030)
RA7	0,1429 (0,0660)	0,2857 (0,4395)	0	0,5740 (0,4945)	0	0
RM8	0,1667 (0,0706)	0,2 (0,4)	0 (0,0091)	0,600 (0,4965)	0,0333 (0,0239)	0 (0,0002)
RA9	0,2353 (0,1391)	0,2941 (0,4866)	0	0,4706 (0,3743)	0	0
RA10	0,1 (0,1105)	0,5 (0,4421)	0 (0,0368)	0,3 (0,3474)	0,1 (0,0632)	0

- *números entre parênteses referem-se as freqüências genóticas esperadas

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos.

4.2.4. Diaforase I e II

A variabilidade observada no presente estudo para esta enzima foi explicada pela presença de dois locos autossômicos, denominados DIA-I e DIA-II, sendo o primeiro, com menor atividade enzimática. Para cada loco foram detectados dois alelos codominantes, denominados 1 e 2 (*DIA-I¹* e *DIA-I²* *DIA-II¹* e *DIA-II²*), cujos produtos da expressão gênica apresentaram migrações anódicas crescentes. O perfil eletroforético da diaforase pode ser observado na figura 5.

Apesar destes locos apresentarem polimorfismo, a variabilidade observada foi muito pequena quando comparada com os outros locos polimórficos investigados no presente estudo.

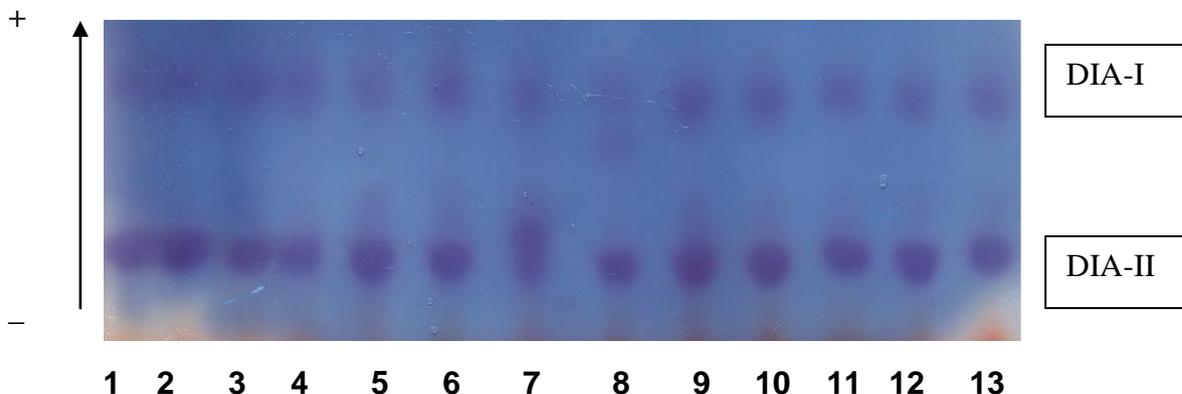


Figura 5. Perfil eletroforético das diferentes Diaforases. **Loco DIA-I:** Amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12 e 13, fenótipo **DIA-I 1/1**. Amostra 8, fenótipo **DIA-I 1/2**. Loco DIA-II. Amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 e 13, fenótipo **DIA-II 2**. Amostra 7, fenótipo **DIA-II 1/2**

Como pode ser visto na tabela 18, o polimorfismo do loco DIA-I foi observado apenas nos rebanhos RM2 e RM6 da raça Moxotó e nos rebanhos RA7 e RA10 da raça Anglo Nubiana. Nos demais rebanhos o alelo *DIA-I²* apresentou-se fixado. Com relação ao loco DIA-II, apenas no RM1 da raça Moxotó esse loco apresentou-se polimórfico, estando o alelo *DIA-II¹* fixado nos demais rebanhos. Os resultados obtidos poderiam sugerir que o alelo *DIA-I¹* pode ser marcador para a raça Anglo Nubiana e que a presença desses alelos poderia indicar maior porcentagem de genes da raça Anglo Nubiana nos RM2 e RM6. Essa enzima havia sido descrita em caprinos como sendo monomórfica (TUCKER e CLARKE, 1980; TUCKER *et al.*, 1989; MENRAD *et al.*, 2002). Os resultados obtidos sugerem que esse loco possa ser considerado um sistema promissor para os estudos de caracterização genética sendo necessário investigá-lo em outras raças caprinas.

Tabela 18. Freqüências alélicas da DIA-I e DIA-II estimadas para cada rebanho

Rebanho	Alelos			
	DIA-I ¹	DIA-I ²	DIA-II ¹	DIA-II ²
RM1	0	1	0,958	0,042
RM2	0,006	0,994	1	0
RM3	0	1	1	0
RM4	0	1	1	0
RM5	0	1	1	0
RM6	0,087	0,913	1	0
RA7	0,071	0,929	1	0
RM8	0	1	1	0
RA9	0	1	1	0
RA10	0,05	0,950	1	0

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

A Tabela 19 apresenta as estimativas de freqüências genótípicas para os locos DIA-I e DIA-II. Em relação ao loco DIA-I, foi observada a predominância do genótipo DIA-I 2/2 nas duas raças estudadas. Já, para o loco DIA-II, o genótipo DIA-II 1/1 foi o mais comum. O teste exato de Fisher não revelou diferenças significativas ($P > 0,05$) quanto à composição genotípica e gênica, para estes locos entre as raças estudadas.

Tabela 19. Freqüências genótípicas observadas e esperadas para o locus da diaforase para cada rebanho

Rebanho	Alelos					
	DIA-I 1/1	DIA-I 1/2	DIA-I 2/2	DIA-II 1/1	DIA-II 1/2	DIA-II 2/2
RM1	-	-	1	0,917 (0,917)	0,083 (0,083)	0
RM2	0	0,013(0,013)	0,987(0,987)	1	0	0-
RM3	0	0	1	1	0	0
RM4	0	0	1	1	0	0
RM5	0	0	1	1	0	0
RM6	0	0,174(0,006)	0,826(0,834)	1	0	0
RA7	0	0,143(0,143)	0,857(0,857)	1	0	0
RM8	0	0 -	1	1	0	0
RA9	0	0	1	1	0	0
RA10	0	0,100 (0,100)	0,900(0,900)	1	0	0

- *número entre parênteses referem-se a freqüência genotípica esperada. As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos.

4.2.5. Proteína-X

O perfil eletroforético desta proteína pode ser visualizado na figura 6. O polimorfismo observado para a proteína X foi explicado pela presença de um loco autossômico, com dois alelos denominados XP^1 e XP^2 , cujos produtos gênicos apresentaram migração anódica. Três padrões eletroforéticos foram observados: os homozigotos $XP^2/2$ (com duas bandas, uma de migração mais rápida e de menor intensidade de coloração e outra mais lenta de maior intensidade de coloração) e $XP^1/1$ (com uma banda de coloração intensa com migração correspondente a banda fraca do homozigoto $XP^2/2$) e o heterozigoto $XP^1/2$ (com duas bandas de mesma intensidade e, com migração correspondente aos dois homozigotos descritos anteriormente). Esta caracterização foi realizada com base no estudo de IGARASHI (1997), cujos padrões eletroforéticos foram semelhantes. Essa mesma autora não descartou a possibilidade da existência de um loco com dois alelos autossômicos: XP^1 e XP^2 e um alelo recessivo: XP^0 , (não apresenta nenhuma banda detectável), cuja hipótese foi proposta por HASHIMA *et al.* (1988). No presente estudo, algumas amostras também apresentaram esse padrão, mas não foram consideradas nas nossas análises, por falta de amostras representativas para o estudo de sua segregação alélica entre famílias completas.

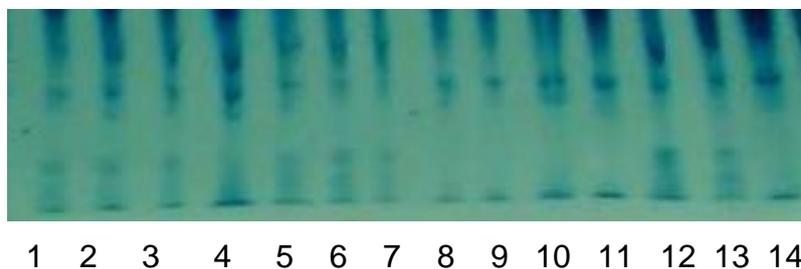


Figura 6. Perfil eletroforético da Proteína X. Amostras– 4, 8, 9, 10, 11 e 14 $XP^1/1$; amostras 12 e 13 $XP^1/2$, amostra 1, 2, 3, 5, 6 e 7 $XP^2/2$

Nas tabelas 20 e 21 estão apresentadas as estimativas de freqüências gênicas e genotípicas. O alelo mais freqüente foi o XP^2 em todos os rebanhos investigados, concordando com os dados da literatura que relatam a predominância dos alelos XP^2 ou XP^+ (BARBANCHO *et al*, 1984; ZEPEDA, 2000). As estimativas de freqüências alélicas estimadas no presente estudo diferiram das relatadas por IGARASHI (1997), em que ocorreu a predominância do alelo XP^1 , sendo justificado como uma forma adaptativa. Este fato contraria nossos achados, pois os animais investigados no presente estudo também são de regiões onde as condições ambientais são precárias e, mesmo apresentando freqüência menor para o alelo XP^1 , sobrevivem ao ambiente semi-árido.

O alelo XP^1 ocorreu nos rebanhos da raça Moxotó, em freqüências que variaram de 0,042 (RM1) a 0,358 (RM8) e nos rebanhos da raça Anglo-Nubiana, de 0,059 (RA9) a 0,200 (RM10). O teste exato de Fisher revelou diferenças entre as duas raças quanto a suas composições gênicas ($P=0,04$) e genotípicas ($P=0,05$), podendo esse *loco* ser considerado de grande potencial para os estudos de caracterização genética de raças caprinas. Entre rebanhos, as maiores diferenças ocorreram entre RM1xRM2, RM1xRM8, RM2xRM6, RM2xRM8, RM2xRA9, RM3xRM8, RM5xRM8 e RM8xRA9 (Anexo 4).

Tabela 20. Freqüências alélicas da proteína X estimadas para cada rebanho

Rebanho	Alelos	
	XP^1	XP^2
RM1	0,042	0,958
RM2	0,240	0,760
RM3	0,160	0,840
RM4	0,167	0,833
RM5	0,146	0,854
RM6	0,065	0,935
RA7	0,143	0,857
RM8	0,358	0,642
RA9	0,059	0,941
RA10	0,200	0,800

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco

Tabela 21. Descrição das freqüências genótípicas da proteína X para cada rebanho

Rebanho	Genótipos		
	XP1/1	XP1/2	XP 2/2
RM1	0	0,0833 (0,0833)	0,9167 (0,9167)
RM2	0,0347 (0,0568)*	0,4097 (0,3656)	0,5556 (0,5776)
RM3	0,1200 (0,0229)	0,0800 (0,2743)	0,800 (0,7029)
RM4	0 (0,0152)	0,3333 (0,3030)	0,6667 (0,6818)
RM5	0,1250 (0,0186)	0,0417 (0,2544)	0,8333 (0,7270)
RM6	0 (0,0029)	0,1304 (0,1246)	0,8696 (0,8725)
RA7	0,1429 (0,011)	0 (0,2637)	0,8571 (0,7253)
RM8	0,1667 (0,1265)	0,3833 (0,4637)	0,4500 (0,4098)
RA9	0 (0,0018)	0,1177 (0,1141)	0,8823 (0,8841)
RA10	0,1 (0,0316)	0,2 (0,3368)	0,7 (0,6316)

- *números entre parenteses referem-se as freqüências genótípicas esperadas

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos.

4.2.6. Transferrina

A literatura tem mostrado uma grande diversidade para esta proteína, que depende da raça investigada e metodologia empregada. O perfil isoelétrico da molécula de Tf está apresentado na figura 7. O homozigoto TfA/A apresentou duas bandas mais anódicas, uma mais rápida e de intensidade mais fraca e outra lenta de intensidade de coloração mais forte; o TfB/B apresentou duas bandas de migração intermediária, uma de intensidade fraca e a outra de maior intensidade; o TfCC apresentou o mesmo padrão de bandas, sendo de migração menos anódica que o TfB/B. Os heterozigotos; o Tf A/B, Tf A/C e Tf B/C apresentaram duas bandas de mesma intensidade, cujas migrações correspondem às bandas intensas de seus respectivos homozigotos Tf A/A, Tf B/B e Tf C/C.

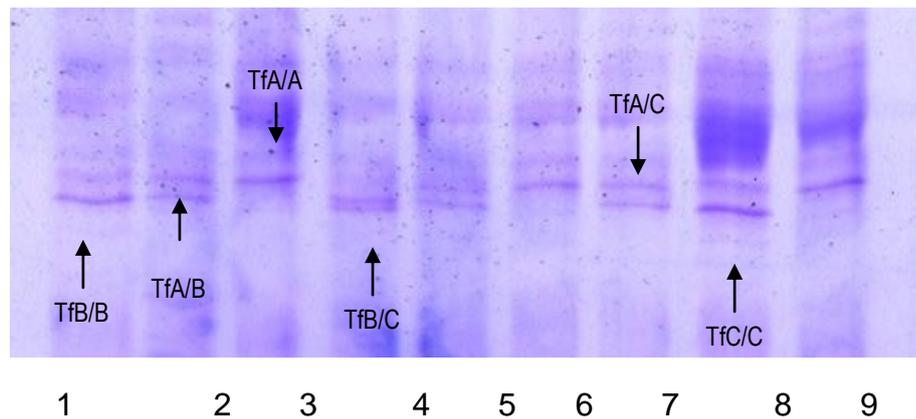


Figura 7. Perfil eletroforético das diferentes transferrinas. Amostras 1 e 5 (TfB/B); amostras 2 (TfA/B); amostras 3, 6 e 9 (TfA/A); amostra 4 (TfB/C); amostra 7 (TfA/C) e amostra 8 (TfC/C)

Nas tabelas 22 e 23 encontram-se as freqüências gênicas e genotípias para o loco da transferrina.

O alelo Tf^A foi o mais freqüente, em todos os rebanhos estudados, exceto no RM4, em que se observou a prevalência do alelo Tf^B . Esse resultado poderia sugerir maior influência de raças indianas no referido rebanho, pois segundo a literatura o alelo Tf^B tem sido considerado marcador genético de algumas raças indianas, como Jamunapari, Bengal, Barbari, Kutchi, Bhuj (SHAMSUDDIN *et al.*, 1988; IGARASHI, 1997). O alelo Tf^C ocorreu em todos os rebanhos investigados, em freqüências menores, variando de 0,022 (RM6) a 0,188 (RM5), na raça Moxotó e, de 0,071 (RA7) a 0,200 (RA10), na raça Anglo Nubiana, cujos resultados estão de acordo com os estudos realizados em algumas raças caprinas espanholas, nativas do Brasil e Africanas (BARBANCHO *et al.*, 1984; IGARASHI, 1997; VANKAN e BELL, 1992). A não ocorrência do alelo Tf^D no presente estudo colabora com a hipótese de esse alelo seja específico às raças Africanas (OSTERHOFF e WARD-COX, 1972).

Tabela 22. Frequências alélicas estimadas para o loco transferrina para cada rebanho

Rebanho	Alelos		
	Tf ^A	Tf ^B	Tf ^C
RM1	0,833	0,125	0,042
RM2	0,799	0,162	0,039
RM3	0,512	0,375	0,112
RM4	0,333	0,583	0,083
RM5	0,521	0,292	0,188
RM6	0,696	0,283	0,022
RA7	0,786	0,143	0,071
RM8	0,742	0,100	0,158
RA9	0,588	0,294	0,118
RA10	0,650	0,150	0,200

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

O teste exato de Fisher revelou que não houve diferenças ($P > 0,05$) quanto às composições gênicas e genóticas entre as raças Moxotó e Anglo-Nubiana. Em ambas as raças, houve predominância do genótipo Tf A/A não havendo diferenciação genotípica ($P > 0,05$) entre elas, segundo o teste exato de Fisher (Anexo 4).

Tabela 23. Descrição das frequências genóticas observadas e esperadas para o loco da transferrina.

Rebanho	Genótipos					
	Tf A/A	Tf A/B	Tf A/C	Tf B/B	Tf B/C	Tf C/C
RM1	0,6667 (0,6889)	0,2500 (0,2174)	0,0833 (0,073)	0 (0,0108)	0 (0,0108)	0
RM2	0,6233 (0,6374)	0,2857 (0,2601)	0,065 (0,0624)	0,0195 (0,026)	0 (0,0127)	0,0065 (0,0014)
RM3	0,2000 (0,2595)	0,4 (0,3892)	0,225 (0,1168)	0,175 (0,1377)	0 (0,0854)	0 (0,0114)
RM4	0,1667 (0,091)	0,1667 (0,4242)	0,1666 (0,0607)	0,5 (0,3181)	0 (0,106)	0
RM5	0,1667 (0,266)	0,375 (0,3102)	0,3333 (0,1995)	0,0834 (0,0806)	0,0416 (0,1117)	0 (0,032)
RM6	0,5217 (0,4792)	0,3044 (0,4020)	0,0435 (0,0310)	0,1304 (0,0753)	0 (0,0125)	0
RA7	0,5714 (0,6044)	0,2857 (0,242)	0,1429 (0,1209)	0 (0,011)	0 (0,0217)	0
RM8	0,5 (0,5484)	0,1833 (0,1495)	0,3 (0,2370)	0 (0,0092)	0,0167 (0,0320)	0 (0,0239)
RA9	0,353 (0,3387)	0,2941 (0,3565)	0,1765 (0,1426)	0,1176 (0,0802)	0,0588 (0,0713)	0 (0,0107)
RA10	0,4 (0,4105)	0,2 (0,2053)	0,3 (0,2737)	0 (0,0158)	0,2 (0,0632)	0 (0,0316)

* número entre parênteses referem-se a frequência genotípica esperada

4.2.7. Albumina

A variabilidade da albumina é explicada pela existência de dois alelos codominantes, denominados Alb^A e Alb^B , cujos produtos apresentam mobilidades anódicas crescentes. O perfil isoeletrico da molécula de albumina está apresentado na figura 8.

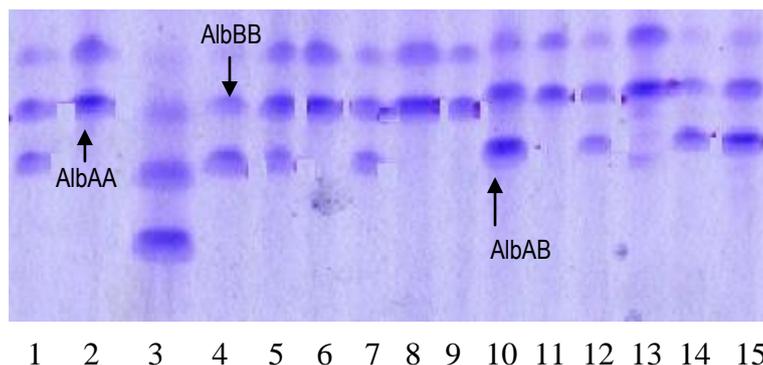


Figura 8. Perfil eletroforético da albumina. Amostras 2, 6, 8, 9, 11 e 13 (AlbAA); amostras 1, 5, 7 e 12 (AlbAB); amostras 4, 10, 14 e 15 (AlbBB) e, amostra 3 padrão bovino AlbBB

Ao nosso conhecimento, não havia na literatura relatos sobre análise de focalização isoeletrica da albumina para a espécie caprina. Em nossas análises empregamos amostras de bovinos, cujos fenótipos eram conhecidos, como controle, para a presente caracterização. O homocigoto Alb A/A apresenta duas bandas mais anódicas (uma mais rápida e de intensidade mais fraca e outra lenta de intensidade de coloração mais forte), o homocigoto Alb B/B apresenta o mesmo padrão, mas de menor migração anódica, sendo o heterocigoto com três bandas, duas de mesma intensidade, correspondentes às bandas intensas de seus homocigotos. As tabelas 24 e 25 apresentam as freqüências gênicas e genotípicas para o loco albumina. Entre os rebanhos da raça Moxotó, as freqüências do alelo Alb^A variaram de 0,435 (RM6) a 0,667 (RM1) e, entre os rebanhos da raça Anglo Nubina, de 0,088 (RA9) a 0,429 (RA7). . Em oposição, as freqüências do alelo Alb^B foram mais acentuadas na raça Anglo-Nubina. Essa

diferenciação gênica ($P < 10^{-4}$) revelada pelo teste exato de Fisher torna esse loco uma ferramenta de grande potencial para os estudos de caracterização genética de raças caprinas. Na literatura, a albumina tem sido relatada como monomórfica para algumas raças caprinas (IGARASHI, 1997 e EFREMOV e BRAEND, 1964). OSTERHOFF e WARD-COX (1972) encontraram dois alelos Alb^A e Alb^B , onde o primeiro apresentava freqüência baixa em cabras do Sul da África e com freqüência maior em cabras da raça Angorá.

Tabela 24. Freqüências alélicas da Albumina estimadas para cada rebanho

Rebanho	Alelos	
	Alb^A	Alb^B
RM1	0,667	0,333
RM2	0,604	0,396
RM3	0,587	0,412
RM4	0,667	0,333
RM5	0,500	0,500
RM6	0,435	0,565
RA7	0,429	0,571
RM8	0,517	0,483
RA9	0,088	0,912
RA10	0,200	0,800

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

Na tabela 25, observa-se predominância do genótipo $Alb^A B$ nos rebanhos Moxotó, e o tipo $Alb^B B$ nas populações da raça Anglo Nubiana. Este loco também apresentou diferenciação genotípica ($P < 10^{-5}$) entre as raças segundo o teste exato de Fisher, podendo ser considerado ferramenta de grande potencial no estudo de caracterização racial. O Teste exato de Fisher revelou diferenças entre os seguintes pares de as população (Anexo 2) RM1xRA9, RM1xRA10, RM2xRA9, RM2xRA9, RM2xRA10, RM3xRA9, RM3xRA10, RM4xRA9, RM4xRA10, RM5xRA9, RM5xRA10, RA7xRA9, RM8xRA9 e RM8xRA10(Anexo 4).

Tabela 25. Descrição das frequências genótípicas observadas e esperadas para o loco Albumina

Rebanho	Genótipos		
	Alb A/A	Alb A/B	Alb B/B
RM1	0,5 (0,4348)	0,3333 (0,4638)	0,1667 (0,1014)
RM2	0,3701 (0,3640)	0,4675 (0,4799)	0,1624 (0,1561)
RM3	0,3250 (0,3421)	0,5250 (0,4908)	0,150 (0,1671)
RM4	0,3333 (0,4242)	0,6667 (0,4850)	0 (0,0908)
RM5	0,1667 (0,2447)	0,6666 (0,5106)	0,1667 (0,2447)
RM6	0,1304 (0,1836)	0,6086 (0,5024)	0,2610 (0,3140)
RA7	0 (0,1648)	0,8572 (0,5274)	0,1428 (0,3078)
RM8	0,2 (0,2649)	0,633 (0,5036)	0,1667 (0,2315)
RA9	0 (0,0054)	0,1765 (0,1658)	0,8235 (0,8288)
RA10	0 (0,0316)	0,4 (0,3368)	0,6 (0,6316)

- *números entre parênteses referem-se as frequências genótípicas esperadas

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos.

4.3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Na tabela 26 estão apresentados os resultados dos testes de equilíbrio genético para cada loco polimórfico investigado nos sete rebanhos da raça Moxotó e três rebanhos da raça Anglo-Nubiana. Quando todos os locos (Hb, Tf, Em, Dia-I, Dia-II, Alb, Est-D, xP) foram considerados na análise, o teste exato de Fisher com probabilidade combinada revelou que os três rebanhos da raça Moxotó (RM1, RM4, RM6) e os rebanhos da raça Anglo-nubiana (RA7, RA9 e RA10) encontravam-se em equilíbrio segundo o teorema de Hardy-Weinberg, ou seja, os desvios das proporções genótípicas não foram significativos ($P > 0,05$). Entretanto, no rebanho RM4 foi verificado um desvio significativo ($P = 0,0303$) entre as distribuições genótípicas observadas e teóricas para o loco EM. O valor alto e positivo de FIS foi concordante com a hipótese aceita, que sugere déficit de heterozigotos, embora o teste tenha revelado que este rebanho estava em equilíbrio genético, quando os outros locos foram considerados ($P = 0,5490$; $\chi^2 = 10,8$; $GI = 14$).

Com relação aos testes exatos de Fisher com probabilidades combinadas, que foram realizados para os rebanhos RM2 ($P > 10^{-4}$; $\chi^2 = 55,5$; $Gl = 14$), RM3 ($P = 0,0476$; $\chi^2 = 21,2$; $Gl = 12$), RM5 ($P > 10^{-4}$; $\chi^2 = 10,7$; $Gl = 14$) e RM8 ($P = 0,0076$; $\chi^2 = 27,1$; $Gl = 12$), os resultados obtidos demonstram que estes rebanhos encontravam-se fora de equilíbrio.

As não aderências das distribuições genóticas às teóricas segundo o teorema de Hardy-Weinberg foram devidas, principalmente ao déficit observado de heterozigoto no loco EM para os rebanhos RM2 ($P < 10^{-4}$), RM5 ($P < 10^{-4}$) e RM8 ($P = 0,0089$) e ao déficit de heterozigoto observado no loco xP para os rebanhos RM3 ($P = 0,004$) e RM5 ($P = 0,0012$). Esses resultados poderiam ser decorrentes de acasalamentos entre indivíduos aparentados, devido ao pequeno número de reprodutores, que estariam limitando a variabilidade destes rebanhos e, desta forma, propiciando a fixação de determinados alelos.

Os excessos de heterozigotos observados nos locos Tf e Al poderiam explicar a causa do desequilíbrio genético no rebanho RM8, provavelmente decorrente da seleção e do sistema semi-intensivo de criação, que estariam favorecendo animais de genótipos superiores em seus cruzamentos. Outro fator que poderia justificar os excessos de heterozigotos observados seria uma possível ligação ou interação dos locos da transferrina e albumina com locos submetidos à seleção pelo criador, como aqueles relacionados às características de interesse zootécnico.

Os valores de FIS estimados para os locos EM, Xp e Tf sustentam as hipóteses tanto para déficit como para excesso de heterozigotos, uma vez que valores elevados e positivos sugerem excesso de homozigotos e valores elevados e negativos, excesso de heterozigotos.

Tabela 26. Teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg em caprinos das raças Moxotó e Anglo Nubiana

Rebanho	Locos	Número de Animais		Teste FIS	exato Déficit de heterozigoto	De Excesso de heterozigoto	Fisher Geral
		Homozigotos	Heterozigotos				
RM1	Hb	7(7,608)	5(4,391)	-0,1458	ns	Ns	ns
	Tf	8(8,39)	4(3,61)	-0,1139	ns	Ns	ns
	Em	6(5,522)	6(6,478)	0,0769	ns	Ns	ns
	DIA-II	11(11)	1(1)	0	ns	Ns	ns
	Al	8(6,435)	4(5,565)	0,2903	ns	Ns	ns
	Est-D	9(9,261)	3(2,739)	-0,100	ns	Ns	ns
	xP	11(11)	1(1)	0	ns	Ns	ns
RM2	Hb	106(107,176)	48(46,824)	-0,0252	ns	Ns	ns
	Tf	100(102,365)	54(51,635)	-0,0460	ns	Ns	ns
	Em	103(74,3)	51(79,7)	0,3610	<10 ⁻⁴	Ns	<10 ⁻⁴
	Dia-I	152(152,01)	2(1,99)	-0,0033	ns	Ns	ns
	Al	82(80,085)	72(73,915)	0,0260	ns	Ns	ns
	Est-D	131(127,645)	23(26,355)	0,1277	ns	Ns	ns
	xP	85(91,348)	59(52,652)	-0,1210	ns	Ns	ns
RM3	Hb	28(28,827)	10(9,173)	-0,0914	ns	Ns	ns
	Tf	15(16,342)	25(23,658)	-0,057	ns	Ns	0,0265
	Em	28(25,2)	10(12,8)	0,2210	ns	Ns	ns
	Al	19(20,367)	21(19,633)	-0,0710	ns	Ns	ns
	Est-D	34(34,16)	4(3,84)	-0,0420	ns	Ns	ns
	xP	23(18,143)	2(6,857)	0,7130	0,004	Ns	0,004
RM4	Hb	3(3,11)	2(1,89)	-0,0670	ns	Ns	ns
	Tf	4(2,45)	2(3,55)	0,4590	ns	Ns	ns
	Em	6(3,09)	0(2,91)	1	0,0303	Ns	0,03
	Al	2(3,1)	4(2,9)	-0,4290	ns	Ns	ns
	Est-D	4(4,182)	2(1,82)	-0,1110	ns	Ns	ns
	xP	4(4,182)	2(1,82)	-0,1110	ns	Ns	ns
RM5	Hb	13(14,702)	11(9,298)	-0,1880	ns	Ns	ns
	Tf	6(9,085)	18(14,915)	-0,2120	ns	Ns	ns
	Em	22(13,36)	2(10,64)	0,8150	<10 ⁻⁴	Ns	<10 ⁻⁴
	Al	8(11,745)	16(12,255)	-0,3140	ns	Ns	ns
	Est-D	21(21,13)	3(2,87)	-0,0450	ns	Ns	ns
	xP	23(17,894)	1(6,106)	0,8390	0,0012	Ns	0,0012
RM6	Hb	10(13,2)	13(9,8)	-0,3336	ns	Ns	Ns
	Tf	15(12,76)	8(10,24)	0,2230	ns	Ns	ns
	Em	15(12,31)	8(10,69)	0,2560	ns	Ns	ns
	Dia-I	19(19,27)	4(3,73)	-0,0730	ns	Ns	Ns
	Al	9(11,4)	14(11,6)	-0,2170	ns	Ns	ns
	Est-D	17(16,24)	6(6,76)	0,1140	ns	Ns	ns
	xP	20(20,13)	3(2,87)	-0,0480	ns	Ns	ns
RA7	Hb	5(5,154)	2(1,846)	-0,0910	ns	Ns	ns
	Tf	4(4,308)	3(2,692)	-0,1250	ns	Ns	Ns
	Em	5(3,923)	2(3,077)	-0,3680	ns	Ns	ns
	Dia-I	6(6)	1(1)	0	ns	Ns	ns
	Al	1(3,308)	6(3,692)	-0,7140	ns	Ns	ns
	Est-D	4(4,46)	3(2,54)	-0,2000	ns	Ns	ns
	xP	7(5,154)	0(1,846)	1	ns	Ns	ns

Continuação da Tabela 26.

Rebanho	Locos	Número de Animais		Teste FIS	exato Déficit de heterozigoto	De Excesso de heterozigoto	Fisher Geral
		Homozigotos	Heterozigotos				
RM8	Hb	41(43,72)	19(16,28)	-0,1690	ns	Ns	Ns
	Tf	30(34,899)	30(25,101)	-0,1970	ns	0,0239	ns
	Em	45(34,04)	14(24,96)	0,4410	0,0089	Ns	0,0008
	Al	22(29,78)	38(30,22)	-0,2600	ns	0,0387	ns
	Est-D	36(33,11)	24(26,89)	0,1080	ns	Ns	ns
	xP	37(32,18)	23(27,82)	0,1750	ns	Ns	ns
RA9	Hb	13(10,697)	4(6,303)	0,3730	ns	Ns	ns
	Tf	8(7,303)	9(9,687)	0,0740	ns	Ns	ns
	Em	12(8,727)	5(8,273)	0,4030	ns	Ns	ns
	Al	14(14,182)	3(2,818)	-0,0670	ns	Ns	ns
	Est-D	10(9,333)	7(7,667)	0,0890	ns	Ns	ns
	xP	15(15,06)	2(1,94)	-0,0320	ns	Ns	ns
RA10	Hb	8(8,105)	2(1,895)	-0,0590	ns	Ns	ns
	Tf	4(4,579)	6(5,421)	-0,1130	ns	Ns	ns
	Em	4(4,579)	6(5,421)	-0,1130	ns	Ns	ns
	Al	6(6,632)	4(3,368)	-0,2000	ns	Ns	ns
	Est-D	6(4,737)	4(5,263)	0,2500	ns	Ns	ns
	xP	8(6,632)	2(3,368)	0,4190	ns	Ns	ns

ns = não significativo ($p > 0,05$).

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco. Valores entre parênteses correspondem às quantidades esperadas de indivíduos homozigotos e heterozigotos, se a população estivesse em equilíbrio genético.

4.4. Índice de diversidade

A Tabela 27 apresenta os valores de P, Ap e Pa. Dos dez locos investigados no presente estudo, oito apresentaram-se polimórficos. No entanto, os valores de P estimados para cada rebanho da raça Moxotó e Anglo-nubiana variaram de 60 a 70%. Dentre as populações da raça Moxotó, os rebanhos RM1, RM2 e RM6 foram os que apresentaram os maiores valores para P. Com relação aos valores de PA, as maiores estimativas foram obtidas para os rebanhos da raça Moxotó, cujos valores variaram de 95,45 % (RM2) a 81,82% (RM4), sugerindo maior variabilidade genética para os caprinos Moxotó em relação aos Anglo-nubiana. Nessa última raça, os valores de PA variaram de 86,36 % (RA10) a 77,27% (RA7).

Tabela 27. Proporção de locos polimórficos (P), número médio de alelos por locos polimórficos (A_p) e proporção de alelos contidos em cada população (P_A) para 10 populações caprinas com base na variação observada em cada locos

População	Nº de animais	P(%)	A_p	P_A (%)
RM1	12	70	2,25	90,91
RM2	154	70	2,38	95,45
RM3	40	60	2,13	81,82
RM4	6	60	2	81,82
RM5	24	60	2,13	86,36
RM6	23	70	2,25	90,91
RA7	7	70	2	81,82
RM8	60	60	2,13	86,36
RA9	17	60	1,88	77,27
RA10	10	70	2,13	86,36

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

Com relação ao número médio de alelos por loco polimórfico, pode-se observar que os maiores valores foram estimados para os rebanhos da raça Moxotó, variando de 2 (RM4) a 2,38 (RM2). Estes resultados corroboram com a hipótese de que estes animais ainda mantêm um pool gênico, e que devido ao seu longo período de seleção natural, muitos genes foram selecionados e têm lhes permitido sobreviver às condições adversas do semi-árido. Em relação aos animais da raça Anglo Nubiana, observou-se os menores valores, como era esperado, tendo em vista o processo de seleção artificial que estes animais estão sendo submetidos para o desenvolvimento de uma raça especializada.

Na tabela 28 estão apresentados os valores de heterozigidade média observada (\hat{H}_o) e esperada (\hat{H}_e) e índices de fixação (F).

Em geral, as estimativas de de heterozigidade observada , \hat{H}_o , foram menores em relação às esperadas. (\hat{H}_e) Os valores de \hat{H}_o variaram de 18,31% a 24,66% na população Moxotó e, de 17,64% a 25% na Anglo Nubiana enquanto que H_e , de 19,19% a 25,21% e 21,58% a 25,73%, respectivamente.

Com relação aos índices de fixação, pode-se observar que na maioria dos rebanhos os valores de F foram positivos, excetuando os rebanhos RM6 e RA7, em que os valores de F foram negativos. Entretanto, estes valores foram muito pequenos para indicar excesso de indivíduos heterozigotos, cujos resultados estão de acordo com os testes exatos de Fisher apresentados anteriormente, que sugerem que ambas as populações encontram-se em equilíbrio segundo o teorema de Hardy-Weinberg (Tabela 26).

Os valores de F positivos, poderiam indicar déficit de animais heterozigotos ou excesso de indivíduos homozigotos, cuja estimativa está intimamente relacionada com o tamanho da amostra, número de locos investigados, freqüências alélicas, etc. Devido a estes fatores, o índice de fixação foi interpretado em conjunto com os resultados do teste de equilíbrio genético, apresentado anteriormente (Tabela 26), sugerindo níveis acentuados de endogamia apenas para os rebanhos RM2, RM3, RM5 e RM8.

Tabela 28. Estimativas da heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) e observada (\hat{H}_o) e o índice de fixação médio (F) obtido com base nos 10 locos de proteínas

População	\hat{H}_o	\hat{H}_e	F
RM1	0,2	0,206521	0,031575
RM2	0,200649	0,216279	0,072264
RM3	0,1831	0,191901	0,046386
RM4	0,2	0,24815	0,194035
RM5	0,212499	0,233687	0,090669
RM6	0,243477	0,2257	-0,0787651
RA7	0,242857	0,238464	-0,0184189
RM8	0,246666	0,252113	0,0216213
RA9	0,17647	0,215864	0,1824965
RA10	0,25	0,257368	0,028629

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

4.5. Análise da diversidade em populações subdivididas

A diversidade gênica é um método alternativo para medir a variação presente nas populações em estudo e, segundo WEIR (1996), citado por

OLIVEIRA (2003), é uma das medidas mais apropriadas para se medir a variabilidade de populações próximas, que possam ter algum grau de consangüinidade.

Como visto na tabela 29 observa-se, que em média a divergência genética estimada com base nos oito locos de proteínas foi cerca de 9,88%. Este resultado indica que apenas 9,88% da diversidade total é decorrente de diferenças genéticas entre as populações e, 90,12% da variabilidade existente dentro das populações. Os maiores valores de GST foram estimados para os locos Est-D (0,3255), Alb (0,1341) e Tf (0,09007). Estes resultados demonstram que estes locos foram os mais informativos, pois expressaram os maiores índices divergências entre as populações investigadas, sendo extremamente importantes em estudo de caracterização genética em caprinos.

Tabela 29. Estimativas de Ht, Hs e Gst para os oito locos polimórficos

Locos	Índice de diversidade de NEI		
	Gst	Ht	Hs
Est-D	0,325556	0,453194	0,305654
Hb	0,029369	0,317465	0,308141
Tf	0,090072	0,509203	0,463338
Em	0,062378	0,481466	0,451433
DIA-I	0,050455	0,041884	0,039771
DIA-II	0,037959	0,008365	0,008047
Alb	0,134161	0,49233	0,432390
xP	0,060772	0,266072	0,249902
Média	0,0988	—	—

4.6. Estimativa da distância genética

Com base nas freqüências gênicas estimadas para as dez populações caprinas foi possível calcular as distâncias genéticas padrões (DA) e as corrigidas para pequenas amostras (Ds). As estimativas foram obtidas para todos os pares de populações investigadas.

Na tabela 30 estão apresentados os valores de DA e Ds que foram estimadas com o emprego do programa DISPAN (KUMAR et al., 1993), segundo

as metodologias de NEI (1972 e 1978), respectivamente. Em geral, as distâncias genéticas padrão (DA) foram superiores às distâncias corrigidas (Ds).

As menores divergências foram observadas entre as populações RM5 e RM3, cujas estimativas de DA e Ds foram 0,0065 e 0,0028, respectivamente. Esses valores pequenos já eram esperados, pois os animais pertencentes à população RM5, originaram-se do rebanho RM3. OLIVEIRA (2003) estudando populações caprinas da raça Moxotó através de RAPD, encontrou valores para os coeficientes de distâncias genéticas que variaram entre 0,0546 e 0,1868.

Por outro lado, os maiores valores de distância DA e Ds foram estimados entre pares de rebanhos de raças distintas, principalmente entre RM3 X RA9 (0,0559) e RM3 x RA7 (0,0713), respectivamente. Estes resultados já eram esperados, pois, a raça Anglo Nubiana teve sua origem na Índia e, a raça Moxotó, fundada por representantes de origem ibérica trazidos pelos colonizadores portugueses e espanhóis.

As distâncias genéticas estimadas no presente estudo refletem uma menor divergência entre rebanhos de mesma raça, exceto para a população RM4, que apresentou valores altos para DA e Ds 0,0486 e 0,0518, respectivamente. Estes resultados sugerem que a composição genotípica do rebanho RM4 está mais próxima das observadas nas populações de raça Anglo Nubiana. Este fato poderia ser explicado, pela falta de controle reprodutivo, entrada de reprodutores de outra raça, manejo extensivo, que teriam causado miscigenações não desejadas e, conseqüentemente, perda de características próprias da raça Moxotó.

Tabela 30. Distância genética entre as dez populações caprinas estimadas pelo método de NEI (1972 e 1978), a partir das freqüências gênicas obtidas para oito locos. A distância genética padrão (DA) de Nei (1972) está representada acima da diagonal, e a distância corrigida para amostras pequenas, (Nei, 1978) abaixo da diagonal

	RM1	RM2	RM3	RM4	RM5	RM6	RA7	RM8	RA9	RA10
RM1	—	0,0094	0,0111	0,0429	0,0094	0,0140	0,0417	0,0128	0,0542	0,0295
RM2	0,0066	—	0,0189	0,0420	0,0133	0,0152	0,0429	0,0209	0,0515	0,0367
RM3	0,0082	0,0094	—	0,0416	0,0065	0,0236	0,0520	0,0227	0,0559	0,0400
RM4	0,0458	0,0422	0,0518	—	0,0404	0,0442	0,0325	0,0355	0,0372	0,0390
RM5	0,0058	0,0073	0,0028	0,0486	—	0,0159	0,0496	0,0172	0,0480	0,0305
RM6	0,0045	0,0046	0,0039	0,0325	0,0038	—	0,0295	0,0213	0,0346	0,0217
RA7	0,0635	0,0566	0,0713	0,0235	0,0710	0,0497	—	0,0206	0,0174	0,0132
RM8	0,0066	0,0126	0,0122	0,0281	0,0109	0,0111	0,0265	—	0,0317	0,0134
RA9	0,0565	0,0576	0,0599	0,0414	0,0543	0,0353	0,0120	0,0285	—	0,0139
RA10	0,0277	0,0300	0,0287	0,0275	0,0245	0,0118	0,0110	0,0125	0,0072	—

As populações da raça Moxotó RM1 e RM2 referem-se aos rebanhos localizados no Rio Grande do Norte; RM3, RM4 e RM5 ao estado de Pernambuco; RM6 e RM8, ao Estado da Paraíba. As populações da raça Anglo Nubiana está representada em RA7 e refere-se ao estado da Paraíba e, a RA9 e RA10, ao Estado de Pernambuco.

4.7. Análise do cluster

O dendrograma construído a partir de estimativas de freqüências alélicas com base nos oito locos polimórficos, apresentou dois clusters principais: um agrupando todos os rebanhos da raça Moxotó, excetuando o rebanho (RM4) e o outro, os rebanhos da raça Anglo-Nubiana (Figura 9). No primeiro cluster, pode-se observar que os rebanhos Moxotó RM1 e RM2, pertencentes ao estado do Rio Grande do Norte possuem uma grande similaridade em relação aos demais, sendo o mesmo observado entre os rebanhos RM3 e RM5, pertencentes ao estado de Pernambuco, cujas procedências estariam facilitando o fluxo gênico entre os mesmos, homogeneizando as suas composições genéticas. Os rebanhos RM6 e RM8, pertencentes ao estado da Paraíba, apesar de compartilharem o cluster da raça Moxotó, apresentam maiores diferenças em suas composições genotípicas, sendo que o cruzamento poderia propiciar no aumento da variabilidade genética desses rebanhos, além de proporcionar um aumento no tamanho efetivo da população, favorecendo a conservação da raça Moxotó. Em oposição, o RM4, que também possui o mesmo ancestral, apresentou a menor

identidade genética em relação às populações investigadas da raça Moxotó, conforme discutido anteriormente, razão pela qual está agrupado próximo às populações da raça Anglo Nubiana, confirmando uma maior introdução de genes desta raça nesse rebanho.

No segundo cluster, pode se também observar que os rebanhos da raça Anglo Nubiana dos estados da Paraíba (RA7) e Pernambuco (RA10) possuem maior identidade genética quando comparado ao outro rebanho do estado de Pernambuco (RA9).

Estes resultados demonstram as relações genéticas entre as dez populações investigadas, em que rebanhos que apresentam um mesmo ancestral foram agrupados muito próximos, refletindo a variabilidade genética existente entre as diferentes populações.

A análise de diversidade de NEI (1973) revelou valores consideráveis para G_{ST} , permitindo quantificar o nível de diferenciação genética que pode ser atribuído às diferenças entre os rebanhos, sendo possível identificar quais locos foram os mais informativos, já que permitiram separar rebanhos em função de suas raças. Os resultados obtidos no presente estudo confirmam a especificidade de alguns locos, tais como Hb, Alb, Est-D, Xp, sendo o loco Est-D o mais informativo em estudos de caracterização e relação genética entre raças caprinas.

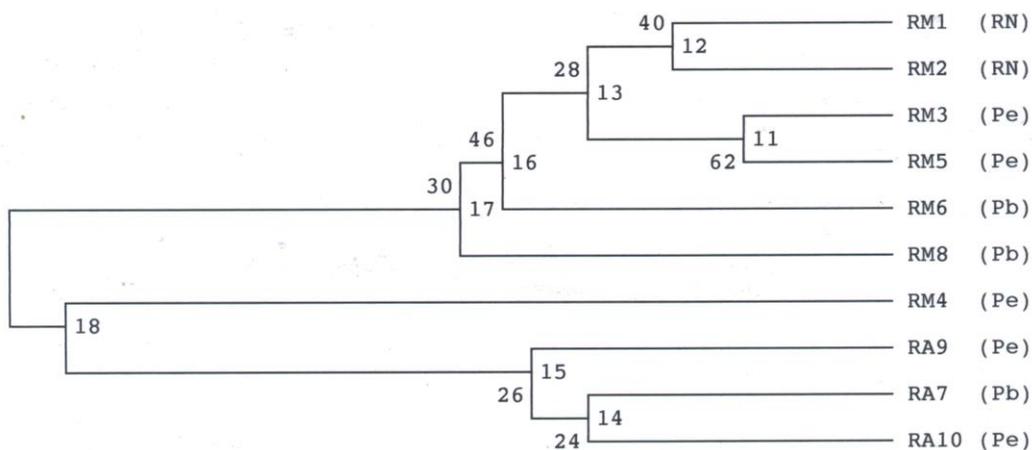


Figura 9. Dendrograma construído com base no método UPGMA, a partir da distância genética de NEI (1972), demonstrando as relações genéticas entre os 10 rebanhos caprinos

5. CONCLUSÕES

- ✓ As análises de polimorfismos da hemoglobina, albumina, proteína-X e esterase-D revelaram através do teste exato de Fisher, que esses locos foram os mais informativos sendo de grande aplicação nos estudos de caracterização de raças caprinas. Já com base nos valores de G_{st} , os locos mais informativos foram o da esterase-D, albumina e transferrina.
- ✓ Este trabalho revelou que mesmo existindo técnicas mais avançadas para a caracterização genética, os polimorfismos de proteínas revelam informações muito úteis, permitindo quantificar a variabilidade inter e intra populacional nos estudos de caracterização de raças caprinas.
- ✓ O isolamento reprodutivo da raça Moxotó demonstrado claramente nas análises do dendograma e pelo gráfico das análises morfoestruturais, representa uma ameaça para a conservação desta raça. Contribuindo para a perda da diversidade.
- ✓ As técnicas de análise genética e morfométrica utilizadas foram úteis na observação do grau de relacionamento entre os indivíduos estudados, podendo auxiliar na definição de programas de conservação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, U. G. P. de, MARIANTE, A. da S.; SANTOS, S. A.; Conservação Genética de Raças Naturalizadas do Pantanal (A Raça Pitangueira e sua Variabilidade Genética), **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, número 05, ano 1, Março/Abril 1998, p. 18 –21. Disponível em <http://www.biotecnologia.com.br/bio05/5_f.asp>. Acesso em: 9 set. 2003.

ASHTON, G. C. Beta – globulin polymorphism and economic factors in dairy cattle. **J. Agric. Sci.**, v. 54, p. 321-328, 1960

BARBANCHO, M. LLANES, D.; MORERA, L.; GRARZÓN, R. E RODERO, A. Genetic markers in the blood of Spanish goat breeds. **Anim. Blood Groups biochem. Genet.**, v.15, p.207-212, 1984.

BARKER, J.S.F.; TAN, S.G.; MOORE, S.S., et al. O.S. Genetic variation within and relationships among populations of Asian goats (*Capra hircus*). **Journal of Animal Breeding and Genetics**, vol. 118, p. 213-233,2001.

BASSET, P., BEUZARD, Y., GAREL, M. C. e ROSA, J. Isoelectric focusing of human hemoglobin: its application to screening to the characterization of 70 variants, and to the study of modified fractions of normal hemoglobins. **Blood**, v. 51, n. 5, p. 971-982, 1978.

BRAEND, M.; TUCKER, E. M. Hemoglobin types in Saanen goats and Barbary sheep: genetic and comparative aspects. **Biochem. Genet.**, v.26, n.7/8, p. 511-518, 1988.

BONFIM, S. R. M., **Possíveis correlações entr isoenzimas sanguíneas e produção de leite em búfalas (*Bubalus bubalis*)**. Botucatu, 2003, 61 f. Tese (Doutorado em Genética) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

BORTOLLOZZI, J. **Grupos sanguíneos e polimorfismo bioquímico em bovinos da raça Canchin**. 1979. 172 f. Tese (Livre Docência em Genética) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 1979.

BORTOLOZZI, J., PAGANINI, M. I.; PAGANINI, M. I., Metodologia usada no estudo dos sistemas polimorficos de bovinos. I Polimorfismo bioquímico. **Naturalia**, v. 7, p. 53 – 64, 1982.

CARVALHO, I. M. B. S. M. de. **Caracterização genética de raças bovinas autóctones portuguesas. Estudo de polimorfismos protéicos e microssatélites.** Dissertação (Mestrado em Ecologia). 125 f. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2000.

CEPICA, S. e STRATIL, A. Further studies on sheeppolymorphic erythrocyte diaphorase. **Anim. Blood Grps Biochem. Genet.** 9, 239-243, 1978.

COSTA, M. J. R. P., TONHATI, H., OLIVEIRA, P. S. P. F., PEREIRA, M. C. Haemoglobin polymorphism and haematocrit values and Hb concentration in Jersey cows. **Vet. Zootec.**, São Paulo, v. 1, p. 21 –23, 1985.

DEL LAMA, S. N. **Caracterização genética das raças zebuínas criadas no Brasil através de polimorfismo protéico e grupos sanguíneos.** 1992. 207 f. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, 1992.

DEL LAMA, S. N.; DEL LAMA, M. A.; MESTRINER, M. A. e MORTARI, N. Esterase D polymorphism and partial characterization of red blood cell esterases in cattle and buffalo populatins. **Brazilian Journal of Genetics**, v.19, n. 2, p. 243-248, 1996

DEZA, C. et al. Protein polymorphism in native goats from central Argentina. **Small Ruminant Research**, v. 35, p. 195-201, 2000.

DOMINGUES, O. O. Caprino no Nordeste. In _____ **Á margem da Zootecnia.** Editora Alba LAUR-60-Rio 1942. p. 155-170, 1942.

EFREMOV, G. e BRAEND, M. Haemoglobins, tranferrins and albumins of sheep and goats. In: EUROPEAN CONFERENCE ON ANIMAL BLOOD GROUPS AND POLYMORPHISM, 9, Prageu, **Proceedings...** Prageu, p. 313-320, 1964.

EGITO, A.A., MARIANTE, A.S. e ALBUQUERQUE, M.S.A. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Arch. Zootec.** V. 51, n. 193-194, p. 39-52. 2002. Disponível: www.uco.es/organiza/servicos/publica/az...pdf/07edito.pdf. Acesso em: 14 maio de 2003.

FAO (Food and Agriculture Organization), La Estrátégia Mundial de la FAO para los Recursos Zoogenéticos, V Congreso de la Sociedad Española para los Recursos Genéticos Animales – III Congresso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales, **Facultad de Veterinária de Madrid**, 18,19 e 20 de septiembre, p. 25-40, 2002.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1996, 220p.

FUTUYMA, D. J. Biología Evolutiva, VIVO, M. & SENA, F. M. eds. Ribeirao Preto, SBG/CNPQ, 1992. 631 p.

GARRIDO-ESPIGA, R. G.; BURILLO, I. Z.; VICENTE, M. V.; FRANGANILLO, A R. Polimorfismo bioquímico de la raza caprina Granadina. **Arch. Zoote.**, v.25, n.98, p.147-170, 1976.

HARRIS, H. e HOPKINSON, D. A. **Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics.** North-Holland, Amsterdam, 1976.

HASHIMA, N.; DHALIWAL, S. S. e MUKHERJEE, T. K. The red cell “x” – protein system in goats: Evidence for a third allele in a Malaysian breed. **Anim. Genet.**, v. 19, p. 37-42, 1988.

HENKES, L. E. **Investigação da variabilidade genética em um rebanho ovino Rommey Marsh Booroola**. Porto Alegre: UFRS, 1992, 127 f. Dissertação de Mestrado, 1992.

HERRERA, M.; RODERO, E.; GUTIERREZ, M. J.; PEÑA, F.; RODERO, J. M. Application of multifactorial discriminant analysis in the morphostructural differentiation of Andalusian caprine breeds. **Small Ruminant Research**, 22, p. 39-47, 1996.

HERSON, E. L. Insituconservation of livestock and poultry. **FAO-UNEP**. Animal Production and Health Paper, p. 99-112. 1992

HUISMAN, T. H. J., ADAMS, H. R., DIMMOCK, M. O., EDWARDS, W. E. e WILSON, J. B., The structure of goat hemoglobins. 1. Structural studies of the β chains of the hemoglobins of normal and anemic goats. **The journal of Biological Chemistry**. v. 242, n. 10, pp. 2534-2541, 1967.

HUISMAN, T. H. J., BRANDT, G. e WILSON, J. B. The structure of goat hemoglobins. II- Structural studies of the α chains of the hemoglobin A and B. **J. Biol. Chem.**, v. 243, n. 13, p. 3675-3686, 1968.

HUISMAN, T. H. J.; VAN VLIET, G. e SEBENS, T. Sheep haemoglobins. II. Haemoglobins types in different species of sheep. **Nature**, v. 82, p. 172-173, 158. 1970.

HUNTER, R. L; MARKET, C. L. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. **Science**, 125: 1294-1295, 1957.

IGARASHI, M. L. S. de P. **Variaabilidade genética em caprinos de rebanhos do Nordeste brasileiro**. 1997. 83f. Tese (Doutor em Ciências: Genética). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1997.

KHANTTER, R.; NAIK, D. N. Multivariaty data reduction and discrimination: With SAS softwer. SAS Institut. SASA Campus Drive, Cary North Carolina, 2000. p. 211-346.

KILGOUR, L.; DIXON, S. C.; TUCKER, E. M. Two new sheep haemoglobins, one of which is replaced by haemoglobin C in anaemia. **Animal Genetics**. v. 21, pp. 115-121, 1990.

KRISTJANSSON, F. K. Genetics control of two pre-albumins pigs. **Genetics**, 48: 1059-1063, 1963.

KRISTJANSSON, F. K. Transferrin types and reproductive performance in the pig. **J. Reprod. Fertil.**, v. 8, p, 311 – 317, 1964.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. **(DISPAN) Molecular Evolutionary Analysis- MEGA**. Intitute of Molecular Evolutionary Genetics, Pennsylvania State University Park, 1993

LANARI, M.R., TADDEO , H., DOMINGOS, E., PEREZ CENTENO, M., GALLO, L. Phenotypic dofferentiation of exterior traits in local criollo goat population in Patagônia (Argentina), **Instituto Nacinal de Agropecuaria**. INTA – EEA, Bariloche, Argentina, 2003.

LARA, M. A. C.; VERRÍSSIMO, C. J.; NOGUEIRA, J. R.; REICHERT, R. H.; CONTEL, E. P. B., Caracterização do gado bovino das raças Holandesa, Gir e seus mestiços através de polimorfismo protéicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,33, Fortaleza, 1996. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1: 326 – 328, 1996.

LARA, M. A. C. e CONTEL, E. P. B. A new allele of peptidase-B in cattle. **Brazil. J. Genet.**, v.20, n.1, p. 9-12, 1997.

LARA, M. A.; SERRANO, J. R. B.; MAZZA, MC. M.; CONTEL, E. P. B. Investigação da variabilidade genética em bovinos Pantaneiros a través de polimorfismo de proteínas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, Juiz de Fora, 1997. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 3: 59-61, 1997.

LARA M. A. **Variabilidade genética em bovinos e bubalinos através de polimorfismos protéicos: análise populacional e suas implicações no melhoramento.** Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 1998, 215f. Tese de Doutorado.

LARA, M.A.C.; CUNHA, E.A. da; BUFARAH, G.; CONTEL, E.P.B. Situação da Caracterização Genética Animal no Instituto de Zootecnia. In: II SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE – SIRGEALC. Brasília, 1999. **Proceeding...** Brasília, 1999.

LARA, M.A.C., SERENO, J.R., ABREU, U.G.P. de, SERENO, F.T.P.S., CONTEL, E.P.B., Estúdio Preliminar de relaciones genéticas entre razas naturalizadas brasileiras, Cebuínas y europeas, **Arch. Zootec.** 50:165 – 170. 2001.

LARA, M. A C.; VERÍSSIMO, C. J.; BUFARAH, G. et al. Variabilidade genética em raças ovinas de corte através de polimorfismos de proteínas e sua relação com resistência à verminose. In: V CONGRESO NACIONAL y III IBÉRICO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA SOBRE LOS RECURSOS GENÉTICOS ANIMALES, 2002, Madrid. **Boletín de la Sociedad Española para los Recursos Genéticos Animales**, n.5, v.1, p.127, 2002.

LAUVERGNE J. J. Recent Progress in the Science of Genetic Recources. **Procc. Brazil**, p 657-669. 1987.

LEWIS, W. H. P.; HARRIS, H. Human red cell peptidases. **Nature**, 215: 351-355, 1967.

LOUIS, E. J.; DEMPSTER, E. R. Na exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles. **Biometrics**, 43:808-811, 1987.

MANLY, B. F. J. principal components analysis. In: _____, Multivariat statistical methods: Aprimer. Ed. New Zeland: Universaty of Otago, 1994. p. 76-92.

MARCÍLIO, M. L. O Sertão pecuário na época colonial. In: SILVA, S. V. (ORG). **A igreja e a questão agrarian do Nordeste.** Ed. Paulinas, São Paulo: Subsídios históricos São Paulo, 1986, p. 12, 1986.

MARIANTE, A. S. Conservação de Recursos Genéticos Animais no Brasil. In: 1º SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL. Ribeirão Preto, S.P., **Anais...** p.82-86, 1996.

MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A.; ALBUQUERQUE, M.S. Situação Atual da conservação de Recursos Genéticos de Animais do Brasil. In. **FITHE GLOBAL CONFERENCE ON CONSERVATION OF DOMESTIC ANIMAL GENETIC RESOUCE**, Palestras CD Roon; 20-24 November, Brasília, 2000.

MARTÍNEZ , J. M. et al., **Inmunogenética Animal. Editora Científico** – Técnica, Ciudad de la Habana, Cuba, 245 p.,1985.

MAZZA, M.C.M.; SERANO, C.A.S.; SANTOS, S.A. e MOURA, A. C. Phenotypical characterization Pantaneiro cattle. In. Bazil 1992. **Arch. Zootec.** V. 41, n. 154, p. 144, 1992.

MENEZES, H. Contribuição da caprinocultura no povoamento do sertão. In MENEZES H CAMARA, V. MOTA, PARAHYM, COSTA FILHO, G. A. O bode no Brasil. Instituto Joaquim Nabuco de Pesquisa Sociais – IJNP/MEC. Recife vol. Único. 1969. p. 38-49.

Ministério da Agricultura. Pecuária. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/spa/pagespa/> Acesso em 15/04/2004.

MENRAD, M. et al. Protein polymorphisms in the blood of German Improved fawn and boer goats. **Small Ruminant Research**, v. 14, p. 49-54, 1994.

MENRAD, M. et al. A study on the Changthangi pashmina and the Bakerwali goat breeds in Kashmir. I. Anlysis of blood protein polymorphisms and genetic variability within and between the populations. **Small Ruminant Research**, v. 43, p. 3-14, 2002.

MILLER, I. e GEMEINER, M. Peculiarities in electrophoretic behavior of different serum albumins. **Electrophoresis**, v. 14, p. 1317-1317, 1993.

NEI, M., Genetics distance between populations. **Amer. Natur**, v. 106, p. 283 – 292, 1972.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, 70: 3321-3323, 1973.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genet.**, Baltimore, v.89, p. 583-590, 1978.

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. Columbia University Press, N. Y, USA, 1987.

OLIVEIRA, J.C. V., ROCHA, L.L., RIBEIRO, M.N. 2002. Etnozootecnia e conservação de caprinos naturalizados no Sertão Pernambucano. In: IV SIMPOSIO BRASILEIRO DE ETNOBIOLOGIA E ETONOECOLOGIA. 4, 2002 **Anais...** Recife-PE: Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etonoecologia 2002, p. 12.

OLIVEIRA, J. C. V. **Caracterização e perfil etnológico de rebanhos caprinos nos municípios de Ibimirim e Serra Talhada, Estado de Pernambuco**. 2004. 58f. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Departamento de Pós –Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2004.

OLIVEIRA, R. R., **Caracterização genética de populações de caprinos da raça Moxotó usando marcadores moleculares**. 2003. 59 f. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2003.

OSTERHOFF, D. R. e WARD-COX, I. S. Serum polymorphism in three South African goat breeds. In: EUROPAEN CONFERENCE ANIMAL BLOOD GROUPS BIOCHEMICAL POLYMORPHISM, 12., Budapest, 1972. **Proceeding**. Budapest, 1972. p. 579-582.

PICCININ, A.; GONÇALVES, H. C.; RAMOS, P. R. R.; RESENDE, K. T. de e BRUDER, E. M. Polimorfismo bioquímico de proteínas sangüíneas e suas relações com características produtivas e reprodutivas em caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, Porto Alegre, 1999. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. 1 DD-ROM.

PINTO, L. et al. Isoenzimas e microssatélites em plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 2 p. 16-19, 2001

PORTER, V. **Goats of the World**. London: Farming Press. p. 151- 156. 1996.

RAHMAN, M. F. e KONUK, T. A. A note transferring genotypes and their relationship with weight gain in sheep. **Anim. Prod.**, v. 25, p. 207-220, 1972.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): a population genetics software for exact tests and ecumeinism. **J. Hered.**, 86: 248-249, 1995.

RIBEIRO, M. N., PIMENTA FILHO, E. C. Impacto de la introducción de razas europeas a Brasil sobre la producción caprina. In: REUNIÓN NACIONAL SOBRE CAPRINOCULTURA, XVIII, 2003, Puebla. **Memorios...** Puebla: Benemerita Universidade Autonoma de Puebla, p. 215-223, 2003.

ROCHA, R. H., **Possíveis associações entre polimorfismos genéticos – bioquímicos de proteínas sanguíneas e produção de leite em búfalos (*Bubalis bubalis*)**. 1997. 172 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

SAITBEKOVA, N. GAILLARD, C.; OBEXER-RUFF, G.; DOLF, G. Genetic diversity in Swiss goats breeds based on microsatellite analysis. **Animal Genetics**, vol. 30, p. 36-41, 1999.

SANTOS, A. S. R. dos,. A Biodiversidade da Terra e o desenvolvimento sustentável (Programa Ambiental: A última arca de Noé). **A Tribuna de Santos**, Santos-São Paulo, 03 out. 1994. Disponível em <http://www.ultimaarcadenoe.com/artigo41.htm>. Acesso em: 15 ago. 2003.

SAS, **SAS/STAT User's guide**. Version 8. v.2. Cary: SAS Institute Inc. 1999.

SHAMSUDDIN, A. K.; NANDAKUMARAN, B. e MUKUNDAN. G. Electrophoretic studies on transferring polymorphism in Malabari goats and its exotic crossbreds. **Ind. J. Anim. Sci.**, v. 58, n. 10, p. 1231-1233, 1988.

SILVA, J. V., RIBEIRO, M. N., PIMENTA FILHO, E. C. Caracterização fenotípica de quatro grupos de caprinos naturalizados no Brasil. In: III SIRGEALC – SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA ALIMENTAÇÃO LATINA E CARIBE, 3, 2001, Londrina, **Anais...** Londrina: Simpósio de Recursos Genéticos, 2001. p. 472-474.

SIMÕES, A. L. **Polimorfismo Genético na Espécie Humana**. Disponível em <http://www>. Acesso em 20 setembro de 2004.

SMITHIES, O. Zones electrophoresis in starch gel: group variation in the serum proteins of normal human adults. **Biochem. J.**, 61: 629-641, 1955.

SPRITZE, A., EGITO, A.A. de, MARIANTE, A. da S., McMANUS, C. Caracterização genética da raça bovina crioula Lageano por marcadores moleculares RAPD. **Pesc. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1157-1164. 2003.

TUCKER, E. M., CLARKE, S. M., et al. Na investigation of five genetic loci contrllong polymorphic variants in the red cells of goats. **Anim. Blood Groups Biochem. Genetc.**, v.14, p. 269-277, 1980.

TUCKER, E. M.; DENIS, B. e KILGOUR, L. Blood genetic marker studies of a sheep-goat hybrid and its back-cross offspring. **Anim. Genet.**, v. 20, p. 179-186, 1983.

VAL, A. L.; SCHWANTES, A. R. e SCHWANTES, M. L. Amido de hidrolisado de milho como suporte eletroforético. **Ciência e Cultura**, 33 (7): 992-996, 1981.

VANKAN, D. M. e BELL, K. A new transferring allele in Australian goats. **Animal Genetics**, v. 23, p. 453-456, 1992.

VASCONCELOS, G. M. P. **Diversidade genética de *Myciaria floribunda* (West ex willdenom) Berg (Cambuí) em paisagens fragmentadas da Serra da Mantiqueira, MG**. 2002, 120f. Dissertação apresentada a Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz" ESALQ – Universidade de São Paulo – Piracicaba, 2002.

WATANABE, S. e SUZUKI, S. Studies on the transferrin of goat. II – Inheritance mode of serum transferring types. Proc. Japan Acad., v.42, p. 178-183, 1966.

WEIR, B. S. e COCKERHAM, C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, Lawrence, v. 38, p. 1358-1370, 1984.

ZEPEDA, D.J.S, **Caracterizacion Etnológica de las Cabras Criollas del Sul de Puebla (México)**. 2000. 321 f. Tese (Douctorado em Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade de Córdoba, Córdoba-Espanha .

ZEPEDA, J. S. H.; FRANCO GUERRA, F. J.; GARCIA, M. H.; SERRANO, E. R., et al. Estudio de los recursos genéticos de México: Características morfológicas y morfoestructurales de los caprinos nativos de Puebla. *Archiv. Zootecn.*, v. 51, n 193-194., p. 53-64, 2002.

ANEXO

Anexo 1. Ficha de de catalogação dos dados morfo-estruturais

Dados Morfo-estruturais

Criador:

Rebanho:

Local:

nº animais:

Sexo	LCb	LR	LC	CC	PT	AC	ARS	LG	LoG	PC	TO

Anexo 2. Solução de lavagem (5:5:1) e Transparentização do gel da Proteína X

- 500ml de água destilada;

- 500ml de álcool;

- 100ml de ácido acético.

* Transparentização:

- 30 ml de solução de glicerol 20% em água destilada eram colocados sobre a placa forrada com papel celofane;

- o gel era colocado sobre a placa;

- 30 ml de solução de glicerol era colocada sobre o gel;

- em seguida era deitada outra folha de celofona molhada sobre o gel, suas bordas eram viradas para baixo, o excesso de glicerol e bolhas eram retirados;

- o gel secava naturalmente e ficava transparente, após secagem o gel era envolvido em duas folhas de papel "Contact" transparente.

Anexo 3. Solução fixadora: Transferrina e Albumina

- 1 tablete de Comansi (PhastGel™ Blue R)

- solução de lavagem: 710ml água destilada, 40ml de ácido acético e 250ml de álcool

Anexo 4. Resultados obtidos para a população caprina sub-dividida por rebanhos analisados.

Genepop, Genic differentiation (all pair of pop., option DIF2)

File:A:LAR (Title "Caprinos")

Number of populations detected: 10

Number of loci detected: 10

Markov chain parameters

Dememorisation: 1000

Batches: 50

Iterations per batch: 1000

Loco Hb

Sub. Pop.	A	B	D	E	Total
R1	19	2	0	3	24
R2	255	20	8	25	308
R3	66	6	2	2	76
R4	8	1	0	1	10
R5	37	6	0	5	48
R6	33	1	0	12	46
R7	12	0	0	2	14
R8	101	1	0	18	120
R9	26	0	0	8	34
R10	18	0	0	2	20
Total	575	37	10	78	700

P-Valeu= 0,00428

S.E.= 0,00256

Locus	Populations	Probrability	S.E
Hb	R1 e R6	0,00536	0,00129

Hb	RM2 e RM8	0,00232	0,00084
Hb	RM2 e RA10	0,02344	0,00316
Hb	RM3 e RM6	0,00030	0,00015
Hb	RM3 e RM8	0,00002	0,00002
Hb	RM3 e RA10	0,00120	0,00054
Hb	RM5 e RM6	0,03366	0,00201
Hb	RM5 e RM8	0,00506	0,00077
Hb	RM5 e RA10	0,03504	0,00243

Loco Tf

Sub. Pop.	Alelos			Total
	A	B	C	
R1	20	3	1	24
R2	246	50	12	308
R3	41	30	9	80
R4	4	7	1	12
R5	25	14	9	48
R6	32	13	1	46
R7	11	2	1	14
R8	89	12	19	120
R9	20	10	4	34
R10	13	3	4	20
Total	501	144	61	706

P-Valeu= 0

S.E.= 0,000

Locus	Population	Probability	S.E
Tf	RM1 e RM3	0,0222	0,00222
Tf	RM1 e 21IBL	0,00582	0,00094
Tf	RM1 e RM5	0,04942	0,00277
Tf	RM2 e RM3	0,00000	0,00000
Tf	RM2 e 21IBL	0,00140	0,00037
Tf	RM2 e RM5	0,00000	0,00000
Tf	RM2 e RM8	0,00000	0,00000
Tf	RM2 e RA10	0,01018	0,00180
Tf	RM2 e RA9	0,01840	0,00227
Tf	RM3 e RM8	0,00000	0,00000
Tf	RM4 e 23 PBP	0,004312	0,00291
Tf	RM4 e RA7	0,0261	0,00187
Tf	RM4 e RM8	0,00044	0,00022
Tf	RM5 e RM6	0,02504	0,00214
Tf	RM5 e RM8	0,00542	0,00085
Tf	RM6 e RM8	0,00250	0,00100
Tf	RM6 e RA9	0,03918	0,00245
Tf	RM8 e RA10	0,02036	0,00198

Loco Em

Sub. Pop.	Alelos			Total
	A	B	C	
R1	9	14	1	24
R2	99	189	20	308
R3	16	60	0	76
R4	8	4	0	12
R5	12	34	2	48
R6	11	32	3	46
R7	4	10	0	14
R8	32	84	2	118
R9	13	21	0	34
R10	7	12	1	20

Total	211	460	29	700
-------	-----	-----	----	-----

P-Valeu= 0,04752 S.E.= 0,01031

Locus	Populations	Probability	S.E.
Em	RM1 e RM3	0,03826	0,00323
Em	RM2 e RM3	0,00312	0,00083
Em	RM3 e RM4	0,00324	0,00069
Em	RM4 e RM5	0,03282	0,00181
Em	RM4 e RM6	0,02266	0,00208
Em	RM4 e RM8	0,02048	0,00177

Loco D1

Sub. Pop.	Alleles		Total
R1	1	2	24
R2	0	24	308
R3	2	306	76
R4	0	76	12
R5	0	12	48
R6	0	48	46
R7	4	42	14
R8	1	13	120
R9	0	120	34
R10	0	34	20
Total	1	19	702

P-Valeu= 0,00314 S.E.= 0,00098

Locus	Populations	Probability	S.E.
D1	RM2 e RM6	0,00232	0,00032
	RM3 e RM6	0,01868	0,00104
	RM6 e RM8	0,00480	0,00059

Loco D2

Sub. Pop	Alleles		Total
R1	1	2	24
R2	23	1	308
R3	308	0	76
R4	76	0	12
R5	12	0	48
R6	48	0	46
R7	46	0	14
R8	14	0	120
R9	120	0	34
R10	34	0	20
Total	20	0	702

P-Valeu= 9,847999E-02 S.E.= 0,00656

Loco Alb

Sub. Pop.	Alele		Total
R1	A	B	24
R2	16	8	308
R3	186	122	80
R4	47	33	12
R5	8	4	48
R6	24	24	46
	20	26	

R7	6	8	14
R8	62	58	120
R9	3	31	34
R10	4	16	20
Total	376	330	706

P-Valeu= 0

S.E.= 0,00000

Locus	Populations	Probability	S.E.
Alb	RM1 e RA10	0,00000	0,00000
	RM1 e RA9	0,00248	0,00039
	RM2 e RA10	0,00000	0,00000
	RM2 e RA9	0,00026	0,00013
	RM3 e RA10	0,00000	0,00000
	40IBJ e RA9	0,00242	0,00045
	RM4 e RA10	0,00008	0,00005
	RM4 e RA9	0,02000	0,00123
	RM5 e RA10	0,00026	0,00017
	RM5 e RA9	0,03042	0,00191
	RM6 e RA10	0,00076	0,00022
	RA7 e RA10	0,01322	0,00135
	RM8 e RA10	0,00000	0,00000
	RM8 e RA9	0,01224	0,00128

Loco Es

Sub. Pop.	Alleles		Total
	1	2	
R1	3	21	24
R2	29	279	308
R3	4	72	76
R4	2	10	12
R5	3	45	48
R6	8	38	46
R7	11	3	14
R8	40	80	120
R9	23	11	34
R10	10	10	20
Total	133	569	702

P-Valeu= 0

S.E.= 0,00000

Locus	Populations	Probability	S.E.
Es	RM1 e RA7	0,00004	0,00004
	RM1 e RA10	0,00010	0,00007
	RM1 e RA9	0,01142	0,00089
	RM2 e RA7	0,00000	0,00000
	RM2 e RM8	0,00000	0,00000
	RM2 e RA10	0,00000	0,00000
	RM2 e RA9	0,00000	0,00000
	RM3 e RA7	0,00000	0,00000
	RM3 e RM8	0,00000	0,00000
	RM3 e RA10	0,00000	0,00000
	RM3 e RA9	0,00000	0,00000
	RM4 e RA7	0,00544	0,00070
	RM4 e RA10	0,00580	0,00067
	RM5 e RA7	0,00000	0,00000
	RM5 e RM8	0,00012	0,00008
	RM5 e RA10	0,00000	0,00000
RM5 e RA9	0,00012	0,00006	
RM6 e RA7	0,00008	0,00006	

	RM6 e RA10	0,00000	0,00000
	RM6 e RA9	0,01228	0,00114
	RA7 e RM8	0,00206	0,00045
	RM8 e RA10	0,00056	0,00024

Loco XP

	Alleles		
Sub. Pop.	1	2	Total
R1	1	23	24
R2	69	219	288
R3	8	42	50
R4	2	10	12
R5	7	41	48
R6	3	43	46
R7	2	12	14
R8	43	77	120
R9	2	32	34
R10	4	16	20
Total	141	515	656

P-Valeu= 0

S.E.= 0,00000

Locus	Populations	Probability	S.E.
Xp	RM1 e RM2	0,02192	0,00175
	RM1 e 60 PBT	0,00118	0,00031
	RM2 e RM6	0,00590	0,00099
	RM2 e RM8	0,01742	0,00307
	RM2 e RA10	0,01596	0,00179
	RM3 e RM8	0,01162	0,00184
	RM5 e RM8	0,00794	0,00130
	RM8 e RA10	0,00022	0,00016

Locos	P-Valeu	S.E.
Hf	0,00428	0,00256
Tf	0,00000	0,00000
Em	0,04752	0,01031
D1	0,00314	0,00098
D2	0,09848	0,00656
Pp	Not possible	-----
Alb	0,00000	0,00000
Es	0,00000	0,00000
xP	0,00000	0,00000
CA	0,00000	-----