

RAIANE DE SOUSA OLIVEIRA

ANÁLISE DE VARIANTES NO ÉXON-1 DO GENE MIOSTATINA EM CAPRINOS

TERESINA-PIAÚÍ

2021

RAIANE DE SOUSA OLIVEIRA

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí–UFPI, Área de concentração: Produção Animal, linha de pesquisa: Melhoramento genético, preservação, etologia e adaptabilidade de animais de interesse econômico.

Orientadora: Prof.^aDra. Adriana Mello de Araújo – Embrapa Pantanal

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Mendonça Diniz – Embrapa Caprinos e Ovinos

TERESINA-PIAUI

2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processos Técnicos

- O48a Oliveira, Raiane de Souasa.
Análise de variante de éxon-1 do gene miostatina em caprinos. / Raiane de Souasa Oliveira. – 2021.
95 f.: il.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Pós-Graduação em Ciência Animal, Teresina, 2021.
“Orientador: Prof.^a Dra. Adriana Mello de Araújo.”
1. Azul. 2. Anglo-Nubiano. 3. Canindé. 4. TGF-β.
5. Recursos Genéticos. I. Oliveira, Raiane de Souasa. II. Título.

CDD 636. 39

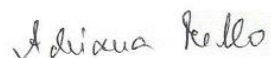
Bibliotecário: Gésio dos Santos Barros – CRB-3/1469

**ANÁLISE DE VARIANTES NO EXON-1 DO GENE MIOSTATINA EM
CAPRINOS**

RAIANE DE SOUSA OLIVEIRA

Dissertação aprovada em: 26/11/2021

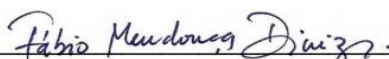
Banca Examinadora:



Profa. Dra. Adriana Mello de Araújo (Presidente) / EMBRAPA



Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento (Interno) / DZO/CCA/UFPI



Prof. Dr. Fábio Mendonça Diniz (Externo) / EMBRAPA



Prof. Dr. Vladimir Costa Silva (Interno) / PPGCF/UFPI

Dedico a meus pais Edimar Fernandes de Oliveira, Creuza de Sousa Oliveira, a meus irmãos Raimundo de Sousa Oliveira, Railanne de Sousa Oliveira Gomes, ao meu amor Francisco Clodoaldo de Oliveira Rocha Segundo e a todos os meus amigos que compartilharam comigo essa trajetória.

AGRADECIMENTOS

Ao Pai Celestial pelo dom da minha vida, por proporcionar-me a capacidade, o discernimento e a paciência para concluir essa dissertação diante de todas as situações difíceis que até aqui passei. A ti toda honra e toda glória, Senhor!

À minha família, que sempre apoiou e confiou na minha trajetória acadêmica;

Ao meu Amor pela sua paciência e apoio durante toda minha formação profissional;

À Universidade Federal do Piauí – UFPI e a todo seu corpo docente, pela oportunidade de ingressar no mestrado acadêmico e por dar condições para que eu realizasse toda a pesquisa científica na instituição;

À Embrapa Meio-Norte por disponibilizar a estrutura do laboratório de Genética Molecular para o desenvolvimento das atividades práticas iniciais da dissertação e a disponibilidade de coletas de algumas amostras de sangue do rebanho caprino. Além da oportunidade de estagiar por 2 anos durante a graduação, contribuindo para minha formação profissional;

À CAPES, pela disponibilidade da bolsa de estudos que foi de grande importância para a conclusão do curso de mestrado;

A minha orientadora Adriana Mello de Araújo e ao meu coorientador Fábio Mendonça Diniz pelo oportunidade de orientação no programa de pós-graduação em Ciência Animal.

Ao Dr. Geice Ribeiro da Silva, pelas orientações do início ao fim da pesquisa, pelo compartilhamento de conhecimento técnico, intelectual e científico, que foi essencial para o desenvolvimento e conclusão da dissertação;

A Fazenda Faveira, localizada em Elesbão Veloso-PI, por dispor dos rebanhos caprinos para algumas coletas de sangue;

Aos bolsistas de pós-graduação do programa de Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí- UFPI: Arrê, Alberto e Leandra por contribuírem na coleta de amostras de sangue caprino advindas de Elesbão Veloso(PI) e Teresina(PI);

Ao coordenador do laboratório de Genética Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Piauí, Dr. José Lindenberg Rocha Sarmento, pela disponibilidade do espaço laboratorial para a pesquisa e pelo apoio intelectual na metodologia do trabalho;

Ao prof. Dr. Vladimir Costa Silva pelo acompanhamento das etapas da pesquisa com a sua colaboração intelectual e material;

Às minhas amigas Vanessa Gomes de Moura (mestre em Genética e melhoramento-UFPI) Amanda Priscilla Maia (mestranda em Ciência Animal) e Rafaela de Brito Vieira (Mestranda em Zootecnia Tropical) pelo apoio, incentivo e otimismo para a realização e conclusão dessa pesquisa; Enfim, a todos que contribuíram para o desenvolvimento e conclusão desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água do mar. Mas, o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

SUMÁRIO

1. Introdução	16
2. Revisão de literatura.....	18
2.1 <i>Capra hircus</i>	18
2.1.1 Taxonomia.....	18
2.1.2 Aspectos biológicos.....	18
2.1.3 Raça Anglo-Nubiano, Raça Azul e Raça Canindé.....	19
3. Naturalização de caprinos no Nordeste Brasileiro.....	21
4. Importância econômica e social de caprinos no Brasil.....	22
5. Os maiores detentores de rebanho caprino no Mundo, Brasil, Nordeste e Piauí.....	22
6. Evolução do melhoramento genético de caprinos.....	25
7. Gene Miostatina (MSTN) aplicado em caprinos no melhoramento da carne.....	26
8. Referências.....	28

CAPÍTULO 1

A Miostatina no melhoramento genético animal para a produção de carne

Resumo.....	33
Abstract.....	33
1.Introdução.....	34
2.Material e métodos.....	34
3.Resultados e Discussão.....	36
4.Conclusão.....	43
5.Referências.....	44

CAPÍTULO 2

Análise de variantes no Êxon-1 do gene Miostatina em caprinos

Resumo.....	47
Abstract.....	47
1.Introdução.....	49
2.Material e métodos.....	50
2.1 Amostragem de sangue e coleta de dados.....	50
2.2 Amplificação e sequenciamento de DNA.....	50
2.3 Análise estatística.....	51
2.3.1 Alinhamento das sequências	51
2.4 Análise filogenética.....	52
2.4.1 Teste de saturação de mutação.....	52
2.4.2 Análise de inferência bayesiana.....	52
2.5 Análise genotípica dos SNPs.....	53
3.Resultados e Discussão.....	53
4.Conclusão.....	62
5.Considerações finais.....	62
6.Referências.....	63
7. Anexos.....	65

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Imagem de um representante caprino Anglo-Nubiano.....	19
Figura 2. Imagem de um representante caprino Azul.....	20
Figura 3. Imagem de dois representantes caprinos Canindé.....	21
Figura 4. Estados do nordeste brasileiros com maiores rebanhos de caprinos (em milhões de cabeças).....	24
Figura 5. Número de animais por habitantes nos cinco principais estados produtores (em cabeças/habitante).....	25

CAPÍTULO 1

Figura 1. Número de publicações anuais referentes aos estudos da miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves a partir de 1997 a 2021.....	36
Figura 2. Número de publicações dos países mais produtivos referente aos estudos do gene miostatina (MSTN) em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo.....	37
Figura 3. Número de publicações referentes às metodologias de sequenciamento utilizadas nos estudos com o gene da miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo.....	38
Figura 4. Número de publicações referentes às metodologias de RFLP utilizadas nos estudos com o gene miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo.....	39
Figura 5. Mapa de estrutura conceitual de palavras-chave da análise bibliométrica de pesquisas ligadas ao melhoramento genético animal para a produção de carne (grau mínimo do nó=2), método de análise de correspondência múltipla agrupamento k- means; cluster 1- vermelho, cluster 2- azul.....	40
Figura 6. Mapa temático referente as palavras- chave da pesquisa ligadas ao melhoramento em animais de produção. Os círculos representam os temas e o tamanho está ligado ao número de artigos relacionados a cada palavra-chave que os compõem.....	41
Figura 7. Rede de colaboração entre os países para a publicação de estudos referentes ao gene da miostatina em animais de produção.....	42

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Perfil eletroforético de produtos amplificados do gene MSTN (ÈXON 1) em gel de agarose a 1,5%. Marcador de peso molecular 1kb e acessos de raças caprinas Canindé (C437, C455, C418, C410 e C434).....54
- Figura 2.** Análise de distância genotípica Genpofad dos SNPs entre as raças Azul, Anglo-Nubiano e Canindé58
- Figura 3.** Rede filogenética de todos os 15 haplótipos da raça Anglo-nubiano, Azul e Canindé da região Nordeste do Brasil.....60
- Figura 4.** Análise filogenética do posicionamento das raças Azul, Anglo-Nubiano e Canindé com relação às outras raças caprinas depositadas no Genbank (Inferência bayesiana).....61
- Figura 5.** Análise genotípica das raças Azul, Anglo-Nubiano e Canindé com relação a outros animais que possuem a mesma sequência depositada no Genbank.....62

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1. Evolução anual de efetivo rebanho de caprinos (cabeças) no mundo.....	23
Tabela 2. Evolução anual de efetivo rebanho de caprinos (cabeças na América do Sul.....	23

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Identificação dos SNPs encontrados nas sequencias de DNA nas raças Azul, Anglo-Nubiano e Canindé.....	54
Tabela 2. Análise geral dos dados de sítios polimórficos e indels identificados nas 30 sequencias da raça Anglo-Nubiano, Azul e Canindé.....	54
Tabela 3. Análise geral dos dados de sítios polimórficos e indels identificados nas 14 sequências da raça Anglo- Nubiano e 10 sequências da raça Canindé.....	55
Tabela 4. Estimativa de probabilidade composta máxima do padrão de substituição de nucleotídeos nas raças Anglo-Nubiano, Azul e Canindé.....	56

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BIC	inferência Bayesiana
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
EDTA	ácido etilenodiamino
EMEPA	Empresa Estadual de pesquisa agropecuária da Paraíba
GDF-8	fator de crescimento e diferenciação-8
HD	Diversidade haplotípica
ISS	índice de saturação observada
ISS.C	índice de saturação completa
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MSTN	miostatina
NCBI	Centro nacional de informações biotecnológicas
NGS	Sequenciamento de nova geração
QTLs	Loci de características quantitativas
RFLP	polimorfismo do fragmento de restrição
SNP	polimorfismo de base única
SRD	Sem padrão racial definido
TGF- β	fator de crescimento e diferenciação celular da super família beta

RESUMO: A identificação de variações alélicas no gene da miostatina (GDF-8), relacionado ao crescimento e desenvolvimento da carne nos animais, pode ser utilizado para a seleção assistida por marcadores moleculares com a finalidade de obter uma resposta rápida ao que se refere a genética caprina. Nesse estudo, foi realizada uma revisão sistemática de literatura reunindo estudos referentes às metodologias e aplicação dos marcadores moleculares com estudos em animais de produção, como também avaliou-se as mutações do éxon 1 desse gene nas raças caprinas Azul, Anglo-Nubiano e Canindé. A China seguida pelos Estados Unidos, Índia e Nova Zelândia, destacaram-se com um maior número de publicações e os SNPs foi a abordagem molecular mais utilizada nos estudos revistos. Foram identificados nove sítios polimórficos GDF-8 no presente estudo. A raça Canindé revelou maior quantidade de mutações, sendo três delas mutações pontuais e dois à indels. A raça Anglo-Nubiano revelou uma mutação pontual e duas decorrentes à indels. Sendo que a variedade Azul não apresentou polimorfismo. O número de sítios polimórficos e indels totalizaram 4 e 5, respectivamente. As frequências de nucleotídeos médias dessa sequência foram: 32,56% (A), 23,47% (T / U), 21,00% (C) e 22,97% (G). As taxas de transição e transversão foram de $k1 = 6,727$ (purinas) e $k2 = 0$ (pirimidinas). A diversidade haplotípica (hd) foi de 0,306 para dados polimórficos e de 0,515 para diversidade de haplótipos indels. É necessário a ampliação de pesquisas no Brasil com estudos focados em variantes genéticas de interesse do melhoramento de animais economicamente importantes. Conclui-se que houve variação molecular para o estudo da miostatina nestas raças localmente adaptadas, demonstrando que essa região gênica pode ser utilizada como marcador para o melhoramento da carne dessa espécie.

Palavras-chave: Azul, Anglo-Nubiano, Canindé, TGF- β , Recursos Genéticos.

ABSTRACT: The identification of allelic variations in the myostatin gene (GDF-8), related to the growth and development of meat in animals, could be useful for selection assisted by molecular markers in order to obtain a rapid response to what refers to goat genetics. In this study, a systematic literature review was carried out, bringing together studies related to the methodologies and application of molecular markers with studies in farm animals, as well as the mutations of exon 1 of this gene in Azul, Anglo-Nubian and Canindé goat breeds. China followed by the United States, India and New Zealand stood out with the highest number of publications and the most used molecular approach were represented by SNPs. At last chapter, nine polymorphic sites were revealed in Brazilian goat breeds. Canindé showed the highest number of mutations, three of which were point mutations and two to indels. Anglo-Nubian breed reveals one point mutation and two resulting from indels. Azul did not show polymorphisms. The number of polymorphic and indel sites totaled four and five, respectively. The average nucleotide frequencies of this sequence were 32.56% (A), 23.47% (T/U), 21.00% (C) and 22.97% (G). Transition and transversion rates were $k1 = 6,727$ (purines) and $k2 = 0$ (pyrimidines). The haplotypic diversity (hd) was 0.306 for polymorphic data and 0.515 for indels haplotype diversity. It is necessary to expand research focused on the improvement of economically important animals in Brazil. There was molecular variation for myostatin gene (GDF-8 exon) in these locally adapted breeds, demonstrating that this gene region can be applied as a marker for the improvement of goat meat.

Keywords: Azul, Anglo-Nubian, Canindé, TGF- β , Genetic Resources.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, os consumidores de carne passaram a ter mudanças nos hábitos alimentares no que diz respeito a qualidade do produto (SANTOS e BORGES, 2019). Isso provocou um novo direcionamento da grande parte do nicho de mercado, pois as carnes de melhor qualidade nutricional e sensorial passaram a ter preferência, por serem mais saudáveis e proporcionarem maiores benefícios a saúde (VIEIRA et al., 2010; MADRUGA et al., 2008).

As raças caprinas localmente adaptadas no Brasil são consideradas como bons produtores de proteína animal, pois apesar das condições adversas do ambiente e das inadequadas práticas de manejo, esses animais possuem a capacidade de produzir alimento fibroso de alta qualidade nutricional, apresentando uma carne de baixo teor de colesterol e menores níveis de ácidos graxos (MONTE et al., 2008).

A carne caprina destaca-se no Nordeste brasileiro como uma importante fonte de proteína animal de alto valor biológico na alimentação humana. Entretanto, a produção da carne de animais com alta qualidade físico- química e sensorial é considerada um dos grandes desafios na pecuária de corte brasileira (AMARAL et al., 2007). E, os fatores genéticos são considerados importantes meios que influenciam nestas características.

A melhor maneira de conservação das peculiaridades na produção de carne caprina é entender os mecanismos de formação do tecido muscular e os processos de transformação deste na carne. O gene Miostatina (MSTN) é um importante candidato para o entendimento da morfofisiologia do músculo como também para a seleção de animais objetivando a produção de carne. Este gene pertence à família TGF- β e está relacionado a regulação do crescimento muscular inibindo a proliferação de mioblastos durante a miogênese (McPHERRON e LEE, 1997).

Uma ferramenta importante em pesquisas em genética animal é o estudo do polimorfismo de DNA. Os marcadores genéticos aplicados aos animais de produção estão concentrados na análise de mutações ou polimorfismos localizados dentro de genes estruturais economicamente importantes e ligados a genes e *loci* controladores de características quantitativas (COUTINHO e ROSÁRIO, 2010) Assim, a genética molecular tem evoluído ao longo dos anos no que se refere aos estudos de produção de carne, sendo que as mesmas podem melhorar o produto sem prejuízo para os ganhos obtidos, através do estudo de dados moleculares com o fenótipo observado no animal.

Alguns marcadores moleculares apresentam potencial para avaliar as características da carne, através do estudo das variações de nucleotídeos em regiões reguladoras e estruturais de

genes que influenciam na expressão da sequência de aminoácido afetando nas características de qualidade da carne. A miostatina atua como um regulador negativo do crescimento muscular em mamíferos e mutações de perda de função nesse gene estão associados com o aumento da massa muscular ou musculatura dupla em bovinos (GROBET et al. 1997; AIELLO et al., 2018), ovinos (ZHOU et al., 2008; DOU et al., 2018), caprinos (SINGH et al., 2014) podendo afetar também o peso corporal em diferentes estágios de crescimento (ZHANG et al., 2013); também foram identificados polimorfismos em caninos (MOSHER et al., 2007), camundongos (McPHERRON et al., 1997) e humanos (SCHUELKE et al., 2004).

Dessa maneira, a identificação de mutações no fator de crescimento e diferenciação-8 (GDF-8), associada a características de produção de tecido muscular em raças caprinas localmente adaptadas no Brasil origina informações importantes para o melhoramento genético dessa espécie como também pode ser utilizada como uma ferramenta para a seleção de animais com maior produção de carne, que conseqüentemente atenda as exigências do mercado recebendo uma maior valorização pelo consumidor.

Portanto, nesse estudo objetivou-se identificar mutações nas sequências do gene Miostatina (MSTN) em caprinos da raça Anglo-Nubiano, Azul e Canindé no Nordeste do Brasil e comparar com dados já depositados no Genbank.

De acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPI, esta dissertação está estruturada em: Introdução Geral, Revisão de Literatura, Capítulo I, intitulado “A miostatina no melhoramento da carne em animais de produção, redigido segundo as normas editoriais da **Revista Archivos de Zootecnia**, à qual será submetido para publicação; Capítulo II intitulado “Análises de variantes no éxon-1 do gene miostatina (MSTN) em caprinos no nordeste do Brasil” será elaborado de acordo com as normas editoriais da **Revista Research, Society and Development**, à qual será submetido para publicação; Considerações Finais; Referência Bibliográfica Geral e Anexos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Capra hircus*

2.1.1 Taxonomia

Capra hircus pertence à família Bovidae, subfamília Caprinae e gênero *Capra*.

Cabras domésticas ou *C. hircus*, provavelmente descendem de *Capra aegagrus*, que é da Ásia Central (GENTRY et al., 2004), sendo este o nome adotado para o táxon selvagem de cabras.

Capra cretica em Creta e Theodorou, *Capra jourensis* em Giura ou Joura nas Espórades do norte e *Capra picta* em Antimilo ou Erimomilos nas Cíclades foram consideradas sinônimos de *C. hircus* ou *C. aegagrus*. Entretanto, a sistemática dessas espécies citadas necessita de avaliação. Uma pesquisa feita por (KAHILA BAR-GAL et al., 2002), demonstraram que *C. cretica* era estreitamente semelhantes a cabras domésticas e uma cabra selvagem iraniana, enquanto uma cabra selvagem do Turcomenistão era distinta.

C. hircus chialtanensis se originou de híbridos entre cabra doméstica e Markhor (*Capra falconeri*). Segundo (SCHALLER, 1977), identificou *C. falconeri* como sendo mais semelhante à *C. hircus*. Porém, não o considerou válido. Entretanto, MANCEAU (1999), descobriu que era um Markhor ou híbrido a partir de sequência de mtDNA.

2.1.2 Aspectos biológicos

Os caprinos são caracterizados como animais homeotérmicos, ou seja, possuem a capacidade de controlar a temperatura interna do corpo (MARQUES et al., 2018). Devido a essa adaptação conseguem viver nas mais diversas condições ambientais, justificando dessa forma, a sua ocorrência em quase todas as regiões do mundo (BERTOLINI et al., 2018).

É importante salientar também que a capacidade de aclimação desses animais permitiram sua adaptação a diferentes dietas. Além disso, esses ruminantes são seletivos pelo fato de caminharem muito nas pastagens com o objetivo de encontrar partes mais nutritivas das forrageiras (ELIAS e TISCHEW, 2016).

Animais de estatura baixa, cabeça pequena, a boca possui lábios rápidos e móveis, o que permite a seletividade das partes mais ricas dos vegetais, como por exemplo as folhas e os brotos (MOREIRA et al., 2014). Além disso, transformam em proteína os mais diversos tipos de forragens de forma eficiente, sejam elas ou não de boa qualidade.

2.1.3 Raças Anglo- Nubiano, Azul e Canindé

A raça Anglo- Nubiano pode ter sido originada do Egito, da Núbia, da França, da Síria ou ainda da Índia (SANTOS et al., 2005) e, os cruzamentos com as raças Zaraibi e Chitral, cabras comuns da Inglaterra, deram a sua origem.

Em 1929, o criador Carlos Guinle introduziu essa raça no Brasil. Os indivíduos trazidos da Inglaterra eram mestiços e por isso sua caracterização racial não estava bem definida. Já em 1938, alguns exemplares puros da raça Anglo-Nubiano foram introduzidos no Nordeste Brasileiro, mas especificamente, na Bahia por Antônio do Rego Gonçalves (SANTOS, 2003).

Essa raça comercial e padronizada é bem aceita pelos produtores da região nordestina e a mesma ocorre em todos os estados devido às características adaptativas da raça com relação as condições climáticas da região (ELOY et al., 2007). A mesma é referência na produção de carne e leite, sendo considerada como um animal de dupla aptidão pelos produtores e técnicos.

São animais de maior porte, pesados e compridos, com musculatura representativa, com pelos curtos e brilhante, pele solta e a pelagem pode ser variada, sendo predominante a cor escura. A barbela pode se apresentar de tamanho pequeno em fêmeas e machos, os cascos são fortes e a coloração varia de acordo com pelagem (**Figura 1**). Trata-se de animais com aspecto atraente, sendo que o macho chega a pesar entre 100 e 120 kg e a fêmea 80 kg (SANTOS et al., 2005).

Figura 1. Imagem de um representante caprino Anglo-Nubiano



Fonte: <http://ruralcentro.uol.com.br/noticias/raca-anglo-nubiano-representa-caprinos-na-feicorte-2013-70090>

A raça Azul foi descrita na África e pertence ao grupo Wad, um grupo de cabras pequenas do oeste Wasadad. A cabra Azul pode ser de origem nigeriana ou camaronesa, (NOGUEIRA FILHO e KASPRZYKOWSKI, 2006). Em relação a características físicas, a camaronesa é curta

e peluda, tem o corpo pesado, cabeça larga e focinho mais curto que a nigeriana. A coloração cinza é predominante nessa raça, podendo variar do claro ao mais escuro (**Figura 2**).

Essa raça não é reconhecida como padronizada pelo MAPA e não possui livro de registro de sua introdução no país. Animais portadores desta pelagem recebe várias denominações no Brasil, dentre elas estão: Azuleja, Azulona, Azula, Zulanha, Zulenha, Cabra-da-serra. Registro de sua ocorrência no Brasil é antiga e ocorreu nos estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará, destacando-se também, que a raça é própria da caatinga do estado do Piauí (GUIMARÃES FILHO, 2000). Adicionalmente, apresenta dupla aptidão com boa qualidade para produção de carne e pele.

Figura 2. Imagem de um representante caprino Azul



Fonte: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/caprinos-da-raca-azul-resistencia-e-productividade-em-climas-quentes-77526n.aspx>

A raça Canindé é padronizada no Brasil, possui registro genealógico no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e considerada uma das principais raças localmente adaptadas do Nordeste. Segundo a mais recente classificação feita pela Espanha e Portugal, a Raça Canindé tem sua origem referente ao agrupamento das pirenaicas.

O nome da raça está relacionado a tanga branca, de algodão rústico que era utilizada pelos escravos denominado de Calindé. Outras afirmações refere-se a origem da raça no estado do Piauí, nas proximidades da região do Vale do Rio Canindé. (KASPRZYKOWSKI, 1982).

A consolidação do nome da raça foi Canindé que significa “faca pontuda”, sendo usada no sertão cearense ou podendo significar também as pedras ou lascas rochosas que serviam como instrumentos para aprimorar as peixeiras e lâminas no sertão do Piauí (NOGUEIRA FILHO e KASPRZYKOWSKI, 2006).

Suas principais características físicas são o fato de serem ativas, vigorosa e bastante rústica, tem o corpo negro com ventre e períneo brancos, podendo produzir carne, leite e pele (**Figura 3**).

Figura 3. Imagem de dois representantes caprinos Canindé



Fonte: <http://www.grupovoa.com/fazendavoa/negocios/raca-caninde/>

3. Naturalização de caprinos no Nordeste Brasileiro

Foi com a chegada dos primeiros colonizadores portugueses que a espécie caprina foi introduzida no Brasil. Foi assim que ocorreu a adaptação ao longo do tempo das raças puras criadas desde o início da colonização. A partir daí, surgiram as raças naturalizadas que atualmente, são conhecidas por serem localmente adaptada.

Podem ser encontradas em sua grande maioria (95%) na região Nordeste do Brasil (IBGE, 2021). Por essa região apresentar característica de caatinga com altos níveis de temperaturas e com condições semiáridas limitantes, esses animais que foram introduzidos, ao longo dos anos foram se adaptando a essas condições ambientais e conseqüentemente a espécie conseguiu adquirir características próprias, destacando-se entre elas a rusticidade o que permite que esses animais sobrevivam em condições desfavoráveis (ROCHA et al, 2009).

Entretanto, a adaptação desses animais ao ambiente diminuiu suas características produtivas. Logo, os animais necessitaram aumentar a sua resistência tanto ao calor como também

aos ecto e endoparasitos. Além disso, a vegetação era totalmente diferente do seu local de origem e com isso a sua dieta alimentar ficou limitada por influência do ambiente (LEITE, 2002).

Esses animais possuem características comuns entre si, entre elas estão o seu pequeno porte, a pelagem curta, orelhas eretas e a sua baixa produção de leite, podendo ser diferenciadas pela cor da sua pelagem. Todas esses traços trazidos da sua adaptação ao longo dos anos (van SOEST, 1994).

4. Importância econômica e social de caprinos no Nordeste do Brasil

Existe uma elevada importância econômica e social nas populações rurais e em outras regiões onde é desenvolvida a exploração de caprinos. Apesar dessa atividade não representar de forma significativa a pecuária a nível nacional, ela se torna cada vez mais importante para os pequenos e médios produtores desenvolverem alternativas que são economicamente viáveis para a diversificação de produção nos sistemas de criação (HOLLANDA JÚNIOR e MARTINS, 2008). Também, essas criações se tornam um complemento de outras atividades como por exemplo, as fruticulturas e até mesmo a criação de outras espécies de produção, sendo representadas pelos bovinos, suínos e ovinos.

É importante destacar também sua importância de valor histórico-cultural, desempenhando um papel relevante na região semi-árida do Nordeste brasileiro, sendo também responsável pela fixação do homem no campo, devido a seu alto valor proteico animal que estão disponíveis para as populações de baixa renda nessa região. (JÚNIOR, 2011).

Adicionalmente, a exploração de caprinos possibilita muitas vantagens econômicas, sendo elas representadas pelo aproveitamento das pastagens naturais, baixo investimento para a criação desse animais e a obtenção de animais jovens para o abate.

5. Os maiores detentores de rebanho caprino no mundo, Brasil, Nordeste e Piauí

Segundo a EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS (2016), os maiores criadores de caprinos são representados pela China, Índia, Nigéria e Paquistão que, conjuntamente, concentram 42% do rebanho Mundial (**Tabela 1**).

Tabela 1. Evolução anual de efetivo rebanho de caprinos (cabeças) no mundo

País/ ano	2014	2015	2016
China	140.506.930	144.817.662	149.091.143
Índia	133.000.000	132.069.354	133.874.637
Nigéria	71.958.213	72.527.691	73.879.561
Paquistão	66.615.000	68.420.000	70.300.000

Fonte: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2016

Cerca de 94% dos caprinos se encontram nos países em desenvolvimento, proporcionando uma alternativa viável de alimentação e renda para populações de baixa renda. Na América do Sul, os rebanhos caprinos são de aproximadamente 112,6 milhões de cabeça. O Brasil, a Argentina, a Bolívia e o Peru detêm os maiores plantéis dessa espécie (**Tabela 2**). O Brasil possui o nono maior rebanho de caprinos do mundo, com 12,1 milhões de cabeça com uma taxa de crescimento bem representativa em relação ao ano de 2016, dos quais mais de 95% encontra-se na região Nordeste (IBGE, 2020).

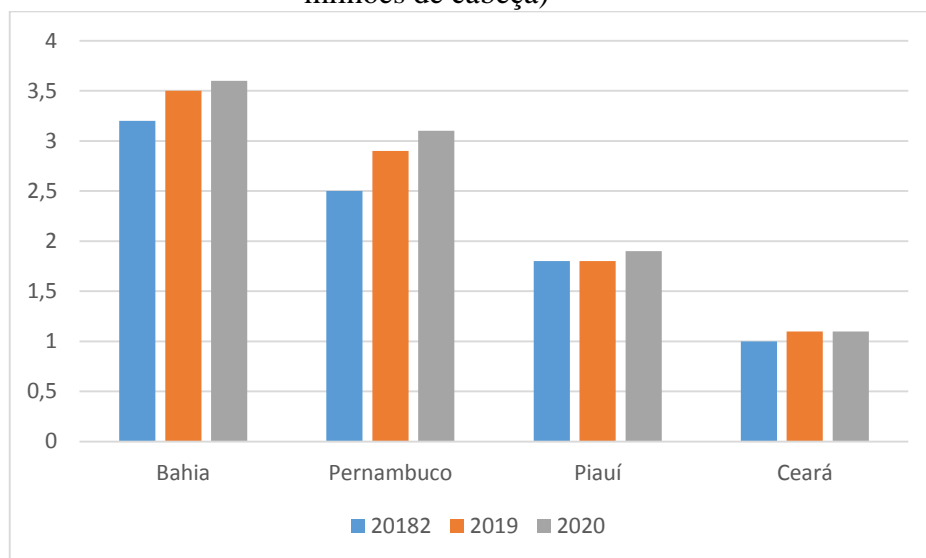
Tabela 2. Evolução anual de efetivo rebanho de caprinos (cabeças) na América do Sul

País/ ano	2014	2015	2016
Brasil	8.851.879	9.620.877	9.780.533
Argentina	4.400.000	4.720.674	4.712.173
Bolívia	2.156.812	2.181.219	2.209.968
Peru	1.904.873	1.902.307	1.879.713

Fonte: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2016

A região Nordeste possui aproximadamente 11,49 milhões de caprinos, o que corresponde a 95% do rebanho do país, cabendo aos estados da Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará as maiores concentrações da espécie com 85,59% (**FIGURA 4**).

FIGURA 4. Estados do nordeste brasileiro com maiores rebanhos de caprinos (em milhões de cabeça)

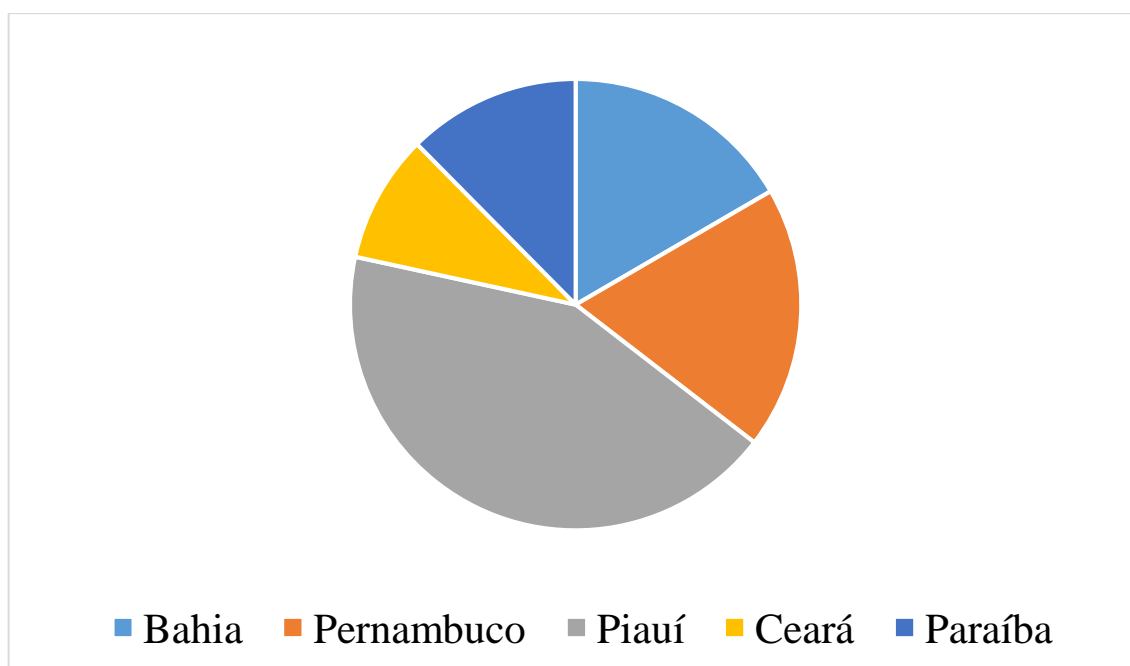


Fonte: IBGE, 2020

As microrregiões que se destacam como as maiores produtoras de caprinos são: Casa Nova, Juazeiro e Curaçá (Bahia), Floresta e Petrolina (Pernambuco), Dom Inocêncio (Piauí) e Tauá (Ceará) sendo que a Casa Nova, Juazeiro e Curaçá – BA são consideradas as microrregiões com maior densidade. (IBGE, 2020).

É importante manter atenção no tamanho da população do rebanho com a sua proporção em relação a população existente. Sendo assim, o estado do Piauí apresenta maior proporção (0,561) de caprinos por habitante, destacando-se na criação dessa espécie. Isso reforça a importância econômica e histórico-cultural desses animais no estado onde é mais interiorizado da região nordestina e com menos faixa litorânea em relação aos demais estados brasileiros (SOUZA e BARROS, 2017; **FIGURA 5**).

Figura 5. Número de animais por habitantes nos cinco principais estados produtores (em cabeças/habitante)



Fonte: SOUZA e BARROS, 2017

6. Evolução do melhoramento genético de caprinos

No Brasil a criação de caprinos é de característica extensiva, não existindo dessa forma, um processo seletivo e estruturado desses animais. E, devido as consequências adaptativas a regiões de altas temperaturas no Nordeste, esses animais diminuíram o seu desempenho produtivo. A partir daí, os produtores deram início a importação de animais exóticos e muitos cruzamentos foram conduzidos de forma indiscriminada (NOGUEIRA FILHO e KASPRZYKOWSKI, 2006). Os resultados desses cruzamentos não foram considerados satisfatórios, visto que não havia controle dos dados produtivos e nenhum processo efetivo de seleção de animais mais produtivos e mais adaptados.

O cruzamento entre caprinos exóticos e localmente adaptados ainda é feito por alguns criadores no Brasil levando em consideração a semelhança de cor de pelagem entre os animais. Devido as raças se apresentarem com o mesmo padrão de pelagem, os produtores acreditam que são as mesmas raças, não considerando assim, um cruzamento entre exemplares diferentes.

Fica claro que o desenvolvimento da seleção e do melhoramento caprino no Brasil enfrenta dificuldades. Isso é justificado pela maioria dos produtores que não realizam anotações de desempenho das suas criações. Por isso, são escassos os dados relacionados a parentesco,

ocorrências e controles leiteiros nas fazendas. Diante disso, é difícil realizar seleção genética e avaliar raças caprinas com metodologias baseadas em modelos animais que permitam o avanço do ganho genético do plantel.

A Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão Rural e Regularização Fundiária Agropecuária da Paraíba (EMPAER) e a Embrapa Caprinos e Ovinos têm tido importante papel no melhoramento genético de caprinos. A primeira tem contribuído com importações de animais e avaliações de raças e a segunda instituição iniciou o “Programa de Melhoramento Genético de Caprinos”, com o objetivo principal de caracterizar e preservar raças e tipos naturalizados, como Moxotó, Canindé, Repartida, Marota, SRD, entre outras.

Atualmente, existe uma maior interação com criadores e produtores cujo o objetivo principal é aumentar a eficiência das pesquisas, estimulada pela Embrapa Caprinos e Ovinos. Além disso, os criadores recebem um grande estímulo para realizarem o registro de todas as informações.

A genética molecular de caprinos no mundo tem avançado de forma bem representativa. Já no Brasil, os trabalhos são limitados às prospecção de genes ou polimorfismos (polimorfismos de base individual-SNP). E, a grande maioria dos trabalhos estão relacionados a teste de paternidade, conservação de recursos genéticos e a caracterização de raças (MENEZES et al, 2006).

Dessa forma, os estudos com o melhoramento de animais de interessante econômico ainda é limitante no Brasil, principalmente estudos com melhoramento de caprinos. Por outro lado, o desenvolvimento dos chips de SNPs para a espécie traz uma perspectiva da implementação da seleção genômica, da qual se utiliza de valores genéticos para que desta seleção os ganhos genéticos sejam bem superiores aos que são obtidos de maneira tradicional (COUTINHO e ROSÁRIO, 2010).

7. Gene Miostatina (MSTN) aplicado no melhoramento da carne em animais de produção

Pertencente a superfamília dos TGF- β , a miostatina regula negativamente tanto o crescimento como o desenvolvimento do músculo esquelético. Além disso, sua função também engloba a regulação do número, tamanho e os tipos de fibras (Mcpherron e Lee, 1997). Por meio de suas mutações na sequência de nucleotídeos, ocorre um aumento representativo na massa muscular, fenômeno conhecido como dupla musculatura (GROBET et al. 1997). Dessa forma, esse gene é

considerado um candidato para o melhoramento animal de várias espécies economicamente importantes, como bovinos, ovinos, suínos, caprinos e aves.

O gene da miostatina (MSTN), também conhecido como gene do fator de crescimento e diferenciação 8 (GDF8) foi relatado pela primeira vez por um fazendeiro britânico, com relatos escritos de hipertrofia muscular em bovinos (CULLEY, 1807). Com descrição mais aprofundada por Kaiser (1888), sendo um marco importante de uma nova perspectiva para a criação de animais de interesse econômico para as características de carcaça visando o melhoramento animal.

Os efeitos da hipertrofia muscular em outros animais foi relatada por Lee e McPherron em 1997 e desde então tem levado os pesquisadores a realizarem muitos trabalhos com o objetivo de descobrir os mecanismos de funcionamento desse gene e a sua possível inibição para o melhoramento da carne em animais de produção.

Mutações de perda de função no gene da miostatina (MSTN) estão associados com o aumento da massa muscular esquelética ou também chamada de dupla musculatura em camundongos (Mcpherron e Lee, 1997), cães (MOSHER et al., 2007), ovelhas (CLOP et al., 2006 ; ZHOU et al., 2008), bovinos (GROBET et al. 1997), humanos (SCHUELKE et al., 2004) e cabras (SINGH et al., 2014; TAY et al., 2004; LI et al., 2006) e mostrado em algumas raças que pode afetar o peso corporal em diferentes estágios de crescimento (ZHANG et al., 2013).

O gene da miostatina foi mapeado para a extremidade distal do cromossomo 2 em bovinos (GROBET et al, 1997), e é altamente conservado entre as espécies e expresso no músculo esquelético em desenvolvimento e maduro (McPHERRON et al, 1997). Consiste em três exons e dois introns em todas as espécies estudadas, incluindo o porco (AY208121), búfalo (AH013313), peixe zebra (AY323521), frango (AF346599) rato doméstico (AY204900) e cabra (DQ167575), (ANEXO 1). Além disso, a análise da sequência de miostatina nos músculos duplos de raças europeias, revelou 7 polimorfismos de sequência de DNA e concluiu que cinco deles foram responsáveis por modular as funções da proteína (JOULIA-EKAZA e CABELLO, 2007).

REFERÊNCIAS

- AIELLO, D., K. PATEL and E. LASAGNA, 2018. The myostatin gene: An overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals. **Animal Genetics**, v.49, p.505-519, 2018.
- AMARAL, C.M.C. et al. Características de carcaça e qualidade de carne de cabritos Saanen alimentados com ração completa farelada, peletizada e extrusada. **Ciência Rural**, v.37, n.2, 2007.
- BERTOLINI, F. et al. Signatures of selection and environmental adaptation across the goat genome post-domestication. **Genetics Selection Evolution**. p. 50-57, 2018.
- CLOP, A. et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. **Nature Genetics**. 2006;v.38, n.7, 813–818.
- COUTINHO, L.L.; ROSARIO, M.F. **Biotecnologia animal**. Estudos avançados, v. 24. 2010.
- DOU, T., Z. LI, K. WANG and L. LIU. Regulation of myostatin expression is associated with growth and muscle development in commercial broiler and DMC muscle. *Molecular Biology Reports*, v.45, p.511-522, 2018.
- ELIAS, D.; TISCHEW, S. Pastoreio de cabras - uma solução biológica para neutralizar a invasão de arbustos em pastagens secas abandonadas na Europa Central. **Agricultura, Ecossistemas e Meio Ambiente**. v.234, p.98-106, 2016.
- ELOY, A. M. X. et al. Criação de caprinos e ovinos / Embrapa Informação Tecnológica; **Embrapa Caprinos**. – Brasília, DF, 2007.
- EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS. **Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos**. Produção Mundial. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/producao-mundial>. Acesso em: 12.set.2021.
- FILHO, A. N.; KASPRZYKOWSKI, J.W.A. **O agronegócio da caprino-ovinocultura no Nordeste Brasileiro**, Banco do Nordeste do Brasil, Fortaleza n.9 p.56, 2006.
- GENTRY, A.; BROCK, J.; PGROVES, C. The naming of wild animal species and their domestic derivatives. **Journal of Archaeological Science**,v.31, p. 645-651, 2004.
- GROBET, L. et al. A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. **Nature Genetics** v.17, p.71–74, 1997.
- GROBET, L. et al. Uma deleção do gene da miostatina causa o fenótipo da musculatura dupla em bovinos. **Genética da natureza**, v.17, p.71-74, 1997.
- GUIMARÃES FILHO, C. **Caprino-ovinocultura, uma possível terceira via**. Gazeta Mercantil. Encarte para os estados PE, PB, RN e Al. Rio de Janeiro, p.2, 2000.

HOLANDA JÚNIOR, V.; MARTINS, E. C. **Análise da produção e do mercado de produtos caprinos e ovinos: o caso do território do sertão do Pajeú em Pernambuco.** Infoteca. EMBRAPA. 2008.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. Tabela 3939: **Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho.** [Rio de Janeiro, 2021c]. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acesso em: 30 nov. 2021.

JOULIA-EKAZA, D.; CABELLO, G. The myostatin gene: physiology and pharmacological relevance. **Current opinion in pharmacology**, v.7, n.3, p.310-315, 2007.

JÚNIOR, O. G. **Entre bois e cabras: uma visão histórica sobre mentalidades e valores nos sertões.** Estudos históricos, Rio de Janeiro, p.47, 2011.

KAHILA BAR-GAL, G. et al. Genetic evidence for the origin of the agrimi goat (*Capra aegagrus cretica*). **Journal of Zoology**, v.256, p. 369 – 377, 2002.

KASPRZYKOWSKI, J. W. A. **Desempenho da caprinocultura e ovinocultura no Nordeste.** Fortaleza, p.39, 1982.

LEITE, E. R. Manejo alimentar de caprinos e ovinos em pastejo no Nordeste do Brasil. **Ciência Animal**, v.12, n.2, p.119-128, 2002.

LI, X. L. et al. Single nucleotide polymorphism identification in the caprine myostatin gene. **Journal of Animal Breeding and Genetics**. v.123, p.141-144, 2006.

MADRUGA, M.S.; et al. Meat quality of Moxotó and Canindé goats as affected by two levels of feeding. **Meat Science**, v.80, n.4 p.1019- 1023, 2008.

MANCEAU, V. et al. P. Systematics of genus *Capra* as inferred by mitochondrial DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v.13, p.504–510, 1999.

MARKUS SCHUELKE, M.D. et al. Mutação da miostatina associada à hipertrofia do músculo grosso em uma criança. **The New England Journal of Medicine**, v. 350, p. 2682-2688, 2004.

MARKUS SCHUELKE, M.D. et al. Mutação da miostatina associada à hipertrofia do músculo grosso em uma criança. **The New England Journal of Medicine**, v. 350, p. 2682-2688, 2004.

MARQUES, J. I. et al. Pupillary dilation as a thermal stress indicator in boer crossbred goats maintained in a climate chamber. **Small Ruminant Research**. v.158, p.26–29, 2018.

McPHERRON, A. C.; LEE, S. J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, p.57–61, 1997.

McPHERRON, A.C.; LEE, S.J. Double muscling in cattle due to mutations in the *myostatin* gene. **Proceedings of the National Academy of Science**. v.94, p.12457–12461, 1997.

- McPHERRON, C. A.; LAWLER, M. A.; Lee, S.J. Regulação da massa muscular esquelética em camundongos por um novo membro da superfamília TGF- β . **Natureza**, v. 387, p. 83-90, 1997.
- MENEZES, M. P. C et al. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, p. 4, 2006.
- MONTE, S.L.A. et al. Qualidade da carne de caprinos e ovinos: uma revisão. **Agropecuária científica no semiárido**, v.8, n.3, p.11-17, 2012.
- MOREIRA, L. A et al. Fatores que influenciam no comportamento de caprinos em pastejo. **Revista Eletrônica Nutritime**. v.11, n.4, p. 3607- 3616, 2014.
- MOSHER, D.S. et al. A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs. **Plos Genetics**, v.3, p.79, 2007.
- MOSHER, D.S. et al. A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs. **PLoS Genetics**, v.3, p.79, 2007.
- Pesquisa da pecuária municipal – PPM. 2018. Disponível em: <<https://bit.ly/3y5RQeK>>. Acesso em: 23 jul. 2020.
- ROCHA, R.R.C. et al. Adaptabilidade climática de caprinos Saanen e Azul no Meio-Norte do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.61, n.5, p.1165-1172, 2009.
- SANTOS, F. C. B. et al. Adaptabilidade de caprinos exóticos e naturalizados ao clima semi-árido do nordeste brasileiro. **Ciência e agrotecnologia**. v.29, n.1, p.142-149, 2005.
- SANTOS, L. L. e BORGES, G. R. Fatores que influenciam no consumo de carne ovina. *Consumer Behavior Review*, v.3, n.1, p.42-56, 2019.
- SANTOS, R. **A cabra e a ovelha no Brasil**. Uberaba: Agropecuária Tropical. 2003.
- SCHALLER, G.B. **Mountain monarchs: wild sheep and goats of the Himalaya**, University of Chicago Press, Chicago, EUA, p.476, 1977.
- SINGH, S. P. et al. Caracterização molecular e filogenia análise baseada na sequência de codificação completa do gene da miostatina (MSTN) em raças de cabras indianas. **Small Ruminant Research**, v.116, p.100– 110, 2014.
- SINGH, S. P. et al. Molecular characterization and phylogeny based analysis of complete coding sequence of myostatin (MSTN) gene in Indian goat breeds. **Small Ruminant Research** v.116, p.100– 110, 2014.
- SOUZA, L. E. S.; BARROS, R. A. A. Territorialidade Econômica da Pecuária em Manuel Correia de Andrade. **Economia-Ensaio**, v. 32, n. 1, p. 113-130, 2017.
- TAY, G. K. et al. The development of sequence-based-typing of myostatin (GDF-8) to identify the double muscling phenotype in the goat. **Small Ruminant Research** v.52, p.1–12, 2004.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, p. 476, 1994.

VIEIRA, T. R. L; CUNHA, M. G. G; GARRUTI, D. S. et al. Propriedades físicas e sensoriais da carne de cordeiros Santa Inês terminados em dietas com diferentes níveis de caroço de algodão integral (*Gossypium hirsutum*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, v.30, n.2, p.372-377, 2010.

ZHANG, Z. J. et al. Polymorphisms of the myostatin gene (MSTN) and its relationship with growth traits in goat breeds. **Genetics and Molecular Research**. v.12, n.2, p.965-971, 2013.

ZHOU, H., HICKFORD, JG, FANG, Q. Variação na região de codificação do gene da miostatina (GDF8) em ovelhas. **Sondas moleculares e celulares**, v.22, p. 67-68, 2008.

CAPÍTULO 1

A Miostatina no melhoramento genético animal para a produção de carne - Revisão

***Elaborado segundo normas da revista Archivos de Zootecnia (ISSN-0004-0592)**

CAPÍTULO 1

A Miostatina no melhoramento genético animal para a produção de carne- Revisão

Raiane de Sousa Oliveira¹, Geice Ribeiro da Silva², Alberto Alexandre de Sousa Borges³, Leandra Polliny Morais Machado⁴, Francisco Arhur Arrê⁵, Adriana Mello de Araújo⁶, Fábio Mendonça Diniz⁷, Lindenberg Rocha Sarmiento⁸, Vladimir Costa Silva⁹

1, 3,4,5,8,9 Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI

2,7 Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE

6 Embrapa Pantanal, Corumbá-MS

RESUMO: O gene da miostatina é considerado um dos candidatos no melhoramento da carne em animais de produção. O objetivo dessa investigação foi realizar uma revisão sistemática de literatura reunindo estudos relevantes às temáticas referentes às metodologias e aplicabilidade dos marcadores moleculares, utilizados em estudos com bovinos, caprinos, suínos, ovinos e aves no mundo. O pacote R de análise bibliométrica (bibliometrix) realizou a análise dos dados das buscas por publicações indexadas nos portais científicos *Scopus* e *Web of Science*, realizado em julho de 2021. A China seguida pelos Estados Unidos, Índia e Nova Zelândia, se destacaram como os países de maior número de publicações relacionadas a essa temática. As ferramentas moleculares mais utilizadas foram as que apresentam como base o sequenciamento, sendo representadas por SNPs. Percebeu-se a necessidade de ampliação de pesquisas no Brasil com esses estudos genéticos focados no melhoramento do animal para a característica de interesse, visto que o mesmo apresenta poucos estudos relacionados ao gene miostatina no melhoramento da carne em animais de produção.

Palavras-chave: MSTN. superfamília TGF- β . sequenciamento. musculatura dupla. produção de carne.

ABSTRACT: The myostatin gene is considered one of the candidates for meat improvement in farm animals. The objective of this investigation was to carry out a systematic review of the literature, bringing together studies relevant to the themes related to the methodologies and applicability of molecular markers, used in studies with cattle, goats, swine, sheep and birds in the world. The R package of bibliometric analysis (bibliometrix) performed the analysis of data from searches for publications indexed in the scientific portals *Scopus* and *Web of Science*, carried out in July 2021. China followed by the United States, India and New Zealand stood out as the countries with the highest number of publications related to this topic. The most used molecular tools were those based on sequencing, represented by SNPs. There was a need to expand research in Brazil with these genetic studies focused on improving the animal for the trait of interest, since it has few studies related to the myostatin gene in meat improvement in production animals.

Keywords: MSTN. TGF- β superfamily. sequencing. double musculature. meat production.

1 Introdução

O gene da miostatina foi mapeado para a extremidade distal do cromossomo 2 em bovinos e consiste em três éxons e duas regiões intrônicas em todas as espécies estudadas, incluindo o suíno (Genbank access Number AY208121), o búfalo (AH013313) o peixe-zebra. (AY323521), frango (AF346599) e camundongo (AY204900) (GROBET et al. 1997; McPHERRON et al. 1997).

Mutações de perda de função no gene da miostatina (MSTN) estão associados com o aumento da massa muscular esquelética (dupla musculatura) em camundongos (McPHERRON et al., 1997), cães (MOSHER et al., 2007), ovelhas (CLOP et al.; 2006), bovinos (GROBET et al. 1997; McPHERRON e LEE, 1997;) e humanos (SCHUELKE et al., 2004).

A seleção assistida por marcadores moleculares é um processo eficiente na melhoria e no progresso da seleção em animais (KOOHMARAIE, 1996). Além disso, a genotipagem de animais pelo emprego de marcadores moleculares auxilia a classificar a carcaça com base na qualidade alimentar antes do abate (LONERGAN et al., 1995). As variações alélicas são recursos importantes para a genética animal, visto que as mesmas podem atuar na expressão de genes ou de algumas sequências de nucleotídeos possibilitando novas particularidades na qualidade da carne. Assim, estudos que objetivam a busca por marcadores genéticos em animais estão diretamente relacionados às análises de regiões polimórficas ou mutações nos genes que controlam as características economicamente importantes (FALEIRO, 2007).

O fator de crescimento TGF(β) é pouco estudado em algumas espécies animais, sendo que dentre os animais de produção, os estudos com caprinos são bem limitados. Logo, ainda não existem metodologias padronizadas nas pesquisas para avaliação do melhoramento animal voltados a produção da carne utilizando esse gene. Dessa forma, para utilizar estratégias mais eficientes de melhoramento genético é necessário conhecer as técnicas e os marcadores moleculares que estão sendo mais utilizados nos estudos com produção de carne em animais de interesse econômico.

Portanto, o objetivo desse estudo foi realizar uma revisão sistemática da literatura reunindo estudos relevantes às temáticas ligadas caprinos e aplicabilidade dos marcadores moleculares voltados ao melhoramento animal visando a produção de carne.

2 Material e Métodos

Para a realização sistemática da revisão de literatura foram feitas buscas por publicações indexadas nos portais científicos *Scopus* e *Web of Science*. O levantamento foi realizado em julho de 2021.

A investigação foi realizada acessando a página principal, com a busca usando o item que inclui juntos o resumo, título e palavras-chave. De início inseriu-se os termos, *goat AND myostatin OR MSTN AND sequencing OR sequence*. Em seguida, de forma separada, substituiu-se os termos *sequencing OR sequence* por: *RFLP OR “restriction fragment length polymorphism”*. As demais espécies de produção: *sheep, pig, bovine e chicken* seguiram essa mesma busca metodológica. A adição das aspas (“ ”) permitem

que se explore o termo por inteiro, quando este possui mais de uma palavra. O resultado referente a cada consulta foi registrado em dois tipos diferentes de arquivo de extensão, sendo o formato escolhido para a plataforma *Scopus* e *Web of Science (WOS)*, Bibtex e TXT, respectivamente.

Nesse trabalho, priorizou-se o endereço fornecido pela instituição de pesquisa do primeiro autor usando a função “*metaTagExtraction*” do pacote estatístico R Bibliometrix, sendo considerado a ideia de que o interesse da pesquisa seria do primeiro autor.

Os arquivos ligados às buscas de cada tipo de marcador molecular nas diferentes plataformas foram reunidos, e em seguida removidos todas as duplicatas, para posterior análise. Isso proporcionou uma visão geral dos estudos referentes aos principais marcadores moleculares que estão sendo mais utilizados nos estudos com produção de carne em animais de interesse econômico.

O pacote estatístico do R, Bibliometrix (ARIA; CUCCURULLO, 2017), foi utilizado em toda a análise bibliométrica. Esse software possibilitou a obtenção de informações de autores, países e suas instituições afiliadas, e gráficos com tipologias diferentes que facilitam na compreensão dessa temática no mundo. Mapas temáticos e de estrutura conceitual foram também criados para melhor ilustrar o assunto estudado.

Os mapas temáticos gerados no programa permitem que se ilustre quatro tipologias de temas, esses definidos de acordo com o quadrante no qual estão posicionados. Essa metodologia é baseada nas palavras-chave *Plus*. Elas são diferenciadas das palavras-chave dos autores, pois apresentam normalização e possuem a capacidade de busca aos temas dos artigos em maior variedade e profundidade (CORTE et al., 2019).

No quadrante superior direito do gráfico ficam os temas denominados “motor”, sendo estes caracterizados por alta centralidade e elevada quantidade de documentos, sendo os mais importantes para a temática da pesquisa.

Os temas mais especializados ou “temas-nicho” se localizam no quadrante superior esquerdo. Eles são caracterizados por baixa centralidade, sendo de importância secundária.

Os temas “emergentes” ou que se encontram em declínio se localizam no quadrante inferior esquerdo, sendo fracamente desenvolvidos e apresentando poucos registros.

Enquanto isso, os temas básicos que são caracterizados por alta centralidade e baixa densidade estão no quadrante inferior direito, sendo representativos para o campo de pesquisa.

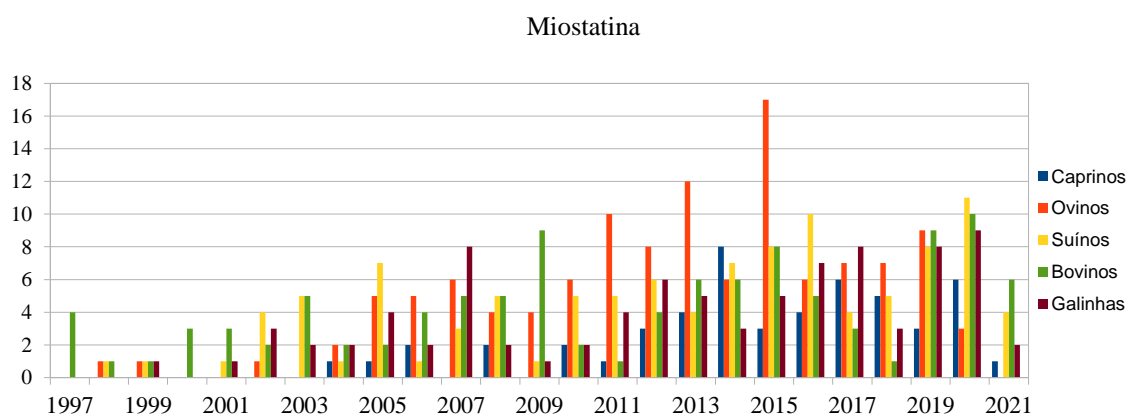
O estudo também utilizou-se de gráficos em rede para demonstrar o nível de colaboração entre os países relacionados as pesquisas. Um mapa de estrutura conceitual foi desenvolvido em duas dimensões, baseado na análise de correspondência múltipla (MCA) e no algoritmo de agrupamento *k-means* da rede de co-ocorrência de palavras-chave, com o grau mínimo igual a 2. Essa metodologia foi utilizada para investigar a tendência das pesquisas emergentes, por meio de termos científicos e as suas conexões (NITA, 2019).

3. Resultados e discussão

Com a exclusão de replicatas das publicações, no mundo foram relatados na base de dados da plataforma WOS e Scopus 417 estudos, registrados de 1997 a julho de 2021, voltados ao melhoramento de carne em animais de produção. A maior parte das produções científicas está relacionada a artigos publicados em periódicos científicos, com 388 publicações registradas, seguido de estudos de revisão com 14, sendo o restante distribuído entre capítulos de livros, notas científicas, conferências e outras categorias de publicações.

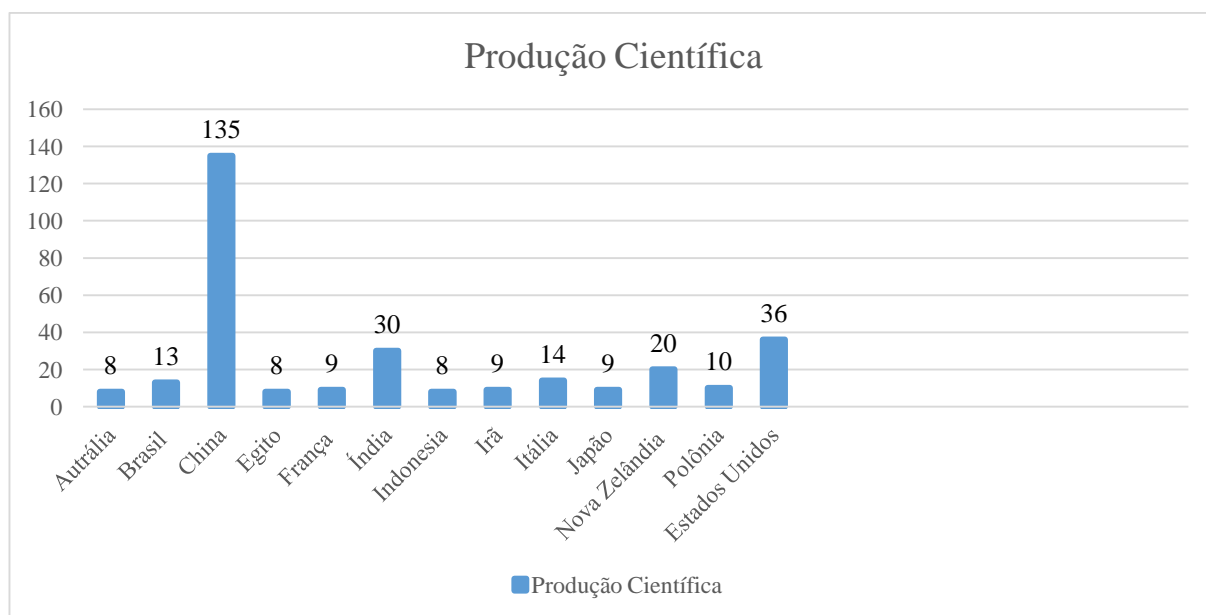
A distribuição anual de publicações relacionados com o melhoramento animal para a produção de carne iniciou-se desde os estudos de McPHERRON e LEE (1997) e a descoberta do gene da miostatina em bovinos que está ligado a regulação da produção das miofibrilas nos miotubos dos tecidos nos animais. Já os primeiros trabalhos registrados com ovinos e suínos datam de 1998. As aves e os caprinos datam a partir de 1999 e 2004, respectivamente (**Figura 1**).

Figura 1. Número de publicações anuais referente aos estudos da miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves a partir de 1997 a 2021.



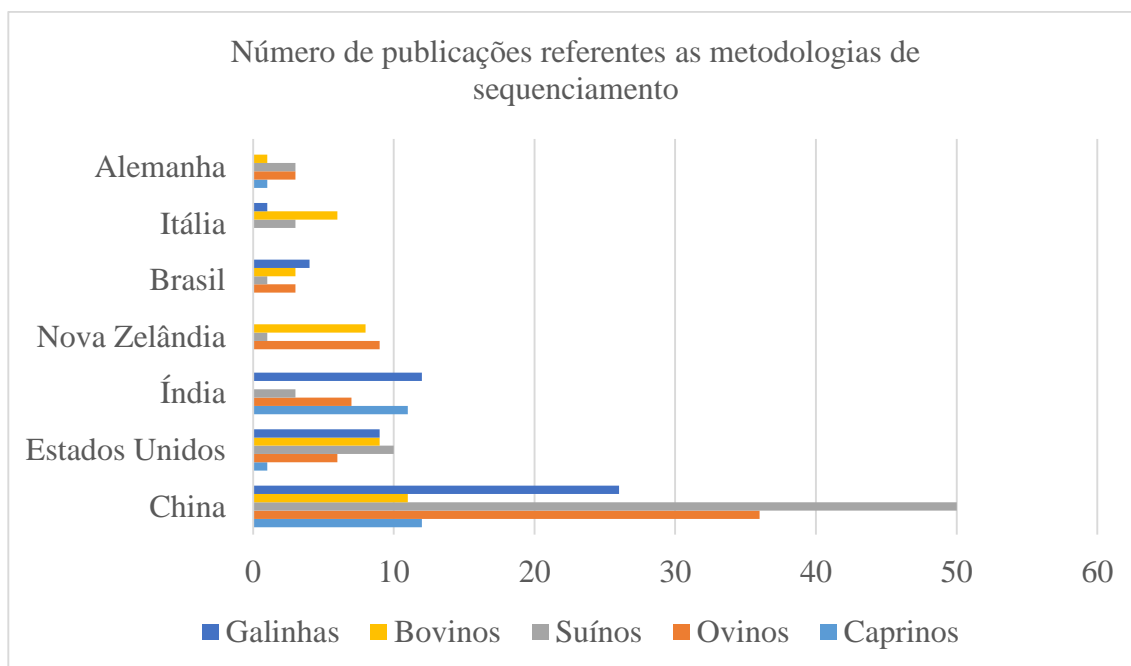
Foi possível observar que a China desponta como o país com maior número de publicações relacionadas ao melhoramento animal para a produção de carne (**Figura 2**). O país destaca-se como o maior efetivo de caprinos do mundo, o que pode justificar o volume de publicações (EMBRAPA, 2016).

Figura 2. Número de publicações por país, referente aos estudos do gene miostatina (MSTN) nas principais espécies domésticas no mundo.



Ao realizar buscas por marcadores moleculares mais usados em animais de produção utilizando o gene da miostatina, observou-se uma maior frequência de publicações relacionadas à metodologia de SNPS (**Figura 3**). Isso pode ser justificado levando em consideração que as metodologias utilizando-se RFLP sejam antigas e a mesma não apresentam a mesma eficiência nos resultados quando comparada as metodologias utilizando-se o sequenciamento, embora, ainda sejam identificados registros de pesquisas utilizando essa metodologia (AZARI et al., 2012).

Figura 3. Número de publicações referentes as metodologias de sequenciamento utilizadas nos estudos com o gene *Miostatina* em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo.



No gráfico acima é possível observar um grande número de publicações da China utilizando-se da metodologia de sequenciamento, seguida dos Estados Unidos, Índia e Nova Zelândia. É importante destacar que os suínos, as aves, os ovinos e caprinos prevalecem nas pesquisas. Os EUA apresenta limitação em estudos com caprinos, apresentando apenas um trabalho. No caso da Índia, ainda não existem trabalhos com bovinos. E, a Nova Zelândia não demonstrou nenhum trabalho com caprinos e aves.

O Brasil está na 5ª posição referente ao número de publicações nessa temática utilizando metodologia de sequenciamento. Até o momento, nenhum trabalho com caprinos, nessa temática, foi publicado nas bases de dados consultadas. Em relação às demais espécies, os trabalhos são ainda limitados, apresentando baixo nível de publicação comparada com a de outros países.

As metodologias de sequenciamento e SNPs foram trabalhadas juntas, sendo dessa forma, identificados no Brasil 11 registros de publicações. Esse tipo de marcador é caracterizado por apresentar grande aplicabilidade em estudos de seleção e melhoramento da qualidade da carne em animais de produção, pois estão ligados a características de importância econômica (GUIMARÃES e COSTA, 2002).

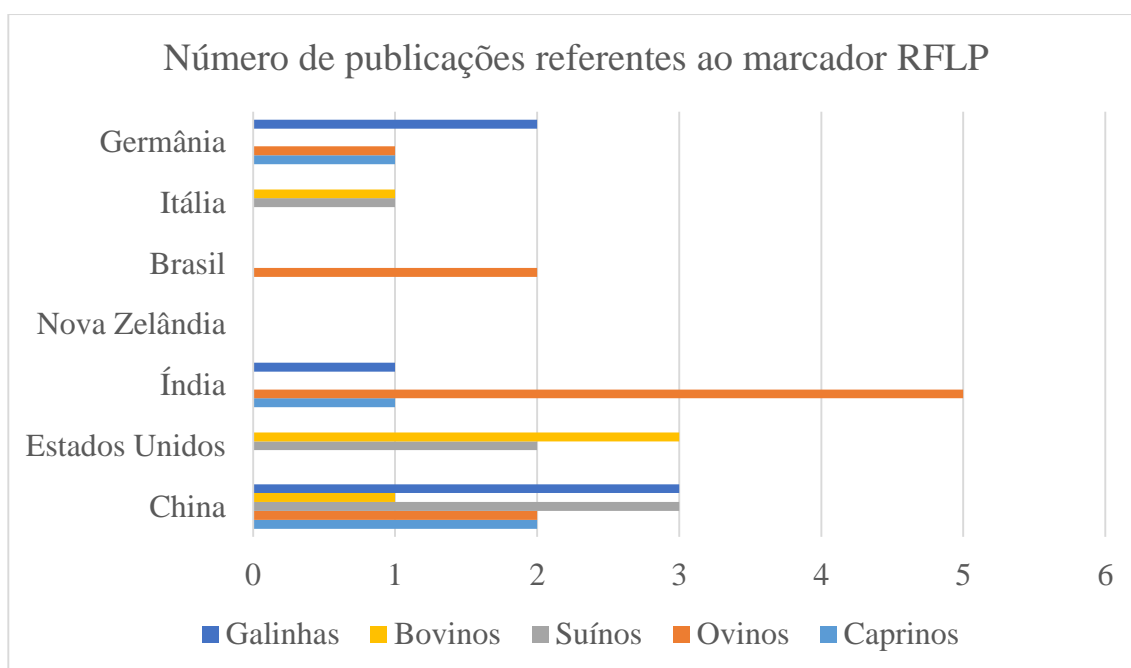
Os SNPs são bialélicos e se caracterizam por apresentarem diferenças em um único par de bases na sequência de DNA, sendo que essas mutações podem ser silenciosas ou causar alterações tanto na regulação como também função dos genes (KOOHMARAIE, 1996). Apesar da sua eficácia na identificação de QTLs (*Loci* de características quantitativas), em ocasiões onde o gene não é conhecido, sua precisão só tem relevância quando utiliza-se uma grande quantidade de marcadores, o que demanda um custo bem alto. Adicionalmente, a genotipagem de milhares de SNPs é feita utilizando microchips que por meio de sondas

conseguem identificar as variações ou essa detecção de polimorfismo na sequência de DNA pode ser feita utilizando a tecnologia NGS (Sequenciamento de Nova Geração) (PALMER et al., 1999).

Quando se observa trabalhos utilizando metodologia mais antiga, com a técnica RFLP, a China, Estados Unidos e Índia seguem nas mesmas posições quanto ao número de publicações. No caso da Nova Zelândia, nenhum trabalho utilizando RFLP foi publicado para nenhuma espécie de pequenos ruminantes. Enquanto isso, no Brasil existem trabalhos apenas com ovinos utilizando essa metodologia (**Figura 4**).

A aplicação dos marcadores codominantes RFLP, apesar de algumas limitações técnicas como bialelismo, necessidade de conhecimento prévio do gene e baixo polimorfismo, ainda podem ser úteis para pesquisas com o melhoramento da carne em animais de produção, auxiliando no estudo do polimorfismo de genes candidatos que sejam ligados a características do desenvolvimento muscular nesses animais. Essa técnica utiliza-se de enzimas de restrição para identificar o polimorfismo de determinado gene amplificado por reação em cadeia da polimerase - PCR (POLIDO et al., 2012).

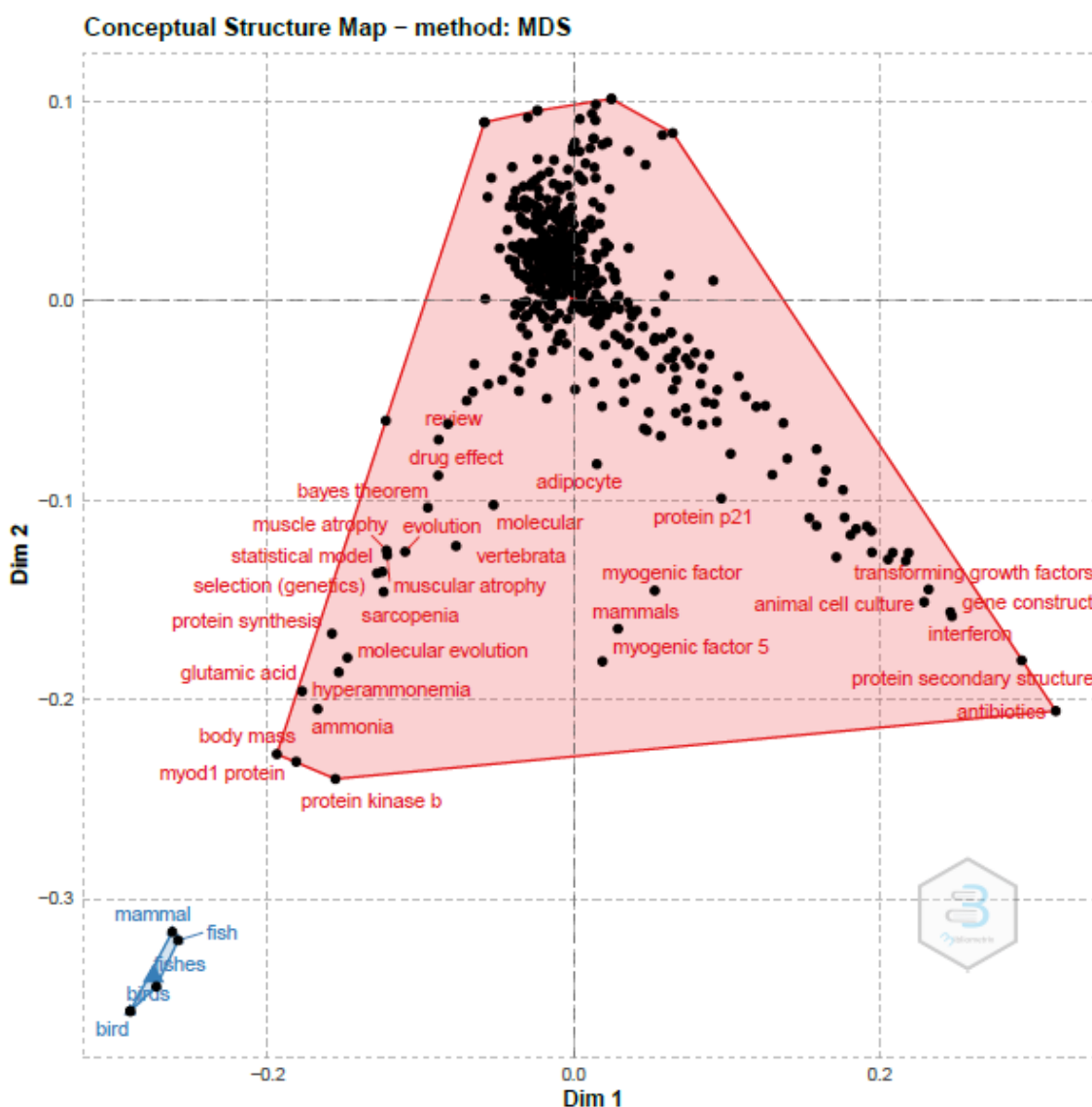
Figura 4. Número de publicações referentes as metodologias de RFLP utilizadas nos estudos com o gene Miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo.



No Brasil, segundo o levantamento da pesquisa, apenas 2 publicações foram identificadas utilizando RFLPs. Destas pode-se destacar o estudo realizado por Souza et al. (2010) que encontraram em ovinos o polimorfismo (g+6723G-A) no gene da miostatina, a frequência alélica de 90,5% para o alelo A e de 9,5% para o alelo G. O alelo A está associado ao maior desenvolvimento muscular, e como esperado, está presente na maioria dos animais testados, demonstrando que nos ovinos Texel criados no Brasil há uma alta frequência deste alelo.

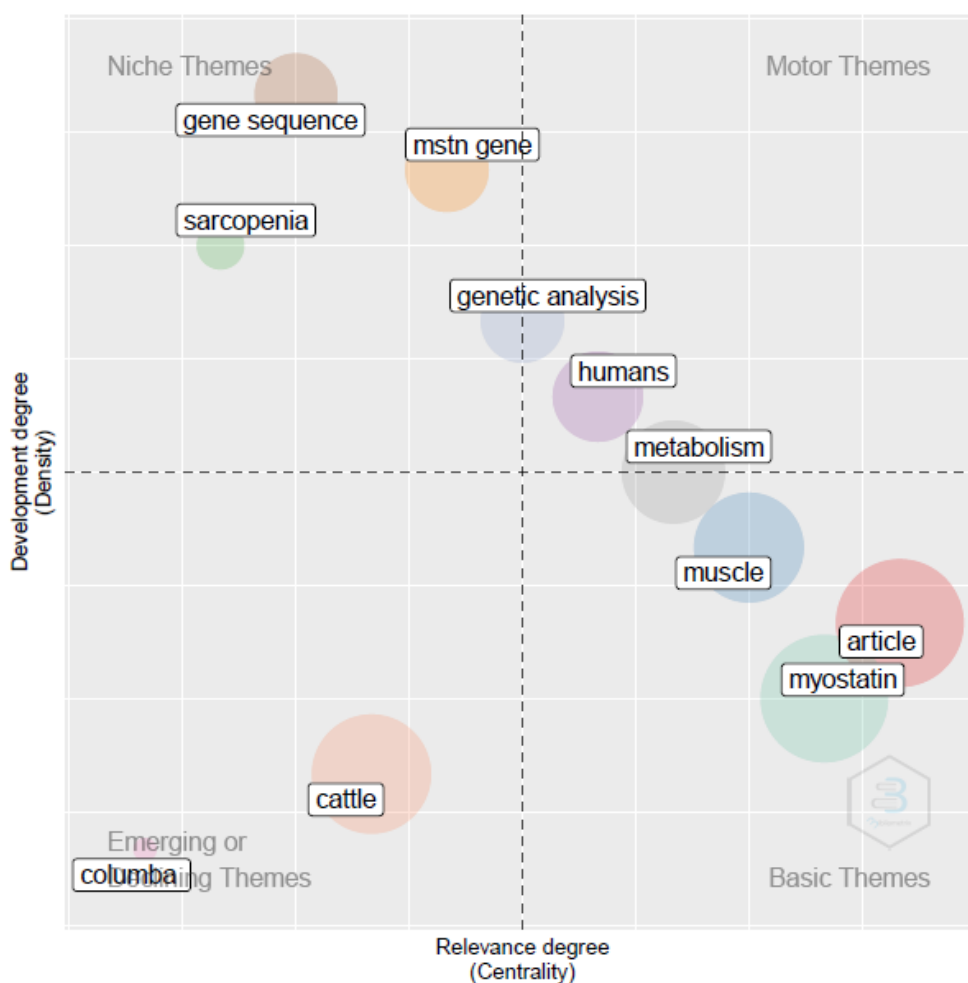
O mapa de estrutura conceitual demonstrou 2 grupos de palavras-chave correlacionadas nas publicações (**Figura 5**). No cluster 1 (em vermelho), observa-se a reunião de termos relacionados a caracterização do gene da miostatina, com destaque para a sua funcionalidade e referência ao melhoramento para produção de carne. No cluster 2 (em azul), observa-se a concentração de palavras relacionadas aos estudos em animais com esse gene, sendo representadas por bovinos (GROBET et al. 1997), ovinos (ZHOU et al., 2008), caprinos (SINGH et al., 2014), peixes (RONCANCIO et al., 2020) e aves (GABRIEL et al., 2006).

Figura 5. Mapa de estrutura conceitual de palavras-chave da análise bibliométrica de pesquisas ligadas ao melhoramento genético animal para a produção de carne (grau mínimo do nó = 2), método de análise de correspondência múltipla a agrupamento k- means; cluster 1- vermelho, cluster 2- azul.



No mapa temático, usado para investigar o grau de importância dos temas identificados nas pesquisas referentes ao melhoramento genético animal voltados a produção da carne (**Figura 6**), pode-se observar a formação de 11 tipologias de temas, sendo representadas pelos círculos coloridos.

Figura 6. Mapa temático referente as palavras-chave da pesquisa ligadas ao melhoramento em animais de produção. Os círculos representam os temas e o tamanho está ligado ao número de artigos relacionados a cada palavra-chave que os compõem.



Junto com o tema representado pelo círculo de coloração roxa, os termos “metabolismo e análise genética” possuem o maior grau de centralidade, demonstrando ser um dos termos de maior importância para o campo de pesquisa no melhoramento genético em animais de produção. Isso converge com os interesses dos pesquisadores, principalmente quando se deseja melhorar a carne dos mais diferentes animais que são economicamente importantes como ovinos (AHAD et al., 2016) e caprinos (ZHANG et al., 2012).

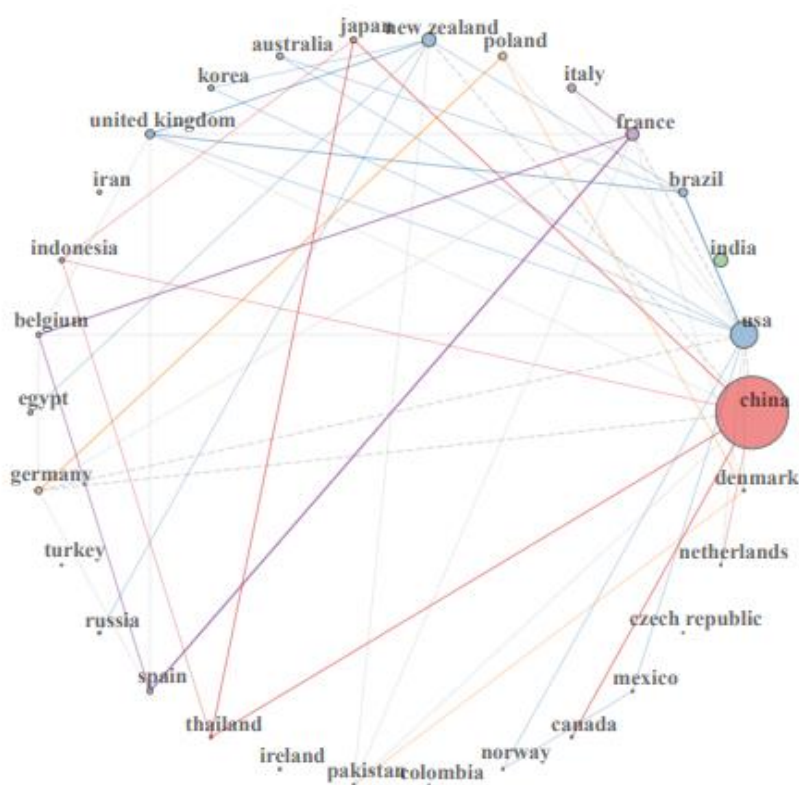
O tema nas cores em vermelho, verde e azul (**Figura 6**), se referem a artigos que estudam o gene voltado a dupla musculatura dos animais utilizando-se o gene da miostatina e está localizado em uma posição entre os temas mais importantes e básicos no campo das pesquisas.

O mapa temático aponta que os estudos, mais precisamente voltados ao gado representado pelo termo (*cattle*), estão localizado no quadrante relacionados aos temas emergentes com baixa centralidade e densidade.

Os temas do primeiro quadrante são focados nos estudos especializados no sequenciamento do gene da miostatina (BOMAN et al., 2009; YU et al., 2007). O termo “MSTN gene”, se apresenta como um dos assuntos com maior nível de centralidade.

A China, os Estados Unidos, Nova Zelândia e a Índia, apresentaram-se como os países com maior número de publicações, com a cooperação de alguns países, entre eles estão o Japão, Canadá, Tailândia e o Brasil (Figura 7).

Figura 7. Rede de colaboração entre os países para a publicação de estudos referentes ao gene da miostatina em animais de produção.



Essa produtividade pode ser justificada pela China, Índia e Nova Zelândia serem os maiores detentores de cabeças de caprinos no mundo (EMBRAPA, 2016).

4. Conclusão

As informações fornecidas na base de dados apresentaram uma visão geral de todas as publicações com marcadores moleculares aplicados no melhoramento animal voltados a produção da carne. A China foi o país que mais registrou publicações em todos os aspectos da busca. Por meio dos mapas de estruturas conceituais e temáticos foi possível observar, no geral, um grande interesse dos pesquisadores por temas voltados aos estudos de sequenciamento do gene da miostatina focados no desenvolvimento e produção do tecido muscular em animais de interesse econômico. Houve também a constatação da aplicabilidade dos marcadores moleculares na identificação e análise de polimorfismo na sequência do gene candidato a produção de carne. Nesse caso, os que se destacaram foram os marcadores que utilizam-se de metodologias de sequenciamento: SNP e o próprio sequenciamento do gene. Com isso, ficou evidente a importância da utilização dos marcadores moleculares como ferramenta para incrementar as práticas de melhoramento animal para a característica de interesse, sendo necessário a ampliação das pesquisas no Brasil, devido o mesmo apresentar poucos registros em estudos relacionados a essa temática, e nenhum relacionado a espécie caprina.

REFERÊNCIAS

- AHAD, W. A.; et al. 2016. Sequence Characterization of Coding Regions of the Myostatin Gene (GDF8) from Bakerwal Goats (*Capra hircus*) and Comparison with the Sheep (*Ovis aries*) Sequence. *Open Journal of Animal Sciences*. v.6, p.157-162.
- ARIA, M.; 2017. Cuccurullo, C. Bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*. v.11, p.959-975.
- AZARI M.A.; et al. 2012. Polymorphism of calpastatin, calpain and myostatin genes in native Dalagh sheep in Iran. *Slovak Journal of Animal Science*. v.45, p.1-6.
- BOMAN, I. A.; et al. 2009. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (MSTN) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Animal genetics*. v.40, p.418-422.
- CLOP, A. et al. 2006. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nature Genetics*. v.38, n.7, p.813–818.
- CORTE, V.D.; et al. 2019. Sustainable tourism in the open innovation realm: A bibliometrics analysis. *Sustainability*. v.11, n.6114, p.1-18.
- EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS. *Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos*. Produção Mundial. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/producao-mundial>. Acesso em: 12.set.2021.
- FALEIRO, F.G. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. *Embrapa Cerrados*. Planaltina, DF. p. 102. IBGE, 2007.
- GABRIEL E. J. E.; et al. 2006. Padrão de expressão temporal de transcritos de miostatina durante a embriogênese da galinha. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.58, p.5.
- GROBET, L. et al. 1997. Uma deleção do gene da miostatina causa o fenótipo da musculatura dupla em bovinos. *Genética da natureza*, v.17, p.71-74.
- GUIMARÃES, P. E. M.; COSTA, M. C. R. 2002. SNPs: Sutis diferenças de um código. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. V. 26, p.24:27.
- KOOHMARAIE M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*. v.43, p.193-201.
- LONERGAN S.M.; et al. 1995. Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness. *Journal Animal Science*. v.73, p.3608-3612.
- MARKUS SCHUELKE, M.D. et al. 2004. Mutação da miostatina associada à hipertrofia do músculo grosso em uma criança. *The New England Journal of Medicine*. v. 350, p. 2682-2688.
- McPHERRON A.C. e Lee S.J. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v.94.
- McPHERRON, C. A.; LAWLER, M. A.; Lee, S.J. 1997. Regulação da massa muscular esquelética em camundongos por um novo membro da superfamília TGF- β . *Natureza*, v. 387, p. 83-90.

- MOSHER, D.S. et al. 2007. A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs. *Plos Genetics*, v.3, p.79.
- NITA, A. 2019. Empowering impact assessments knowledge and international research collaboration – A bibliometric analysis of Environmental impact assessment review journal. *Environmental impact assessment review*, v.78, p.1-10.
- PALMER, B.R.; et al. 1999. Marker–assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. *New Zealand Society of Animal Production*. v.59, p.266-268.
- POLIDO, P. B.; et al. 2012. Marcadores moleculares aplicados no melhoramento genético de bovinos. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia UNIPAR*. Umuarama, v. 15, n. 2, p. 161-169.
- RONCANCIO, C.O.S.; et al. 2021. Influência de fatores abióticos sob miogênese de peixes teleósteos. *Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.15 p.3.
- SOUZA, C.J.H.; et al. 2010. Ocorrência de polimorfismos (g+6723g-a) no gene da miostatina em um rebanho de ovinos Texel no Brasil. *XI Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos*.
- WANG, J. et al. 2005. High-throughput SNP genotyping by single-tube PCR with Tm-shift primers. *Bio Techniques*, v. 39, n. 6, p. 885–892.
- YU, L.; et al. 2007. Polymorphisms in the 5' regulatory region of myostatin gene are associated with early growth traits in Yorkshire pigs. *Science in China Series C: Life Sciences*, v.50, p.642-647.
- ZHANG, C.; et al. 2012. Polymorphisms of myostatin gene (MSTN) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. *Molecular biology reports*, v.39, p.3081-3087.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE DE VARIANTES NO ÉXON-1 DO GENE MIOSTATINA (MSTN) EM CAPRINOS

ANÁLISE DE VARIANTES NO ÉXON-1 DO GENE MIOSTATINA (MSTN) EM CAPRINOS

Raiane de Sousa Oliveira, Universidade Federal do Piauí, raianedp2012@hotmail.com
 Geice Ribeiro da Silva, Embrapa Caprinos e Ovinos-CE, geiceamb_bio@yahoo.com.br
 Adriana Mello de Araújo, Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, adriana.araujo@embrapa.br
 Fábio Mendonça Diniz, Embrapa Caprinos e Ovinos-CE, fabio.diniz@embrapa.br
 Lindenberg Rocha Sarmiento, Universidade Federal do Piauí, sarmiento@ufpi.edu.br
 Vladimir Costa Silva Universidade Federal do Piauí, vladimir.costa@fiocruz

RESUMO: Apesar da carne caprina apresentar uma importante fonte de proteína na alimentação das populações rurais, a quantidade de carne caprina consumida pela população brasileira ainda é baixa comparada ao consumo de carne bovina e suína. O melhoramento genético da produção de carne caprina se caracteriza como um processo de ganho lento e para as raças localmente adaptadas costuma ser de difícil implementação. A identificação de variações alélicas no gene da miostatina (GDF-8), considerado um candidato para o crescimento e desenvolvimento da carne nos animais, pode ser utilizado para a seleção assistida por marcadores moleculares com a finalidade de obter uma resposta rápida ao que se refere a genética caprina. Este estudo buscou mutações no éxon 1 do gene da Miostatina nas raças caprinas Azul (grupo localmente adaptado, sem padronização de registro), Anglo-Nubiano (raça padronizada, comercial) e Canindé (raça localmente adaptada, padronizada). No geral, foram identificados nove sítios polimórficos nas raças estudadas. A Canindé apresentou maior quantidade de mutações, sendo três delas relacionada ao dado de polimorfismo e dois aos indels. A raça Anglo-Nubiano apresentou uma mutação relativa a dados de polimorfismo e dois referentes aos indels. A raça Azul não apresentou nenhuma mutação na região estudada. O número de sítios polimórficos e indels totalizaram 4 e 5, respectivamente. As frequências de nucleotídeos médias dessa sequência foram: 32,56% (A), 23,47% (T / U), 21,00% (C) e 22,97% (G). As relações de taxa de transição e transversão foram de $k_1 = 6,727$ (purinas) e $k_2 = 0$ (pirimidinas). A diversidade haplotípica (hd) foi de 0,306 para dados polimórficos e de 0,515 para diversidade de haplótipos indels. A descoberta da variação molecular no éxon-1 do gene da miostatina em caprinos de raças brasileiras, demonstrando que esse marcador pode ser um possível candidato para o melhoramento genético.

Palavras-chave: Azul, Anglo-Nubiano, Canindé, TGF- β , Recursos Genéticos, indels.

ABSTRACT: Although goat meat is an important source of protein in the diet of rural populations, Brazil register low amount of consume compared to the consumption of beef and pork. The genetic improvement to meat production shows very low gains in Brazilian goats, especially concern locally adapted breeds it is usually difficult to implement. The identification of allelic variations in the myostatin gene (GDF-8), considered a candidate for the growth and development of animal meat, could be used for selection assisted by molecular markers in order to obtain a rapid response to what is referred goat genetics. This study looked for mutations in exon 1 of the Myostatin gene in Azul (locally adapted group, without registration standardization), Anglo-Nubian (standardized, commercial breed) and Canindé (locally adapted, standardized breed) goat breeds. Overall, nine polymorphic sites were identified in the studied breeds from Brazil. The Canindé breed showed the highest number of mutations, three of which were related to polymorphisms data and two to the indels. The Anglo-Nubian presented one mutation related to polymorphism data and two

related to indels. The Azul did not present any mutation in the sequence region. The number of polymorphic and indel sites totaled 4 and 5, respectively. The average nucleotide frequencies of this sequence were 32.56% (A), 23.47% (T/U), 21.00% (C) and 22.97% (G). Transition and transversion rate ratios were $k1 = 6,727$ (purines) and $k2 = 0$ (pyrimidines). The haplotypic diversity (hd) was 0.306 for polymorphic data and 0.515 for indels haplotype diversity. The discovery of molecular variation in myostatin exon 1 in Brazilian goats local breeds put this marker as a possible candidate for genetic improvement.

Keywords: Azul, Anglo-Nubian, Canindé, TGF- β , Genetic Resources, indels.

RESUMEN: A pesar de que la carne de cabra es una fuente importante de proteínas en la dieta de las poblaciones rurales, la cantidad de carne de cabra consumida por la población brasileña todavía es baja en comparación con el consumo de carne de res y cerdo. La mejora genética de la producción de carne caprina se caracteriza por ser un proceso de ganancia lento y, para las razas adaptadas localmente, suele ser difícil de implementar. La identificación de variaciones alélicas en el gen de la miostatina (GDF-8), considerado candidato para el crecimiento y desarrollo de la carne en animales, puede ser utilizada para la selección asistida por marcadores moleculares con el fin de obtener una respuesta rápida a lo que se refiere la genética caprina. Este estudio buscó mutaciones en el exón 1 del gen de la Miostatina en las razas caprinas Azul (grupo adaptado localmente, sin estandarización de registro), Anglo-Nubian (raza comercial estandarizada) y Canindé (raza estandarizada adaptada localmente). En general, se identificaron nueve sitios polimórficos en las razas estudiadas. La raza Canindé presentó el mayor número de mutaciones, tres de las cuales se relacionaron con los datos de polimorfismos y dos con los indeles. La raza anglo-nubia presentó una mutación relacionada con datos de polimorfismo y dos relacionadas con indeles. La raza Azul no presentó ninguna mutación en la región estudiada. El número de sitios polimórficos e indel totalizó 4 y 5, respectivamente. Las frecuencias de nucleótidos promedio de esta secuencia fueron: 32,56% (A), 23,47% (T/U), 21,00% (C) y 22,97% (G). Las proporciones de las tasas de transición y transversión fueron $k1 = 6.727$ (purinas) y $k2 = 0$ (pirimidinas). La diversidad haplotípica (hd) fue de 0,306 para datos polimórficos y de 0,515 para diversidad de haplotipos indels. Se puede concluir que hubo variación molecular para el estudio de miostatina en caprinos de Brasil, demostrando que este marcador puede ser un posible candidato para el mejoramiento de la carne de esta especie.

Palabras clave: Azul, Anglo-Nubio, Canindé, TGF- β , Recursos Genéticos, indels.

1 Introdução

Na região Nordeste do Brasil, a exploração de caprinos desempenha um papel importante na alimentação humana na zona rural, possuindo também valor histórico e econômico nas regiões onde é desenvolvida. Além disso, essa atividade fixou o homem ao campo e proporcionou um complemento de outras atividades, sendo elas agrícolas e pecuárias.

Apesar do consumo de carne caprina ter aumentado ao longo dos anos, principalmente na região Nordeste do Brasil, o maior desafio continua sendo atribuído às características físicas da carne que é produzida por esses animais, devido ao seu baixo porte e ao baixo potencial genético no que diz respeito ao crescimento e produção de carne (VIEIRA et al., 2010).

O melhoramento genético de raças adaptadas localmente pode ser realizado utilizando ferramentas da Genética Molecular, sendo essa informação confiável e possível de respostas de ganho de seleção com curto período de tempo para as características de interesse (FALEIRO, 2007).

As características de crescimento dos animais são reguladas por muitos genes, sendo estes responsáveis pelo valor econômico do animal. Sendo assim, é fundamental identificá-los para uma seleção assistida utilizando marcadores moleculares. As variações alélicas desses genes candidatos a características de interesse são importantes para descrever as diferenças entre raças com base no genótipo do animal (SHARMA et al., 2013).

A miostatina (MSTN) é um gene que está relacionado à característica de produção da carne nos animais e em muitos estudos é possível fazer inferências sobre as diferenças entre as raças caprinas com base nessa característica de interesse (McPHERRON et al., 1997). Esse gene pertence a superfamília do fator de crescimento transformador (TGF- β) e a perda da função desse gene está relacionada com o aumento da musculatura em animais (McPHERRON e LEE, 1997).

O polimorfismo do gene MSTN está associado a produção de carne em animais, porém ainda não foi estudado em caprinos no Nordeste do Brasil, tanto em raça comercial transfronteiriça, como raças localmente adaptada padronizada e não padronizada. Por isso, o presente estudo teve como objetivo identificar e caracterizar as variações alélicas do gene da miostatina nas raças Anglo-nubiano, Azul e Canindé.

2 Material e métodos

2.1 Amostragem de sangue e coleta de dados

Amostras de sangue foram obtidas de cabras Anglo-Nubiano (n = 50), Azul (n = 50), Canindé (n = 50). Foi extraído o DNA de 150 indivíduos. Para a purificação, foram selecionados apenas 72 amostras, devido a qualidade do material. No sequenciamento, foram selecionados apenas Anglo-Nubiano (n = 7), Azul (n = 3), Canindé (n = 5). Os animais foram advindos da Fazenda Faveira, localizada em Elesbão Veloso, no Piauí, da Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA MEIO-NORTE), Teresina-PI e da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular das cabras usando um tubo estéril de reagente anticoagulante EDTA de 10 mL (BD Vacutainer®). As amostras foram conservadas em gelo gel em isopor e encaminhadas para o laboratório de genética molecular da EMBRAPA Meio-Norte de Teresina-PI.

O DNA foi isolado usando o protocolo (Chelex 10%). Adicionou-se 180µl de água ultra pura em um tubo de 0,2 ml contendo de 1 a 5µl de sangue total. Deixou-se incubar em temperatura ambiente por 20 min com periódicas homogeneizações. Posteriormente, centrifugou-se por 14.000 rpm por 5 min, descartou-se, logo após o sobrenadante. Adicionou-se 100µl de solução Chelex. Programou-se o termociclador na temperatura de 57°C por 2 horas e 100°C por 15min.

2.2 Amplificação e sequenciamento de DNA

A concentração e pureza do DNA foram determinadas usando um espectrofotômetro NanoDROP 20000 UV-Vis (Thermo Fisher Scientific), sendo a região correspondente ao éxon 1 F: 5'-TCTTTAATAATGACTCCCTGCG-3'/R: 5'-GAACACCCACAGCGATCTACT-3' do gene MSTN de cabra com tamanho esperado de 517bp foi amplificado por reação em cadeia da polimerase (PCR) usando as seguintes concentrações de reagentes: 0,15 U *Taq* DNA polimerase (Invitrogen), 2,0 µL de tampão de reação (Invitrogen), 0,6 µL de MgCl₂, 0,5 µL de dNTPs (Invitrogen), 0,3 µL de cada *primer*, e 2 µL de DNA. A reação foi executada no termociclador Veriti 96-well thermal cyler (Applied Biosystems, Foster City, CA) sob as seguintes condições: 5 min a 94 °C, 40 ciclos de 94 °C a 1 min, temperatura de anelamento (Ta) a 72 °C por 45s e extensão final de 72 °C por 7 min. Para confirmar o sucesso da amplificação, o tamanho dos fragmentos foram comparados com o marcador DNA Ladder 1 Kb e 100bp (Invitrogen), visualizados em gel de agarose a 2 %, corados com Gel Red 10X, submetido à luz UV.

As regiões amplificadas foram purificadas com o reagente ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup (Applied Biosystems) e quantificados no equipamento Nanodrop 2000 (Thermo Scientific) e posteriormente sequenciadas usando a tecnologia Sanger no sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer (Actgene), equipado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (Applied Biosystems) com serviço prestado por empresa especializada.

2.3 Análise estatística

2.3.1 Alinhamento das sequências

As sequências *forward* de cada indivíduo foram verificadas e corrigidas quando necessário usando o editor de sequência CHROMAS versão 2.6.6 (Technelysium, Brisbane, QLD, Austrália). O conjunto de dados das amostras foi alinhado usando o programa CLUSTAL W (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994) no editor BIOEDIT versão 7.2.6.1 (HALL, 1999) e ajustado manualmente.

Para a análise filogenética, foram utilizadas as fitas consenso dos haplótipos das raças Azul, Anglo Nubiano e Canindé, bem como as sequências de outras raças caprinas que foram depositadas no Genbank do NCBI, Sirohi (HM462259.1), Black Bengal (HM462261.1), Qianbei Ma (JX078968.1), Bundelkhandi (MG004717.1), Berari (MG004716.1), Sirohi genotype AB (JX456575.1), Guizhou Small Xiang (JN012228.1), Sirohi genotype AA (JX456574.1), Sangamneri (MG004719.1), Guizhou Black (JX078969.1), Black Bengal genotype AA (JX456573.1), Barbari genotype AA (JX456571.1), Jianchang Black (EF588033.1), Angora (EF588032.1), Shannan White (EF588031.1), Yichang White (EF588017.1), Nubian (EF588024.1) e Guizhou Black (EF588035.1), obtidas a partir do alinhamento no software BLAST, sendo selecionadas aquelas que se alinharam por toda a extensão do fragmento sequenciado e previamente corrigido.

Para investigar a influência dos SNPs com características de produção, foram identificados, ainda por meio do software BLAST, e posteriormente alinhados usando o programa Clustal W, também as sequências de outras espécies animais ligadas à produção, de forma a utilizar o número de acesso para rastrear os artigos que publicaram algo a respeito da aplicação desses SNPs.

Com base nas sequências alinhadas utilizadas para a análise filogenética e com base naquelas oriundas apenas das raças Azul, Anglo Nubiano e Canindé, empregou-se o programa DNASP.v5.10 (LIBRADO; ROZAS, 2009) para calcular o número de sítios polimórficos, InDels, diversidade haplotípica (H_d) e diversidade nucleotídica (π) (NEI, 1987). A mesma base de dados foi utilizada para estimar a taxa de transição e transversão, com auxílio do programa MEGA X v.

10.2.6 (KUMAR et al., 2018). Previamente, pelo fato do sequenciamento direto do produto de PCR do gene de MSTN de organismos diploides gerarem bases ambíguas, conforme International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC, nos indivíduos heterozigotos para SNPS (polimorfismo de base única), para estimar esses parâmetros, todas as sequências com nucleotídeos ambíguos foram convertidas para as formas genotípicas diploide usando o programa DNASP.

2.4 Análise filogenética

2.4.1 Teste de saturação de mutação

Para evitar incoerências na reconstrução filogenética causadas pela saturação de substituição de bases nucleotídicas, realizou-se comparação estatística das estimativas de metade do índice de saturação teórica esperada ao assumir a saturação completa (ISS.c, valor crítico) com o índice de saturação observado (ISS) empregando o software DAMBE v 5.2 (XIA; XIE, 2001). O mesmo programa também foi utilizado para detectar a frequência dos nucleotídeos nas sequencias analisadas.

2.4.2 Análise de inferência Bayesiana (IB)

Para a inferência Bayesiana, baseado no critério de informação Akaike (AIC) (POSADA; BUCKLWY, 2004), o programa JModeltest (POSADA, 2008) foi usado para selecionar o modelo evolutivo mais adequado ao alinhamento das sequências. Com base nos modelos evolutivos selecionados para o gene MSTN, para a construção da árvore filogenética usou-se o programa MrBayes versão 3.1.2 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003). A análise foi feita com um milhão de gerações, usando Cadeia Markov de Monte Carlo. Foram programadas duas análises simultâneas, iniciando de diferentes árvores aleatórias (Nruns = 2), com quatro cadeias de Markov e árvores amostradas de 100 gerações. Vinte cinco por cento das árvores foram descartadas da análise. As árvores restantes foram então usadas para construir a consenso da maioria de 50%, acompanhada de valores de probabilidade posterior (PP). O arquivo com a extensão “.pstat” foi utilizado para verificar a convergência dos resultados das cadeias de Markov usando como critério aqueles que apresentaram tamanho eficaz mínimo da amostra MCMC (minESS) maior que 200. A visualização da árvore foi realizada usando o software FigTree v1.4.3.

O programa NETWORK versão 10.2 (BANDELT et al., 1999) foi empregado para construir graficamente uma rede filogenética de todos os 15 haplótipos da região nordeste usando o algoritmo Reduced median, a fim de visualizar de forma abrangente as complexas relações entre os haplótipos, estimando possíveis “nós” ancestrais ou intermediários.

2.5 Análise genotípica dos SNPs

Com base numa matriz de dados montada a partir dos inputs gerados pelos programas Dnasp e Genalex, para calcular a frequência alélica e genotípica dos SNPs, empregou-se o pacote R *SNPassoc*.

Para estimar a distância *genpofad*, indicada para SNPs, utilizou-se o pacote R *pofadinr*. Com base nessa distância, a fim de verificar a relação genética entre essas raças, gerou-se o dendrograma por meio do algoritmo UPGMA, usando o pacote R básico *stats*.

3 Resultados e discussão

A região sequenciada de 15 cabras apresentaram 460 bp de comprimento. Os resultados mostram que o gene da miostatina nas populações das raças Anglo-Nubiano, Azul e Canindé estudadas é altamente conservado.

A resolução de bandas do Éxon 1 do gene da Miostatina está representado pelos acessos caprinos da raça Canindé (CAN 437, CAN 455, CAN 418, CAN 410 e CAN 434) **figura 1**.

No geral, apenas nove sítios polimórficos foram detectados na população de caprinos. Observa-se na (**Tabela 1**) o genótipo e os pontos de SNPs onde ocorreram as mutações nas diferentes populações.

Analisando a nível genotípico as 30 sequências utilizadas no estudo, dos 460 sítios, 4 foram identificados como variáveis ou polimórficos sendo os 456 sítios restantes monomórficos, não apresentando nenhuma variação. Os dados gerais de polimorfismos e indels estão representados na **Tabela 2**.

Figura 1. Perfil eletroforético de produtos amplificados do gene MSTN (ÈXON 1) em gel de agarose a 1,5%. Marcador de peso molecular 1kb e acessos de raças caprinas Canindé (C437, C455, C418, C410 e C434).

1KB C437 C455 C418 C410 C434

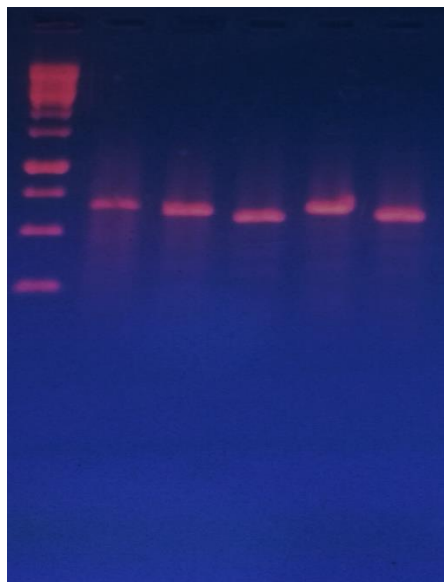


Tabela 1. Identificação dos SNPs encontrados nas sequências de DNA das raças Azul, Anglo-nubiano e Canindé.

Animal	Raça	SNP								
		18	25	26	27	28	29	39	383	462
CAN_437_0	CAN	GG	--	--	--	--	--	AA	AA	TT
CAN_434_0	CAN	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	GG	TT
CAN_418_0	CAN	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	TT
CAN_455_0	CAN	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	AA
CAN_410_0	CAN	AG	--	--	--	--	--	AG	AA	TT
AN_904_0	AG	GG	--	--	--	--	--	AA	AA	TT
AN_802_0	AG	GG	--	--	--	--	--	AA	AA	TT
AN_812_0	AG	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	TT
AN_830_0	AG	GG	--	--	--	--	--	AA	AA	TT
AN_834_0	AG	GG	--	--	--	--	--	AA	AA	TT
AN_004B_0	AG	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	TT

AN_842_0	AG	GG	--	--	--	--	--	AA	AA	TT
AZ_326_0	AZ	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	TT
AZ_E1811_0	AZ	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	TT
AZ_1564_0	AZ	GG	TT	TT	TT	TT	AA	AA	AA	TT

Tabela 2. Análise geral dos dados de sítios polimórficos e indels identificados nas 30 sequências da Raça Anglo-Nubiano, Azul e Canindé.

Dados de polimorfismo	Polimorfismo de indels
Número de sítios variáveis: 4	Número de indels analisados: 5
Número total de mutações: 4	Número de haplótipos indel: 2
Diversidade de nucleotídeos (Pi): 0.00085	Diversidade de haplótipos indel: 0.515
Número de haplótipos (h):4	Diversidade indel k (i): 0.515
Diversidade de haplótipos (hd): 0.306	Diversidade indel por local Pi (i):0.00111

Quando analisamos os dados de polimorfismo nas raças caprinas de maneira individual, os resultados diferenciam-se de forma bem representativa. A raça Canindé apresentou uma maior quantidade de mutações, sendo 3 delas relacionados ao dados de polimorfismo e 2 aos indels. A raça Anglo-Nubiano apresentou um menor número de mutações, sendo 1 mutação relativa a dados de polimorfismo e 2 relacionados aos indels. A raça Azul não apresentou nenhum dado de polimorfismo como também indels (**Tabela 3**).

Tabela 3. Análise geral dos dados de sítios polimórficos e indels identificados nas 14 sequências da Raça Anglo-Nubiano e 10 sequências da Raça Canindé.

Raça	Dados de polimorfismo	Polimorfismo de indels
Anglo-Nubi- ano	Número de sítios variáveis: 1	Número de indels analisados: 5
	Número total de mutações: 1	Número de haplótipos indel: 2
	Diversidade de nucleotídeos (Pi): 0.00057	Diversidade de haplótipos indel: 0.440
	Número de haplótipos (h): 2	Diversidade indel k (i): 0.440
	Diversidade de haplótipos (hd): 0.26374	Diversidade indel por local Pi (i): 0.00095

	Dados de polimorfismo	Polimorfismo de indels
Canindé	Número de sítios variáveis: 3	Número de indels analisados: 5
	Número total de mutações: 3	Número de haplótipos indel: 2
	Diversidade de nucleotídeos (Pi): 0.00164	Diversidade de haplótipos indel: 0.533
	Número de haplótipos (h): 3	Diversidade indel k (i): 0.533
	Diversidade de haplótipos (hd): 0.511	Diversidade indel por local Pi (i): 0.00115

Cinco haplótipos estiveram presentes na constituição genotípica das raças em estudo, apresentando baixo nível de diversidade haplotípica (0.306). Quanto a diversidade nucleotídica por sítio, apresentou valor de 0.00085.

As relações da taxa de transição e transversão foram de $k_1 = 6,727$ para purinas e $k_2 = 0$ para pirimidinas. A tendência geral de transição / transversão foi de 2,037.

Com relação a taxa de substituição de nucleotídeos nas raças em estudo, foram avaliadas 30 sequências de nucleotídeos. As posições de códon incluídas foram 1^a + 2^a + 3^a + não codificantes. Todas as posições ambíguas foram removidas para cada par de sequência (opção de exclusão em pares). Havia um total de 466 posições no conjunto de dados final. Cada entrada mostra a probabilidade de substituição (r) de uma base (linha) para outra base (coluna). Para simplificar, a soma dos valores de r é igual a 100. As taxas de diferentes substituições de transição são mostradas em negrito e as de substituições transversais são mostradas em itálico (**Tabela 4**).

Tabela 4. Estimativa de probabilidade composta máxima do padrão de substituição de nucleotídeos nas Raças Ango- Nubiano, Azul e Canindé.

	A	<i>T</i>	<i>C</i>	G
A	-	<i>4.09</i>	<i>3.66</i>	26.94
T	<i>5.68</i>	-	0	<i>4</i>
C	<i>5.68</i>	0	-	<i>4</i>
G	38.19	<i>4.09</i>	<i>3.66</i>	-

Analisando a diferenciação genética das raças caprinas estudadas, no dendograma identificou-se a formação de cinco agrupamentos geneticamente distintos que surgem a partir da média da distância de similaridade, a qual corresponde a 0,98. Os acessos que apresentaram entre si maior similaridade genética estão representados pelo grupo I com indivíduos da raça Anglo-Nubiano 802, 830, 834 e 842, pelo grupo IV com indivíduos da raça Caninde 455, 418, raça Anglo-Nubiano 418 e 004B, raça Azul 326, E1811 e 1564. Sendo que os acessos do grupo II, representado

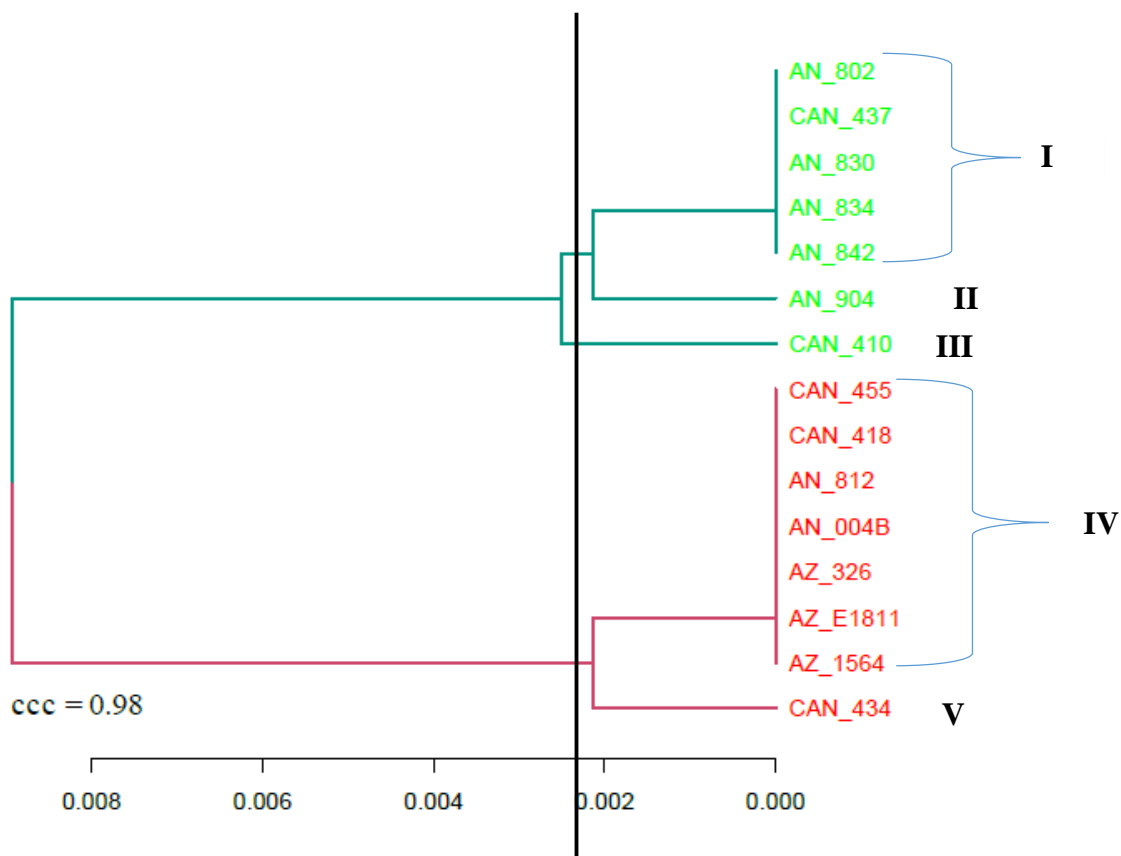
pela raça Anglo-Nubiano 904, grupo III com indivíduos da raça Caninde 410 e o grupo V, representado pela raça Caninde 434, apresentaram maior distância genética em relação aos outros acessos, mostrando-se isolados (**Figura 2**).

Teste de paternidade em caprinos apresentaram erros de 20% em animais registrados da raça Saanem em Minas Gerais (ARAÚJO, 2004). Espera-se que na região nordeste do Brasil também ocorra problemas de cruzamentos não controlados. Assim, podemos justificar o agrupamento dos indivíduos de grupos raciais diferente, pois nada impede que um animal tenha herdado um haplótipo de um parental de outra raça. O que muito provavelmente essa aproximação deve ter se dado, às vezes não no indivíduo, mas nos seus ancestrais.

É possível visualizar de forma abrangente as complexas relações entre todos os 15 haplótipos das raças Anglo-Nubiano, Azul e Canindé da região nordeste, sendo que os haplótipos 2 e 5 apresentam um maior número de raças (**Figura 3**).

A partir do alinhamento das sequências e da codificação das inserções e deleções, foi possível realizar as inferências filogenéticas baseadas nos haplótipos dos acessos em estudo e compará-las com outras sequencias de DNA caprino depositadas no Genbank (**Figura 4**). Os valores de probabilidade posteriores maiores ou iguais a 0,95 obtidos a partir do programa Mr. Bayes são considerados satisfatórios e significativos para a filogenia (RANNALA & YANG 1996). Os acessos HM462259.1_ Sirohi e HM462261.1_ Black_Bengal, presente no primeiro grupo apresentou maior distância nos ramos, por isso ficou isolado dos demais. Nos grupos restantes, foi observada pouca variação, onde a maioria dos haplótipos se mantem uniformes na árvore filogenética. No entanto, o haplótipo da raça Canindé 434, se mostrou um pouco mais distante geneticamente dos demais haplótipos da raças estudadas nesse trabalho. Isso pode estar relacionado com a representativa taxa de mutação na sequência de DNA desse indivíduo, influenciando dessa forma, uma maior distância genética em relação aos demais indivíduos.

Figura 2. Análise de distância genotípica Genpofad dos SNPs entre as raças Azul, Anglo-Nubiano e Canindé.



Em mamíferos, o gene MSTN codifica uma proteína que tem a função de regular a massa muscular nessas espécies. Mesmo com relatos científicos dos efeitos indesejáveis da musculatura dupla em animais, os estudos voltados a identificação de polimorfismos que resultam na musculatura dupla, possibilitou explorar o fenótipo de animais de produção utilizando-se de sistemas de criação melhorados. Apesar das variações do gene da Miostatina apresentar muitos estudos em pequenos e grandes ruminantes no mundo, ainda não existem registros de estudos em raças de caprinos na região nordeste do Brasil.

As sequências das cabras estudadas foram alinhadas as entradas do Genebank para caprinos, bovinos, ovinos e veados (**Figura 5**). Foi encontrado similaridade entre as sequencias registradas no banco de genes para as raças Azul, Anglo-Nubiano e Caninde. O indel de 6 pb foi detectado em duas raças caprinas. A mutação inicia a partir da 25ª base de nucleotídeo até a 30ª.

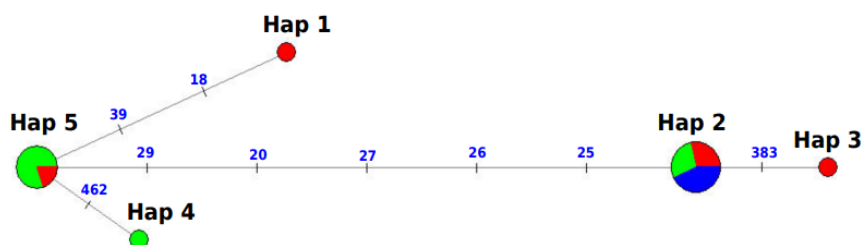
É importante destacar também que ao comparar essa mesma sequência de DNA para outras espécies, essa deleção não é observada, o que torna essa mutação exclusiva dos caprinos nessa posição. Foi relatado que o indel TTTTA do gene MSTN foi conservado entre diferentes espécies e pode ser exclusivo para cabras, após comparação com ovelhas, bovinos, búfalos, porcos e humanos (LI et al., 2008; ZANG et al., 2011). Em bovinos, alguns haplótipos do gene MSTN, demonstravam ser exclusivo de uma raça em particular (DUNNER et al., 2008). Essa mesma situação foi observada em suínos (FAN et al., 2010; JIANG et al., 2001) ocorrendo também em espécies de frango (YE et al., 2007).

Segundo, (Li, et al., 2008) houve um efeito significativo do indel de 5pb nos pesos e tamanhos corporais iniciais das cabras. O trabalho foi realizado fazendo associação, utilizando-se uma população mista com um total de 27 raças caprinas.

A mutação de substituição no Éxon 1 foi observada apenas em cabras da raça Canindé. Pode-se dizer que essa diversidade pode estar relacionada as diferenças na produtividade e na finalidade de criação das raças em estudo.

O aumento do crescimento e proliferação das células musculares são os principais determinantes para o crescimento em mamíferos. O gene da miostatina inibe a diferenciação terminal dos mioblastos e também a proliferação de células miogênicas, considerado, dessa forma, como um fator de crescimento negativo em animais. (LANGLEY et al., 2002; THOMAS et al., 2000; WIENER et al., 2009). Esse gene poderia influenciar na estrutura das proteínas de camundongos e como consequência poderia afetar as suas características de crescimento. Portanto, o fenômeno da musculatura dupla é ocasionado por mutações nesse gene que podem inativar sua expressão. (GROBET et al., 2003; TANG et al., 2007). Nos ovinos, a mutação (G\A) causou inibição e resultou em aumento da musculatura e pesos corporais mais pesados (BOMAN et al., 2009; JOHNSON et al., 2009). Mas, poucas são as pesquisas realizadas com caprinos e por isso o estudo dessa temática nessa espécie é bem limitada (TAY et al., 2004; LI et al., 2008; ZANG et al., 2011).

Figura 3. Rede filogenética de todos os 15 haplótipos da raça Anglo-Nubiano, Azul e Canindé na região nordeste do Brasil.



Hap1	CAN_410						
Hap2	AZ_1564	CAN_418	CAN_455	AN_812	AN_004B	AZ_326	AZ_E1811
Hap3	CAN_434						
Hap4	AN_904						
Hap5	CAN_437	AN_802	AN_830	AN_834	AN_842		

Figura 4. Análise filogenética do posicionamento das raças azul, anglo-nubiano e Canindé com relação as outras raças caprinas depositadas no genbank. **(Inferência bayesiana)**

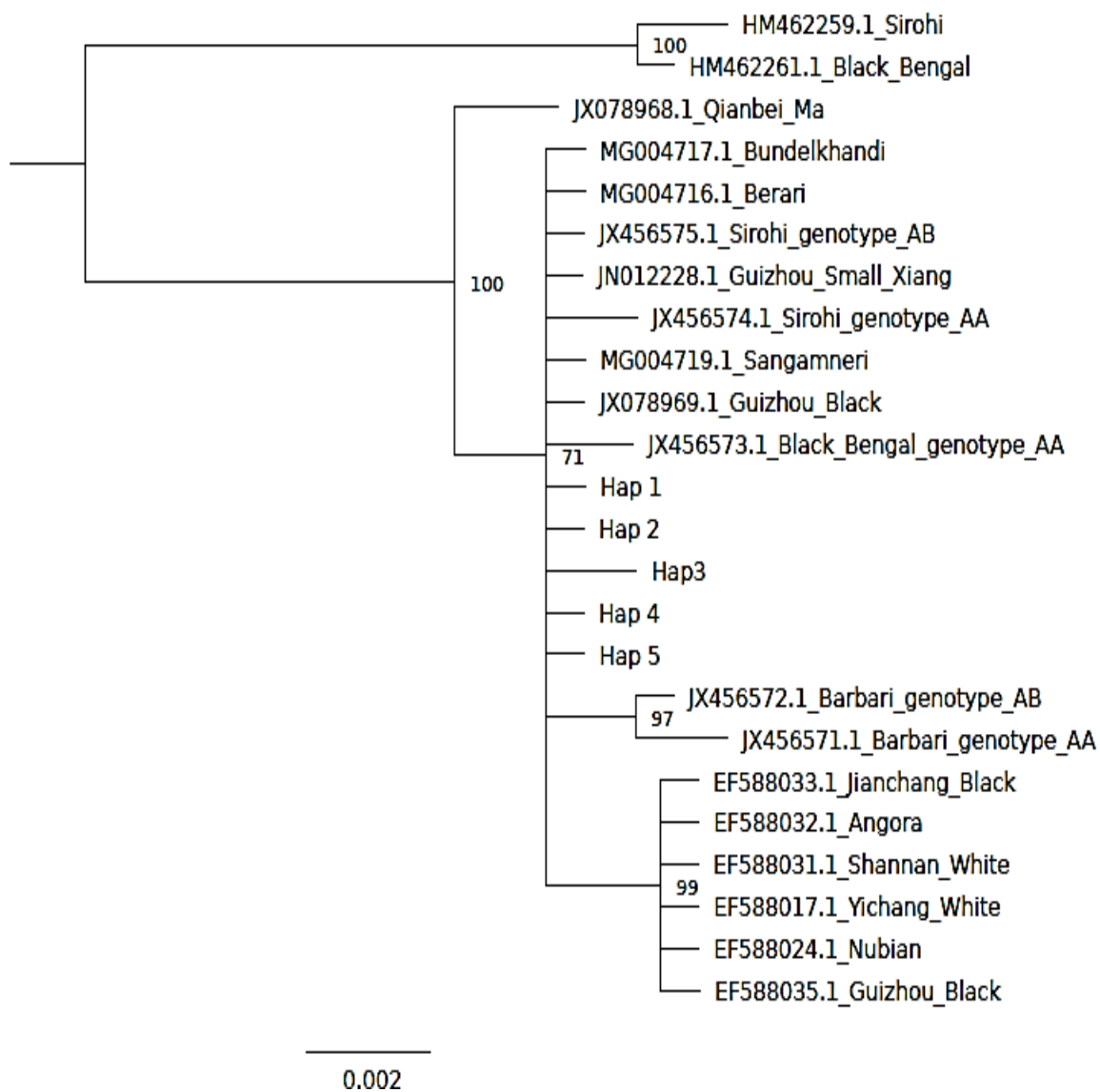


Figura 5. Análise genotípica das Raças Azul, Anglo-Nubiano e Canindé com relação a outros animais que possuem a mesma sequência depositada no genbank.

Accession Number	Species	Sequence	Position
AZ_326	AZ	AAGATTTTAA	3
AZ_E1811	AZ	AAGATTTTAA	9
AZ_1564	AZ	AAGATTTTAA	18
CAN_437	CAN	AAGATTTTAA	20
CAN_434	CAN	AAGATTTTAA	25
CAN_418	CAN	AAGATTTTAA	26
CAN_455	CAN	AAGATTTTAA	27
CAN_410	CAN	AAGATTTTAA	28
AN_904	AN	AAGATTTTAA	29
AN_802	AN	AAGATTTTAA	30
AN_812	AN	AAGATTTTAA	36
AN_830	AN	AAGATTTTAA	40
AN_834	AN	AAGATTTTAA	43
AN_0048	AN	AAGATTTTAA	48
AN_842	AN	AAGATTTTAA	55
MG004717.1_Bundelkhandi	MG	AAGATTTTAA	72
MG004716.1_Berari	MG	AAGATTTTAA	81
JX456575.1_Sirohi_genotype_AB	JX	AAGATTTTAA	95
JN012228.1_Guizhou_Smail_Xiang	JN	AAGATTTTAA	133
EF588033.1_Jianchang_Black	EF	AAGATTTTAA	136
EF588032.1_Angora	EF	AAGATTTTAA	141
JX456574.1_Sirohi_genotype_AA	JX	AAGATTTTAA	146
JX078968.1_Qianbei_Ma	JX	AAGATTTTAA	158
EF588031.1_Shannan_White	EF	AAGATTTTAA	161
EF588017.1_Yichang_White	EF	AAGATTTTAA	168
HM462259.1_Sirohi	HM	AAGATTTTAA	170
HM462261.1_Black_Bengal	HM	AAGATTTTAA	171
MG004719.1_Sangamneri	MG	AAGATTTTAA	178
EF588024.1_Nubian	EF	AAGATTTTAA	181
JX078969.1_Guizhou_Black	JX	AAGATTTTAA	187
EF588035.1_Guizhou_Black	EF	AAGATTTTAA	191
JX456572.1_Barbati_genotype_AB	JX	AAGATTTTAA	224
JX456571.1_Barbati_genotype_AA	JX	AAGATTTTAA	266
HM462261.1_Black_Bengal	HM	AAGATTTTAA	276
JX456573.1_Black_Bengal_genotype_AA	JX	AAGATTTTAA	284
MH025940.1_Ovis_aries	MH	AAGATTTTAA	298
MT038361.1_Ovis_aries_Muzaffarnagari	MT	AAGATTTTAA	302
MN006948.1_Ovis_aries_Rampur-Bushair	MN	AAGATTTTAA	316
EF069435.1_Ovis_aries	EF	AAGATTTTAA	319
EF069433.1_Ovis_aries	EF	AAGATTTTAA	334
AF320998.1_Bos_taurus	AF	AAGATTTTAA	341
MK214682.1_Bos_taurus	MK	AAGATTTTAA	359
AY794986.1_Bos_indicus	AY	AAGATTTTAA	373
EU926670.1_Bos_grunniens	EU	AAGATTTTAA	374
JN642607.1_Bos_grunniens	JN	AAGATTTTAA	376
OJ343110.1_Cervus_elaphus	OJ	AAGATTTTAA	383
		AAGATTTTAA	408
		AAGATTTTAA	409
		AAGATTTTAA	413
		AAGATTTTAA	415
		AAGATTTTAA	416
		AAGATTTTAA	418
		AAGATTTTAA	419
		AAGATTTTAA	420
		AAGATTTTAA	423
		AAGATTTTAA	424
		AAGATTTTAA	425
		AAGATTTTAA	426
		AAGATTTTAA	428
		AAGATTTTAA	429
		AAGATTTTAA	430
		AAGATTTTAA	432
		AAGATTTTAA	433
		AAGATTTTAA	434
		AAGATTTTAA	436
		AAGATTTTAA	437

4 Conclusão

No presente estudo, duas mutações no gene MSTN em caprinos – um 6 bp indel (25° pb ao 30°- TTTTAA) e duas substituição (A/ G) no exon 1, foram identificados nas raças Anglo-Nubiano e Canindé. O 6 bp indel se apresentou nas duas raças, enquanto a substituição estava segregando apenas na população Canindé. Na raça Azul, devido ao baixo número de sequenciamento, não foi observado polimorfismo da sequência do gene da miostatina. Este trabalho indica que há variação molecular para investigar o gene da miostatina em caprinos como possível candidato a marcador de crescimento e assim, possibilitar o aumento da produção de carne da espécie.

5 Considerações finais

A revisão bibliométrica mostrou que no mundo a espécie caprina vem sendo menos estudada em comparação as demais espécies de produção animal, como os bovinos, suínos, ovinos e aves. E nesses estudos, os marcadores mais utilizados para o melhoramento animal com o foco principal na carne foram representados pelos SNPs e o próprio gene para a característica de interesse. Além disso, no Brasil ainda não existem registros de publicações para qualidade de carne caprina, sendo necessário ampliar as pesquisas voltadas a essa temática, visto que o nordeste do país representa mais de 90% de cabeças caprinas.

Pode ser concluído também que as duas mutações de MSTN identificadas nas sequencias das raças caprinas Anglo-Nubiano e Canindé, provavelmente podem apresentar significância no desempenho do crescimento de cabras e pode ser considerado como potenciais marcadores moleculares na criação e seleção de caprinos. Mas, devido a falta de polimorfismo em uma das populações caprinas para o gene da miostatina, o desempenho para o crescimento e desenvolvimento da carne nesses animais não poder ser confirmado. Mais estudos são necessários para buscar associar os polimorfismos à medidas de produção de carne, além de prosseguir o sequenciamento dos demais éxons do MSTN.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Adriana Mello. Paternidade e diversidade genética em caprinos por meio de microssatélite de DNA. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2004.
- BOMAN, I.A.; et al. A frame shift mutation in the coding region of the myostatin gene (MSTN) affects carcass conformation and fatness in Norwegian white sheep (*Ovis aries*). **Animal Gene**. v.40, p.418–422, 2009.
- DUNNER, S.; et al. Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. **Genetics Selection Evolution**. v.35, p.103–118, 2003.
- FALEIRO, F.G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF. p. 102. IBGE, 2007.
- FAN, B.; et al. Identification of genetic markers associated with residual feed intake and meat quality traits in the pig. **Meat Science**. v. 84, p. 645–650, 2010.
- GROBET, L.; et al. Modulating skeletal muscle mass by postnatal, musclespecific inactivation of the myostatin gene. **Genesis**. v.35, p.227–238, 2003.
- HALL, T.A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**. v.41, p.95-98, 1999.
- JIANG, Y.L.; et al. Analysis of single nucleotide polymorphism of porcine myostatin gene in different breeds. **Yi Chuan Xue Bao**. v. 28, p.840–845, 2001.
- JOHNSON, P.L.; et al. Investigations into the GDF8 g ? 6723 G-A polymorphism in New Zealand Texel sheep. **Journal Animal Science**. v. 87, p.1856–1864, 2009.
- KUMAR, M.; et al. Genetic diversity and population structure analysis of Indian garlic (*Allium sativum* L.) collection using SSR markers. **Physiology Molecular Biology Plants**. v. 25, n.2, p.377–386, 2019.
- LANGLEY, B.; et al. Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression. **Journal of Biological Chemistry**. v. 277, p.49831– 49840, 2002.
- LI, X. L.; et al. Deletion of TTTTA in 50UTR of goat MSTN gene and its distribution in different population groups and genetic effect on bodyweight at different ages. **Frontiers of Agriculture in China**. v.2, p.103–109, 2008.
- LI, X. L.; et al. Single-nucleotide polymorphism identification in the caprine myostatin gene. **Journal Animal Breeding Genetics**. v.123, p.141–144, 2006.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. DNASP V5: A Software for Comprehensive Analysis of DNA Polymorphism Data. **Bioinformatics**. v.25, p.1451-1452, 2009.

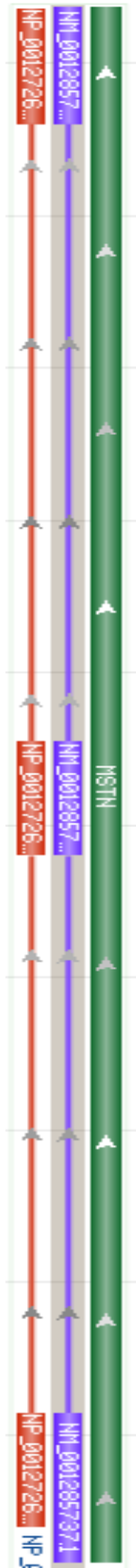
- McPHERRON A.C. e LEE S.J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.94, 1997.
- McPHERRON A.C.; et al. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**. v.387, p.83–90, 1997.
- RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal Molecular Evolution**. v.43, n.3, p 304-11, 1996.
- SHARMA, R.; et al. Single Nucleotide Polymorphisms in Caprine Calpastatin Gene. **Russian Journal of Genetics**. v.49, p. 441–447, 2013.
- TANG, L.; et al. Myostatin DNA vaccine increases skeletal muscle mass and endurance in mice. **Muscle Nerve**. v. 36, p.342–348, 2007.
- TAY, G.K.; et al. The development of sequence-based-typing of myostatin (GDF8) to identify the double muscling phenotype in the goat. **Small Ruminant Research**. v.52, p.1–12, 2004.
- THOMAS, M.; et al. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. **Journal of Biological Chemistry**. v. 275, p.40235–40243, 2000.
- THOMPSON, J.D.; et al. Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice. **Nucleic Acids Research**. v.22, p.4673-4680, 1994.
- VIEIRA, T. R. L.; et al. Propriedades físicas e sensoriais da carne de cordeiros Santa Inês terminados em dietas com diferentes níveis de caroço de algodão integral (*Gossypium hirsutum*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**.v.30, n.2, p.372-377, 2010.
- WIENER, P.; et al. The effects of a mutation in the myostatin gene on meat and carcass quality. **Meat Science**. v. 83, p.127–134, 2009.
- XIA, X.; XIE, Z. DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Journal of Heredity**. v.92, p.371-373, 2001.
- YE, X.; et al. Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens. **Genetics Selection Evolution**. v.39, p.73–89, 2007.
- ZHANG, C.; et al. Polymorphisms of myostatin gene (MSTN) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. **Molecular Biology Reports**. 2011.

ANEXOS

ÉXON 3

ÉXON 2

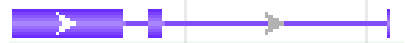
ÉXON 1



Legenda:



Gene



RNA



Região de codificação (CDS)

Sequenciamento do Éxon 1 do gene da Miostatina nas raças caprinas Anglo-
Nubiano, Azul e Canindé

	10	20	30	40	50	60

CAN_410	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
CAN_437	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
CAN_434	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
CAN_418	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
CAN_455	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_842	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_904	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_802	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_812	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_830	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_834	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----A	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AN_004B	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AZ_326	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AZ_E1811	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
AZ_1564	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTAA	AACCATGCAA	AAACTGCAAA	TCTTTGTTTA
	70	80	90	100	110	120

CAN_410	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
CAN_437	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
CAN_434	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
CAN_418	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
CAN_455	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_842	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_904	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_802	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_812	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_830	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_834	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AN_004B	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AZ_326	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AZ_E1811	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA
AZ_1564	TATTTACCTA	TTTATGCTGC	TTGTTGCTGG	CCCAGTGGAT	CTGAATGAGA	ACAGCGAGCA

	130	140	150	160	170	180

CAN_410	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
CAN_437	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
CAN_434	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
CAN_418	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
CAN_455	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_842	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_904	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_802	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_812	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_830	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_834	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AN_004B	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AZ_326	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AZ_E1811	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA
AZ_1564	GAAGGAAAAT	GTGGAAAAAA	AGGGGCTGTG	TAATGCATGT	TTGTGGAGAC	AAAACAATAA

	190	200	210	220	230	240

CAN_410	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
CAN_437	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
CAN_434	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
CAN_418	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
CAN_455	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_842	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_904	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_802	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_812	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_830	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_834	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AN_004B	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AZ_326	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AZ_E1811	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG
AZ_1564	ATCCTCAAGA	CTAGAAGCCA	TA-AAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC	CTGGAAACAG

	250	260	270	280	290	300

CAN_410	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
CAN_437	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
CAN_434	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
CAN_418	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
CAN_455	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_842	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_904	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_802	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_812	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_830	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_834	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AN_004B	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AZ_326	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AZ_E1811	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG
AZ_1564	CTCCTAACAT	CAGCAAAGAT	GCTATAAGAC	AACTTTTGCC	CAAGGCTCCT	CCACTCCGGG

	310	320	330	340	350	360

CAN_410	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
CAN_437	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
CAN_434	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
CAN_418	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
CAN_455	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_842	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_904	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_802	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_812	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_830	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_834	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AN_004B	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AZ_326	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AZ_E1811	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG
AZ_1564	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	GTCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC	TTGGAAGACG

	370	380	390	400	410	420

CAN_410	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
CAN_437	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
CAN_434	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAGACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
CAN_418	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
CAN_455	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_842	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_904	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_802	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_812	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_830	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_834	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AN_004B	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AZ_326	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AZ_E1811	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT
AZ_1564	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT	GAGTAGTTCT

	430	440	450	460	
	
CAN_410	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
CAN_437	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
CAN_434	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
CAN_418	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
CAN_455	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AN_842	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AN_904	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GAAGTA
AN_802	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AN_812	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AN_830	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AN_834	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AN_004B	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AZ_326	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AZ_E1811	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA
AZ_1564	GCTAGTGCAG	AGCAACGACT	CTGCTGACTG	CTGTTCTAGT	GTAGTA

Alinhamento do Éxon 1 do gene da Miostatina das raças Anglo- Nubiano, Azul, Caniné com demais sequências de outras espécies animais do Genbank

	10	20	30	40	50
60
.....					
AZ_326	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AZ_E1811	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AZ_1564	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
CAN_437	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
CAN_434	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
CAN_418	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
CAN_455	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
CAN_410	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCR	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_904	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_802	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_812	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_830	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_834	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_004B	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTTA-	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
AN_842	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
MG004717.1_Bundelkha	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
MG004716.1_Berari	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
JX456575.1_Sirohi_ge	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
JN012228.1_Guizhou_S	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
EF588033.1_Jianchang	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTAAA	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
EF588032.1_Angora	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGATTTAAA	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
JX456574.1_Sirohi_ge	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
JX078968.1_Qianbei_M	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA
ATCTTTGTTT					
EF588031.1_Shannan_W	GAACAAGGAA	AAAGATTGTA	TTGA-----	AAACCATGCA	AAAAC TGCAA

ATCTTTGTTT
 EF588017.1_Yichang_W GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 HM462259.1_Sirohi GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 MG004719.1_Sangamner GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 EF588024.1_Nubian GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 JX078969.1_Guizhou_B GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 EF588035.1_Guizhou_B GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGATTTAAA AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 JX456572.1_Barbari_g GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 JX456571.1_Barbari_g GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 HM462261.1_Black_Ben GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 JX456573.1_Black_Ben GAACAAGGAA AAAGATTGTA TTGA----- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 MH025940.1:1165-1602 GAGCAAGGAA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 MT038361.1:44-481_Ov GAGCAAGGAA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 MN006948.1:46-483_Ov GAGCAAGGAA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 EF069435.1:13-450_Ov GAGCAAGGAA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 EF069433.1:13-450_Ov GAGCAAGGAA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTTTGTTT
 AF320998.1:118-555_B GAACAAGGGA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTCTGTTT
 MK214682.1:119-556_B GAACAAGGGA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTCTGTTT
 AY794986.1:100-537_B GAACAAGGGA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTCTGTTT
 EU926670.1:58-495_Bo GAACAAGGGA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTCTGTTT
 JN642607.1:48-485_Bo GAACAAGGGA AAAGATTGTA TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTCTGTTT
 OU343110.1:10574607- GAACAAGGGA AAAGATTGTC TTGATTTTA- AAACCATGCA AAAACTGCAA
ATCTGTGTTT

70 80 90 100 110
 120
|....||....||....||....||....|
|....|
 AZ_326 ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGA TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 AZ_E1811 ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGA TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 AZ_1564 ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGA TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 CAN_437 ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGA TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 CAN_434 ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGA TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC

CAN_418
AACAGCGAGC
CAN_455
AACAGCGAGC
CAN_410
AACAGCGAGC
AN_904
AACAGCGAGC
AN_802
AACAGCGAGC
AN_812
AACAGCGAGC
AN_830
AACAGCGAGC
AN_834
AACAGCGAGC
AN_004B
AACAGCGAGC
AN_842
AACAGCGAGC
MG004717.1_Bundelkha
AACAGCGAGC
MG004716.1_Berari
AACAGCGAGC
JX456575.1_Sirohi_ge
AACAGCGAGC
JN012228.1_Guizhou_S
AACAGCGAGC
EF588033.1_Jianchang
AACAGCGAGC
EF588032.1_Angora
AACAGCGAGC
JX456574.1_Sirohi_ge
AACAGCGAGC
JX078968.1_Qianbei_M
AACAGCGAGC
EF588031.1_Shannan_W
AACAGCGAGC
EF588017.1_Yichang_W
AACAGCGAGC
HM462259.1_Sirohi
AACAGCGAGC
MG004719.1_Sangamner
AACAGCGAGC
EF588024.1_Nubian
AACAGCGAGC
JX078969.1_Guizhou_B
AACAGCGAGC
EF588035.1_Guizhou_B
AACAGCGAGC
JX456572.1_Barbari_g
AACAGCGAGC
JX456571.1_Barbari_g
AACAGCGAGC
HM462261.1_Black_Ben
AACAGCGAGC
JX456573.1_Black_Ben
AACAGCGAGC
MH025940.1:1165-1602
AACAGCGAGC

MT038361.1:44-481_Ov ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 MN006948.1:46-483_Ov ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 EF069435.1:13-450_Ov ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 EF069433.1:13-450_Ov ATATTTACCT ATTTATGCTG CTTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 AF320998.1:118-555_B ATATTTACCT ATTTATGCTG ATTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 MK214682.1:119-556_B ATATTTACCT ATTTATGCTG ATTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 AY794986.1:100-537_B ATATTTACCT ATTTATGCTG ATTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 EU926670.1:58-495_Bo ATATTTACCT ATTTATGCTG ATTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 JN642607.1:48-485_Bo ATATTTACCT ATTTATGCTG ATTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC
 OU343110.1:10574607- ATATTTACCT ATTTATGCTG ATTGTTGCTG GCCCAGTGGG TCTGAATGAG
 AACAGCGAGC

	130	140	150	160	170
180
....
AZ_326	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AZ_E1811	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AZ_1564	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAN_437	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAN_434	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAN_418	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAN_455	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAN_410	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_904	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_802	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_812	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_830	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_834	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_004B	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
AN_842	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
MG004717.1_Bundelkha	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA
CAAAACAATA	AGAAGGAAAA	TGTGGAAAAA	AAGGGGCTGT	GTAATGCATG	TTTGTGGAGA

MG004716.1_Berari AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX456575.1_Sirohi_ge AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JN012228.1_Guizhou_S AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF588033.1_Jianchang AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATTG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF588032.1_Angora AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATTG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX456574.1_Sirohi_ge AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG CTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX078968.1_Qianbei_M AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF588031.1_Shannan_W AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATTG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF588017.1_Yichang_W AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATTG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 HM462259.1_Sirohi AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 MG004719.1_Sangamner AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF588024.1_Nubian AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATTG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX078969.1_Guizhou_B AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF588035.1_Guizhou_B AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATTG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX456572.1_Barbari_g AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX456571.1_Barbari_g AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 HM462261.1_Black_Ben AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 JX456573.1_Black_Ben AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 MH025940.1:1165-1602 AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG CTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 MT038361.1:44-481_Ov AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG CTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 MN006948.1:46-483_Ov AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG CTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF069435.1:13-450_Ov AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG CTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 EF069433.1:13-450_Ov AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA AAGGGGCTGT GTAATGCATG CTTGTGGAGA
 CAAAACAATA
 AF320998.1:118-555_B AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA GAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGG
 GAAAAACTA
 MK214682.1:119-556_B AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA GAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGG
 GAAAAACTA
 AY794986.1:100-537_B AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA GAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGG
 GAAAAACTA
 EU926670.1:58-495_Bo AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA GAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGG
 GAAAAACTA
 JN642607.1:48-485_Bo AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA GAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGG
 GAAAAACTA
 OU343110.1:10574607- AGAAGGAAAA TGTGGAAAAA GAGGGGCTGT GTAATGCATG TTTGTGGAGA
 CAAAAACTA

	190	200	210	220	230
240
....					
AZ_326	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AZ_E1811	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AZ_1564	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
CAN_437	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
CAN_434	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
CAN_418	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
CAN_455	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
CAN_410	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_904	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_802	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_812	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_830	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_834	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_004B	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
AN_842	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
MG004717.1_Bundelkha	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
MG004716.1_Berari	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
JX456575.1_Sirohi_ge	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
JN012228.1_Guizhou_S	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
EF588033.1_Jianchang	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
EF588032.1_Angora	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
JX456574.1_Sirohi_ge	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
JX078968.1_Qianbei_M	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
EF588031.1_Shannan_W	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
EF588017.1_Yichang_W	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
HM462259.1_Sirohi	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
MG004719.1_Sangamner	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					
EF588024.1_Nubian	AATCCTCAAG	ACTAGAAGCC	ATAAAAAATCC	AAATCCTCAG	TAAACTTCGC
CTGGAACAG					

JX078969.1_Guizhou_B AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 EF588035.1_Guizhou_B AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 JX456572.1_Barbari_g AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 JX456571.1_Barbari_g AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 HM462261.1_Black_Ben AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 JX456573.1_Black_Ben AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 MH025940.1:1165-1602 AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAGCTTCGC
 CTGGAACAG
 MT038361.1:44-481_Ov AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAGCTTCGC
 CTGGAACAG
 MN006948.1:46-483_Ov AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAGCTTCGC
 CTGGAACAG
 EF069435.1:13-450_Ov AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAGCTTCGC
 CTGGAACAG
 EF069433.1:13-450_Ov AATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAGCTTCGC
 CTGGAACAG
 AF320998.1:118-555_B CATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 MK214682.1:119-556_B CATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 AY794986.1:100-537_B CATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 EU926670.1:58-495_Bo CATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 JN642607.1:48-485_Bo CATCCTCAAG ACTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG
 OU343110.1:10574607- AATCCTTAAG GCTAGAAGCC ATAAAAATCC AAATCCTCAG TAAACTTCGC
 CTGGAACAG

250 260 270 280 290
 300
|....||....||....||....||....|
|....|
 AZ_326 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 AZ_E1811 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 AZ_1564 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 CAN_437 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 CAN_434 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 CAN_418 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 CAN_455 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 CAN_410 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG
 AN_904 CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCGGG

AN_802
 CCACTCCGGG
 AN_812
 CCACTCCGGG
 AN_830
 CCACTCCGGG
 AN_834
 CCACTCCGGG
 AN_004B
 CCACTCCGGG
 AN_842
 CCACTCCGGG
 MG004717.1_Bundelkha
 CCACTCCGGG
 MG004716.1_Berari
 CCACTCCGGG
 JX456575.1_Sirohi_ge
 CCACTCCGGG
 JN012228.1_Guizhou_S
 CCACTCCGGG
 EF588033.1_Jianchang
 CCACTCCGGG
 EF588032.1_Angora
 CCACTCCGGG
 JX456574.1_Sirohi_ge
 CCACTCCGGG
 JX078968.1_Qianbei_M
 CCACTCCGGG
 EF588031.1_Shannan_W
 CCACTCCGGG
 EF588017.1_Yichang_W
 CCACTCCGGG
 HM462259.1_Sirohi
 CCACTCCGGG
 MG004719.1_Sangamner
 CCACTCCGGG
 EF588024.1_Nubian
 CCACTCCGGG
 JX078969.1_Guizhou_B
 CCACTCCGGG
 EF588035.1_Guizhou_B
 CCACTCCGGG
 JX456572.1_Barbari_g
 CCACTCCGGG
 JX456571.1_Barbari_g
 CCACTCCGGG
 HM462261.1_Black_Ben
 CCACTCCGGG
 JX456573.1_Black_Ben
 CCACTCCGGG
 MH025940.1:1165-1602
 CCACTCCGGG
 MT038361.1:44-481_Ov
 CCACTCCGGG
 MN006948.1:46-483_Ov
 CCACTCCGGG
 EF069435.1:13-450_Ov
 CCACTCCGGG
 EF069433.1:13-450_Ov
 CCACTCCGGG

AF320998.1:118-555_B CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATCAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCTGG
 MK214682.1:119-556_B CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATCAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCTGG
 AY794986.1:100-537_B CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATCAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCTGG
 EU926670.1:58-495_Bo CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATCAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCTGG
 JN642607.1:48-485_Bo CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATCAGAC AACTTTTGCC CAAGGCTCCT
 CCACTCCTGG
 OU343110.1:10574607- CTCCTAACAT CAGCAAAGAT GCTATAAGAC AACTTCTGCC CAAAGCTCCT
 CCACTCCGGG

	310	320	330	340	350
360
....					
AZ_326	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AZ_E1811	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AZ_1564	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
CAN_437	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
CAN_434	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
CAN_418	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
CAN_455	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
CAN_410	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_904	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_802	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_812	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_830	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_834	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_004B	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
AN_842	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
MG004717.1_Bundelkha	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
MG004716.1_Berari	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
JX456575.1_Sirohi_ge	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
JN012228.1_Guizhou_S	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
EF588033.1_Jianchang	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					
EF588032.1_Angora	AACTGATTGA	TCAGTACGAT	G'TCCAGAGAG	ATGACAGCAG	CGACGGCTCC
TTGGAAGACG					

JX456574.1_Sirohi_ge AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 JX078968.1_Qianbei_M AACTGATTGA TCAGTACGGT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EF588031.1_Shannan_W AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EF588017.1_Yichang_W AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 HM462259.1_Sirohi AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 MG004719.1_Sangamner AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EF588024.1_Nubian AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 JX078969.1_Guizhou_B AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EF588035.1_Guizhou_B AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 JX456572.1_Barbari_g AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 JX456571.1_Barbari_g AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 HM462261.1_Black_Ben AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 JX456573.1_Black_Ben AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 MH025940.1:1165-1602 AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 MT038361.1:44-481_Ov AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 MN006948.1:46-483_Ov AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EF069435.1:13-450_Ov AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EF069433.1:13-450_Ov AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG CGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 AF320998.1:118-555_B AACTGATTGA TCAGTTCGAT GTCCAGAGAG ATGCCAGCAG TGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 MK214682.1:119-556_B AACTGATTGA TCAGTTCGAT GTCCAGAGAG ATGCCAGCAG TGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 AY794986.1:100-537_B AGCTGATTGA TCAGTTCGAT GTCCAGAGAG ATGCCAGCAG TGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 EU926670.1:58-495_Bo AACTGATTGA TCAGTTCGAT GTCCAGAGAG ATGCCAGCAG TGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 JN642607.1:48-485_Bo AACTGATTGA TCAGTTCGAT GTCCAGAGAG ATGCCAGCAG TGACGGCTCC
 TTGGAAGACG
 OU343110.1:10574607- AACTGATTGA TCAGTACGAT GTCCAGAGAG ATGACAGCAG TGACGGCTCC
 TTGGAAGATG

	370	380	390	400	410
420
....					
AZ_326	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AZ_E1811	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AZ_1564	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
CAN_437	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
CAN_434	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAGACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
CAN_418	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
CAN_455	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
CAN_410	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_904	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_802	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_812	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_830	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_834	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_004B	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
AN_842	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
MG004717.1_Bundelkha	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
MG004716.1_Berari	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
JX456575.1_Sirohi_ge	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
JN012228.1_Guizhou_S	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
EF588033.1_Jianchang	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAG-GT
GAGTAGTTCT					
EF588032.1_Angora	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAG-GT
GAGTAGTTCT					
JX456574.1_Sirohi_ge	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
JX078968.1_Qianbei_M	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
EF588031.1_Shannan_W	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAG-GT
GAGTAGTTCT					
EF588017.1_Yichang_W	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAG-GT
GAGTAGTTCT					
HM462259.1_Sirohi	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTCT
GA-TCTTCTA					
MG004719.1_Sangamner	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAGTGT
GAGTAGTTCT					
EF588024.1_Nubian	ATGACTACCA	CGTTACGACG	GAAACGGTCA	TTACCATGCC	CACGGAG-GT
GAGTAGTTCT					

JX078969.1_Guizhou_B ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 EF588035.1_Guizhou_B ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAG-GT
 GAGTAGTTCT
 JX456572.1_Barbari_g ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 JX456571.1_Barbari_g ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 HM462261.1_Black_Ben ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTCT
 GA-TCTTCTA
 JX456573.1_Black_Ben ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 MH025940.1:1165-1602 ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 MT038361.1:44-481_Ov ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 MN006948.1:46-483_Ov ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 EF069435.1:13-450_Ov ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 EF069433.1:13-450_Ov ATGACTACCA CGTTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTTCT
 AF320998.1:118-555_B ATGACTACCA CGCCAGGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTCCT
 MK214682.1:119-556_B ATGACTACCA CGCCAGGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTCCT
 AY794986.1:100-537_B ATGACTACCA CGCCAGGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTCCT
 EU926670.1:58-495_Bo ATGACTACCA CGCCAGGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTCCT
 JN642607.1:48-485_Bo ATGACTACCA CGCCAGGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTCCT
 OU343110.1:10574607- ATGACTACCA CGCTACGACG GAAACGGTCA TTACCATGCC CACGGAGTGT
 GAGTAGTCCT

430

```

.....|.....| .....|.....
AZ_326 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AZ_E1811 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AZ_1564 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
CAN_437 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
CAN_434 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
CAN_418 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
CAN_455 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
CAN_410 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_904 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_802 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_812 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_830 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_834 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_004B GCTAGTGCAG AGCAACGAC
AN_842 GCTAGTGCAG AGCAACGAC
MG004717.1_Bundelkha GCTAGTGCAG AGCAACGAC
MG004716.1_Berari GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JX456575.1_Sirohi_ge GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JN012228.1_Guizhou_S GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF588033.1_Jianchang GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF588032.1_Angora GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JX456574.1_Sirohi_ge GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JX078968.1_Qianbei_M GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF588031.1_Shannan_W GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF588017.1_Yichang_W GCTAGTGCAG AGCAACGAC
HM462259.1_Sirohi GCAGAAAGTGC AAGAAAAAC
MG004719.1_Sangamner GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF588024.1_Nubian GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JX078969.1_Guizhou_B GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF588035.1_Guizhou_B GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JX456572.1_Barbari_g GCTAGTGCAG AGCAACGAC
JX456571.1_Barbari_g GCTAGTGCAG AGCAACGAC
HM462261.1_Black_Ben GCAGAAAGTGC AAGAAAAAC
JX456573.1_Black_Ben GCTAGTGCAG AGCAACGAC
MH025940.1:1165-1602 GCTAGKGCAG AGCAACGAC
MT038361.1:44-481_Ov GCTAGGGCAG AGCAACGAC
MN006948.1:46-483_Ov GCTAGTGCAG AGCAACGAC
EF069435.1:13-450_Ov GCTAGGGCAG AGCAACGAC
EF069433.1:13-450_Ov GCTAGGGCAG AGCAACGAC
AF320998.1:118-555_B GCTGGTGCAG AGCAACGAC
MK214682.1:119-556_B GCTGGTGCAG AGCAACGAC
AY794986.1:100-537_B GCTGGTGCAG AGCAACGAC
EU926670.1:58-495_Bo GCTGGTGCAG AGCAACGAC
JN642607.1:48-485_Bo GCTGGTGCAG AGCAACGAC
OU343110.1:10574607- GCTAGCGCAG AGCGACGAC

```

ARCHIVOS DE ZOOTECNIA



Directrices para autores/as

Fundada como órgano de expresión científica del *Instituto de Zootecnia* de la *Facultad de Veterinaria de Córdoba* en 1952, constituye la revista más antigua de Producción Animal en España. Actualmente, es la revista oficial de la *Asociación Iberoamericana de Zootecnia* y de la *Sociedad Española Para Los Recursos Genéticos Animales (SERGA)* y se dirige a investigadores, técnicos y empresarios agroganaderos de más de 70 países en versión impresa y en versión electrónica con accesos desde todo el mundo.

Archivos de Zootecnia acepta contribuciones en los formatos de artículo, nota breve, revisión bibliográfica o carta al editor, en las siguientes áreas:

- Pastos, Forrajes y Conservación de forrajes.
- Alimentación y Nutrición.
- Genética.
- Conservación de la Biodiversidad de los animales domésticos.
- Etnología, Etología y Bienestar Animal.
- Reproducción.
- Biotecnología.
- Calidad de los productos animales y Trazabilidad.
- Producción Ganadera Ecológica y Alternativa.
- Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria.
- Sistemas ganaderos, Sustentabilidad y Desarrollo Rural.
- Economía y Gestión de Empresas Ganaderas.

Y en general, todo lo relativo a la Producción Animal con especial atención a las zonas desfavorecidas y en vías de desarrollo, sus razas locales y las producciones alternativas.

Las contribuciones deben ser originales e inéditas, resultado de investigación teórica o experimental y no deben estar sometidas a evaluación por otras revistas. Las investigaciones de las que únicamente se hubieran publicado avances en forma de resumen serán susceptibles de publicación. La publicación de trabajos en *Archivos de Zootecnia* es gratuita, asimismo los autores recibirán sin cargo separatas de su trabajo.

Todas las contribuciones son sometidas a un proceso de evaluación por pares doble ciego por al menos dos especialistas de reconocido prestigio investigador en la materia; recurriendo a evaluadores complementarios en caso de importantes discrepancias en los informes emitidos por los evaluadores inicialmente designados o en trabajos que requieran una profunda revisión metodológica u otras circunstancias que así lo aconsejen.

Archivos de Zootecnia actualmente acepta contribuciones en Español, Inglés, Francés, Portugués e Italiano, aunque paulatinamente TODA la revista pasará a editarse en INGLÉS, por lo que se priorizarán los trabajos en este idioma. Cuando el trabajo se presente en Inglés, deberá incluir la traducción del título, palabras clave adicionales, resumen y títulos de tablas y figuras traducidos a cualquiera de los otros idiomas oficiales. Si el idioma de la contribución no es el Inglés, las traducciones indicadas deberán hacerse a cualquiera de los otros idiomas oficiales.

Antes de Empezar

Si está utilizando esta página web por primera vez y aún NO se ha registrado haga click en REGISTRARSE y cumplimente los datos de registro (en caso de duda consulte la sección de video tutoriales).

Una vez nos hemos registrado

Los trabajos se remitirán preferentemente a través de la sección Envío de Contribuciones de la página web de la revista *Archivos de Zootecnia* (<https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/>). En caso de duda contactar con correo electrónico.

Los autores marcarán todas las casillas presentes en el apartado Lista de comprobación del envío y así mismo, enviarán con la contribución una carta de presentación firmada por todos ellos en la que dan conformidad a la publicación, indicando que los resultados expuestos no han sido publicados en otro lugar ni están siendo sometidos a otra revista. Asimismo, podrán indicar el nombre y la dirección email de dos evaluadores potenciales de la contribución en el apartado Comentarios para el editor. Las contribuciones que impliquen experimentación con animales deben indicar el cumplimiento de las normas establecidas por los comités éticos y de bienestar animal del país en el que se ha desarrollado la experiencia.

Formato y estructura de las contribuciones

Para el proceso de envío de una nueva contribución, consulte la sección de videos tutoriales. Para cada nueva contribución se subirá un archivo correspondiente a la plantilla PDF que podrá descargar a continuación, correctamente cumplimentada de acuerdo a las normas de la revista (la subiremos en el segundo paso del proceso de sumisión de una nueva contribución) acompañando las posibles tablas o figuras en archivos aparte en el paso 4 del proceso de sumisión de una nueva contribución:

(DESCARGUE PLANTILLA PDF)

Todos los espacios obligatorios deben ser cumplimentados. Existen ejemplos en cada apartado que animamos a seguir. Las tablas y figuras deben ser referenciadas como se indica en el formulario de envío mencionado más arriba aunque se enviaran por separado.

La nueva presentación de los volúmenes bajo formato *Flipbook* permite la incrustación de material audiovisual para los diferentes manuscritos, como por ejemplo vídeos recogiendo alguna de las técnicas empleadas en los manuscritos. En el caso de audios el formato debe ser mp3 y 320 kbp y en el caso de video, 1080 a 24 o 30 fps para los vídeos, o si necesitamos una captura en slow motion, 720 a 60 fps. Todos los vídeos deberán presentar una resolución de 640x480. Utilice el servicio <https://www.wetransfer.com/> para el envío de estos archivos al correo archivoszootecnia@uco.es. Habrá un límite de 5 minutos para cada material audiovisual enviado.

Nombrando y dando formato a las figuras y tablas

Las figuras y tablas se nombrarán de la siguiente manera y se enviarán en un archivo para cada tabla y figura por separado y tendrán una calidad lo suficientemente buena. Cada archivo no excederá los 2 megabits de tamaño.

Figura1.png

TablaI.docx

El texto del trabajo se presentará en formato pdf, letra Times New Roman 12.

En el formato de la revista, los artículos tendrán una extensión máxima de 12 páginas (39000 caracteres incluyendo blancos); las notas breves de 4 páginas (11000 caracteres incluyendo blancos) y aunque no hay límite preestablecido para los trabajos de revisión, es aconsejable una extensión similar a la de los artículos. Para revisiones que superen esta restricción, la Oficina Editorial podrá limitar su extensión si lo estima oportuno.

El estilo e indicación de capítulos en el texto será con las mínimas instrucciones de formato, sólo las necesarias para entender la jerarquía entre epígrafes y el adecuado a cada palabra (p.e. itálicas para nombres latinos, etc.). NO usar el formato TODO MAYÚSCULAS.

Título. Debe ser breve e informativo del objetivo y contenido del trabajo. Su extensión máxima será de dos líneas en el formato de la revista (unos 90 caracteres aproximadamente, blancos incluidos). Asimismo se debe incluir un título abreviado de menos de 60 caracteres, blancos incluidos.

Autores. Apellido (formato oración) seguido de coma, Iniciales separadas por puntos, sin espacios. Los autores deben ir separados por punto y coma y el último, llevara delante e, and, y, o et, según el idioma en que este escrito el trabajo. El autor/as de correspondencia se identificara con un superíndice @, mientras que la afiliación de los autores será numerada del uno en adelante como un superíndice de igual modo. Ej: Bhargava, S.K.¹; Thiagarajan, V.² and Data, R.K.^{3@}.

Direcciones. Las direcciones de los autores han de ser Institucionales (lugar de trabajo) NO deben incluir ni títulos NI cargos, tampoco son necesarios los datos postales como calle, número, distrito o código postal. SOLO INSTITUCIÓN, CIUDAD Y PAÍS separadas por punto. Los autores que pertenezcan a un mismo centro deben agruparse bajo la misma dirección identificada con un número índice, especificando sus peculiaridades (por ejemplo correo electrónico), dentro de dicho índice, con letras. El autor/as de correspondencia se identificara con el símbolo @ y el email correspondiente junto a la dirección que le corresponda.

Palabras Clave. Las palabras clave son adicionales (no estarán incluidas en el título) y serán explícitas de otros aspectos de interés tratados en el trabajo. No deben elegirse palabras sin contenido muy concreto y bien delimitado. Estas palabras tienen gran importancia ya que se incorporan en los distintos motores de búsqueda y bases de datos. PALABRAS CLAVE ADICIONALES, PALABRAS CHAVE ADICIONAIS, MOTS-CLÉS SUPPLÉMENTAIRES, PAROLE CHIAVE AGGIUNTIVE, ADDITIONAL KEYWORDS. Separadas por punto. Deben presentarse en el idioma principal del trabajo y uno de los otros idiomas (obligatoriamente uno de ellos será Inglés).

RESUMEN, RESUMO, RESUMÉ, SOMMARIO, SUMMARY. Debe incluir lo principal de la investigación, describir el propósito del estudio, citar la metodología empleada muy sucintamente, resaltar los resultados principales y conclusiones principales. No incluir citas bibliográficas. Debe ser sucinto, informativo, explícito e inteligible para comprender el trabajo sin necesidad del texto y al propio tiempo, inducir a la lectura del trabajo completo por los científicos a quienes pueda interesar. Sin puntos y aparte. Su extensión debe ser de unos 1400 caracteres como máximo.

Introducción. Debe ser breve. Se enfocara sobre los antecedentes y situación actual del objeto del estudio, justificando el interés del mismo en Producción Animal y explicitando claramente al final los objetivos del trabajo.

Material y métodos. La experiencia se debe detallar suficientemente para permitir que cualquier otro investigador pueda replicarla, incidiendo especialmente sobre los aspectos singulares de la experiencia. Se deben evitar detalles metodológicos, procedimientos, etc. que estén recogidos en trabajos previos suficientemente difundidos. Es preciso indicar la referencia bibliográfica de la metodología que se sigue. Evitar citar obras de difícil localización. Deben ser, especialmente en este caso, lo suficientemente detallados para que puedan ser reproducidos por otros investigadores. No obstante, en cualquier caso hay que referenciar suficientemente el tamaño de la muestra, la edad, el sexo, la raza-variedad, la procedencia de los animales, características de los alimentos, situaciones experimentales y, en general, todo aquello que pudiera afectar a los resultados obtenidos. Deben reseñarse las mediciones y controles realizados, así como las condiciones medioambientales en las que se desarrolla la experiencia. En el caso de animales en cautividad hay que detallar el manejo (frecuencia de la limpieza, tamaño y composición del grupo, etc.) y las instalaciones utilizadas (tamaño, temperatura, etc.). En el apartado de metodología se ha de incluir la descripción de los procedimientos estadísticos utilizados.

Resultados. Incluir solamente los resultados relevantes en relación con las hipótesis señaladas en la introducción y que van a ser consideradas en la discusión. El texto debe apoyarse y complementar las tablas (citarlas numeradas por orden de alusión a ellas en números Romanos) o figuras (citarlas numeradas por orden de alusión a ellas en números arábigos) sin repetir la información que ellas contienen.

Discusión. El propósito principal de la discusión (que puede unirse al capítulo de Resultados si así se estima oportuno) es comentar la significación de los resultados y fijarlos en el contexto de trabajos previos. La discusión debe ser sucinta y no especulativa debiendo conducir a las conclusiones del trabajo.

Agradecimientos: Los autores deberán declarar explícitamente la fuente de financiación de la investigación y podrán agradecer brevemente cualquier colaboración, reconociendo el trabajo de instituciones o personas cuyas contribuciones no justifiquen la autoría. Se recomienda que aparezca el nombre, la filiación y la colaboración prestada (asesoría científica, recogida de datos, etc.). La fuente de financiación de la investigación debe aparecer explícitamente en los agradecimientos, reconociendo el apoyo y especificando la naturaleza del mismo (proyecto de investigación, apoyo material, etc.).

Bibliografía: La citación de los trabajos relacionados con el tema de la contribución publicados anteriormente en *Archivos de Zootecnia*, no es obligatoria, pero hacerlo ayuda a mejorar el impacto de la revista y consiguientemente su valoración. La Oficina Editorial de la revista podrá sugerir la inclusión de alguna cita significativa. Buena parte de los números de *Archivos de Zootecnia*, están disponibles a texto completo y gratuitamente en la versión electrónica.

Se seguirán los preceptos de normativa bibliográfica de HARVARD AGPS que pueden observarse en la siguiente Guía de Normativa Bibliográfica Estilo Harvard.

La construcción de la bibliografía podrá facilitarse en gran medida mediante la instalación del plugin de estilo. Los autores podrán descargar el siguiente PLUGIN para Microsoft Office Word. Más abajo se exponen las instrucciones de instalación para las diferentes versiones de Microsoft Word y Sistemas operativos.

Instalación en Windows (Microsoft Office Word 2007/2010/2013/2015)

Para utilizar este estilo de bibliografía, debemos descargar el plugin del enlace expuesto arriba y copiarlo en el directorio de estilos de bibliografía de Microsoft Office. La localización de este directorio puede variar dependiendo de la versión y el sistema operativo que nos encontremos utilizando.

Word 2007

<directorio en el que se encuentre winword.exe>\Bibliography\Style

En la mayoría de ordenadores funcionando con *32-bits* con Microsoft Word 2007 este será:

%programfiles%\Microsoft Office\Office12\Bibliography\Style

Es decir;

C:\Archivos de Programa\Microsoft Office\Office12\Bibliography\Style

Una vez hemos copiado el plugin al directorio, aparecerá en la pestaña Referencias, al seleccionar el estilo, cada vez que iniciemos Microsoft Word.

Word 2010

<directorio en el que se encuentre winword.exe>\Bibliography\Style

En la mayoría de ordenadores funcionando con *32-bits* con Microsoft Word 2010 este será:

Es decir;

C:\Archivos de Programa\Microsoft Office\Office14\Bibliography\Style

Una vez hemos copiado el plugin al directorio, aparecerá en la pestaña Referencias, al seleccionar el estilo, cada vez que iniciemos Microsoft Word.

Word 2013/2015/2016

<directorio de nuestro usuario de Windows>\AppData\Roaming\Microsoft\Bibliography\Style

En la mayoría de ordenadores funcionando con Microsoft Word 2013 este será:

%userprofile%\AppData\Roaming\Microsoft\Bibliography\Style

C:\Usuarios\(\Nuestro usuario de Windows)\AppData\Roaming\Microsoft\Bibliography\Style

Una vez hemos copiado el plugin al directorio, aparecerá en la pestaña Referencias, al seleccionar el estilo, cada vez que iniciemos Microsoft Word.

Instalación para Word 2008 o 2011 para Mac

Para utilizar este estilo de bibliografía, hacemos click derecho en Microsoft Word 2008 y seleccionamos mostrar contenidos del paquete. Pondremos el archivo en:

Contents/Resources/Style/

En la mayoría de Macs con Microsoft Word 2008 esta ruta será:

/Applications/Microsoft Office 2008/Microsoft Word.app/Contents/Resources/Style/

Instalación para Word 2016 para Mac (version 15.17.0 y superior)

Para utilizar este estilo de bibliografía, pondremos el archivo en el siguiente directorio:

/Library/AppSupport/Microsoft/Office365/Citations/

También se podrá hacer uso del siguiente generador de elementos bibliográficos para el estilo Harvard:

<http://www.harvardgenerator.com/>

Existen plugins para este estilo en páginas como Mendeley o Zotero (Plugin)

Para las referencias en el texto, se deben poner los apellidos de uno o dos autores, pero solamente el apellido del primer autor/as, seguido por et al y la página referenciada si fuera posible en el caso de elementos con más de dos autores).

Por ejemplo:

Para uno u dos autores.

(Cochrane 2007, p. 117) o "según indica Cochrane (2007, p. 117)"

Cuando sean tres o más. Las citas de referencia en el texto pueden ser, por ejemplo:

"Según indican Seeley et al. (2011, p. 143)..." o también: (Seeley et al. 2011, p. 143).

Se debe comprobar que todas las referencias que aparecen en el texto están en el apartado de Bibliografía y viceversa, y que estén bien referenciados (autores, año, título, revista, volumen, páginas, etc.). Se deben comprobar cuidadosamente las referencias de idiomas extranjeros

La relación de bibliografía citada se presentará ordenada alfabéticamente por autores (los repetidos, por orden cronológico y, si son del mismo año, añadiendo a este una letra: a, b, c, etc.) de acuerdo al estilo HARVARD, como se mencionó con anterioridad. Por ejemplo:

Un autor:

Jackson, A 2007, 'New approaches to drug therapy', *Psychology Today and Tomorrow*, vol. 27, no. 1, pp. 54-9.

Dos autores:

Kramer, E & Bloggs, T 2002, 'On quality in art and art therapy', *American Journal of Art Therapy*, vol. 40, pp. 218-31.

Tres o más autores:

Elo, A, Ervasti, J, Kuosma, E, & Mattila, P 2008, 'Evaluation of an organizational stress management program in a municipal public works organization', *Journal of Occupational Health Psychology*, vol. 13, no. 1, pp. 10-23.

Para el resto de material bibliográfico a citar, obsérvese su ejemplo particular en Guía de Normativa Bibliográfica Estilo Harvard.

En los trabajos aceptados y en prensa incluir: autores (todos), título, revista y (en prensa) o (aceptado) según corresponda en lugar de la fecha. Los trabajos aun no aceptados, no se reseñarán en la lista bibliográfica. Las consultas en páginas web se citaran, siguiendo la misma tónica, autor/as, año título dirección web, y fecha de consulta.

Tablas y Figuras. Las tablas y las figuras deben ser tan claras y simples como sea posible y hacerlas comprensibles sin referencia al texto:

Utilizar números arábigos para numerar las figuras y romanos para las tablas.

Los títulos de tablas y figuras deben ser cortos, pero suficientes para entender su contenido sin necesidad del texto.

La trama negra sólida no debe ser empleada para las figuras.

Dar la información adicional como nota al pie de tabla o figura.

Las tablas han de ser lo suficientemente cortas como para que no haya que dividir las.

Las tablas no deben contener líneas verticales ni horizontales.

Las tablas grandes deben ser estrechas y largas mejor que anchas y cortas, para adaptarlas al ancho de la columna de la revista.

Las figuras deben ser bastante grandes para permitir su reproducción con calidad y se deben diseñar con arreglo a las dimensiones de las columnas o dobles columnas de la revista.

Las señales y leyendas se deben dibujar dentro de los ejes de la figura.

La leyenda debe situarse de modo que permita el máximo aprovechamiento de la columna, generalmente dentro de los ejes.

La Oficina Editorial podrá rediseñar y etiquetar, o solicitarlo de los autores, figuras y tablas cuanto sea necesario para adaptarse al estilo de la revista.

Lista de comprobación para la preparación de envíos

Como parte del proceso de envío, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

1. El envío no ha sido publicado previamente ni se ha sometido a consideración por ninguna otra revista (o se ha proporcionado una explicación al respecto en los Comentarios al editor/a).
2. El archivo de envío está en formato DOCX ([DESCARGUE PLANTILLA DOCX](#)), PNG para las figuras y DOCX para las tablas en archivos separados.
3. Siempre que sea posible, se proporcionan direcciones URL para las referencias.
4. El texto utiliza el tipo de letra Times New Roman a 12 puntos de tamaño; se utiliza cursiva en lugar de subrayado (excepto en las direcciones URL); y todas las ilustraciones, figuras y tablas se envían por separado.
5. El texto se adhiere a los requisitos estilísticos y bibliográficos resumidos en las [Directrices del autor/a](#), que además de en el menú navegador, aparecen en [Acerca de la Revista](#).
6. Deben seguirse las instrucciones para [asegurar una evaluación anónima](#).

RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

Author Guidelines

1) Text structure:

- Title in this sequence: Portuguese, English and Spanish.
- The authors of the article (must be placed in this sequence: name, ORCID, institution, e-mail). NOTE: The ORCID number is individual for each author, and it is necessary for registration at the DOI, and in case of error, it is not possible to register at the DOI).
- Abstract and Keywords in this sequence: Portuguese, English and Spanish (the abstract must contain the objective of the article, methodology, results and conclusion of the study. It must have between 150 and 250 words);
- Body of the text (must contain the sections: 1. Introduction, in which there is context, problem studied and objective of the article; 2. Methodology used in the study, as well as authors supporting the methodology; 3. Results (or alternatively, 3. Results and Discussion, renumbering the other subitems), 4. Discussion and, 5. Final considerations or Conclusion);
- References: (Authors, the article must have at least 20 references as current as possible. Both the citation in the text and the item of References, use the formatting style of the APA - American Psychological Association. References must be complete and updated Placed in ascending alphabetical order, by the surname of the first author of the reference, they must not be numbered, they must be placed in size 8 and 1.0 spacing, separated from each other by a blank space).

2) Layout:

- Word format (.doc);
- Written in 1.5 cm space, using Times New Roman font 10, in A4 format and the margins of the text must be lower, upper, right and left of 1.5 cm .;
- Indents are made in the text editor ruler (not by the TAB key);
- Scientific articles must be longer than 5 pages.

3) Figures:

The use of images, tables and illustrations must follow common sense and, preferably, the ethics and axiology of the scientific community that discusses the themes of the manuscript. Note: the maximum file size to be submitted is 10 MB (10 mega).

Figures, tables, charts etc. (they must have their call in the text before they are inserted. After their insertion, the source (where the figure or table comes from ...) and a comment paragraph in which to say what the reader must observe is important in this resource The figures, tables and charts ...

must be numbered in ascending order, the titles of the tables, figures or charts must be placed at the top and the sources at the bottom.

4) Authorship:

The word file sent at the time of submission must NOT have the names of the authors.

All authors need to be included only in the journal's system and in the final version of the article (after analysis by the journal's reviewers). Authors should be registered only in the metadata and in the final version of the article in order of importance and contribution to the construction of the text. NOTE: Authors write the authors' names in the correct spelling and without abbreviations at the beginning and end of the article and also in the journal's system.

The article must have a maximum of 10 authors. For exceptional cases, prior consultation with the Journal Team is required.

5) Tutorial videos:

- New user registration: <https://youtu.be/udVFytOmZ3M>
- Step by step of submitting the article in the journal system: <https://youtu.be/OKGdHs7b2Tc>

6) Example of APA references:

- Journal article:

Gohn, M. G. & Hom, C. S. (2008). Theoretical Approaches to the Study of Social Movements in Latin America. *CRH Notebook*, 21 (54), 439-455.

- Book:

Ganga, G. M. D. ; Soma, T. S. & Hoh, G. D. (2012). *Course conclusion work (TCC) in production engineering*. Atlas.

- Web page:

Amoroso, D. (2016). *What is Web 2.0?* <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

7) The journal publishes original and unpublished articles that are not postulated simultaneously in other journals or editorial bodies.

8) Doubts: Any doubts send an email to rsd.articles@gmail.com or dorlivete.rsd@gmail.com or WhatsApp (55-11-98679-6000)

Copyright Notice

Authors who publish with this journal agree to the following terms:

- 1) Authors retain copyright and grant the journal right of first publication with the work simultaneously licensed under a Creative Commons Attribution License that allows others to share the work with an acknowledgement of the work's authorship and initial publication in this journal.
- 2) Authors are able to enter into separate, additional contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the journal's published version of the work (e.g., post it to an institutional repository or publish it in a book), with an acknowledgement of its initial publication in this journal.
- 3) Authors are permitted and encouraged to post their work online (e.g., in institutional repositories or on their website) prior to and during the submission process, as it can lead to productive exchanges, as well as earlier and greater citation of published work.

Privacy Statement

The names and addresses reported to this journal are for its exclusive use and will not be forwarded to any third party whatsoever.