



## Estimativa inicial de erros de paternidade em um programa de melhoramento genético de caprinos leiteiros<sup>1</sup>

Caio Cesar Cardoso<sup>2</sup>, Elizabete Cristina da Silva<sup>3</sup>, Concepta McManus Pimentel<sup>4</sup>, Alexandre Rodrigues Caetano<sup>5</sup>,  
Olivardo Facó<sup>6</sup>, Samuel Rezende Paiva<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Parte da Iniciação Científica do primeiro autor, financiada pelo CNPq

<sup>2</sup>Aluno de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, DF, Brasil, Bolsista CNPq. e-mail: caiocardosovet@gmail.com

<sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais da UnB, Brasília, DF, e-mail: bete\_zootec@hotmail.com

<sup>4</sup>Professora Universidade Federal do Rio Grande Sul, Porto Alegre, RS, e-mail: [concepta.mcmanus@ufrgs.br](mailto:concepta.mcmanus@ufrgs.br)

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, e-mail: [faco@cnpc.embrapa.br](mailto:faco@cnpc.embrapa.br)

<sup>6</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, Bolsista Produtividade CNPq, e-mail: alexandre.caetano@embrapa.br

<sup>7</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, Bolsista Produtividade CNPq, e-mail: [samuel.paiva@embrapa.br](mailto:samuel.paiva@embrapa.br)

**Resumo:** Este trabalho teve como objetivo em avaliar seis locos para confirmação de paternidade do Teste de Progenie do programa de melhoramento de caprinos leiteiros. 103 amostras de DNA genômico de animais pertencentes a três raças caprinas (Saanen, Anglo Nubiana e Alpina) foram usadas. Foram testados nove marcadores moleculares para o teste de paternidade: INRA05, TCRVB6, SRCRSP9, INRA63, MAF65 e MCM527. Os fragmentos amplificados foram separados em sequenciador automático, ABI Prism 3100 (Applied Biosystems) e os dados foram analisados com o software Genotyper v. 3.7.0.1 (Applied Biosystems) para identificação dos genótipos. Foi utilizado o software Cervus v. 3.0.3 para obtermos a o número de alelos (K), heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He), conteúdo de informação polimórfica (PIC), duas probabilidades de exclusão (PE1 e PE2) para cada loco. Os seis locos do presente estudo amplificaram fragmentos polimórficos nas três raças avaliadas. O número de alelos encontrados foi entre cinco e 13 locos. O maior valor obtido de PIC foi o SRCRSP9 (0,86), mas o loco INRA05 apresentou a maior probabilidade de exclusão 0,84. O teste de exclusão de paternidade foi confirmado, já que foi obtida uma alta taxa de exclusão. A porcentagem de acerto no teste de paternidade foi de 47,82% para pares (suposto pai e produto) e de 39,02% para trios (suposto pai, matriz e produto). Para uma maior probabilidade de exclusão deverão ser acrescentados outros locos para um teste mais confiável.

**Palavras-chave:** Marcadores moleculares, microssatélites, *Capra hircus*

### Paternity test with molecular markers in breeding program of dairy goats

**Abstract:** This study aimed to evaluate six loci for paternity confirmation in animals from the Dairy Goat Breeding Program Progeny Test. 103 genomic DNA samples of animals belonging to three goat breeds (Saanen, Anglo Nubian and Alpine) were used in this work. Six different molecular markers were used for paternity testing: INRA05, TCRVB6, SRCRSP9, INRA63, MAF65 and MCM527. The amplified fragments were separated in an automated sequencer, ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems) and data were analyzed with the Genotyper software v. 3.7.0.1 (Applied Biosystems) to identify the genotypes. Cervus v. 3.0.3 software was used to obtain the number of alleles (K), observed (Ho) and expected (He) heterozygosity, polymorphic information content (PIC), two exclusion probabilities (PE1 and PE2) for each locus. The six loci amplified in this study were polymorphic in the three breeds studied. The number of alleles per locos varied from five to thirteen. The highest value obtained for PIC was for the SRCRSP9 locus (0.86), but INRA05 had the highest exclusion probability of 0.84. The markers tested for paternity exclusion was confirmed, since they had a high rate of exclusion. The percentage of success in paternity test was 47.82% for pairs (alleged father and product) and 39.02% for trios (alleged father, mother and product). For a greater probability of exclusion should be added to other loci for a paternity test more reliable.

**Keywords:** Molecular markers, genetics, microsatellites, *Capra hircus*

### Introdução

O uso de marcadores moleculares poderá ser uma ferramenta auxiliar para avaliação genética e implementação de seleção de reprodutores com interesse comercial em caprinos. Por exemplo, testes de paternidade podem identificar erros de pedigree de animais dentro do programa de melhoramento e assim podem reduzir as perdas na acurácia na seleção e redução do ganho genético originadas de identificações errôneas na genealogia (Araújo, 2004). A partir da IN<sup>o</sup>74 de 2004 do Ministério da Agricultura e Pecuária exigiu o teste de verificação de parentesco para registros genealógicos em animais de produção (equinos, bovinos, caprinos e ovinos). Painéis de



marcadores do tipo microssatélite são amplamente utilizados para esse fim em diferentes países e são recomendados pela International Society for Animal Genetics (ISAG) (SILVA, 2011).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o poder de exclusão de paternidade de nove locos de microssatélites (ILSTS11, OMHC1, ILSTS87, INRA05, TCRVB6, SRCRSP9, INRA63, MAF65 e MCM527) para três raças que fazem parte do Programa de Melhoramento Genético de caprinos leiteiros da EMBRAPA.

#### Material e Métodos

Um total de 103 amostras de DNA genômico de animais pertencentes a três raças caprinas (Saanen, Anglo Nubiana e Alpina) foram extraídas a partir de amostras de sangue fixadas em papel FTA para este presente trabalho. Estas amostras compreendem 41 trios (suposto pai, matriz e produto) e 23 pares (suposto pai e produto). Todas as amostras utilizadas estão depositadas no Banco de DNA e Tecidos do Laboratório de Genética Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF e foram coletadas de 10 fazendas que participam do Programa de Melhoramento Genético de Caprinos Leiteiros coordenado pela Embrapa Caprinos e Ovinos. Foram amplificados nove locos de microssatélites (ILSTS11, OMHC1, ILSTS87, INRA05, TCRVB6, SRCRSP9, INRA63, MAF65 e MCM527) em termocicladores (Applied Biosystems) em um volume final de 10  $\mu$ L, utilizando o Kit Qiagen Master Mix para PCR-multiplex, segundo as recomendações do fabricante, 4,5ng de DNA genômico e 0,15-0,25  $\mu$ M de cada primer. Os fragmentos amplificados foram separados em seqüenciador automático, ABI Prism 3100 (Applied Biosystems) e os genótipos foram declarados com o software Genotyper v. 3.7.0.1 (AppliedBiosystems). Foi utilizado o software Cervus v. 3.0.3 para as análises estatísticas tanto para as estimativas básicas: número de alelos (K), heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He), conteúdo de informação polimórfica (PIC), duas probabilidades de exclusão (PE1 e PE2) para cada loco/ raça bem como para realizar os testes de paternidade. A PE1 é a probabilidade de exclusão estimada quando a análise é realizada com dois genótipos (produto e suposto pai) enquanto que a PE2 é estimada quando além desses genótipos tem-se também o genótipo de um dos verdadeiros progenitores (matriz).

#### Resultados e Discussão

Os seis locos do presente estudo amplificaram fragmentos polimórficos nas três raças avaliadas. O número de alelos encontrados foi de 5 a 13. A He ficou entre 0,54(INRA05) a 0,87 (MAF65 e SRCRSP9) (Tabela 1). Este painel de nove microssatélites proposto inicialmente por Silva et al., (2011) apresentou probabilidade de exclusão combinada de 0,9933 e 0,9998 (PE1 e PE2) e todos microssatélites foram altamente informativos com PIC superior a 0,50. A PE2, que considera a presença do genótipo da mãe, foi considerada alta e satisfatória, pois conseguiu atingir o valor mínimo de exclusão de parentesco obtidos com microssatélites segundo Weimer, 2003.

A Tabela 2 é apresentada o número de 41 trios (suposto pai, matriz e produto) e 23 pares (suposto pai e produto) para teste de paternidade. Dentre os 41 trios, 16 casos foram resolvidos sendo que os 25 casos não resolvidos foram por incongruência de dois ou mais locos. O teste de paternidade com pares obteve a melhor porcentagem de acertos com 47,82%. Mas podem-se alcançar índices mais satisfatórios aumentando o número de locos no painel. Luikart et al. (1999) relataram probabilidades de exclusão superior a 0,99999 utilizando 22 locos de microssatélites em dois multiplex em diferentes raças caprinas.

Tabela 1. Análise de frequência de alelos por loco:

Locos	N	A <sub>M</sub>	Ho	He	PIC	PE1	PE2
INRA05	101	6	0,55	0,51	0,5	0,86	0,70
TCRVB6	80	12	0,78	0,85	0,82	0,47	0,30
SRCRSP9	100	12	0,86	0,87	0,86	0,40	0,25
INRA63	98	5	0,60	0,62	0,55	0,80	0,63
MAF65	94	10	0,83	0,86	0,84	0,44	0,28
MCM527	82	6	0,70	0,66	0,62	0,74	0,57
Média	-	8,5	0,61	0,72	0,70	*0,9567	**0,9945

(N)=Quantidade de indivíduos genotipados, (A<sub>M</sub>)=número médio de alelos, (Ho)=heteromzigosidades observada, (He)=heteromzigosidades esperada, (PIC)=conteúdo de informação polimórfica e (PE1 e PE2)=probabilidades de exclusão combinada. \*Probabilidade de exclusão combinada 1 e \*\* Probabilidade de exclusão combinada 2.

Tabela 2. Quantidade de indivíduos de pares ou trios (N), casos resolvidos, casos não resolvidos por um loco (1 Par.), casos não resolvidos por 2 um ou mais locos (2 Par)



Anais da 49<sup>a</sup> Reunião Anual da  
Sociedade Brasileira de Zootecnia  
*A produção animal no mundo em transformação*

Brasília – DF, 23 a 26 de Julho de 2012



	N	Casos Resolvidos	1 Par	2 Par	% de Acerto
Pares	23	11	3	9	47,82
Trios	41	16	9	16	39,02

#### Conclusões

O teste dos marcadores microssatélites (INRA05, TCRVB6, SRCRSP9, INRA63, MAF65 e MCM527) para exclusão de paternidade foi confirmada, pois obteve uma alta taxa de exclusão e obteve um índice satisfatório de acordo com a literatura. Foi possível com um painel de seis locos para realização do teste de paternidade mas para uma maior probabilidade de exclusão deverão ser acrescentados outros locos para um teste de paternidade mais confiável. Pode ser usado tanto para raças comerciais e autóctones.

#### Agradecimentos

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a EMBRAPA Recursos Genético e Biotecnologia.

#### Literatura citada

- ARAÚJO, A. M. de, Paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microssatélites de DNA. Tese de Doutorado, Universidade de Viçosa, 2003.
- LUIKART, G.; BIJU-DUVAL, M.P.; ERTUGRU, O. et al. Power of 22 microsatellites marker in fluorescent multiplex for parentage testing in goats (*Capra hircus*). **Animal Genetics**. v. 30, pp. 431-438, 1999.
- SILVA, E. C. ; GUIMARÃES, M. P. M. P. ; GOUVEIA, M. G. ; FACÓ, O. ; CAETANO, A. R. ; PAIVA, S. R. . Painel de marcadores de microssatélites para teste de paternidade em raças caprinas. In: 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2011, Belém/Pará. 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2011.
- WEIMER, T.A. Importância dos marcadores moleculares na seleção animal. **O Embrião: SBTE**, n.15, abr/mai/jun, 2003.
- USHA, A.P., SIMPSON, S.P., WILLIAMS, J.L. (1995). Probability of random sire exclusion using microsatellite markers for parentage verification. **Animal Genetics** 26, 155-161.

---

Cardoso, C.; Silva, E.; McManus, C.; Caetano, A.; Paiva, S. Teste de paternidade com marcadores moleculares no programa de melhoramento genético de caprinos leiteiros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012. (CD-ROM).