



## DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DA RAÇA NATURALIZADA MOXOTÓ NO BRASIL<sup>1</sup>

ADRIANA MELLO ARAÚJO<sup>2,3</sup>, SIMONE E. FACIONI GUIMARÃES<sup>4</sup>, THEA M. MEDEIROS  
MACHADO<sup>4</sup>, FRANCISCO LUIZ RIBEIRO DA SILVA<sup>2</sup>, CLEUSA GRAÇA DA FONSECA<sup>5</sup>, PAULO SÁVIO  
LOPES<sup>4</sup>, PATRÍCIA T. MENDONÇA<sup>6</sup>, VIRGINIA S. COLUMBIANO<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Fapemig, CAPES e CNPq

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Caprinos. Estrada Sobral-Groaíras, km4. Caixa Postal D10. Sobral-CE 62011-970

<sup>3</sup> Aluna de doutorado do Departamento de Zootecnia/UFV- Campus Universitário. Viçosa-MG 36570-000

<sup>4</sup> Professor do DZO/UFV

<sup>5</sup> Professor do ICB/UFMG- Av. Antonio Carlos, 6627.Campus Universitário. Belo Horizonte-MG

<sup>6</sup> Bolsista de Iniciação Científica CNPq

**RESUMO** - Na região Nordeste, detentora do maior rebanho caprino do país, existem raças naturalizadas adaptadas às condições adversas do semi-árido, que possuem diversidade genética desconhecida. Estas raças estão sofrendo um processo de cruzamento com diversas raças importadas, pondo em risco seu potencial genético. Este trabalho descreve a aplicação de um sistema composto de dez microssatélites na raça naturalizada Moxotó. Foram genotipados 22 animais do rebanho de conservação da raça Moxotó da Embrapa Caprinos, Ceará. No rebanho Moxotó a heterozigosidade foi moderada ( $H_E = 0,4984$ ) e o número de alelos médio foi de 3,5 alelos/locus. Tais resultados indicam que o rebanho está sofrendo perda de diversidade genética.

**PALAVRAS-CHAVE:** caprino, conservação de germoplasma, microssatélites de DNA, polimorfismo

GENETIC DIVERSITY OF A POPULATION OF NATURALIZED MOXOTÓ BREED, IN BRAZIL

**ABSTRACT** - In the Northeast region, holder of the largest goat flock of the country, naturalized breeds are adapted to the adverse conditions of the semi-arid and possess unknown genetic diversity. These breeds are suffering a process of crossing with several imported breeds, endangering their genetic potential. This work describes a system composed by ten microsatellites from to study the naturalized Moxotó breed. 22 goats of the flock of conservation of the Moxotó breed of National Goats Research Center, Embrapa were genotyped. Moxotó breed obtained a moderate heterozygosity ( $H_E = .4984$ ) and the allelic number mean was 3.5 allels/locus. These results show the herd suffer loss of genetic diversity.

**KEYWORDS:** DNA microsatellites, goat, germplasm conservation, polymorphism

### INTRODUÇÃO

O Nordeste é a região brasileira que possui o maior plantel de caprinos, aliado quase sempre à agricultura familiar no semi-árido. A maior parte dos caprinos desta região pertencem ao grupo SRD (Sem-raça-definida), que não possui padronização, sendo formado pela mistura de raças. Outro grande grupo refere-se aos animais padronizados, destacando-se os grupos Moxotó, Marota, Canindé e Repartida. Estes caprinos são conhecidos como naturalizados, pois foram introduzidos na época da colonização e sofreram forte seleção natural para se adaptar às condições do semi-árido. São suas características principais a rusticidade, a prolificidade e a alta qualidade do couro. Dentre estes grupos, talvez o mais tradicional seja o da raça Moxotó, originária de Pernambuco, que possui reconhecimento do Ministério da Agricultura e Livro Genealógico (Machado, 2000). Devido ao cruzamento maciço com raças caprinas importadas, o rebanho naturalizado está vulnerável, o que poderá causar perda de patrimônio genético para a caprinocultura no futuro. Estudos de diversidade genética nesta e nas demais raças naturalizadas são urgentes para melhor direcionar os recursos existentes para sua conservação.

A análise de microssatélites tem sido apontada na literatura como uma ferramenta valiosa para estudo de diversidade genética, sobretudo devido ao alto polimorfismo apresentado por estes marcadores (Barker, 1994). A despeito do expressivo rebanho caprino existente, ainda não existe um sistema de microssatélite proposto para raças caprinas no Brasil. Igarashi et al. (2000b) publicaram o primeiro estudo de estrutura genética de rebanhos naturalizados e importados no Brasil, com base em polimorfismos protéicos. Em resumo publicado por Igarashi et al. (2000a), uma subamostra do primeiro trabalho foi submetida ao estudo com dois loci de microssatélites. Machado et al. (2000)

estudaram características morfológicas para a construção de filogenia de população caprina tradicional (SRD) do Nordeste brasileiro e de raças da região do Mediterrâneo. Este trabalho aplicou um sistema de dez *loci* polimórficos de microssatélites no estudo de diversidade genética de um rebanho caprino Moxotó.

### MATERIAL E MÉTODOS

Do rebanho de conservação da Embrapa Caprinos, localizado em Sobral, Ceará, foram amostrados 22 animais da raça Moxotó. As análises de DNA foram realizadas no LABTEC/DZO da Universidade Federal de Viçosa.

Foram colhidos pelos da região distal da cauda, e a extração de DNA genômico foi feita por meio do método do brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). A extração de DNA utilizando folículos pilosos pode ser bastante útil quando se deseja amostras de localidades distantes de grandes centros, onde o transporte aéreo rápido não está presente. O volume para transporte é pequeno, resistente e não perecível. Visando a padronização da técnica de extração de DNA de folículos pilosos, foi feito um pré-estudo com pelos de vinte caprinos da UFV.

Foram utilizados dez *primers* de microssatélites, localizados nos cromossomos 3, 6, 10, 12, 14, 17, 18, 21 e 26. O *locus* ILSTS087 não possui localização definida. Os *loci* inicialmente testados foram BETACAP, INRA005, ILSTS087, INRA006, INRA063 e INRABERN172 (em colaboração com o LABOGENA, INRA); adicionados os *loci* ILSTS005, ILSTS011, SRCRSP05 e OARFCB48. Todos os *primers* utilizados haviam sido descritos anteriormente na construção do mapa de ligação em caprinos (Vaiman et al, 1996). Os *primers* reversos foram marcados fluorescentemente com Tet, 6-Fam e Hex (*Applied Biosystem*).

Foi utilizado um termociclador *MJ Research PTC-100*. Cada amostra analisada continha 1,0  $\mu$ l da amostra amplificada e 0,25  $\mu$ l do padrão interno de tamanho (TAMRA 500, *Applied Biosystem*), desnaturados em 24  $\mu$ l de formamida deionizada (HI-DI, *Applied Biosystem*), incubados por 94 °C por 5 min e levados ao gelo. Os fragmentos amplificados, depois de preparados, foram aplicados para eletroforese em capilar a 9 V, 60 °C, por 22 minutos e analisados no *Genetic Analyzer ABI 310* (*Applied Biosystem*), utilizando o *software Genescan®*.

As frequências alélicas e as estimativas de heterozigosidade esperadas sob equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $H_E$ ) e observadas ( $H_O$ ) para cada *locus* e média de todos os *loci* foram obtidas utilizando o programa *Tools for Population Genetic Analyses* (TFPGA v 1.3; Miller, 1997). Foi realizado o teste exato para equilíbrio de Hardy-Weinberg segundo Guo e Thompson (1992), através da Cadeia de Markov (10 ciclos, 1000 repetições, 1000 dememorações).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pelo da região da cauda de caprinos mostrou-se 80% mais eficiente do que o do dorso para extração de DNA. O protocolo CTAB mostrou eficiência de cerca de 91% na extração e amplificação pelo PCR. A proporção de *loci* com frequência perdida, ou seja, não analisados, foi de cerca de 5%. A quantidade e qualidade do DNA extraído de folículos pilosos não permitiram seu armazenamento prolongado.

O número de alelos variou de 5 (ILSTS087 e INRABERN172) a 2 (OARFCB48), com média de 3,5 alelos/*locus*. Barker (1994) sugeriu para estudos de diversidade, *loci* com no mínimo quatro diferentes alelos, no sentido de possuir polimorfismo suficiente para distinguir os alelos semelhantes em estado.

A heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) foi de 0,498 $\pm$ 0,033 e a heterozigosidade observada ( $H_O$ ) foi de 0,448 $\pm$ 0,018. Os resultados demonstram a pouca variação existente no rebanho de conservação. Não houve, nos dados analisados, um padrão de déficit ou excesso de heterozigosidade observada. A raça Moxotó apresentou baixo polimorfismo ( $H_E < 0,50$ ), em três, dos dez *loci* analisados. O baixo polimorfismo reflete provavelmente o pequeno tamanho da amostra e redução de variação genética dentro da população.

Os estudos de diversidade em caprinos com marcadores de microssatélites são raramente encontrados na literatura. Maudet et al. (2002) estudaram várias metodologias estatísticas no manejo de conservação de biodiversidade, utilizando *Capra ibex*. Foi demonstrada baixa variação genética existente nesta espécie de cabra selvagem dos Alpes.

Yang et al. (1999) estudaram diversidade em caprinos de raças autóctones da China através de marcadores de microssatélites, obtendo resultados em concordância com o histórico das populações. A heterozigosidade obtida foi alta em seis dos treze *loci* testados. Saitbekova et al. (1999) verificaram a diversidade entre rebanhos caprinos suíços domésticos e cabras *Ibex* e *Bezoar*.



As raças domésticas apresentaram maior heterozigosidade que os tipos selvagens, com  $H_E$  média de 0,54 e 0,17, respectivamente.

Os desvios do equilíbrio de HW em *loci* de microssatélites foram encontrados em várias citações (Luikart et al., 1999; Barker et al., 2001) e indicam afastamento do acasalamento ao acaso. Neste trabalho, o *locus* BETACAP ( $p < 0,01$ ) apresentou afastamento do equilíbrio pelo teste exato de Guo e Thompson (1992). Tal desvio pode ser devido à ocorrência de alelos nulos ou não-amplificados, vícios de grupamento de alelos, efeito da estrutura de amostragem (efeito Wahlund), seleção contra heterozigotos ou consangüinidade.

### CONCLUSÕES

Os *loci* de microssatélites estudados foram informativos e devem ser mantidos em estudos posteriores de diversidade em caprinos no Brasil. O rebanho Moxotó analisado, apresentou baixa diversidade genética, comprometendo a conservação do recurso genético.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARKER, J.S.F. A Global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 5, v.21. **Proceedings...** Guelph, 1994. p.501-508, 1994
- BARKER, J.S.F.; TAN, S.G.; MOORE, S.S.; MUKHERJEE, T.K.; MATHESON, J-L.; SELVARAJ, O.S. Genetic variation within and relationship among populations of Asian goats (*Capra hircus*). **Journal of Animal Breeding Genetics**, v.118, p.213-233. 2001.
- GUO, S.W.; THOMPSON, E.A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, v.48, p.361-372, 1992.
- IGARASHI, M.L.S.P.; MACHADO, T.M.; CASTRO, S.R.; FERRO, J.A.; CONTEL, E.P.B. Genetic characterization of goats herds of the Brazil. In: GLOBAL CONFERENCE ON CONSERVATION OF DOMESTIC ANIMAL GENETIC RESOURCES, 5., 2000, Brasília. **Proceedings...** Ed. Mariante, A.S., McManus, C., Salomão, A.N. Brasília: Embrapa. 2000a.CD-Rom.
- IGARASHI, M.L.S.P.; MACHADO, T.M.; FERRO, J.A.; CONTEL, E.P.B. Structure and genetic relationship among Brazilian naturalized and imported goat breeds. **Biochemical Genetics**, v.38, p.353-365, 2000b.
- LUIKART, G.; BIJU-DUVAL, M-P.; ERTUGRUL, O; ZAGDSUREN, Y.; MAUDET, C.; TABERLET, P. Power of 22 microssatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). **Animal Genetics**, v.30, p.431-438, 1999.
- MACHADO, T.M.M. Caprins autochtones du Bresil: L'identiication, la standardisation et la savergarde. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 7. Tours, 2000. **Proceedings...** INRA, 2000. 2v 1049p. v.2, p.941-943.
- MACHADO, T.M.M.; CHAKIR, M.; LOUVERGNE, J.J. Genetic distances and taxonomic trees between goats of Ceará State (Brazil) and goats of the Mediterranean region (Europe and Africa). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p.121-125, 2000.
- MAUDET, C.; MILLER, C.; BASSANO, B. et al. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: applications in Alpine Ibex (*Capra ibex ibex*). **Molecular Ecology**, v.11, p.421-436, 2002.
- MILLER, M.P. **TFPGA- Tools for Populations Genetics Analyses**. V 1.3 A Window program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. 1987.
- SAITBEKOVA, N.; GAILLARD, C.; OBEXER-RUFF, G.; DOLF, G. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. **Animal Genetics**, v.30, p.36-41, 1999.
- YANG, L.; ZHAO, S.H.; LI, K.; PENG, Z.Z.; MONTGOMERY, G.W. Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. **Animal Genetics**, v.30, p.452-455, 1999.
- VAIMAN, D.; SCHIBLER, L.; BOURGEOIS, F.; OUSTRY, A.; AMIGUES, Y.; CRIBIU, E.P. A genetic linkage map of the male goat genome. **Genetics**, v.144, p.279-305, 1996