



Seleção de caprinos Moxotó para Núcleo de Conservação a partir de marcadores microsatélites

Luciana Cristine Vasques Villela¹, Elizabete Cristina da Silva², Alexandre Rodrigues Caetano³, Ângela Maria Xavier Eloy⁴, Roberta Vianna do Valle⁵, Samuel Rezende Paiva⁶

¹Doutoranda (Ciência Animal) - Universidade de Brasília (UnB), Brasília/DF, Brasil. e-mail: luciana.villela@hotmail.com

²Doutoranda (Ciência Animal) - Universidade de Brasília (UnB), Brasília/DF, Brasil. e-mail: bete_zootec@hotmail.com

³Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília/DF, Brasil. Bolsista Produtividade CNPq. e-mail: alexandre.caetano@embrapa.br

⁴Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral/CE, Brasil. e-mail: angela@cnpq.embrapa.br

⁵Mestranda (Produção Animal) – Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), Sobral/CE, Brasil. e-mail: betadovalle@yahoo.com

⁶Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Brasil. Bolsista Produtividade CNPq e-mail: samuel.paiva@embrapa.br

Resumo: Foram testados 14 marcadores microsatélites em um estudo piloto para inferir a diversidade genética em 25 amostras de DNA genômico de caprinos da raça Moxotó provenientes de um rebanho particular e selecionar quais deveriam ser incorporados em um Núcleo de Conservação da mesma raça Moxotó. Os resultados comparados indicaram elevada heterozigosidade (He e Ho médios = 0,572), presença de alelos diagnósticos e relação genética entre as duas populações (F_{IS} médio = 0,417). Esses são parâmetros desejáveis para candidatos a serem introduzidos em Núcleos com baixa diversidade, contudo, a alta variabilidade também pode indicar eventos de introgressão. Dessa forma, após uma análise de coordenadas principais, foi observado um agrupamento dos indivíduos em três diferentes grupos. Recalculou-se o coeficiente de co-ancestralidade e os alelos diagnósticos. Os resultados indicaram relação genética e presença de alelos diagnósticos exclusivos em dois desses grupos. Ao selecionar animais para Núcleos de Conservação é preciso levar em consideração as necessidades do Núcleo: aumento de variabilidade, manutenção do padrão da raça, evitar introdução de alelos não pertencentes à raça. Verificou-se, assim, que os marcadores microsatélites constituem ferramenta adequada para auxiliar essa seleção.

Palavras-chave: *Capra hircus*, manejo genético de rebanhos, Diversidade genética, Recursos Genéticos Animais

Selection of Moxotó goats for Conservation Nucleus from microsatellite markers

Abstract: We tested 14 microsatellite markers in a pilot study to infer the genetic diversity in 25 samples of genomic DNA of Moxotó goats from a particular herd and to select which should be incorporated into a conservation nucleus of Moxotó goats. The results showed high heterozygosity (He and Ho mean = 0.572), presence of diagnostic alleles and genetic relationship between the two populations (F_{IS} mean = 0.417). These parameters are interesting for candidates to be introduced in Nuclei with low diversity, however, the high variability may also indicate introgression events. Thus, after a principal coordinates analyses, were observed that individuals formed three different groups. The coefficients of co-ancestry and diagnostic alleles were recalculated. The results showed presence of genetic relationship and exclusive diagnostic alleles in two groups. When selecting animals we must take into account the needs of the Conservation Nucleus: increase the variability, maintenance of breed standard, avoidance the introduction of other races alleles. It was found thus that microsatellite markers are suitable tool to help this selection.

Keywords: Animal genetic resources, *Capra hircus*, Genetic diversity, Genetic management of herds

Introdução

Além da importância socioeconômica, os caprinos naturalizados ou localmente adaptados destacam-se pela alta rusticidade e adaptação às condições hostis do Nordeste brasileiro (Araújo et al., 2008), o que faz com que sejam considerados importantes recursos genéticos para uso futuro. Como grande parte encontra-se ameaçada de extinção, sua conservação e uso são fundamentais. Uma das formas de conservação é a *in situ*, realizada por meio do estabelecimento de Núcleos de Conservação, onde os animais são mantidos no seu *habitat* de origem. O ponto crucial é a manutenção da máxima variabilidade genética nos Núcleos. No entanto, eles normalmente apresentam rebanhos com pequeno tamanho efetivo, o que culmina com elevada consangüinidade e baixa variabilidade.

Acasalamentos direcionados constituem técnica muito utilizada nos Núcleos para manter/aumentar a variabilidade e a seleção genética é sua principal ferramenta. Introduzir novos animais também ajuda a aumentar a variabilidade nos Núcleos. No entanto, o reduzido número de criadores dificulta a localização desses animais. Outro agravante, os eventos de introgressão, podem resultar em animais fenotipicamente semelhantes, mas geneticamente distintos, que não devem, portanto, ser introduzidos nos Núcleos, a fim de não comprometer sua estrutura genética.



Aliadas à seleção, as ferramentas geradas pela genética molecular têm colaborado com os programas de conservação, permitindo também o monitoramento genético dos Núcleos. Elevado grau de polimorfismo, alta frequência e distribuição no genoma fazem dos microssatélites os marcadores mais utilizados nas análises de diversidade genética. Análises indispensáveis para os programas de conservação (Oliveira et al., 2007).

A Embrapa Caprinos e Ovinos mantém em suas instalações um Núcleo de Conservação de caprinos naturalizados da raça Moxotó. É um Núcleo pequeno e fechado e a introdução de material genético novo, para aumentar sua variabilidade, é fundamental. Assim, neste trabalho, avaliou-se, por meio de marcadores microssatélites, a diversidade genética de caprinos da raça Moxotó pertencentes a um criador do Estado do Ceará, para verificar a possibilidade deles serem introduzidos no Núcleo.

Material e Métodos

Foram utilizadas 32 amostras de DNA genômico de caprinos: 25 da raça Moxotó pertencentes a um criador do Estado do Ceará (POP1 – animais numerados de 01 à 25); cinco da raça Moxotó (POP2 – numerados de 28 à 32) e duas da raça Caniné (animais numerados como 26 e 27 e incluídos para servir como parâmetro na Análise de Coordenadas Principais), pertencentes aos Núcleos de Conservação da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada em Sobral-CE. Catorze *locos* de microssatélites (ETH10, SPS113, SRCRSP15, INRABERN185, TGLA53, OarFCB304, MAF65, SRCRSP9, INRA63, ILSTS11, MCM527, BM8125, BM1329, TCRVB6) foram empregados para inferir a diversidade genética das populações nesse estudo. As reações de amplificação via PCR foram realizadas em termociclador (*Applied Biosystems*) com kits comerciais da QIAGEN. Os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese capilar em seqüenciador automático (ABI Prism 3700 - *Applied Biosystems*) e os genótipos foram identificados por meio dos *softwares GeneScan e Genotyper (Applied Biosystems)*. Com o *software GenAlex v.6* (Peakall & Smouse, 2006), calculou-se o número de alelos (N_A), número efetivo de alelos (N_{AE}), heterozigosidade observada (H_O) e esperada (H_e), coeficiente de endogamia (F_{IS} e F_{ST}), índice de fixação (F), e as análises de variância molecular (AMOVA) e de coordenadas principais. O coeficiente de co-ancestralidade molecular foi obtido com o *software Molkin v. 2,0* (Gutiérrez et al., 2005).

Resultados e Discussão

A análise de diversidade genética com os 14 microssatélites revelou 95,24% de *loci* polimórficos e um total de 64 alelos (média de 3,024 alelos/*loco*). Os valores médios de H_e e H_o para todos os *locos* foram altos (0,512 e 0,597, respectivamente), revelando elevada quantidade de heterozigotos e alta diversidade, concordando com o valor médio do coeficiente de endogamia ($F_{IS} = -0,161$), que foi negativo (indicativo de baixa endogamia nas populações). O valor médio de F_{ST} foi 0,128, indicando moderada a alta diferenciação genética entre as populações.

Na análise de diversidade de cada população, observou-se que POP1 apresentou, em média, 3,857 alelos, e 2,57 alelos específicos, valores superiores aos da POP2 (2,929 e 2,274, respectivamente). A presença de alelos diagnósticos foi observada em ambas as populações (20 alelos diagnósticos na POP1 e sete na POP2). A Análise de Variância Molecular indicou que 7% ($p \leq 0,05$) da variação total poderia ser atribuída às diferenças entre as populações. As médias de H_e e H_o também foram elevadas (0,572). O índice de fixação F_{IS} , que representa a consangüinidade das populações, foi negativo para as duas populações (-0,013 e -0,195 para POP1 e POP2, respectivamente), indicando não haver consangüinidade nas populações. O coeficiente de co-ancestralidade molecular calculado para cada indivíduo, apresentou média de 0,417, sendo 0,424 para a POP1 e 0,395 para a POP2. É um valor elevado, indicando que os indivíduos das duas populações estão geneticamente relacionados.

A elevada heterozigosidade apresentada pela POP1 é um parâmetro desejável para animais que serão inseridos em um Núcleo de Conservação com baixa diversidade. O maior número de alelos diagnósticos também chama a atenção. Esses parâmetros elevados implicam em alta variabilidade. É muito comum o cruzamento das raças naturalizadas com outras raças. Por isso, é preciso averiguar se essa diversidade não é, na verdade, decorrente desses eventos de introgressão. Com a intenção de verificar como essas duas populações se agrupariam (quão próximas ou quão distantes se encontram), elas foram submetidas à Análise de Coordenadas Principais (Figura 1). As três primeiras coordenadas explicaram 61,82% da variação. O 1º eixo (X) explicou 28,09% de diversidade genética total; o 2º (Y) explicou 18,76% e o 3º (Z) 14,98% de diversidade. Houve diferenciação dos indivíduos em três grupos. No grupo A, localizaram-se todos os animais pertencentes ao Núcleo de Conservação (POP2) e outros 14 animais pertencentes ao criador (POP1), mas que estavam mais próximos da POP2. Nos grupos B e C, localizaram-se os animais mais distantes, ou seja, o restante dos animais da POP1.

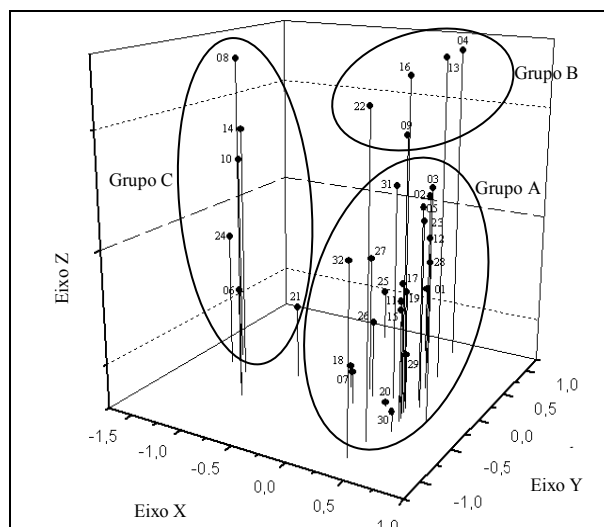


Figura 1. Representação gráfica da Análise de Coordenadas Principais.

Diante desse resultado, decidiu-se recalcular, dentro desses novos grupos formados, o coeficiente de co-ancestralidade e os alelos diagnósticos (Tabela 1). O coeficiente médio de co-ancestralidade dos novos grupos foi maior do que o da 1^a análise, indicando que os animais são geneticamente relacionados. Alelos diagnósticos exclusivos foram identificados apenas nos Grupos A (14 alelos diagnósticos) e B (dois alelos diagnósticos). No entanto, os Grupos “A e B”, “A e C” e “B e C” compartilharam 13, 09 e 01 alelos diagnósticos, respectivamente.

Tabela 1. Coeficiente de co-ancestralidade (diagonal inferior) e alelos diagnósticos (diagonal superior) presentes nos grupos A, B e C (vide Figura 1 para lista dos mesmos).

Grupo	A	B	C
A	0,426/14	13	9
B	0,376	0,507/2	1
C	0,431	0,424	0,501/0

Se a intenção é selecionar animais mais próximos do padrão dos Moxotó pertencentes ao Núcleo de Conservação (para não correr risco de escolher animais que possuam alelos não pertencentes à raça Moxotó), porém sem alterar muito a variabilidade, o ideal seria selecionar os animais pertencentes ao criador que se agruparam no Grupo A. Caso contrário, animais dos Grupos B e C poderão ser selecionados. No entanto, se eles forem introduzidos no Núcleo, eles poderão trazer consigo alelos que não pertencem à raça Moxotó, ou pelo menos a este Núcleo de Conservação, podendo descaracterizar, dessa forma, o mesmo.

Conclusões

A heterozigosidade apresentada pelo rebanho pertencente ao criador do Estado do Ceará indica elevada diversidade genética. Embora essa seja uma característica imprescindível em um programa de conservação, é preciso avaliar a origem dessa diversidade, antes de inserir os animais no Núcleo, a fim de não comprometer sua estrutura genética. Dessa forma, os marcadores microssatélites provaram ser eficientes e importantes para capturar a variabilidade genética dos animais, auxiliando, assim, na seleção de animais para Núcleos de Conservação.

Literatura citada

- ARAÚJO, A.M.; SILVA, F.L.R.; VILLELA, L.C.V. et al. Caracterização genética de caprinos Moxotó e Canindé por meio de microssatélites de DNA. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 7., 2008, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2008.
- GUTIÉRREZ, J.P., ROYO, L.J., ÁLVAREZ, I. et al. MolKin v.2.0: A computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. **Journal of Heredity**, n.96, p.718-721, 2005.
- OLIVEIRA, J.D. de; IGARASHI, M.L.S. de P.; MACHADO, T.M.M. et al. Structure and genetic relationships between Brazilian naturalized and exotic purebred goat domestic goat (*Capra hircus*) breeds based on microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, 2, p. 356-363, 2007.
- PEAKALL, R.O.D.; SMOUSE, P.E. GenAEx v.6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology**, Notes, v.6, n.1, p.288-295, 2006.