



VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal São Carlos, SP, 10 e 11 de julho de 2008

Caracterização genética de caprinos Marota no Estado do Piauí por meio de microssatélites de DNA¹

Márcio da Silva Costa², Adriana Mello de Araújo³, Joubert de Borges Moraes², Rodrigo Maranguape Silva da Cunha⁴, José Elivalto Guimarães Campelo⁵, Shara Emanuella Freire Lima⁴, Joahslenny Alves de Oliveira⁷, Glícia Maria de Almeida⁸, Francisco Ribeiro da Silva⁹, Marcos Jacob de Oliveira Almeida³

¹Trabalho financiado pelo Banco do Nordeste

²Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UFPI. e-mail: marcioziza@hotmail.com

³Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI. e-mail: adriana@cpamn.embrapa.br

⁴Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA Sobral, CE

⁵Universidade Federal do Piauí – PPCA – Teresina - PI

⁶Graduanda em Biologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, Sobral, CE

⁷Embrapa Meio – Norte, e UFPI - Teresina-PI e-mail: joahsy@yahoo.com.br

⁸Doutoranda em Ciência Animal – UFPI. e-mail: glíciaalmeida@yahoo.com.br

⁹Embrapa Caprinos – Sobral, CE

Resumo - Os caprinos possuem um importante papel para a agricultura do Nordeste, concentrando-se nesta região o maior plantel da espécie no Brasil. O Estado do Piauí possui rebanhos de alguns grupos genéticos adaptados ao semi-árido e que se encontram em risco de desaparecimento. Este trabalho teve o objetivo de caracterizar a raça caprina naturalizada Marota por meio de marcadores de microssatélite, dando suporte a futuras pesquisas de melhoramento ou conservação de recursos genéticos. Os animais avaliados pertencem ao Núcleo de Conservação da Embrapa Meio-Norte e estão em risco de desaparecimento. O DNA extraído foi amplificado mediante a reação em cadeia polimerase (PCR), em multiplex e genotipados através do programa *Fragment Profile* (Amersham Biosystem). A frequência alélica (FA) e a heterosigozidade média observada (H) foram calculadas através do programa TFGA (Miller, 1997). Todos os *loci* analisados foram considerados informativos ($H > 0,5$) segundo Ott (1992). Os *Loci* ILSTS011, CSRDS247 e HSC mostraram alelos exclusivos para a população, quando comparado com a literatura, refletindo possível variação genética entre esta população de caprinos Marota e outras populações nativas européias. O número de alelos observado demonstra haver diversidade dentro da população, não havendo indicativos de perda de diversidade dentro do rebanho de conservação.

Palavras-chave: heterozigosidade, polimorfismo, recursos genéticos

Genetic characterization of Marota goat breeds in Piauí state of Brazil through DNA microsatellites

Abstract - Goats play an important role in the agriculture of the Northeast, concentrating on this area the largest plantel of the species in Brazil. The Piauí State is responsible for conservation herds of a variety domesticated species adapted to the Semi-arid and in disappearance risk. This work had the objective of characterizing the Marota

breed through microsatellite markers, supporting futures researches in the improvement or conservation of this genetic resource. The animals sampled are from Embrapa's Nucleus of Conservation. The extracted DNA was amplified by the polymerase chain reaction (PCR) in multiplex and genotyped through the software Fragment Profile (Amershan Biosystems). The allelic frequency (FA) and the observed means heterozygosity (H) was calculated by TFPGA software (Miller, 1997). All loci studied was considered informative ($H > 0.5$) according to Ott (1992). Loci ILSTS011, CSRDS247 and HSC showed exclusive alleles for the population when compared with the literature, reflecting genetic variation among Marota and other European native populations. The number of alleles demonstrates there is genetic diversity within Marota, and no detectable diversity loss inside the conservation Nucleus herd.

Keywords: genetic resources, heterozygosity, polymorphism

Introdução

Os caprinos foram introduzidos no Brasil na época da colonização e hoje se encontram naturalizados, formando os grupos genéticos regionais no Nordeste. Tais recursos genéticos, adaptados ao semi-árido e geralmente pouco produtivos, encontram-se em vias de extinção, mas poderão assumir papel preponderante no desenvolvimento desta região devido a suas características peculiares (Araújo et al., 2006). No processo seletivo advindo das condições climáticas do semi-árido, associado à baixa oferta de alimento, estes animais passaram a apresentar características próprias com destaque para a rusticidade, a prolificidade e a boa qualidade do couro (Machado e Machado 2000).

Estes grupos de animais domésticos naturalizados têm recebido nos últimos anos atenção quanto à conservação genética e carecem de estudos para caracterização destes animais. Neste contexto, o grupo de caprinos denominado Marota, de incidência no Estado do Piauí, se encontra em estado crítico de preservação (Machado e Machado 2000).

São várias as ferramentas que auxiliam na conservação, com destaque a análise de DNA, que é rotina em programas de conservação e melhoramento genético. Neste aspecto, a biologia molecular, através de técnicas de análise de DNA, vem auxiliando o desenvolvimento de novas tecnologias, permitindo conhecer a variabilidade ao nível de DNA (Barker, 1994).

Com este estudo objetivou-se caracterizar o grupo genético Marota e avaliar a variabilidade genética do rebanho de conservação, com o uso de marcadores de microsatélite.

Material e Métodos

Foram utilizadas neste estudo 108 amostras individuais de DNA extraído de caprinos adultos da raça Marota do núcleo de conservação da Embrapa Meio-Norte, localizado em Castelo do Piauí – PI, distante 187 Km da capital do Estado. As amostras de sangue para extração de material genético foram colhidas na veia jugular pelo sistema a vácuo contendo EDTA. Depois de colhido, o sangue foi armazenado a -4°C até a extração de DNA, usando um protocolo orgânico, adaptado de Araújo et al. (2006).

Foram selecionados sete *loci* de microsatélite anteriormente descritos na literatura e depositados no ISAG (2008): ILSTS011 (6-fam), CSRDS247 (6-fam), INRA006 (6-fam), INRABERN172 (Ned), ILSTS019 (Hex) e HSC (6-fam).

As reações de amplificação foram conduzidas em aparelho termociclador Perkin-Elmer, modelo PE2400. A reação de cada *primer* foi constituída de 25ng de

DNA genômico, em solução de PCR (20 mM de Tris-HCL, pH 8,3; 50 mM de KCl; 0,2 mM de dNTP; e 1,0 unidade de *Taq* DNA Polimerase) as concentrações de cloreto de magnésio variaram entre 1,25 mM a 2,5 mM, dependendo da exigência de cada *locus*, totalizando um volume no final da reação de 20 μ L. O ciclo para realização da PCR foi de 95°C/5 min. seguido de 28 ciclos de 95°C/1 min, 56°C/1 min, 72°C/1 min, e uma fase extensão final de 72°C/20 min. A eletroforese capilar foi realizada após desnaturação por 94°C/5 min em um sequenciador automático Megabace (Amershan Bioscience). A genotipagem foi realizada com base no software *Fragmente Profile*. Os genótipos obtidos foram analisados pelo programa TFPGA (Miller, 1997), obtendo-se as freqüências gênicas de cada alelo e a heterozigosidade observada, conforme descrito por Ott (1992).

Resultados e Discussão

Nos sete *loci* de microssatélites analisados na população de caprinos Marota, foi detectado um número médio de oito alelos por *locus*, sendo que o número de alelos por *locus* variou de doze (HSC) a seis alelos (ILSTS019). De acordo com dados da Barker (1994), um *locus* deverá conter mais de quatro alelos para ser útil na caracterização de recurso genético animal.

A heterozigosidade para todos os *loci* foi de 0,747, variando entre *locus* de 0,595 a 0,857. A alta freqüência de heterozigotos observada nos *loci* analisados caracteriza a variação genética existente na população Marota estudada.

Todos os *loci* estudados apresentaram uma freqüência menor que 0,95 nos alelos mais freqüentes, mostrando que os *loci* estudados apresentam boa heterozigosidade. Os marcadores estudados apresentaram elevado grau de polimorfismo, com exceções do INRABERN172 e ILSTS019 ($H < 0,70$). Segundo Ott (1992), um *locus* é considerado altamente polimórfico se sua heterozigosidade é maior do que 0,70, o que implica freqüência menor do que 0,55 no mais freqüente alelo. Isso é observado de acordo com a Tabela 1, em que mostra a freqüência dos alelos mais representativos em cada *locus*.

Para conservação de recursos genéticos a informação do polimorfismo de DNA é fundamental, visto que a presença de vários alelos dentro de um *locus* é indicação de variação genética, mantendo a população representativa. Variação esta que pode ser fonte para futuros programa de melhoramento destas espécies.

Os *loci* ILSTS019, CSRDS 247 e HSC mostraram alelos exclusivos em relação à literatura consultada, refletindo diversidade entre o grupo Marota e as populações caprinas nativas da Europa referenciadas (ISAG, 2008). Entretanto, mais estudos são necessários para mensurar efetivamente tais diferenças entre populações.

Tabela 1 - *Locus*, tamanho dos alelos (pb); número de alelos (N); freqüência do alelo mais freqüente (FA), e heterozigosidade média observada de cada *locus* (H).

<i>Locus</i>	pb	N	FA	H
ILSTS011	262-280	10	0,28	0,715
CSR0247	221-247	7	0,254	0,834
INRA006	106-126	10	0,233 0,233	0,833
INRABERN172	136-152	8	0,5	0,687
ILSTS019	144-156	6	0,5	0,595
HSC	274-304	12	0,214	0,857
SRCRSP023	87-123	15	0,333	0,709

Conclusões

Todos os *loci* de microssatélites estudados apresentaram polimorfismo, podendo ser usado para estudos de diversidade genética e variabilidade em caprinos.

O número de alelos observado, bem como a heterozigidade observada demonstram haver diversidade dentro da população Marota, não havendo indicativos de perda acentuada de diversidade dentro do rebanho de conservação.

Mais marcadores deverão ser incluídos em estudos futuros para melhor caracterizar a população Marota e permitir estimativas de distância genética em relação a outros grupos genéticos.

Literatura Citada

- ARAÚJO, A.M.; GUIMARÃES, S.E.F.; MACHADO, T.M.M.; LOPES, P.S.; PEREIRA, C.S.; SILVA, F.L.R. et al. Microsatellites in the study of genetic diversity among herds of the Saanen and Alpine dairy goat breeds and the naturalized Moxotó breed in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.1, p.67-74, 2006.
- BARKER, J.S.F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: WORD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 5., 1994, Guelph. **Proceedings...** Guelph, 1994. v.21, p.501-508.
- ISAG. Liliana Di Stasio – **ISAG Standing Committee on “Applied Genetics in Sheep and Goats”** Disponível em: http://www.isag.org.uk/pdf/2005_PanelsMarkersSheepGoats.pdf. Acesso em: 10/03/08.
- MACHADO, T.M.M.; MACHADO, M.M.M. The geografic localization of local goat populations, Brazil In: GLOBAL CONFERENCE ON CONSERVATION OF DOMESTIC ANIMAL GENETIC RESOURCES, 5., 2000, Brasília. **Anais...** Global Conference On Conservation of Domestic Animal Genetic Resources, 2000 (CD-Rom).
- 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, 1997.
- OTT, J. **Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping**. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1682689&blobtype=pdf>. Acesso em: 10/03/08.