



Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites¹

Marcos Paulo Carrera Menezes², Amparo Martinez Martinez³, Maria Norma Ribeiro⁴, Edgard Cavalcanti Pimenta Filho⁵, Juan Vicente Delgado Bermejo³

¹Parte da tese de Doutorado do primeiro autor do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia – PDIZ/UFPB.

²Doutorando da Universidade Federal da Paraíba – PDIZ – Areia – PB.

³Departamento de Genética – Universidad de Córdoba – Córdoba – Espanha.

⁴Universidade Federal Rural de Pernambuco – PDIZ – Recife – PE.

⁵Universidade Federal da Paraíba – PDIZ – Areia – PB.

RESUMO - Objetivou-se com este trabalho verificar a utilização de 27 microssatélites para caracterização genética das raças caprinas nativas do Brasil. Foram coletadas amostras de pelos de 332 animais das raças Moxotó (60), Canindé (50), Serrana Azul (55), Marota (68), Repartida (52) e Graúna (47). Selecionaram-se 27 microssatélites, que foram amplificados mediante a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida, em um seqüenciador automático ABI 377XL. Todos os microssatélites analisados mostraram-se polimórficos para o estudo de caracterização genética das raças nativas brasileiras. O número de alelos variou de 3 (MAF209) a 23 (CSSM66). A heterozigosidade média esperada foi de 0,672 e a observada, de 0,582. Todos os microssatélites analisados foram informativos, à exceção do marcador MAF209 (PIC: 0,042). Os microssatélites analisados mostraram-se polimórficos e os resultados obtidos indicaram a capacidade desses marcadores em identificar a variabilidade genética em raças caprinas nativas brasileiras.

Palavras-chave: caprinos, conservação genética, marcadores moleculares, variabilidade genética

Genetic characterization of Brazilian native breeds of goats using 27 markers microsatellites

ABSTRACT - This study aimed to evaluate 27 microsatellites for genetic characterization of Brazilian native goats using samples of hair collected from 332 animals of the Moxotó, Canindé, Serrana Azul, Marota, Repartida and Graúna breeds. Twenty-seven microsatellites were selected, amplified by polymerase chain reaction (PCR). The amplified products were submitted to electrophoreses in polyacrylamide gel using an ABI 377XL automatic sequencer. The number of alleles ranged between three (MAF209) and twenty-three (CSSM66). Averages of expected and observed heterozygosity were respectively 0,672 and 0,582. Except for the marker MAF209 (PIC: 0,042), all the analyzed microsatellites were informative. The polymorphism of all microsatellites indicate their ability in identifying genetic variability of Brazilian native breeds of goats.

Key Words: goats, genetic conservation, molecular markers, genetic variability

Introdução

As raças caprinas nativas do Brasil estão localizadas na Região Nordeste, onde os animais são criados em sistemas extensivo e semi-extensivo para produção de carne, pele e leite. São animais bem adaptados à região semi-árida e resistentes a doenças e parasitas. Porém, são poucos os trabalhos realizados com esses animais, ameaçados de extinção. Para minimizar esse problema, um programa de conservação foi estruturado e uma de suas prioridades é o estudo da caracterização genética desses patrimônios genéticos.

Segundo Gama (2004), a variabilidade genética total das espécies é representada pela contribuição das variabilidades inter e intra-raciais. Verifica-se, portanto, a importância de se medir a variabilidade genética dos animais, visto que a conservação dos recursos genéticos está efetivamente relacionada à manutenção das variabilidades inter-racial (evita a extinção das raças) e intra-racial (evita a erosão genética).

A caracterização genética com o uso de marcadores moleculares tem demonstrado ser uma ferramenta eficaz para quantificação da diversidade genética de animais domésticos. Os marcadores genéticos são *loci* que apre-

sentam características detectáveis que diferenciam os indivíduos de determinada população, demonstrando variações entre indivíduos e grupos de animais.

Os microssatélites são pequenas sequências repetidas (1 a 6 nucleótideos), abundantes, distribuídas ao acaso por todo o genoma. Apresentam grande polimorfismo, são de fácil identificação e têm sido utilizados em mapas de ligação em mamíferos, identificação individual em controle de paternidade e caracterização genética de populações.

Segundo a FAO, os microssatélites que possuem homologia em várias espécies relacionadas são preferíveis, pois facilitam o trabalho em laboratório e possibilitam economia de tempo e redução dos custos.

Yang et al. (1999) analisaram seis microssatélites em quatro raças de caprinos chineses e demonstraram que os microssatélites de ovinos (OarFCB11, OarFCB20, OarFCB304, OarFCB48 e OarFCB34) e bovinos (BM4621) são eficientes para detectar polimorfismo em raças caprinas. Ainda com caprinos nativos chineses, Li et al. (2002) tipificaram 16 microssatélites recomendados pela *EUSheep and Goat Biodiversity Project*. A variabilidade genética intra e inter-racial em caprinos asiáticos nativos foi verificada por Barker et al. (2001), com 25 microssatélites. Saitbekova et al. (1999) realizaram um estudo sobre a diversidade

genética entre raças caprinas suíças, no qual analisaram 20 microssatélites de bovinos. O objetivo neste trabalho foi verificar a possibilidade de utilização de 27 microssatélites para caracterização genética das raças caprinas brasileiras.

Material e Métodos

Foram coletadas 332 amostras casualizadas de pêlos de caprinos das raças Moxotó (60), Canindé (50), Serrana Azul (55), Marota (68), Repartida (52) e Graúna (47) de vários rebanhos e estados distintos da Região Nordeste do Brasil (Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Bahia e Piauí). O DNA das amostras foi extraído de dez pêlos selecionados por animal, segundo metodologia estabelecida por Walsh et al. (1991).

Na Tabela 1 são apresentados os 27 microssatélites analisados com as sequências direta e reversa dos iniciadores (*Primers*). Os multiplex, os tamanhos dos fragmentos, os fluorocromos e a temperatura de anelamento dos *loci* encontram-se na Tabela 2.

Os microssatélites foram amplificados mediante a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), com 25 µL de volume final de uma reação: 5 µL de DNA, 2,5 mM de cloreto de magnésio, 1 unidade de Taq Polimerase, 200 mM de

Tabela 1 - Microssatélites analisados com as respectivas sequências (direta e reversa) dos iniciadores
Table 1 - Analyzed microsatellites and respective sequences (direct and reverse) of primers

locus	Direta Direct	Reversa Reverse
BM6506	GCACGTGGTAAAGAGATGGC	AGCAACTGAGCATGGCAC
BM8125	CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG	GGGGGTTAGACTTCAACATACG
BM1818	AGCTGGGAATATAACCAAAGG	AGTGCTTCAGGTCCATGC
CSRD247	GGACTTGGCAGAACCTGCAAT	CACTGTGGTTGTATTAGTCAGG
ETH225	GATCACCTGCCACTATTCCT	ACATGACAGCCAGCTGCTACT
HAUT27	TTTTATGTTCATTTTGACTGG	AACTGCTGAAATCTCCATCTTA
ILSTS011	GCTTGCTACATGGAAAGTGC	CTAAAATGCAGAGCCCTACC
INRA63	ATTTGCACAAGCTAAATCTAAC	AAACCACAGAAATGCTTGGAAAG
INRA5	TTCAGGCATACCCCTACACCACATG	AAATATTAGCCAAGTAAAAGCTGGG
SPS115	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG	AACGAGTGTCCCTAGTTGGCTGTG
TGLA122	CCCTCCCTCAGGTAAATCAGC	AATCACATGGCAAATAAGTACATAC
BM6526	CATGCCAACAAATATCCAGC	TGAAGGTAGAGAGCAAGCAGC
CSRMM60	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA	AGGACCAAGATCGTAAAGGCATAG
CSSM66	ACACAAATCCTTCTGCCAGCTGA	AATTAAATGCACTGAGGAGCTGG
ETH10	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAAC	CCTCCAGCCCACTTCTCTTC
INRA6	AGGAATATCTGTATCAACCTCAGTC	CTGAGCTGGGTGGGAGCTATAATA
MM12	CAAGACAGGTGTTCAATCT	ATCGACTCTGGGGATGATGT
HSC	CTGCCAATGCAGAGACACAAGA	GTCTGTCCTGTCTGTCTCATC
McM527	GTCCATTGCCCTAAATCAATT	AAACCACTGACTACTCCCCAA
SRCRSP8	TGCGGCTGGTTCTGATTTCAC	CCTGCATGAGAAAGTCGATGCTTAG
OarFCB48	GAGTTAGTACAAGGATGACAAGAGGCAC	GACTCTAGAGGATCGCAAAGAACAG
BM1329	TTGTTTAGGCAAGTCAAAGTC	AACACCGCAGCTTCATCC
OarFCB11	GGCCTGAACTCACAGTTGATATATCTATCAC	GCAAGCAGGTTCTTACCACTAGCACC
OarFCB304	CCCTAGGAGTTCAATAAGAATCGG	CGCTGCTGTCAACTGGTCAGGG
INRA23	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC	TAACTACAGGGTGTAGATGAAC
MAF209	GATCACAAAAAGTGGATACAACGTGG	TCATGCACTTAAGTATGTAGGATGCTG
MAF65	AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG	CCACTCCTCCTGAGAATATAACATG

Tabela 2 - Múltiplex dos *loci*, tamanhos dos fragmentos, fluorocromos e temperatura de anelamento utilizados

Table 2 - Loci multiplex, size range, fluorescence and annealing temperature

Multiplex	<i>locus</i>	Tamanhos (pb) Size	Fluorocromo Fluorescence	Temp. anelamento (°C) Annealing temperature	Referência Reference
M1	BM6506	190-228	HEX	55	Bishop et al. (1994)
	INRA63	153-185	HEX		Vaiman et al. (1994)
	CSRD247	208-250	FAM		FAO (2004)
	ETH225	130-165	NED		Barendse et al. (1994)
	TGLA122	130-180	FAM		Georges et al. (1992)
M2	INRA5	125-155	HEX	55	Vaiman et al. (1994)
	HAUT27	125-160	NED		Thieven et al. (1997)
	BM8125	100-128	FAM		Bishop et al. (1994)
M3	ILSTS011	253-295	HEX	55	Luikart et al. (1999)
	SPS115	235-265	NED		Moore et al. (1993)
	BM1818	250-290	FAM		Li et al. (2002)
M4	CSSM66	175-265	HEX	55	Barendse et al. (1994)
	BM6526	145-195	FAM		Bishop et al. (1994)
M5	INRA6	100-130	HEX	55	Bishop et al. (1994)
	MM12	85-135	NED		Mommens et al. (1994)
M6	OarFCB304	130-180	HEX	55	Yang et al. (1999)
	OarFCB11	120-160	FAM		Yang et al. (1999)
	MAF209	100-125	HEX		Luikart et al. (1999)
	MAF65	110-152	NED		Luikart et al. (1999)
	BM1329	153-185	NED		Bishop et al. (1994)
M7	HSC	270-306	HEX	55	ISAG (2002)
	McM527	150-190	NED		ISAG (2002)
	SRCRSP8	210-260	NED		Luikart et al. (1999)
M8	INRA23	185-230	HEX	60	Li et al. (2002)
	CSR60	75-110	FAM		Moore et al. (1994)
M9	ETH10	200-230	FAM	55	Solinas et al. (1993)
	OarFCB48	140-170	FAM		Yang et al. (1999)

dNTPs e 0,25 mM de primers. Após o preparo, as reações foram levadas a um termociclador e submetidas às seguintes condições de amplificação: 10 minutos a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C para a maioria dos marcadores e a 60°C para os marcadores CSR60 e INRA23 por 45 segundos e 72°C por 30 segundos. Finalmente, após os 35 ciclos, acrescentaram-se 10 segundos a 72°C.

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida, em um seqüenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). Os resultados das análises de fragmentos e a tipificação alélica foram obtidos por meio dos programas informáticos Genescan Analysis versão 3.7 e Genotyper 2.5, respectivamente.

O cálculo das freqüências alélicas foi feito com base na contagem direta dos alelos encontrados. Assumindo que existe um estado ideal de equilíbrio Hardy-Weinberg (EHW), a variância de uma freqüência alélica pode ser

descrita pela expressão binomial: $\sigma_x^2 = \frac{x(1-x)}{2n}$ em que x é a freqüência alélica e n, o número de indivíduos das amostras.

A heterozigosidade pode ser considerada uma medida de variabilidade genética. Considera-se um *locus* polimórfico quando o alelo mais comum tem freqüência inferior a 0,95. A heterozigosidade de um marcador é a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto no *locus* marcador e depende do número de alelos e de sua freqüência na população. A heterozigosidade observada é a proporção de indivíduos heterozigotos nas amostras da população. A heterozigosidade média esperada ou a diversidade genética de um *locus* é equivalente à heterozigosidade observada, considerando-se apenas as populações em completo equilíbrio. As freqüências alélicas e as heterozigosidades foram calculadas por meio do programa Genetix versão 4.01, proposto por Belkhir et al. (1999).

O Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), descrito por Botstein et al. (1980), é um indicador da qualidade do marcador em estudos genéticos (segregação, identificação de populações e controle de paternidade). Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, com valores entre 0,25 e 0,50 medianamente informativos, e com valores inferiores a 0,25, pouco informativos.

A lei de Hardy-Weinberg foi verificada por Hardy e Weinberg, independentemente, em 1908. Segundo esses autores, em uma população grande, com acasalamento aleatório, sem seleção, mutação ou migração, as freqüências alélicas e genotípicas permanecem constantes de geração a geração, considerando-se uma população em completo equilíbrio.

A constituição genética de uma população é descrita pela especificação e a proporção dos diferentes alelos em cada *locus*. Os desvios do EHW podem originar-se de fatores como acasalamentos direcionados, subdivisões dentro das populações; coancestrais e antepassados comuns; seleção natural; migração ou fluxo de genes a partir de uma população externa; técnica de amostragem incorreta; e presença de alelos nulos não detectáveis experimentalmente.

Qualquer desvio significativo do EHW indica que a população está subdividida, que existe uma endogamia significativa ou fluxo de genes de outra população. Para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg, utilizou-se o programa Genepop versão 3.4, aplicando-se o método de cadeia de Markov.

Resultados e Discussão

Os valores de polimorfismo dos *loci* analisados são descritos na Tabela 3. Os marcadores (TGLA122, MM12, CSSM60, BM6526, HSC e BM8125) apresentaram elevado grau de heterozigosidade média observada, com valores superiores a 70%. Segundo Ott (1992), um marcador é considerado altamente polimórfico quando apresenta heterozigosidade maior que 70%. No entanto, os marcadores MAF209, BM6506, SPS115, ETH225, INRA63, HAUT27, ETH10 e INRA23 apresentaram nível reduzido de heterozigosidade, com valores inferiores a 50%. Para heterozigosidade média esperada, na maioria dos *loci* (85%), observou-se valor superior a 50%, indicando elevada variabilidade genética dos marcadores analisados. A qualidade dos marcadores foi confirmada pelo conteúdo de informação polimórfica, sendo verificados valores superiores a 50% em mais de 75% dos *loci* analisados.

Tabela 3 - Número de alelos (NA), heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He) e Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), em função dos *loci* analisados
Table 3 - Number of alleles (AN), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), Polymorphyc Information Content (PIC) of each analyzed Loci

Locus	NA	Ho	He	PIC
CSSM66	23	0,680	0,819	0,908
OarFCB304	16	0,669	0,795	0,777
MM12	14	0,733	0,752	0,724
BM6526	14	0,716	0,744	0,724
INRA6	13	0,638	0,847	0,830
HSC	11	0,731	0,789	0,761
BM1329	11	0,678	0,741	0,698
OarFCB11	11	0,659	0,687	0,643
MAF65	11	0,508	0,717	0,675
CSRM60	10	0,720	0,755	0,718
BM6506	10	0,371	0,406	0,391
BM1818	10	0,671	0,761	0,737
TGLA122	10	0,754	0,829	0,807
CSRD247	09	0,666	0,748	0,717
HAUT27	09	0,461	0,479	0,436
SRCRSP8	09	0,675	0,776	0,742
INRA23	09	0,495	0,666	0,612
INRA5	08	0,623	0,709	0,667
OarFCB48	08	0,598	0,632	0,572
ILSTS011	07	0,524	0,786	0,752
McM527	07	0,631	0,699	0,651
BM8125	06	0,713	0,769	0,733
INRA63	06	0,454	0,572	0,480
SPS115	05	0,412	0,503	0,398
ETH10	05	0,493	0,650	0,576
ETH225	04	0,416	0,483	0,383
MAF209	03	0,037	0,043	0,042

Todos os 27 microssatélites analisados foram polimórficos para caracterização genética de raças caprinas brasileiras. Os resultados de número de alelos obtidos por *locus* analisado estão de acordo com o número mínimo de alelos sugerido por Barker (1994), à exceção do MAF209. Segundo esse autor, número inferior a quatro alelos por *locus* reduz o efeito sobre o erro-padrão para cálculos de distância genética entre populações. O *locus* MAF209 é um marcador de ovinos e, apesar de amplificar bem em caprinos, este *locus* tem se mostrado pouco polimórfico para essa espécie (como encontrado neste estudo), com apenas três alelos, resultado condizente com os encontrados por Luikart et al. (1999), em cabras espanholas. Possivelmente, este *locus* encontra-se em uma região com baixa variabilidade genética em caprinos.

Por outro lado, o marcador CSSM66 apresentou elevado número médio de alelos (23). Essa quantidade elevada pode ser considerada um número excessivo de alelos, que não é interessante, do ponto de vista prático, em análise de tipificação alélica, por dificultar a interpretação dos resultados. Possivelmente, este *locus* encontra-se em uma região hipervariável do DNA no genoma dos caprinos.

Os valores referentes ao número médio de alelos foram semelhantes aos reportados por alguns autores (Araújo, 2004; Saitbekova et al., 1999; Li et al., 2002; Yang et al., 1999), em estudos sobre a variabilidade genética em caprinos demonstra alto nível de polimorfismo dos *loci* analisados. Em contraste, Maudet et al. (2002), em estudo com microssatélites em cabras Alpinas Ibex, verificaram número médio de alelos por *locus* variando de 2 (ILSTS029) a 6 (SR-CSRP-24), que indica baixo nível de polimorfismo dos *loci* em cabras selvagens.

Em análise global, os valores de heterozigosidade média observada por *locus* revelaram elevado grau de polimorfismo, com valores superiores a 0,5 em mais de 70% dos *loci* analisados. Em estudos de diversidade genética em cabras asiáticas, Barker et al. (2001) verificaram alto nível de heterozigosidade em 17 microssatélites analisados, enquanto Saitbekova et al. (1999) observaram heterozigosidade total de 15 (ETH225) a 87% (ILSTS030) em cabras Suíças, Ibex e Benzoar, com elevada variação entre *loci*.

O marcador CSSM66 pode ser considerado altamente informativo (PIC = 0,908). No entanto, o PIC depende do número de alelos e de suas freqüências. Desta forma, como comentado anteriormente, o *locus* com número

médio de 23 alelos pode diminuir a eficiência das análises, enquanto, para classificação de Botstein et al. (1980), este marcador seria considerado o mais informativo. Portanto, a informação que este parâmetro produz não deve ser o único aspecto para seleção ou descarte de um marcador ou descartá-lo (Moazami-Goudarzi et al., 1994).

Apenas seis marcadores apresentaram valores de PIC inferior a 50%, com cinco microssatélites considerados medianamente informativos (ETH225; BM6506; SSP115; HAUT227 e INRA63) e apenas um pouco informativo (MAF209). Estes valores de PIC estão de acordo com os encontrados por Yang et al. (1999), Li et al. (2002) e Jandurová et al. (2004).

O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) dos *loci* para cada raça caprina brasileira encontra-se descrito na Tabela 4. A raça Moxotó foi a que apresentou o maior número de *locus* em desequilíbrio (11), seguida pela Serrana Azul, Marota e Repartida (9), Canindé (8) e Graúna (7). Em geral, verificou-se diferença de apenas 4 *loci* em desequilíbrio entre as raças estudadas, demonstrando reduzidos desequilíbrios de HW para os microssatélites analisados. Entretanto, estes números reduzidos de microssatélites em desequilíbrios podem ser esperados

Tabela 4 - Equilíbrio de Hardy-Weinberg nas populações estudadas

Table 4 - Hardy-Weinberg equilibrium of loci in the studied populations

<i>locus</i>	S. Azul	Moxotó	Marota	Canindé	Repartida	Graúna
BM6506	1,000	1,000	0,762	0,378	0,238	0,275
BM8125	0,209	0,145	0,230	0,866	0,618	0,603
BM1818	0,627	0,181	0,209	0,844	0,130	0,322
CSRD247	0,295	0,248	0,346	0,776	0,099*	0,436
ETH225	0,596	0,461	1,000	0,658	0,000*	0,053*
HAUT27	0,745	0,294	0,173	0,169	0,024*	0,106
ILSTS011	0,258	0,000*	0,922	0,000*	0,943	0,248
INRA63	0,079*	0,518	0,827	0,006*	0,094*	0,233
INRA5	0,014*	0,420	0,087*	0,905	0,606	0,914
SPS115	0,072*	0,000*	0,750	0,002*	0,005*	0,773
TGLA122	0,130	0,311	0,200	0,220	0,273	0,130
BM6526	0,000*	0,080*	0,923	0,138	0,311	0,357
CSRM60	0,369	0,841	0,039*	0,071*	0,771	0,392
CSSM66	0,133	0,596	0,364	0,032	0,001*	0,002*
ETH10	1,000	0,107	0,386	0,170	0,019*	0,067*
INRA6	0,000*	0,062*	0,231	0,065*	0,664	0,000*
MM12	0,560	0,025*	0,298	0,734	0,273	0,842
HSC	0,230	0,013*	0,047*	0,874	0,086*	0,185
McM527	0,594	0,026*	0,686	0,606	0,047	0,662
SRCRSP8	0,106	0,022*	0,093*	0,075*	0,869	0,012*
OarFCB48	0,056*	0,403	0,043*	0,307	0,355	0,468
BM1329	0,951	0,347	0,849	0,419	0,574	0,160
OarFCB11	0,206	0,032*	0,085*	0,174	0,718	0,127
OarFCB304	0,636	0,500	0,001	0,161	0,298	0,337
INRA23	0,016*	0,137	0,000*	0,000*	0,240	0,000*
MAF209	0,000*	0,000*	0,000*	1,000	0,051*	0,000*
MAF65	0,000*	0,000*	0,003*	0,204	0,148	0,017*
Total	9	11	9	7	9	7

* *loci* em desequilíbrio ($P > 0,10$).

* *loci* in desequilibrium ($P > 0,10$).

tanto em populações de raças comerciais com acasalamentos dirigidos, permitindo aumento na frequência de determinados indivíduos, como em raças ameaçadas de extinção (objeto deste estudo) e podem ser explicados por diversos fatores: subdivisões dentro das populações, antepassados comuns, seleção natural, migração ou fluxo de genes a partir de população externa.

Verificou-se que os desequilíbrios de Hardy-Weinberg para os marcadores alternaram-se dentro das populações e que a maioria dos marcadores (aproximadamente 70%) está equilibrada, demonstrando a importância dos marcadores microsatélites para identificação e avaliação da variabilidade genética em estudos com raças caprinas brasileiras.

Conclusões

Os microsatélites analisados são polimórficos e com alta capacidade para identificar a variabilidade e a diversidade genética em caprinos, à exceção dos marcadores MAF209 e CSSM66. Estes microsatélites podem ser utilizados para caracterização genética de raças caprinas brasileiras, auxiliando em programas de conservação e melhoramento dos recursos genéticos do país.

Literatura Citada

- ARAÚJO, A.M. **Paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microsatélites de DNA.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 90p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2004. 90p.
- BARKER, J.S.F.; TAN, S.G.; MOORE, S.S. et al. Genetic variation within and relationship among populations of Asian goats (*Capra hircus*). **Journal of Animal Breeding Genetics**, v.118, p.213-233, 2001.
- BARENDE, W.; ARMITAGE, S.M. A genetic linkage map of the bovine genome. **Nature Genetics**, v.6, p.227-235, 1994.
- BELKHIR, K. **Genetix**: Logiciel sous WindowsTM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UPR 9060, 1999.
- BISHOP, M.D.; KAPPES, S.M. A genetic linkage map for cattle. **Genetics**, v.136, p.619-639, 1994.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, H. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.
- FAO. **Secondary guidelines for development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans: Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers.** Rome: FAO, 2004.
- GAMA, L.T. Manutenção da variabilidade genética em programas de seleção. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS (RAÇAS NATIVAS PARA O SEMI-ÁRIDO), 1., 2004, Recife. **Anais...** Recife: 2004. p.38-44.
- GEORGES, M.; MASSEY, J.M. **Polymorphic DNA markers in Bovidae**. Patent WO 92/13102, 1992.
- ISAG. Disponível em: <http://www.isag.org.uk> Acesso em: 15/12/2002.
- JANDUROVÁ, O.M.; KOOT, T.; IKOTTOVÁ, B. et al. Seven microsatellites markers useful for determining genetic variability in White and Brown Short-Haired goat breeds. **Small Ruminant Research**, 2004 (in press).
- LI, M.H.; ZHAO, S.H.; BIAN, C. et al. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite. **Genetics Selection and Evolution**, v.34, p.729-744, 2002.
- LUIKART, G.; BIJU-DUVAL, M-P.; ERTUGRUL, O. et al. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). **Animal Genetics**, v.30, p.431-438, 1999.
- 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.
- MOAZAMI-GOUDARZI, K.; VAIMAN, D.; MERCIER, D. et al. Emploi de microsatellites pour l'analyse de la diversité génétique des races bovines francaises: premiers resultants. **Genetics Selection and Evolution**, v.26, p.155-165, 1994.
- MOMMENS, G.W.; COPPIETERS, A. Dinucleotide repeat polymorphism at the bovine MM12E6 and MM8D3 loci. **Animal Genetics**, v.25, p.368, 1994.
- MOORE, S.S.; BYRNE, K. Dinucleotide polymorphism at the bovine calmodulin independent adenylycyclase locus. **Animal Genetics**, v.24, p.150, 1993.
- MOORE, S.S.; BYRNE, K. Characterization of 65 bovine microsatellites. **Mammalian Genome**, v.5, p.84-90, 1994.
- OTT, J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, v.51, p.283-290, 1992.
- SAITBEKOVA, N.; GAILLARD, C.; RUFF, G.O. et al. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. **Animal Genetics**, v.30, p.36-41, 1999.
- SOLINAS-TOLDO, S.; FRIES, R. Physically mapped, cosmid-derived microsatellite markers as anchor loci on bovine chromosomes. **Mammalian Genome**, v.4, p.720-727, 1993.
- THIEVEN, U.; SOLINAS-TOLDO, S. Polymorphic CA-microsatellites for the integration of the bovine genetic and physical map. **Mammalian Genome**, v.8, p.52-55, 1997.
- VAIMAN, D.; MERCIER, D. A set of 99 cattle microsatellites: characterisation, synteny mapping, and polymorphism. **Mammalian Genome**, v.5, p.288-297, 1994.
- YANG, L.; ZHAO S.H.; LI, K. et al. Determination of relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. **Animal Genetics**, v.30, p.452-456, 1999.
- WALSH, P.S.; METZGER, D.A.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for a simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, v.10, p.506-513, 1991.

Recebido: 15/09/04
Aprovado: 30/01/06