

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**VARIABILIDADE GENÉTICA, ESTRUTURA POPULACIONAL E RELAÇÕES
EVOLUTIVAS DE CABRAS CRESPAS COM BASE EM MARCADORES
MOLECULARES MICROSSATÉLITES E DNA MITOCONDRIAL**

Darlise Dias Lopes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Thales Renato Ochotorena de Freitas

Co-orientadora: Gabriela Paula Fernández

Porto Alegre

Junho de 2012

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este trabalho foi desenvolvido no Departamento de Genética, Laboratório de Citogenética e Evolução, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), contando com o auxílio financeiro de:

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS)

Aos meus pais, Albari e Rosangela por nunca terem medido esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos e por sempre acreditarem em meu empenho e dedicação, e ao meu marido Caetano, pelo apoio e amor incondicional.
Dedico!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Thales Renato O. de Freitas agradeço pela confiança no meu trabalho, pelo apoio e orientação e também pela oportunidade de fazer parte dessa grande família que é o Laboratório de Citogenética e Evolução. Obrigada pelas histórias contadas e pelos momentos compartilhados.

A Gabriela Fernández (Gabizita) com quem nesses últimos cinco anos aprendi a ter coragem de enfrentar as quedas e dificuldades e que considero uma irmã de coração. Obrigada pela co-orientação no trabalho e pela orientação para a vida.

Ao Professor Gilson Moreira, quem muito admiro pela dedicação ao trabalho e aos ideais nos quais acredita. Obrigada pela co-orientação, pela incansável ajuda nas coletas e pela oportunidade de conhecer sua dedicação às raças domésticas locais.

A Gislene Gonçalves (Gis), que sempre que precisei, deixou seus afazeres e não mediu esforços para me ajudar. Obrigada Gis por ser esse exemplo de pessoa e profissional. É uma honra poder contar com a tua enorme colaboração para a realização deste trabalho.

Agradeço a Caprisul, através da presidente em exercício, Vera Ponciano, por facilitar o contato com os proprietários de caprinos do Estado.

A todos os proprietários que nos permitiram acesso aos seus rebanhos sempre com muita gentileza. Obrigada senhores e senhoras: Ronald Rauter (Saanen), Zuleika Torrealba (Alpina), Jaqueline Vecchi e Vitor Severo (Boer), Vera Ponciano (Anglo Nubiana) e aos senhores: Dinarte Ribeiro, Luiz Carlos Gasperine, Régis Colares, Júlio Feijó, Antonio Costa, Gilson Moreira, Carlos Joaquin de Fontoura Rodrigues, proprietários das Cabras Crespas, estrelas deste trabalho.

Agradeço também ao senhor Mário Poli, pesquisador do INTA (Argentina) pela colaboração com as amostras da raça Angorá.

Aos incansáveis Elmo Cardoso e Lúcia Oliveira por todo auxílio. Obrigada por cuidarem da parte burocrática sempre com tanta dedicação e boa vontade.

Ao Luciano Silva (Lulis) por todos os momentos de descontração e mesmo pelos “puxões de orelha” no dia a dia do lab.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aos professores do departamento de Genética pela oportunidade de aprendizado.

Ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CNPq) pela bolsa concedida.

A todos os colegas e amigos do laboratório, obrigada pelos momentos de alegria, de amizade e de companheirismo, que pude compartilhar com vocês, os quais me deram força para enfrentar momentos de dificuldade. Obrigada também pelos sorrisos e abraços, indispensáveis, a cada novo encontro.

Ao querido casal de amigos Tatiane e Rodrigo de quem recebi o primeiro sorriso quando cheguei ao laboratório em junho de 2007. Obrigada pela amizade que construímos e por me tratarem tão bem.

As “superpoderosas” Tati e Livia, agradeço por toda a ajuda que me deram durante esses anos e pela maravilhosa amizade que construímos, espero continuar compartilhando muitos momentos alegres com vocês “Florzinha e Docinho”. Juntas somos mais poderosas, sempre!

Ao colega e amigo Diego, obrigada por estar sempre disposto a me ajudar nas coletas, nas extrações, no laboratório e fora dele. É uma enorme satisfação ter te conhecido, te admiro muito como pessoa e como profissional.

As amigas: Simone, Samara, Dalila, Ana, Laura, Mayara, Patrícia, Gisele, Camila, Paula, Tati Rech, obrigada pelo incentivo, amizade e bom humor que amenizaram momentos difíceis e divertiram momentos leves. Meninas vocês fizeram tudo isso se tornar muito mais divertido!

Aos maiores amores da minha vida, meus pais: Albari e Rosângela, agradeço pelos valores que me ensinaram por dedicarem tanto amor a nossa família, por sempre me incentivarem na busca do crescimento, sendo exemplos de competência, honestidade, garra, determinação e disciplina. OBRIGADA!

Ao meu marido Caetano, com quem construo uma história linda a cada dia. E que apesar de toda dificuldade sempre me apoiou e, o melhor de tudo, sempre me cobrou para que eu continuasse e concluísse mais esta etapa. Obrigada meu amor por todo o carinho e compreensão principalmente em meus momentos de insegurança. TE AMO.

A minha irmã, e vizinha, Denise, agradeço por todas as vezes que me chamava no muro para uns minutos de conversa ou aquele chimarrão gostoso, momentos muito importantes de descanso, que me faziam desligar do trabalho.

A minha sogra por acreditar que eu conseguiria, por sempre torcer pelas minhas conquistas e pelos cuidados que tens comigo. Obrigada!

A todos os meus amigos e amigas de Itaqui que mesmo de longe, de muito longe, sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação.

A todos os meus familiares e amigos, que se fizeram presentes, que se preocuparam, que foram solidários, que torceram por mim e que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a conclusão deste trabalho. Muito obrigada!

SUMÁRIO

1 RESUMO	9
2 ABSTRACT	10
3 INTRODUÇÃO.....	11
3.1 Caprinos.....	11
3.2 Domesticação.....	12
3.3 Caprinos no Brasil	15
3.4 Cabras no Rio Grande do Sul (RS).....	17
3.4.1 Raça Alpina	17
3.4.2 Raça Anglo Nubiana.....	18
3.4.3 Raça Boer	19
3.4.4 Raça Saanen.....	19
3.4.5 Raça Angorá	20
3.4.6 Ecótipo Crespa.....	21
3.5 Pampa	21
3.6 Raças Autóctones	22
3.7 Conservação do Patrimônio Genético	23
3.8 Marcadores Moleculares.....	26
3.8.1 Microssatélites	27
3.8.2 DNA mitocondrial	28
4 OBJETIVOS.....	30
4.1 Objetivo Geral	30
4.2 Objetivos Específicos	30
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
5.1 Área de estudo e coleta de amostras.....	31
5.2 Extração de DNA.....	33
5.3 Amplificação e genotipagem dos <i>loci</i> de microssatélites.....	33
5.4. Amplificação e sequenciamento de mtDNA	35
5.5 Análises Estatísticas	36
5.5.1 Microssatélites	36
5.5.2 Sequências de mtDNA.....	36

5.5.3 Estrutura populacional.....	37
6 RESULTADOS	39
6.1 Variabilidade genética de microssatélites e mtDNA.....	39
6.2 Distribuição dos haplótipos de mtDNA.....	44
6.3 Estrutura genética de cabras Crespas.....	45
6.4 Diferenciação genética das raças	48
6.5 Análises filogenéticas	52
7 DISCUSSÃO	57
7.1 Variabilidade genética	57
7.2 Estrutura genética e populacional do ecótipo Crespa.....	60
7.3 Diferenciação genética das raças	63
7.4 Relações evolutivas	65
7.5 Implicações para a conservação do ecótipo Crespa.....	67
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

1 RESUMO

As cabras Crespas constituem-se em um ecótipo caprino encontrado no extremo Sul do Brasil, fenotipicamente similar à raça Angorá. Cruzamentos com outras raças, pressões seletivas de manejo e do ambiente, conferem a estes indivíduos características fenotípicas diferenciadas. O principal objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética nas populações de cabras Crespas do Rio Grande do Sul, e a relação destas com outras raças caprinas criadas na região e com a raça Angorá (proveniente da Argentina), através de marcadores moleculares de DNA nuclear e mitocondrial. A amostra (n=162) foi composta por indivíduos provenientes das raças Alpina (n=10), Anglo Nubiana (n=21), Boer (n=19), Saanen (n=20), e Angorá (n=28), além de 64 indivíduos de Crespas (cinco rebanhos). Foram analisados fragmentos de 696 pb da região controladora de mtDNA, além de 11 *loci* de microssatélites. Para o *locus* mitocondrial, as análises indicaram a existência de 61 sítios variáveis, a partir dos quais foram definidos 37 haplótipos ($Hd=0,930$ e $Pi=0,0124$). Com relação aos *loci* de microssatélites, encontrou-se um número médio de alelos de 9,6 e heterozigosidade média observada de 0,52. Ao que se refere a fluxo gênico entre as raças, o menor valor de R_{ST} foi verificado entre a raça Crespa e a Saanen (0,13) enquanto que o maior valor de F_{ST} (0,42) foi verificado entre Crespa e Angorá. Uma AMOVA foi realizada nas populações do ecótipo Crespa onde a maior parte da variação total corresponde a diferenças entre indivíduos (89,04%) e somente 10,96% é resultante de diferenças entre as populações. Análises de estrutura populacional (*STRUCTURE*) mostraram uma diferenciação genética significativa entre as raças, bem como em relação ao ecótipo Crespa. O padrão de diferenciação genética foi representado por uma análise de componentes principais (PCA) baseada na frequência dos alelos das seis raças caprinas, o PC1 resultou em 29,47% da diversidade genética total e o PC2 em 23,94% ($p>0,05$). O eixo PC1 demonstrou a grande proximidade entre as raças Angorá e Boer e a maior distância destas com relação à Crespa. Assim, os resultados sugerem que além de características morfológicas (fenotípicas) diferenciadas, a cabra Crespa apresenta também diferenciação genética das outras raças criadas hoje no Sul do Brasil, não tendo sua origem confirmada na raça Angorá. Essas informações, aliadas a continuidade deste estudo, serão de grande importância na tomada de decisão quanto à conservação deste ecótipo em isolamento reprodutivo, assim como na determinação de sua posição filogenética dentre os caprinos, com vistas à proposição de uma nova raça nativa para o sul do Brasil.

2 ABSTRACT

Crespas goats are an ecotype found in Southern Brazil, phenotypically similar to the Angora breed. Crosses with other breeds, selective pressures and environmental management, make these individuals phenotypically differentiated. The main objectives of this research were to estimate the genetic variability in populations of Crespas goats, and their relationship to other goat breeds created in this region, even as the Angora (from Argentina), using molecular markers of nuclear and mitochondrial DNA. The total sample ($n = 162$) comprised individuals from the Alpine race ($n = 10$), Anglo-Nubian ($n = 21$), Boer ($n = 19$), Saanen ($n = 20$) and Angora ($n = 28$), and 64 individuals of Crespas goats (five livestock). We analyzed 696 bp fragments of control region mtDNA, as well as 11 microsatellite loci. Analyses showed the existence of the 61 variable site, from which were defined 37 haplotypes ($Hd = 0.930$ and $\pi = 0.0124$). Concerning to microsatellite loci, we found a mean number of alleles of 9.6 and average observed heterozygosity of 0.52. For the gene flow estimates between races, the lowest value of R_{ST} was found between Crespa and Saanen (0.133) while the highest value of F_{ST} (0.422) was found between Crespa and Angora. An AMOVA was performed on populations of the ecotype Crespa where most of the total variation corresponds to differences between individuals (89.04%) and only 10.96% from differences between populations. Analysis of population structure (STRUCTURE) showed a significant genetic divergence between races, as well as in relation to the ecotype Crespa. The pattern of genetic differentiation was represented by a principal component analysis (PCA) based on the frequency of alleles of six goat breeds. The PC1 resulted in 29.47% of the total genetic diversity in 23.94% and PC2 ($p > 0.05$). The PC1 axis showed a great similarity between the Angora and Boer breeds and greater distance from the Crespa. Thus, the complete results suggest that, in addition the morphological (phenotypic) differentiation, the goat Crespa also presents genetic differentiation from other races raised today in southern Brazil, and has not confirmed its origin from the Angora breed. This information, combined with the continuity of this study will be of great importance in decision making regarding the conservation of this ecotype in reproductive isolation, as well as in determining its phylogenetic position among the goats, with a view to the proposition of a new breed native to southern Brazil.

3 INTRODUÇÃO

3.1 Caprinos

Pertencentes ao gênero *Capra*, subfamília Caprinae, família Bovidae, os caprinos fazem parte da subordem Ruminantia (ex.: cabra, ovelha, boi) e juntamente com outras subordens como Tylopoda (camelos) e Suina (suínos), compõem a ordem Artiodactyla (MacHugh e Bradley, 2001). Possuem estômago tetra-compartimentado com um papel vital na digestão, regurgitação e redigestão de matéria vegetal (Oliveira, 2007). Estes ruminantes apresentam grande capacidade de seleção de seus alimentos, superando os bovinos e bubalinos pela habilidade de balancear sua dieta em função da necessidade nutricional, conseguem isso selecionando partes mais macias das plantas (folhas ao invés dos caules), mais palatáveis, em detrimento a partes mais fibrosas, com menor aporte de nutrientes (Costa, 2005). Conforme Oliveira (2007) mesmo alimentando-se de vegetais, com baixo teor protéico, conseguem boa absorção dos nutrientes, o que confere a este grupo maior resistência frente a situações adversas e extremas de oferta de alimento.

Em relação ao modo de vida, os caprinos dividem-se em duas classes: os defensores de recurso, que são territorialistas e defendem uma pequena área rica em alimentos de outros membros da mesma espécie, e os pastadores, que se juntam em rebanhos e vagueiam sobre uma área maior, geralmente pouco produtiva (Zeder e Hesse, 2000). Os primeiros compoem um grupo mais ancestral, são menores em tamanho, escuros na coloração apresentando pouco dimorfismo sexual. Já os segundos são considerados mais derivados, em geral possuem maior porte, são altamente sociais, e demarcam os territórios utilizando substâncias produzidas por glândulas odoríferas (Zeder e Hesse, 2000).

A história evolutiva do gênero *Capra* é pouco entendida pelo fato das expansões populacionais deste grupo terem ocorrido muito rapidamente o que torna ainda mais difícil o acesso preciso ao número de espécies e suas relações filogenéticas. Estudos indicam que quase todas as espécies de cabras selvagens são alopátricas, e mesmo para as de distribuição simpátrica tem-se observado poucos híbridos interespecíficos na natureza. Porém, observa-se em cativeiro o cruzamento entre espécies selvagens e a espécie doméstica, acreditando-se que fatores que possibilitam esses intercrossamentos estejam relacionados ao padrão corporal das cabras selvagens e domésticas que apresenta grande similaridade (Harris, 1962).

As diferenças taxonômicas entre as espécies selvagens de caprinos baseiam-se principalmente em aspectos morfológicos, mais precisamente no formato dos cornos dos machos. É característico desse grupo a presença de chifres, que podem ser curvos ou em forma de espiral, e barba em ambos os sexos. Características faciais e colorações de pelagem também são usadas como caracteres taxonômicos para este grupo (Porter, 1996). Apesar de já terem sido foco de vários estudos em nível imunológico, citogenético e molecular, a origem taxonômica dos caprinos ainda suscita muitas dúvidas (Curtain, 1971; Mason, 1984; Tuñon, 1986; Hemmer, 1990; Chaves e cols., 2000).

Os caprinos estão distribuídos em diversas regiões, incluindo áreas tropicais, zonas secas e regiões montanhosas com a mais ampla capacidade adaptativa. As espécies selvagens são atualmente restritas a áreas de montanhas na Europa, África e Ásia, enquanto as cabras domésticas são cosmopolitas (Costa, 2005). Acredita-se que os ancestrais de ovelhas e cabras migraram para regiões montanhosas: os carneiros tornaram-se ocupantes especializados das elevações e das planícies próximas e cabras adaptaram-se ao terreno muito íngreme onde os predadores estariam em desvantagem.

Assim como para as demais espécies domesticadas, existem diversas teorias sobre a origem dos caprinos. No entanto, a grande maioria das raças de cabras, atualmente exploradas, pertence à espécie *Capra hircus*, considerando que nela estão reunidos todos os ecótipos domésticos existentes no mundo (Chaves e cols., 2000). São animais que após a domesticação passaram por um contínuo processo de seleção natural e artificial e hoje constituem as raças modernas, em geral de grande importância econômica e social, principalmente por suas características produtivas e facilidade de criação.

3.2 Domesticação

Do ponto de vista arqueológico, alguns locais de domesticação estão melhor documentados do que outros (Ryder, 1984). Contudo, a maioria dos autores aponta o “Crescente Fértil”, no Sudoeste Asiático, entre o mar mediterrâneo e o golfo Pérsico, como a origem das civilizações agrárias (Turnbull e Reed, 1974; Caldas, 1991). Nesta região, um clima adequado e um solo fértil teriam sido os pré-requisitos que ditaram o desenvolvimento dos processos de domesticação animal. É sugerido que os caprinos foram os primeiros ruminantes domesticados, e tais evidências arqueológicas mostraram que essa domesticação iniciou há cerca de 10.000 anos (Zeder e Hesse, 2000). Ainda, conforme

Zeder e Hesse (2000), a resistência natural e a capacidade de adaptação a condições extremas foram os prováveis fatores que permitiram a domesticação destes animais.

Há relações sistemáticas complexas que ainda não estão totalmente resolvidas neste gênero (Porter, 1996) e, assim como para as demais espécies domesticadas, existem diversas hipóteses sobre a origem dos caprinos. Segundo alguns autores, se a enorme variedade de raças atuais de caprinos pudesse ser agrupada pelos prováveis pontos de domesticação e dispersão, se reconstruíssem os três principais grupos geográficos ancestrais: ao grupo europeu pertenceria *Capra aegagrus*, ao grupo asiático *Capra falconeri* e ao grupo africano *Capra prisca*, e a estes três grupos estariam ligadas todas as respectivas subespécies (Miranda do Vale, 1949).

Alguns autores consideram *C. aegagrus* como a única ascendente das cabras domésticas, *Capra hircus* (Mannen e cols. 2001). Já outros admitem uma origem difilética para esse grupo, ou seja, descenderiam de duas espécies selvagens: tanto da *C. aegagrus* quanto da *C. falconeri* (MacHugh e Bradley, 2001). Harris (1962) também sugere que o principal ancestral selvagem da cabra domesticada é o bezoar (*C. aegagrus*) do Sudoeste Asiático, e ainda que o markhor (*C. falconeri*) pode ter dado origem a algumas raças da Índia e regiões próximas. Para Mannen e cols. (2001) apenas uma espécie selvagem do gênero *Capra* contribuiu para o patrimônio genético das cabras domésticas atuais em um primeiro momento, embora um segundo e independente evento de domesticação possa ter ocorrido e originado as raças do tipo Cashmere no Paquistão (Meadow, 1993). Estudos zoológicos revelam que eventos de domesticação provavelmente ocorreram em várias áreas (Zeder, 2000). A partir dos centros de origem as dispersões das cabras domésticas seguiram diversas rotas de difusão para a Europa, África e Ásia Oriental.

Outros centros de origem, tais como Índia e Ásia, também foram sugeridos (Fernández e cols., 2006). Estudos mais detalhados sobre esses ruminantes relacionam a sua distribuição na Europa durante o avanço da cultura do período Neolítico (Fernández e cols., 2006; Zilhão, 2001). As cabras tiveram um papel central na revolução agrícola neste período e também na dispersão das civilizações humanas (Porter, 1996). A importância do uso destes animais como fonte de carne, leite e pele para várias sociedades baseadas em agricultura é confirmada em mitos e lendas de algumas civilizações antigas (Clutton-Brock, 2000). Como sua origem e difusão estão intimamente relacionadas com a história evolutiva humana e suas migrações, dados a partir de cabras domésticas podem ajudar a

elucidar a história das populações humanas, considerando-se que estes animais apresentam alta diversidade genética resultante de seleção natural devido às condições ambientais e seleção artificial gerada pelas necessidades humanas ao longo do tempo (Galal, 2005).

No início da domesticação as mudanças ambientais permitiram a manifestação de diferenças genéticas, tornando-as selecionáveis para o homem. Estas diferenças, aliadas à redução da pressão exercida pela seleção natural (Lush, 1945), determinaram um aumento considerável na extensão da variabilidade genética (Belyaev, 1979). Este aumento da variabilidade possibilitou o elevado número atual de raças caprinas, ainda que destas, menos de 30% sejam utilizadas de forma considerável na agricultura (FAO, 1999).

Os mercados para fibras (ex.: raças Angorá, Cashmere e Cashgora) estão em constante crescimento na Europa e na América do Norte (Glimp, 1995; Porter, 1996). Os programas de melhoramento de raças exigem informações exatas de *pedigree* para assegurar o progresso eficiente e evitar a consanguinidade excessiva (Porter, 1996).

Em países industrializados as criações de cabras são baseadas principalmente em algumas raças cosmopolitas. Porém, atualmente o uso de raças autóctones está sendo promovido dentro dos sistemas de cultivos sustentáveis, onde a criação de tais raças visa principalmente à manutenção de características adaptativas, que sugerem uma produção direcionada e de maior qualidade (Oliveira, 2007).

A rápida expansão das cabras domésticas foi provavelmente resultado de diferentes atividades, incluindo trocas comerciais, roubos, guerras ou a migração de pessoas com seus rebanhos (Clutton-Brock, 2000). O baixo grau de estrutura filogeográfica quando comparada com outras espécies de artiodáctilos, tal como o gado (*Bos taurus*) e o porco (*Sus scrofa*) (Luikart e cols., 2001), deve-se a esta rapidez com que os grupos de animais eram transportados de um lugar a outro acompanhando a movimentação humana. A disseminação dos caprinos ocorreu especialmente para atender populações humanas de diversas regiões em suas variadas necessidades além de ter sido influenciada por fatores ambientais e de manejo que atuaram decisivamente na determinação do tipo (morfologia e aptidão) dos animais associado à facilidade de domesticação e/ou transporte destes animais, além da facilidade de adaptação a locais impróprios a outras espécies.

3.3 Caprinos no Brasil

A introdução de caprinos no Brasil foi iniciada durante o período de colonização, sendo os primeiros exemplares trazidos por colonizadores portugueses, franceses e holandeses por volta de 1535 (Porter, 1996). Este evento foi dividido em duas fases: do século XVI ao XVIII, foram introduzidos animais não padronizados (sem controle de raças) trazidos nas embarcações somente para servirem de alimento para a tripulação. A partir do final do século XIX chegaram as raças modernas, quando se percebeu a importância econômica que estes animais poderiam gerar (Oliveira, 2007). Com sua rusticidade e adaptabilidade a cabra teve, e continua tendo, um papel social muito importante nas populações de baixa renda do Brasil.

Guimarães Filho (2004) relata que a maioria das raças introduzidas possui constituição robusta, alimenta-se de quase todos os tipos de matéria vegetal e por serem animais de pastoreio, sobrevivem melhor em uma situação de rebanho como os ovinos. Em geral no território brasileiro, os rebanhos são constituídos por pequeno número de animais, sendo explorados como subsistência familiar. Segundo Vieira e cols. (1998) nas criações maiores e mais tecnificadas a cabra aparece como geradora de empregos, permitindo a uma parcela da população ter seu sustento garantido por via direta (trabalho na criação), bem como por via indireta (nas queijarias, fábricas de rações dentre outras).

Há cerca de 40 anos atrás o efetivo caprino dos países desenvolvidos era de 31,7 milhões de cabeças, sendo atualmente de 29,1 milhões, o que representa um decréscimo de 9%, enquanto nos países em desenvolvimento esse número era de 315,9 milhões em 1961 e de 686,2 milhões em 2000, mostrando um aumento de 117% (Embrapa, 2006). Dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2001) também mostram que o rebanho mundial de caprinos em 2000 era de 715.297.550 cabeças, sendo 96% localizado em países em desenvolvimento e apenas 4% nos países desenvolvidos. O Brasil fica na décima colocação, com um rebanho que representa 1,68% do rebanho mundial (FAO, 2001). Em 1975, o Plano Nacional de Desenvolvimento proibiu a importação de queijo de leite de cabra, entre outros produtos, o que permitiu o desenvolvimento de uma fase de caprinos leiteiros com a importação das raças Anglo-Nubiana, Alpina, Saanen e Toggenbourg (Embrapa, 2006). Mesmo assim, o país contribuiu com apenas 1% da produção mundial de leite de cabra (FAO, 1999).

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) divulgou em 2007 os resultados preliminares relativos ao Censo Agropecuário 2006. Em relação ao efetivo total de caprinos, observa-se que a população caprina do Brasil passou de 6.590.646 de cabeças em 1996, para 7.109.052 de cabeças em 2006, o que representa um incremento de 8% no número de caprinos no período. Portanto, é notória a expansão da caprinocultura no Brasil nos últimos anos. Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008) a população caprina cresceu em todas as regiões brasileiras. A Região Norte, representa um incremento de 64% no plantel caprino, o Nordeste, apresentou um crescimento de 4,5% no número de animais já o Sudeste aumentou seu rebanho em aproximadamente 30%. Também, o Centro Oeste apresentou aumento, resultando num crescimento de 26% no período. A Região Sul foi onde o número de caprinos mais aumentou em termos percentuais, passando de 151.296 animais em 1995 para 289.201 em 2006, o que representa um aumento de 91%. Estes resultados apontam para um aumento de importância da caprinocultura em todas as regiões brasileiras, dado que houve crescimento da atividade em todo o Brasil.

A grande maioria dos rebanhos caprinos (93%) está localizada na região Nordeste do Brasil. Isto ocorre especialmente porque estes animais sobrevivem bem tanto em regiões tropicais como semiáridas típicas do nordeste brasileiro. Além disso, os pastos da Caatinga constituídos de cerrado e pequenas árvores, onde prevalecem condições edafoclimáticas desfavoráveis, podem ser melhor utilizados pelas cabras do que por outros animais (Leite, 2005). Nessa situação os caprinos assumem uma grande importância social, pois chegam a ser a única fonte de renda em determinadas circunstâncias e deles depende a sobrevivência da população local.

Dessa forma, o Nordeste é a única região brasileira que possui raças caprinas autóctones reconhecidas como nativas, são elas: Moxotó, Canindé, Serrana Azul, Marota, Repartida e Graúna. São animais de pequeno porte e heterogêneos, especialmente em relação à coloração da pelagem (Mariante e Cavalcanti, 2000). Conforme Oliveira (2007), quase todos os pequenos criadores do nordeste possuem a maior parte do seu rebanho formado por cabras de raças não definidas, resultantes do cruzamento entre diferentes caprinos trazidos para o país durante a colonização. Estes dados apontam para o fato de que a criação de caprinos no Brasil é uma atividade exercida por pequenos produtores,

sendo o número médio de animais por criador de 25 indivíduos, o que confirma a importância social da caprinocultura no país (Martins, 2005).

3.4 Cabras no Rio Grande do Sul (RS)

A criação de caprinos no RS iniciou como uma atividade oficial em 1980 com a criação da CAPRISUL (Associação dos Caprinocultores do RS). Desde então, o rebanho de caprinos tem aumentado tanto em número, quanto em qualidade dos animais. Na composição destes rebanhos constam raças exóticas, como Alpina, Anglo Nubiana, Boer, Saanen e Angorá (Fig. 1: A - E), sendo essa última raça muito representativa no começo das atividades com caprinos no Estado. Além disso, um ecótipo regional ainda não reconhecido oficialmente, conhecido como Crespa, habita as regiões de pampa do RS (Fig. 1F). Características específicas de cada uma das raças serão descritas a seguir.

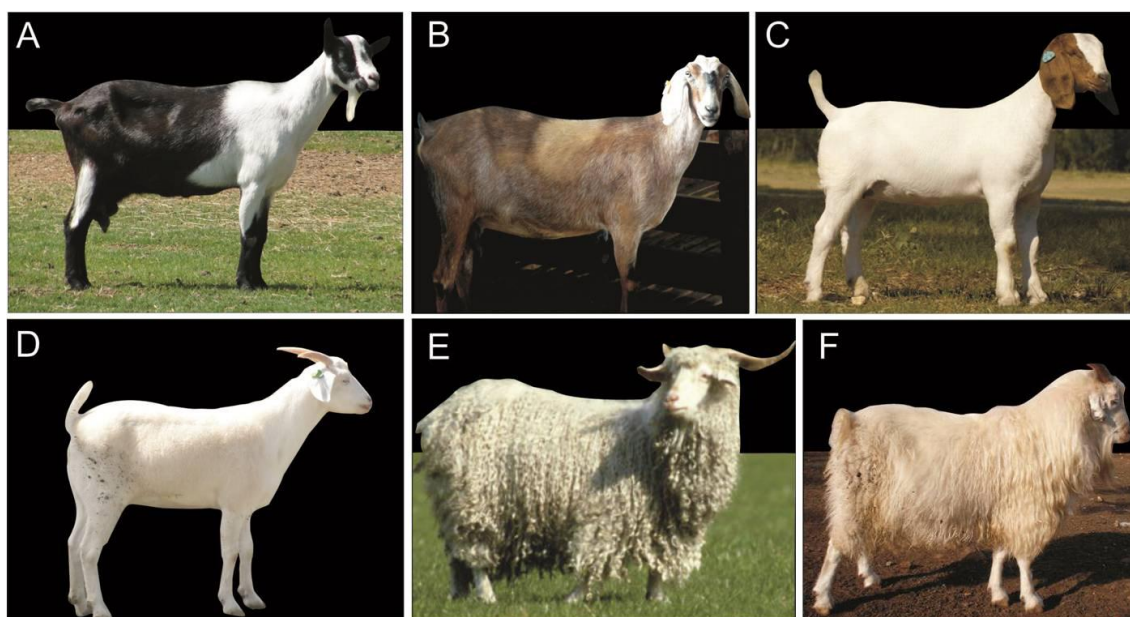


Figura 1. Tipos caprinos utilizados neste estudo: A (Alpina), B (Anglo Nubiana), C (Boer), D (Saanen), E (Angorá), F (Crespa).

3.4.1 Raça Alpina

Originária da parte meridional dos Alpes Suíços é também criada em regiões da França, Itália, Alemanha, Estados Unidos e Canadá (Jardim, 1964). Suas orelhas são finas, retas, estreitas, de tamanho médio, saindo para os lados e para cima, os pelos são curtos e lisos e os animais podem ou não ter barbas e chifres. Os machos pesam em média 80 kg, e

as fêmeas, 50 kg. Essa raça apresenta vários padrões de pelagem, o pelo é curto e as patas e dorso são pretos, a pele é escura. A cabeça é média, cônica, alongada e fina, com a testa bem proporcionada; o focinho é grande e largo (Mason, 1984).

No Brasil, sua introdução ocorreu através da Inglaterra, Canadá, Estados Unidos, França e Suíça (Gonzalo e cols., 2002). Para Guimarães Filho (2004) há no país um número expressivo de animais da raça Alpina de excelente qualidade, versáteis e grandes produtores de leite. Elas se mantêm bem em pastagem ou com feno seco, são conhecidas por serem extremamente resistentes. Enquanto as fêmeas produzem leite de alta qualidade os machos são bons produtores de carne e, muitas vezes, o ganho de peso é mais rápido que as raças próprias para carne (Oliveira 2007).

3.4.2 Raça Anglo Nubiana

De origem inglesa, é formada pelo cruzamento entre animais nubianos importados da África, Arábia e Índia, por volta de 1895, e caprinos nativos, de pelo curto, da Inglaterra. Mista na aptidão para leite e carne. Tem a cabeça pequena e levantada, orelhas grandes e pesadas, caídas junto à cabeça indo até o focinho. A cabeça da fêmea é mais fina que a do macho, ambos os sexos podem apresentar barba de tamanho pequeno e musculatura forte. Possuem membros longos e cascos fortes com coloração de acordo com a pelagem, escura. O peso mínimo é de 55 kg na fêmea e 75 kg no macho. A estatura é de 60 a 70 cm na fêmea e 70 e 90 cm no macho. De pelos curtos, a pelagem é muito variada, frequentemente malhada, sendo comum combinação de pelos pretos, vermelhos e pardos (Embrapa, 2006).

Conforme Santos (1987), por se tratar de uma raça leiteira, melhor adaptada a condições quentes, tem sido muito usada em programas de melhoramento em países tropicais para aumentar a produção de leite e carne das raças locais. No Brasil onde se destaca por sua rusticidade, foi introduzida a partir da Inglaterra, África do Sul, Estados Unidos, Canadá e Nova Zelândia. São criadas, sobretudo, nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Sul. Dotada de boa aptidão leiteira, crescimento rápido, e produtora de carne de qualidade é uma das raças mais recomendáveis ao território brasileiro (Santos, 2005).

3.4.3 Raça Boer

Originária da África do Sul é o resultado do cruzamento de várias raças, especialmente da Indiana com a Angorá (Simplício e cols., 2007). O corpo é forte e compacto, com boa formação muscular, chifres fortes de comprimento moderado, posicionados bem distantes, orelhas largas, lisas, de comprimento médio. Pelagem branca em todo o corpo, exceto nas orelhas e na cabeça, que são de coloração vermelha, variando do claro ao escuro, com faixa branca na face. A pelagem da cauda pode ser vermelha, o pelo é curto e macio (Adametz, 1943).

Para Almeida e cols. (2000) a demanda mundial de Boer tem crescido rapidamente, tanto para melhorar rebanhos nativos, como nos cruzamentos cuja função específica é abastecer os mercados de carne. Esse caprino é reconhecido mundialmente pelos índices de produtividade demonstrados, tais como precocidade e prolificidade, e pelas características de sua carne, que apresenta baixo teor de gordura (Santos, 1987). Esta raça foi introduzida no final do século XX no Brasil. São animais com grande rapidez de crescimento, fortes e resistentes, robustos e pesados, adaptáveis a várias condições de clima e apresentam baixa infestação por endoparasitas (Simplício e cols., 2007).

3.4.4 Raça Saanen

Conforme Jardim (1964) esta raça é originária da Suíça, do vale de Saanen, no sul do Cantão de Berna e Appenzell, onde as temperaturas médias anuais não ultrapassam 9,5°C. A raça tem, portanto, adaptações fisiológicas descritas para as regiões frias. Dentre as raças leiteiras é a mais conhecida, sendo muito apreciada na Europa e nos Estados Unidos, vive bem em regime de confinamento (Gonzalo e Sánchez, 2002). Seu peso é em torno de 45 a 60 kg nas fêmeas, e de 70 a 90 kg nos machos. A altura é de 70 a 83 cm nas fêmeas e 80 a 95 cm nos machos. A pelagem é predominantemente branca e os pelos são curtos. A cabeça é cônica e alongada, o pescoço é fino e longo, e as orelhas são delicadas. Normalmente é desprovida de chifres, e possui fronte grande e larga, bem desenvolvida (Jardim, 1964).

No Brasil esta raça foi introduzida a partir da Inglaterra, Estados Unidos, Canadá, França, Suíça, Países Baixos e Nova Zelândia (Ribeiro e cols., 2000). Em regiões de clima temperado a raça possui boa adaptação, tanto em pastagens de montanhas, como de planícies. É precoce e os animais novos engordam facilmente. É a maior das raças suíças,

sendo indicada para aumentar o tamanho e a produção leiteira das cabras comumente criadas através de cruzamentos, sobretudo nos Estados do sul do país (Guimarães Filho, 2004). Sua rusticidade não é muito grande no Brasil, a estabulação permanente e os lugares úmidos são prejudiciais. No RS as criações comerciais de caprinos tiveram início nos anos 80 sendo a Saanen uma das primeiras introduzidas, tornando-se numérica e produtivamente a raça mais representativa (Embrapa, 2006).

3.4.5 Raça Angorá

Originária de Ankara (Turquia, Ásia Menor), uma região de solos pobres e temperatura muito variável. Possui pequeno porte, com fêmeas que chegam a pesar 40 kg e machos 70 kg (Hayes, 1968). Os chifres são cinzentos, achatados e em espiral, sendo menores, mais finos e menos torcidos nas fêmeas, e com até 50 cm de comprimento nos machos. Os membros são curtos e a pelagem é branca, uniforme e lustrosa, com pelos finos e sedosos de 20 a 30 cm de comprimento, cobrindo todo o corpo, com exceção do focinho, orelhas e extremidades dos membros, que são recobertos por pelagem curta. Podem ter ao longo do corpo mechas longas e onduladas, com até 70 cm de comprimento. O pelo da Angorá ganhou valor comercial como produto no começo do século XX, sendo uma fibra firme, sedosa e fácil de tecer, denominado *mohair*, com alto preço no mercado mundial (Scarlett, 1971). Uma única cabra produz entre cinco e oito quilos de pelo em duas tosas anuais. Os maiores produtores mundiais de *mohair* são a Turquia, Estados Unidos e África do Sul, sendo esta uma das mais antigas fibras têxteis em uso até o presente (Snyman, 2004).

De acordo com Moreira e Silva (2004) a criação de caprinos angorá no Brasil já foi expressiva atingindo seu apogeu no século XX principalmente na parte sul do país onde eram criadas de forma extensiva, com manejo similar ao adotado na ovinocultura, tendo como finalidade econômica principal a produção de fibras para os lanifícios. Com o declínio na atividade laneira, no final do século passado, a demanda de *mohair* pela indústria brasileira decresceu substancialmente e a tosquia dos animais deixou de ser feita de forma regular. Em consequência, sem a justificativa econômica principal, a maioria dos rebanhos foram exterminados, ou cruzados com outras raças caprinas. Segundo Conceição (2004) a raça chegou próxima à extinção, não havendo registros de animais dessa raça no serviço de controle genealógico brasileiro nos últimos anos.

3.4.6 Ecótipo Crespa

No RS existem cinco rebanhos, restritos ao bioma Pampa, de um ecótipo caprino denominado cabra Crespa. São animais de fenótipo uniforme, tamanho corporal médio e pelagem branca, com pelos longos semelhantes à raça caprina Angorá, da qual se acredita que tenham se originado (Moreira e Silva, 2004). De acordo com Moreira (2004), as cabras Crespas são versões crioulas, remanescentes da raça Angorá (degenerada), ou resultantes do cruzamento com outras raças, criadas para a produção de carne e leite. Ao longo de décadas, estes cruzamentos, em associação a pressões seletivas diferenciadas de manejo (seleção artificial), bem como do ambiente (seleção natural), teriam produzido diferenciações fenotípicas no ecótipo Crespa. Desconhece-se, porém, o grau de parentesco destas cabras com relação às demais criadas atualmente no RS, ou mesmo com relação à própria raça Angorá. Estas informações são imprescindíveis na tomada de decisão quanto à conservação deste ecótipo em isolamento reprodutivo, bem como quanto ao reconhecimento oficial desta como a primeira raça caprina autóctone do Sul do Brasil.

3.5 Pampa

Os campos da região sul do Brasil são denominados, de maneira geral, de pampa (IBGE, 2004). Compreendem 500.000 km² (latitudes 24° e 35° S) abrangendo o Uruguai, Nordeste da Argentina, Sul do Brasil, e parte do Paraguai (Pallarés e cols., 2005). Campo se refere a um tipo de vegetação composta predominantemente por gramíneas e herbáceas, classificado como Estepe no sistema fitogeográfico internacional, e que fornece alimento para aproximadamente 65 milhões de ruminantes (Berreta, 2001).

Os primeiros colonizadores europeus encontraram nos pampas um ambiente pastoril extremamente favorável aos herbívoros aqui introduzidos. Estima-se que a introdução de equinos, bovinos e caprinos no nos campos do sul tenha ocorrido entre 1626 e 1628, com a instalação das Missões Jesuíticas ao longo do Rio Uruguai (Amaral, 1993).

O estado de conservação do bioma Pampa é pouco conhecido, já que a avaliação da cobertura dos remanescentes mais importantes permanece incipiente. O Rio Grande do Sul, onde se concentra a maior extensão de Pampa, possui mais de 13.000.000 ha de área relativas a esse bioma em diferentes estágios de conservação e antropização. Há pouca representatividade deste complexo de fauna e flora, no sistema de unidades de conservação

e forte pressão sobre seus ecossistemas (Ministério do Meio Ambiente, 2000). Ainda segundo dados do Ministério do Meio Ambiente (2000) são registradas 102 espécies de mamíferos no Pampa, sendo cinco endêmicas a esse bioma. Apesar dessa fauna ser relativamente conhecida, poucas localidades foram inventariadas, havendo consideráveis lacunas no conhecimento taxonômico e biogeográfico da maioria de seus gêneros e espécies (Porto, 1991).

3.6 Raças Autóctones

O termo raça tem diferentes significados em diversas áreas, como biologia, zootecnia e sociologia. Para Mayr (1969), raça é um agregado de populações fenotipicamente similares de uma dada espécie, habitando uma subdivisão da área geográfica e diferindo taxonomicamente de outras populações dessa mesma espécie, devido ao isolamento geográfico. Já para Templeton (1998), trata-se de uma linhagem evolutivamente distinta dentro de uma espécie, sendo geneticamente diferenciada devido a barreiras à troca de genes, o que deve persistir durante longos períodos de tempo em uma continuidade histórica, para além da diferenciação genética observada.

Na zootecnia o conceito mais difundido para raça refere-se ao conjunto de animais com características morfológicas comuns, agrupados em função de sua aptidão (pele, leite, lã ou carne), área geográfica de exploração e da situação sócio-econômica da região onde se insere (Santiago, 1975). Miranda do Vale (1949) acredita que, se dentro de uma espécie, um caráter se modificou, e essa mudança se verifica em um conjunto de animais proximamente localizados, e se for hereditária, constitui então uma nova raça.

De forma generalizada, as raças domésticas são produtos da adaptação a pressões de seleção impostas pelo clima, parasitas, doenças, alimentação e critérios estabelecidos pelo homem (Mariante e Egito, 2002). Além das raças domésticas introduzidas, que conseguiram grande expansão quantitativa e geográfica em todos os continentes ao longo do tempo, existem várias raças autóctones, resultantes de pressões seletivas específicas ou de um relativo isolamento genético nas localidades onde se desenvolveram, podendo ter origem em cruzamentos entre raças locais que se perderam, ou foram substituídas por raças exóticas, na busca de maiores ganhos econômicos. Muitas dessas raças nativas estão extintas, ou em vias de extinção, devido à competição com raças mais produtivas (MacHugh e Bradley, 2001).

Para Mariante e Cavalcanti (2000), as raças autóctones representam anos de trajetória evolutiva, com um potencial genético que lhes permitiu adaptar-se ao meio ambiente e a intensificação dos sistemas de produção (FAO, 2006). Estas raças são caracterizadas pela elevada rusticidade e riqueza genética estando adequadamente adaptadas às condições edafo-climáticas do território, e com isso, mais resistentes a pragas, doenças e a períodos longos de estiagem ou chuvas intensas, em comparação com as raças introduzidas (Santos e cols., 2005).

Por serem consideradas menos produtivas que as raças exóticas, as autóctones em muitos casos são abandonadas ou cruzadas com outras raças teoricamente mais produtivas, e a grande maioria dessas raças locais passam de períodos de abundância de efetivo a outros, em que diminuem ou quase desapareceram (Mariante e Egito, 2002). Diversas raças nestas condições de abandono jamais se restabelecem enquanto outras formam pequenos grupos de indivíduos com características indefinidas, originando os chamados ecótipos, termo citado no presente trabalho e utilizado, especialmente em zootecnia, como uma subdivisão de raça, sinônimo de variedade que caracteriza uma população fenotipicamente única, porém sem definição taxonômica formal (Molles, 2005).

Por tratar-se de animais que adquiriram adaptações específicas e únicas, existe a expectativa que ecótipos dêem origem a novas raças zootécnicas, uma vez que exploram melhor as condições locais, tanto de clima, manejo como condições sanitárias. Ainda, a importância cultural pode superar as vantagens da criação de raças introduzidas, de fato mais produtivas, porém com menor capacidade de adaptação e sobrevivência e maior investimento no manejo. Por fim, esses grupos de animais localmente adaptados podem também se tornar verdadeiros símbolos regionais, o que viabilizaria sua preservação e conseqüentemente a manutenção dessas autênticas reservas genéticas.

3.7 Conservação do Patrimônio Genético

A diversidade genética dentro de espécies domésticas se reflete na variedade de raças e na variação presente dentro de cada uma delas, onde a perda de uma única raça compromete o acesso aos seus genes e combinações genéticas únicas que podem ser úteis futuramente na agricultura (Barker, 1994; Danell, 1994; Hall e Bradley, 1995). O estudo aprofundado desse patrimônio genético poderá auxiliar no desenvolvimento de programas de conservação e acompanhamento sustentável de melhoramento animal (Egito, 2002).

Os animais domésticos estão perdendo diversidade genética através de muitos mecanismos. Primeiro, as raças altamente produtivas têm sido intensamente selecionadas para características exclusivas, sem ênfase suficiente na preservação da diversidade genética. Muitas raças, nos países desenvolvidos, sofrem com um tamanho efetivo muito baixo apesar de seu grande número total de indivíduos. Segundo, raças autóctones em áreas marginais também estão seriamente ameaçadas de extinção (Guimarães Filho, 2004). Agricultores são muitas vezes obrigados a abandonar suas raças tradicionais para criar as raças industriais mais competitivas. Como consequência, muitas raças localmente adaptadas já desapareceram (Hall e Bradley, 1995).

Segundo a FAO (1999) as taxas de empobrecimento global em termos de recursos genéticos são elevadas, de cerca de 5000 raças de animais domésticos, aproximadamente 1500 são consideradas em perigo de extinção e 700 já foram extintas. A introgressão de genes de raças exóticas também compromete seriamente a persistência em longo prazo dos recursos genéticos em raças locais. Isso se deve, principalmente, à busca por raças cada vez mais produtivas que, por cruzamentos absorventes, causam uma rápida substituição e erosão nas raças nativas, as quais apresentam níveis de produção mais baixos, mas diferenciam-se por serem totalmente adaptadas ao ambiente onde passaram por uma intensa seleção natural (Egito e cols., 2002).

Uma das ameaças mais significativa para as populações domésticas é a manipulação do ambiente por ação humana, onde a fragmentação de habitats e o confinamento induz o risco de deriva genética e endogamia excessiva em populações isoladas, além de bloquear o fluxo gênico entre essas populações, mantendo raças como unidades de reprodução separadas, o que causa um impacto decisivo no processo de erosão genética (Santos e cols., 2005). A eficiência de métodos de seleção artificial aumenta a produção, mas com uma dramática perda de variabilidade genética resultando principalmente em quedas de fertilidade e surgimento de doenças hereditárias, com sinais de que a consanguinidade está se tornando uma séria ameaça a curto prazo (Danell, 1994).

Os recursos genéticos animais proporcionam uma grande contribuição para a produção mundial de alimentos. Tais recursos incluem todas as espécies, raças e ecótipos que possam ter interesse econômico, científico ou cultural para a agricultura e para o ser humano, tanto no presente como no futuro, onde cada raça ou ecótipo constitui um conjunto único de genes impossíveis de se recuperar, uma vez perdidos (FAO, 1999).

Para Egito e cols. (2002) as raças que hoje são raras, e aparentemente não têm qualquer valor econômico, podem possuir características que, no futuro, se tornarão de elevado interesse. A partir de raças bem adaptadas ao meio e detentoras de alguma diversidade genética, é possível tentar melhorar determinadas características diretamente envolvidas na produtividade ou na qualidade de um produto animal. Com planos adequados pode-se assegurar um melhoramento genético feito de forma sustentada, que complementarmente a conservação da diversidade dos animais domesticados (Hall e Bradley, 1995).

O fato de que animais domésticos são numerosos, e que se tem grande controle sobre sua reprodução, torna difícil de aceitar como algumas raças estão ameaçadas e que estão se perdendo valiosos recursos genéticos. A situação é agravada, pois não se sabe qual recurso será útil para explorar no futuro, e que raça porta essa característica hoje. É preciso mudar a percepção humana sobre os animais domésticos, porque em poucas décadas pode-se perder a maioria dos recursos de alto valor genético que a própria humanidade tem ajudado a selecionar ao longo dos últimos 10 000 anos (Taberlet e cols., 2008).

Manter a diversidade genética máxima de cada espécie através de suas raças é prever necessidades para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis (Egito e cols., 2002). Para Taberlet e cols. (2008) é necessário conservar as raças nativas para preservar os recursos genéticos que poderão ser usados na restauração da diversidade genética das raças comerciais. Também, é de suma importância cuidar dos parentes silvestres e dos ancestrais selvagens, quando eles ainda existem, como, por exemplo, os ancestrais selvagens de ovinos e caprinos que estão vulneráveis ou em perigo de extinção segundo a classificação da IUCN.

Nos últimos 15 anos, foi constatado que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são inseparáveis. Com o auxílio de várias organizações e de diversos países (entre os quais o Brasil), em 1991 a FAO iniciou um levantamento em nível mundial sobre a situação das principais espécies de animais domésticos. Desde então, programas mundiais de conservação têm sido desenvolvidos devido à preocupação com a perda da diversidade genética causada pela extinção de raças e populações (Mariante e Cavalcanti, 2000).

No que se refere à caracterização genética, até recentemente, os trabalhos realizados envolviam, na sua maioria, apenas as raças comerciais. Os poucos trabalhos

envolvendo raças nativas incluíam, fundamentalmente, estudos citogenéticos, grupamentos sanguíneos e polimorfismos proteicos (FAO, 2006). Para Taberlet e cols. (2008) com as técnicas atuais de avaliação genética é possível analisar espécies e/ou raças de animais nativos em perigo de extinção, bem como raças comerciais (exóticas) visando à manutenção, conservação e disponibilidade da diversidade genética. A caracterização molecular é, portanto, uma valiosa ferramenta, que além de permitir a identificação de grupamentos genéticos únicos que por muito tempo ficaram isolados em seu ambiente irá ajudar nas necessidades futuras de produção animal (Danell, 1994).

3.8 Marcadores Moleculares

Diversas técnicas da biologia molecular permitem a inferência da variabilidade genética nas sequências do DNA dos organismos, ou seja, a detecção de polimorfismo genético. Tais técnicas permitem a obtenção de um grande número de marcadores moleculares, cobrindo quase todo o genoma do organismo. Métodos estatísticos acompanham este desenvolvimento e têm permitido a manipulação de enormes quantidades de dados (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Excoffier e Heckel 2006).

Os marcadores moleculares disponíveis atualmente permitem o estudo do genoma de organismos com a finalidade de se obter informações acerca de parâmetros como a diversidade e variabilidade genética, o grau de cruzamento aleatório, relações de parentesco, a variância do sucesso reprodutivo de ambos os sexos, estimar a efetividade genética da dispersão de curta e longa distância e distribuição temporal das populações em relação ao fluxo gênico (Frankham e cols. 2002; Allendorf e Luikart 2006). Deste modo, os marcadores genéticos em combinação com atributos demográficos informam tanto a variação dentro de populações locais quanto entre elas.

O uso de marcadores moleculares nos estudos com animais domésticos torna-se cada vez mais necessário, tanto para trabalhos de melhoramento genético, quanto para estudos de conservação (Taberlet e Cols., 2008). Segundo Mariante e Egito (2002), a variabilidade genética total das espécies domésticas é representada pela contribuição da variação inter e intra-racial. Verifica-se, portanto, a importância de se medir essa variabilidade, visto que a conservação dos recursos genéticos está efetivamente relacionada à manutenção da variação genética 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 em estudos com caprinos no Brasil, tanto para a manutenção da identidade genética de raças autóctones, como para a caracterização de indivíduos e/ou grupos de cabras sem raças definidas (Oliveira, 2007).

3.8.1 Microssatélites

Também conhecidos como STR (*Short Tandem Repeats*) ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) consistem em pequenas sequências com 1 a 6 nucleotídeos de comprimento, repetidos *in tandem* (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Schlötterer, 1998). Apresentam-se como *loci* altamente polimórficos, com alelos codominantes e seletivamente neutros, sendo abundantes no genoma dos eucariotos (Schlötterer, 1998).

As mutações que ocorrem nos microssatélites são mudanças no número de repetições, causadas por erros no momento da replicação. Estes erros são responsáveis pela adição ou deleção de repetições que conferem o caráter altamente polimórfico destes locos (Schlötterer, 1998).

Os alelos dos *loci* de microssatélites podem ser acessados pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), e por apresentarem alelos menores do que 1 Kb permitem a utilização de DNA altamente fragmentado ou em pequenas quantidades (Bruford e Wayne, 1993; Bennett e cols., 1998).

A utilização deste marcador tem aumentado significativamente em estudos sobre comparações da variabilidade genética entre espécies e populações, história evolutiva, estrutura populacional, identificação de indivíduos ou espécies (Ciofi e Bruford, 1999; Forbes e Hogg, 1999; Waits e cols., 2000; Oliveira, 2007; Serrano e Cols, 2009), relações filogeográficas, paternidade e parentesco (Blouin e cols., 1996; Johnson e cols., 1999; Wyner e cols., 1999; Nesje e cols., 2000; Araújo, 2004; Fernández-Stolz e cols. 2007).

Em estudos com animais domésticos o acesso à diversidade genética e a estrutura populacional de pequenas raças, através de microssatélites, os tornam altamente informativos, tanto na reconstrução de processos históricos como evolutivos, e especialmente na diferenciação das populações domésticas (Menezes e cols., 2006). Segundo a FAO (2006) a difusão do uso de microssatélites em raças domésticas se apoia no fato desse tipo de marcador molecular apresentar homologia em várias espécies relacionadas, o que facilita o trabalho em laboratório e possibilita economia de tempo e redução dos custos. Estes marcadores neutros tem sido extensivamente utilizados na

caracterização genética de caprinos incluindo estudos com raças de Portugal (Bruno-de-Sousa e cols., 2011.) e do Brasil (Araújo e cols., 2006; Menezes e cols., 2006; Oliveira e cols., 2007). A reconstrução de *pedigrees* e a determinação de risco de extinção, e com isso a possibilidade da criação de estratégias de conservação, são alguns dos resultados diretos do uso de marcadores microssatélites em estudos com caprinos (Serrano e cols., 2009).

3.8.2 DNA mitocondrial

A utilização de sequências do DNA mitocondrial (mtDNA) para elucidar relações filogenéticas vem sendo amplamente empregadas, pois, apresentam certas vantagens em relação aos marcadores moleculares do DNA nuclear (Avise, 2000). Características como sua herança matrilinear, a ausência de recombinação, altas taxas evolutivas e tamanho efetivo populacional, quatro vezes menor do que segmentos equivalentes em autossomos, faz com que o mtDNA seja uma importante ferramenta no estudo das relações evolutivas entre indivíduos, espécies, populações, estudos filogenéticos e de eventos evolutivos relativamente recentes (Calcagnotto, 2001; Hare, 2001; Alberts e cols., 2002).

A herança materna e a não recombinação entre as moléculas faz com que um genótipo ou haplótipo mitocondrial possa servir para traçar uma genealogia ou mesmo filogenia materna, o que pode auxiliar na compreensão do modo de dispersão de muitos organismos e de acasalamentos preferenciais, dentre outras inferências (Arias e Infante-Malachias, 2001).

Devido às rápidas taxas de substituições de seus nucleotídeos, o mtDNA é adequado para estudos intra e intergenéricos (Hillis e cols., 1996). A região controladora apresenta uma taxa de substituição elevada dentro do genoma mitocondrial, sendo um marcador eficiente para estudos que incluam variação em nível intraespecífico ou de espécies fortemente relacionadas (Bradley e cols., 1996; Liu e cols., 2007). As taxas de substituições de bases encontram-se acentuadas em duas regiões chamadas segmentos hipervariáveis (*Hiper-variable segment* HVS) HVS1 e HVS2, com extensões aproximadas de 350 pb e separadas por uma região mais conservada com cerca de 200 pb (Vigilant e cols., 1989).

A utilização de sequências da região controladora de mtDNA tem se mostrado eficiente em elucidar a origem e diversificação de animais domésticos (Liu e cols. 2007). O estudo da diversidade genética através do mtDNA facilita a reconstrução da história

evolutiva dos primeiros ruminantes domesticados ao possibilitar o acesso a fatos que permitem entender a domesticação. Além disso, o uso desse marcador molecular torna viável o acesso a eventos do passado e as causas das rápidas expansões populacionais em espécies domésticas (MacHugh e Bradley, 2001; Naderi e cols., 2007).

Em caprinos as análises de sequências mitocondriais permitem inferir importantes aspectos sobre a distribuição deste grupo (Luikart e cols., 2001; Fernández e cols., 2006; Naderi e cols., 2007). Segundo Bruford e cols., (2003) o intenso transporte intercontinental de caprinos por populações humanas resultou em fraca estruturação filogeográfica desses animais, o que dificulta o entendimento de sua distribuição haplotípica. Análises de mtDNA de cabras revelam seis haplogrupos monofiléticos (haplogrupos A, B, C, D, F e G), distribuídos através dos continentes sendo que o haplogrupo A representa 90% dos indivíduos (Luikart e cols., 2001). A distribuição geográfica dos haplogrupos permite inferir possíveis centros de origem e domesticação para os caprinos e múltiplas linhagens maternas (Zeder e Hesse, 2000; Fernández e cols., 2006; Naderi e cols., 2007).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Estimar a variabilidade genética das cabras Crespas, a fim de inferir as relações entre elas e as demais raças caprinas introduzidas no Sul do Brasil, através de marcadores moleculares de DNA nuclear e mitocondrial.

4.2 Objetivos Específicos

- Analisar a variabilidade genética em cinco populações/rebanhos de cabras Crespas na região do Pampa no Rio Grande do Sul;
- Inferir as relações evolutivas e a composição genética das cabras Crespas através da análise de mtDNA e microssatélites;
- Investigar se indivíduos com características fenotípicas diferenciadas poderiam constituir uma nova raça caprina naturalizada (Crespa).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Área de estudo e coleta de amostras

O presente trabalho foi realizado em regiões do Pampa no Estado do Rio Grande do Sul (RS), bioma com domínio de gramíneas e herbáceas, classificado como Estepe no sistema fitogeográfico internacional (Berreta, 2001) (Fig. 1).



Figura 1. Representação da paisagem e vegetação do Bioma Pampa (Município de Bagé, região de Palmas) onde as amostras do ecótipo Crespa foram coletadas.

A amostra foi composta por 64 indivíduos de cabras Crespas (CR), que ocorrem apenas no Estado do RS e abrangem cinco diferentes rebanhos: Canguçu (CA), Bagé (BA), Santana do Livramento (SL), Alegrete (AL), Barra do Ribeiro (BR). (Tab. 1; Fig. 2).

Outras quatro raças caprinas: Alpina (ALP) n=10, Anglo Nubiana (AGN) n=21, Boer (BO) n=19, Saanen (SA) n=20 (Tab. 1) também foram coletadas no Bioma Pampa no RS. Devido à ausência de registros de exemplares puros da raça Angorá (AN), (segundo informações do serviço de controle genealógico realizado pela Associação de Caprinoculturas do RS - Caprisul) amostras desta raça (n=28) foram disponibilizadas através da colaboração do INTA (Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária), Castelar, Argentina.

Do total de 162 indivíduos que compõe a amostra apenas aqueles da raça Angorá (n = 28) já tinham seu DNA extraído quando utilizados neste estudo, sendo que para os demais coletou-se 3ml de sangue, através de punção venal, em tubos BD Vacutainer[®] contendo anticoagulante EDTA, posteriormente armazenadas a -20°C.

Tabela 1. Amostras de caprinos utilizados neste estudo, com número total de animais coletados (N), identificação (ID), localidade de coleta e proprietários.

Tipo caprino	N	ID	Localidade	Proprietário
Alpina (ALP)	10	ALP01, ALP02, ALP03, ALP04, ALP05, ALP06, ALP07, ALP08, ALP09, ALP10	Bagé, RS, Brasil	Zuleika B. Torrealba
Anglo Nubiana (AGN)	21	AGN043, AGN183, AGN204, AGN243, AGN252, AGN258, AGN261, AGN262, AGN263, AGN264, AGN268, AGN269, AGN271, AGN276, AGN282, AGN283, AGN284, AGN287, AGN293, AGNPG503, AGNSurprise	Viamão, RS, Brasil	Vera Ponciano
Boer (BO)	7	BO8016, BO8039, BO9056, BO9084, BO10004, BO10031, BO10065	Taquara, RS, Brasil	Jaqueline A. Vecchi
	13	BO0005, BO0007, BO0009, BO0012, BO9003, BO9006, BO1001, BO1002, BO1004, BO1008, BO1010, BO1016	Ervall Seco, RS, Brasil	Vitor Severo
Saanen (SA)	20	SA063, SA064, SA087, SA096, SA115, SA116, SA117, SA135, SA138, SA139, SA142, SA143, SA144, SA180, SA182, SA185, SA187, SA188, SA197, SA198	Gravataí, RS, Brasil	Ronald M. Rauter
Angorá (AN)	27	AN04, AN07, AN35, AN37, AN58, AN60, AN188, AN190, AN191, AN192, AN257, AN268, AN269, AN448, AN449, AN450, AN540, AN576, AN578, AN579, AN849, AN861, AN916, AN963, AN1050, AN1293, AN1288	Bariloche, Rio Negro, Argentina	INTA-Castelar
	1	AN2356	Austrália	INTA-Castelar
Crespa (CR)	10	CAL01, CAL, CAL03, CAL04, CAL05, CAL06, CAL07, CAL09, CAL10	Alegrete, RS, Brasil	Dinarte Ribeiro
	19	CBA01, CBA02, CBA03, CBA04, CBA05, CBA06, CBA07, CBA08, CBA09, CBA10, CBA11, CBA12, CBA13, CBA14, CBA15, CBA16, CBA17, CBA18, CBA19	Bagé, RS, Brasil	Régis Colares
	14	CBR01, CBR02, CBR03, CBR04, CBR05, CBR06, CBR07, CBR08, CBR09, CBR10, CBR11, CBR12, CBR13, CBR14	Barra do Ribeiro, RS, Brasil	Júlio César Feijó
	4	CBR8313, CBR8315, CBR9319, CBR9320	Barra do Ribeiro, RS, Brasil	Antonio C. Costa
	13	CCA10, CCA23, CCA25, CCA32, CCA33, CCA34, CCA42, CCA43, CCA44, CCA47, CCA52, CCA53, CCA54	Canguçu, RS, Brasil	Gilson R.P. Moreira
	5	CSL15, CSL17, CSL20, CSL22, CSL24	S. do Livramento, RS, Brasil	Carlos J. de F. Rodrigues

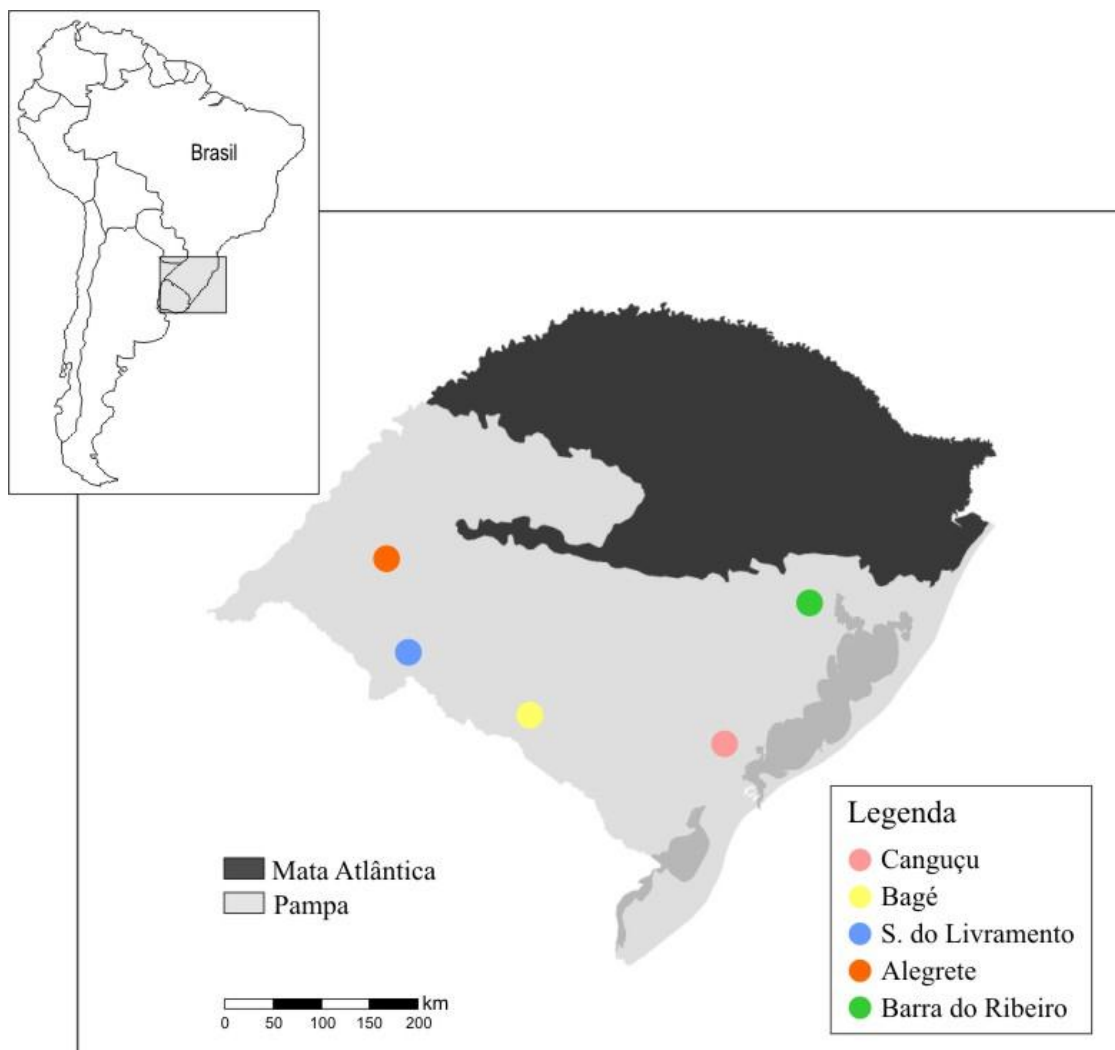


Figura 2. Mapa de distribuição das populações de cabras Crespas no Estado do Rio Grande do Sul.

5.2 Extração de DNA

O DNA genômico total foi extraído das amostras de sangue utilizando o protocolo do método de CTAB (Doyle e Doyle, 1987). Os produtos extraídos foram verificados por eletroforese horizontal em gel de agarose 1% corados com Brometo de Etídio e visualizados em transluminador de luz ultravioleta (UV).

5.3 Amplificação e genotipagem dos *loci* de microssatélites

Foram analisados 11 *loci* de microssatélites: SRCRSP5, SRCRSP8, SRCRSP9, OarFCB48, MAF65, MAF209, ILSTS005, ILSTS011, ILSTS029, ETH10, TGLA53

(Luikart e cols., 1999) (Tab. 2) todos previamente utilizados em estudos de biodiversidade pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) e ISAG (*International Society of Animal Genetics*). Em todos os *primers forward* foi adicionada uma cauda com 18 pares de bases (pb) marcados com fluorescência HEX (Perkin Elmer/ABI, EUA) segundo metodologia de Schuelke (2000).

As reações de amplificação foram realizadas com um volume de 25µl contendo: 2µl de DNA (25-100ng/µl), 0,4 µl de *primer reverse*, 0,08 µl de *primer forward*, 0,32µl do primer M13HEX (Schuelke, 2000), 0,2 µM dNTP, 1x tampão, 1,5 mM MgCl₂, 1,0 unidade de Taq DNA polimerase (GIBCO-BRL *Life Sciences/ Invitrogen*, Carlsbad, California) e água mili-q completando o volume.

As condições de amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) foram as seguintes: Após a desnaturação inicial de 94°C (5 minutos) foram realizados 30 ciclos a 94°C (30 segundos) / 56°C (45 segundos) / 72°C (45 segundos) seguidos por 8 ciclos de 94°C (30 segundos) / 53°C (45 segundos) / 72°C (45 segundos). A extensão final foi feita a 72°C por 10 minutos e após as amostras são resfriadas a 4°C.

Os produtos de amplificação foram verificados em gel de poliacrilamida 6% não-desnaturante com tampão TBE 1X e analisados com o sequenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems) no laboratório Macrogen (Coréia do Sul).

Tabela 2. Marcadores Microsatélites usados neste estudo (*Locus*), localização no cromossomo (Cr.), F- *primer forward* e R- *primer reverse*, sequência dos *primers* (5' - 3'), temperatura de anelamento (TA °C) e a referência onde foram descritos.

<i>Locus</i>	Cr.		Sequência do <i>primer</i>	TA °C	Referência
SRCRSP5	21	F	GGACTCTACCAACTGAGCTACAAG	56	Averalo e cols., 1994
		R	TGAAATGAAGCTAAAGCAATGC		
SRCRSP8	10	F	TGCGGTCTGGTTCTGATTTAC	56	Bhebher e cols., 1994
		R	CCTGCATGAGAAAGTCGATGCTTAG		
SRCRSP9	12	F	AGAGGATCTGGAAATGGAATC	56	Bhebher e cols., 1994
		R	GCACTCTTTTCAGCCCTAATG		
OarFCB48	17	F	GACTCTAGAGGATCGCAAAGAACCAG	54	Buchanan e cols., 1994
		R	GAGTTAGTACAAGGATGACAAGAGGCA		
MAF65	15	F	AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG	56	Buchanan e cols., 1992
		R	CCACTCCTCCTGAGAATATAACATG		

MAF209	17	F	TCATGCACTTAAGTATGTAGGATGCTG	56	Buchanan and
		R	GATCACAAAAAGTTGGATACAACCGTGG		Crawford, 1992
ILSTS005	10	F	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC	56	Brezinsky e
		R	TGTTCTGTGAGTTTGTAAGC		cols., 1993
ILSTS011	14	F	GCTTGCTACATGGAAAGTGC	56	Brezinsky e
		R	CTAAAATGCAGAGCCCTACC		cols., 1993
ILSTS029	3	F	TGTTTTGATGGAACACAGCC	54	Ma e cols.,
		R	TGGATTTAGACCAGGGTTGG		1996
ETH10	5	F	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA	56	Toldo e
		R	CCTCCAGCCCACCTTTCTCTTCTC		cols., 1993
	16	F	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA	54	Georges and
TGLA53		R	ATCTTCACATGATATTACAGCAGA		Massey, 1992

5.4. Amplificação e sequenciamento de mtDNA

Foi amplificado um fragmento da região controladora do DNA mitocondrial através da técnica de PCR (Palumbi, 1996), com o uso de dois *primers*: HVR1 *forward* (5'CGCTCGCCTACACACAAATA3') e HVR1 *reverse* (5' AATGCCCATGCCTACCATTA 3') (Amills e cols., 2004) com o volume final de 24 µl contendo os seguintes componentes: 1µl de DNA (25-100 ng/µl) 0,2µl de cada *primer*, 0,2 µM dNTP, 1x tampão, 1,5 mM MgCl₂, 1,0 unidade de Taq DNA polimerase (GIBCO-BRL *Life Sciences/ Invitrogen*, Carlsbad, California) e água mili-q completando o volume. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada através de uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguidos por 31 ciclos de 1 minuto de desnaturação a 94°C, 1 minuto de anelamento a 64°C e 1 minuto de extensão a 72°C, e uma extensão final de 10 minutos a 72°C.

Os resultados das amplificações foram verificados por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio e visualizado em transiluminador de luz ultravioleta. A quantificação dos produtos de PCR foi realizada por comparação destes com o marcador de peso molecular de 100 pb “*Low DNA Mass Ladder*” (Invitrogen).

Os produtos de PCR foram purificados enzimaticamente utilizando o kit ExoSAP (Amersham Biosciences), que degrada *primers* e dNTPs não incorporados durante as reações de amplificação. Para o sequenciamento foi utilizado o sequenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems) no laboratório Macrogen (Coréia do Sul).

5.5 Análises Estatísticas

5.5.1 Microssatélites

A diversidade genética dentro de cada população foi medida pelo número de alelos por *locus* (N), por *locus* por população (N_i), número médio alelos (riqueza alélica, A), porcentagem de *loci* polimórficos ($\%P$), heterozigosidade observada (H_o) e a heterozigosidade esperada (H_e ; Nei, 1978) de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW). Para tal, foram utilizados os programas FSTAT 2.9.1 (Goudet, 1995; <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>) e GENEPOP 3.4 (Raymond e Rousset, 1995; <http://genepop.curtin.edu.au/>). As análises do desequilíbrio de ligação (LD), assim como os testes de desvios do equilíbrio de Hardy Weinberg (HW) utilizando o teste exato baseado no método descrito por Guo & Thompson (1992), foram implementadas no programa ARLEQUIN 3.1. Os níveis de significância para os desvios do equilíbrio de HW e LD foram ajustados segundo o método sequencial de Bonferroni para múltiplas comparações (Rice, 1989), com $\alpha = 0,05$.

A fim de verificar se a variabilidade genética encontrada dentro e entre as populações de cabras Crespas era significativa foi realizada uma análise de variância molecular (AMOVA; Excoffier e cols., 1992) implementada no programa ARLEQUIN 3.1. Para testar a composição genética das cabras Crespas foi utilizado o método de agrupamento bayesiano do programa STRUCTURE 2.0 (Pritchard e cols., 2000; http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure2_1.html). Em uma análise utilizou-se apenas as cinco populações de cabras Crespas, e em outras populações de Crespas foram consideradas um único grupo e comparadas com as demais raças utilizadas neste estudo (Alpina, Anglo Nubiana, Boer, Saanen, Angorá). Através do teste de associação, os indivíduos foram relacionados a uma população fonte (k), a partir do genótipo, utilizando 10.000 repetições da MCMC (*Markov Chain Monte-Carlo*) como *burn-in*.

Uma análise do componente principal foi efetuada utilizando os dados de F_{ST} usando o programa PCAGEN (<http://www2.unil.ch/popgen/software/pcagen.htm>). As populações foram ordenadas de acordo com o primeiro e segundo eixos da PCA.

5.5.2 Sequências de mtDNA

Os eletroferogramas foram revisados visualmente e editados utilizando-se o programa CHROMAS 1.45 (<http://www.thecnelysium.com.au/chromas.html>). O

alinhamento foi feito no programa CLUSTALW (implementado no MEGA 5.05; Kumar e cols., 2004).

As relações filogenéticas entre os haplótipos foram inferidas utilizando os programas PAUP 4.0b10 (Swofford, 1998) e MEGA 5.05 (Kumar e cols., 2004) para as análises de *Neighbor-Joining* (NJ) e PhyML3.0 (Guindon e cols., 2010) e MEGA 5.05 (Kumar e cols., 2004) para as análises a partir dos critérios de Máxima Verossimilhança (MV), incorporando o modelo de evolução molecular ao que melhor ajustou os dados. Para determinar o modelo apropriado de evolução de sequências nucleotídicas foi utilizado o critério de informação de Akaike (*Akaike Information Criterion*; AIC) implementado no programa MODELTEST (Posada D & Crandall KA, 1998). Para avaliar o suporte dos nós foram utilizadas 100 replicações (*bootstrap*).

As relações entre os haplótipos foram estimadas utilizando-se a abordagem por *median-joining* (Bandelt e cols., 1999), implementada no programa NETWORK 4.1.0.8 (www.fluxus-engineering.com). A diversidade nucleotídica (π) e haplotípica (Hd) foi inferida através do programa ARLEQUIN 3.1 (Excoffier e col., 2005; <http://anthropologie.unige.ch/arlequin>).

Para *C. hircus* a distribuição mundial dos haplótipos de mtDNA agrupam-se em seis grandes haplogrupos (A, B, C, D, F e G) relacionados ao(s) local/locais de origem dessa espécie. Neste sentido foi gerada uma árvore filogenética selecionando aleatoriamente, após uma análise completa (dados não mostrados), algumas amostras representativas de cada raça e do ecótipo Crespa (ALP1, ALP3, ALP5, ALP6, ALP7); (AGN263, AGN264, AGN282, AGN293, AGNPG503); (BO9003, BO1010, BO1016, BO8039, BO10031); (SA117, SA138, SA188, SA197, SA198); (AN257, AN268, AN450, AN861, AN1293); (CAL09, CAL10, CBA18, CBA1, CCA23, CCA25, CSL17, CSL22, CBR01, CBR02) juntamente com sequência referência de cada haplogrupo obtidas do GenBank sob números de acesso: A (AJ317736, AJ317661, AJ317574, AJ317578, AJ317671, AJ317674, EF6183510, DQ241362); B1 (AY860933), B2 (AY860922); C (AJ317839, AY961644, DQ188892); D (AB110589); F (DQ241351); G (EF618539).

5.5.3 Estrutura populacional

A estatística F de Wright (Wright, 1951) foi utilizada para analisar a estrutura populacional através do parâmetro F_{ST} (Weir e Cockerham, 1984). A análise

correspondente foi implementada no programa GENEPOP 3.4 e ARLEQUIN 3.1, a partir de *loci* de microssatélites e sequências de mtDNA, respectivamente. Como medida alternativa da diferenciação populacional a partir dos *loci* de microssatélite foi utilizado o índice de R_{ST} (Michalakis e Excoffier, 1996), o qual baseia-se na variância no tamanho dos alelos, utilizando o modelo SMM (*Stepwise Mutation Model*). Os níveis de significância também foram ajustados segundo método sequencial de Bonferroni (Rice, 1989).

6 RESULTADOS

6.1 Variabilidade genética de microssatélites e mtDNA

Os 11 *loci* de microssatélites utilizados neste estudo foram polimórficos para quatro das cinco populações de cabras Crespas, exceto para SL que teve dois *loci* monomórficos (SRCRSP8 e ILSTS005). A média de alelos por *locus* foi de 7,18 onde o número mínimo de alelos foi 3 para o *locus* ILSTS005 e o máximo 11 para os *loci* MAF209 e SRCRSP5 (Tab. 3). Em um total de 79 alelos encontrados nas cinco populações, a diversidade alélica média foi menor para a população SL (igual a 2,8) e maior para a população BR (igual a 5,5). O valor médio de heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,26 a 0,72 e a heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,45 a 0,85. A população SL foi a que apresentou menor variabilidade ($H_e = 0,20$) enquanto que BR e AL foram as que apresentaram os maiores valores para H_e , respectivamente 0,85 e 0,90. Foram encontrados valores estatisticamente significativos para desvio do equilíbrio de HW para os *loci* MAF209, SRCRSP5, SRCRSP8, ILSTS005, ETH10, TGLA53 (Tab. 3).

Com relação as demais raças estudadas, obtivemos os seguintes valores de diversidade genética: os 11 *loci* foram polimórficos para quatro dos seis tipos caprinos, sendo o *locus* MAF209 monomórfico para a raça ALP e o *locus* ILSTS005 monomórfico para a raça AGN. O número total de alelos por *locus* variou de 2 nas raças ALP, AGN e AN a 11 no écotipo Crespa, com uma média de 9,6 alelos (Tab. 3, 4, 5, 8). A diversidade alélica variou de 3,2 (ALP) a 7,2 (CR). Os valores médios de heterozigosidade observada (H_o) variaram de 0,10 (ALP) a 0,95 (SA) (Tab. 4 e 7). E os valores de heterozigosidade esperada (H_e), em média sobre todos os *locus* variaram de 0,10 (ALP) a 0,87 (SA) (Tab. 4 e 7). Há diferentes *loci* fora do equilíbrio de HW através das diferentes raças.

Para as populações de Crespa a partir do alinhamento de 696 pares de base de um fragmento de HVR1 (região hipervariável 1) da região controladora de mtDNA foram evidenciados 24 sítios variáveis, seis *singletons* resultando em 12 diferentes haplótipos, sendo oito haplótipos exclusivos e quatro haplótipos compartilhados entre diferentes populações de cabras Crespas (Tab. 9). A população CA demonstrou a menor diversidade haplotípica ($H_d=0,385$), enquanto BR apresentou a maior ($H_d=0,791$). Os valores de diversidade nucleotídica (π) variaram de 0,0025 (AL) a 0,0104 (BA) (Tab. 2). Nenhum

indel (inserção-deleção) foi encontrado entre as sequências e todos os polimorfismos observados foram substituições de 1pb por meio de 50 transições.

Esse mesmo fragmento de 696 pb da região HVR1, foi utilizado para a análise, em conjunto, dos seis tipos caprinos (Alpina, Anglo Nubiana, Boer, Saanen, Angorá e Crespa) resultando em 61 sítios polimórficos sendo 11 *singletons*, correspondendo a 37 haplótipos. A diversidade haplotípica (*Hd*) variou de 0,710 (AGN) a 0,911 (SA). Os valores de diversidade nucleotídica (π) variaram de 0,0075 (CR) a 0,136 (BO) (Tab. 10). Foram observadas 149 substituições (147 transições e 2 transversões).

Tabela 3. Lista de marcadores microssatélites e índices de diversidade padrão para o ecótipo Crespa (CR): número total de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*), valores de significância (*p*) obtidos no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Marcador	N ^o de alelos Total	Heterozigosidade		EHW
		Ho	He	<i>p</i>
MAF209	11	0,62	0,85	0,00000*
MAF65	7	0,69	0,75	0,01917
SRCRSP5	11	0,60	0,70	0,00603*
SRCRSP8	9	0,44	0,71	0,00000*
SRCRSP9	9	0,72	0,84	0,06698
ILSTS005	3	0,26	0,45	0,00000*
ILSTS011	4	0,41	0,59	0,00739
ILSTS029	6	0,61	0,61	0,67052
OarFCB48	7	0,58	0,73	0,05444
ETH10	7	0,60	0,71	0,00324*
TGLA53	5	0,42	0,54	0,00325*

*valores de *p* significativos após correção de Bonferroni ($\alpha < 0,0045$)

Tabela 4. Lista de marcadores microssatélites e índices de diversidade padrão na raça Alpina (ALP): número total de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*), valores de significância (*p*) obtidos no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Marcador	N ^o de alelos	Heterozigosidade		EHW
	Total	Ho	He	<i>p</i>
MAF209	4	0,70	0,75	0,02539
MAF65	3	0,30	0,28	1,00000
SRCRSP5	4	0,70	0,74	0,01401
SRCRSP8	4	0,60	0,71	0,23630
SRCRSP9	4	0,80	0,72	0,86519
ILSTS005	<i>Locus Monomórfico</i>			
ILSTS011	3	0,50	0,69	0,00006*
ILSTS029	2	0,10	0,10	1,00000
OarFCB48	4	0,40	0,61	0,25029
ETH10	2	0,20	0,19	1,00000
TGLA53	2	0,50	0,48	1,00000

*valores de *p* significativos após correção de Bonferroni ($\alpha < 0,0045$)

Tabela 5. Lista de marcadores microssatélites e índices de diversidade padrão na raça Anglo Nubiana (AGN): número total de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*), valores de significância (*p*) obtidos no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Marcador	N ^o de alelos	Heterozigosidade		EHW
	Total	Ho	He	<i>p</i>
MAF209	5	0,35	0,81	0,00000*
MAF65	7	0,35	0,76	0,00004*
SRCRSP5	5	0,67	0,71	0,09167
SRCRSP8	3	0,28	0,30	0,45475
SRCRSP9	5	0,57	0,74	0,45469
ILSTS005	2	0,47	0,47	1,00000
ILSTS011	<i>Locus Monomórfico</i>			
ILSTS029	4	0,43	0,59	0,06553
OarFCB48	3	0,43	0,65	0,09598
ETH10	2	0,52	0,40	0,25998
TGLA53	4	0,43	0,63	0,04970

*valores de *p* significativos após correção de Bonferroni ($\alpha < 0,0045$)

Tabela 6. Lista de marcadores microssatélites e índices de diversidade padrão na raça Boer (BO): número total de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*), valores de significância (*p*) obtidos no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Marcador	N ^o de alelos Total	Heterozigosidade		EHW
		Ho	He	<i>p</i>
MAF209	6	0,42	0,69	0,01984
MAF65	5	0,53	0,55	0,03817
SRCRSP5	5	0,78	0,75	0,99582
SRCRSP8	4	0,74	0,64	0,89076
SRCRSP9	5	0,53	0,80	0,02605
ILSTS005	3	0,53	0,62	0,45187
ILSTS011	4	0,58	0,60	0,47172
ILSTS029	4	0,74	0,73	0,81401
OarFCB48	4	0,16	0,59	0,00000*
ETH10	5	0,58	0,68	0,67487
TGLA53	3	0,68	0,67	0,93877

*valores de *p* significativos após correção de Bonferroni ($\alpha < 0,0045$)

Tabela 7. Lista de marcadores microssatélites e índices de diversidade padrão na raça Saanen(SA): número total de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*), valores de significância (*p*) obtidos no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Marcador	N ^o de alelos Total	Heterozigosidade		EHW
		Ho	He	<i>p</i>
MAF209	5	0,50	0,57	0,30834
MAF65	5	0,85	0,71	0,89850
SRCRSP5	5	0,45	0,72	0,00432*
SRCRSP8	5	0,40	0,68	0,02274
SRCRSP9	10	0,95	0,87	0,30133
ILSTS005	3	0,20	0,19	1,00000
ILSTS011	6	0,55	0,65	0,70970
ILSTS029	5	0,80	0,66	0,66619
OarFCB48	5	0,55	0,67	0,08547
ETH10	3	0,45	0,58	0,45760
TGLA53	4	0,60	0,67	0,23910

*valores de *p* significativos após correção de Bonferroni ($\alpha < 0,0045$)

Tabela 8. Lista de marcadores microssatélites e índices de diversidade padrão na raça Angorá (AN): número total de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*), valores de significância (*p*) obtidos no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Marcador	N ^o de alelos Total	Heterozigosidade		EHW
		Ho	He	<i>p</i>
MAF209	10	0,78	0,83	0,28111
MAF65	8	0,75	0,75	0,50014
SRCRSP5	8	0,82	0,85	0,16904
SRCRSP8	9	0,53	0,60	0,18686
SRCRSP9	9	0,68	0,83	0,01253
ILSTS005	2	0,36	0,48	0,23349
ILSTS011	3	0,50	0,43	1,00000
ILSTS029	6	0,21	0,79	0,00000*
OarFCB48	4	0,46	0,43	0,14655
ETH10	8	0,75	0,84	0,22471
TGLA53	3	0,46	0,54	0,14537

*valores de *p* significativos após correção de Bonferroni ($\alpha < 0,0045$)

Tabela 9. Resumo da variabilidade genética nas cinco populações de cabras Crespas a partir de 11 *loci* de microssatélites e sequências de 696pb de um fragmento da região HVR1 de mtDNA: *n*, tamanho da amostra; *A*, número médio de alelos por população; *Ho*, heterozigosidade média observada; *He*, heterozigosidade média esperada; *nh*, número de haplótipos; *Hd*, diversidade haplotípica e π , diversidade nucleotídica.

População	Marcadores							
	Microssatélites				Região controladora (mtDNA)			
	<i>n</i>	<i>A</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>n</i>	<i>nh</i>	<i>Hd</i>	π
Canguçu	13	4,09	0,54	0,53	13	2	0,38	0,0017
Bagé	19	5,27	0,59	0,63	19	5	0,76	0,0104
S. do Livramento	05	2,81	0,44	0,50	05	3	0,70	0,0037
Alegrete	09	4,27	0,55	0,63	09	3	0,63	0,0025
Barra do Ribeiro	18	5,54	0,51	0,70	18	7	0,79	0,0088
Total	64	4,39	0,53	0,59	64	12	0,77	0,0075

Tabela 10. Resumo da variabilidade genética nos seis tipos caprinos comparados a partir de 11 *loci* de microssatélites e sequências de 696pb de um fragmento da região HVR1 de mtDNA: *n*, tamanho da amostra; *A*, número médio de alelos; *Ho*, heterozigosidade média observada; *He*, heterozigosidade média esperada; *nh*, número de haplótipos; *Hd*, diversidade haplotípica e π , diversidade nucleotídica.

Tipo Caprino	Marcadores							
	Microssatélites				HVR1 (mtDNA)			
	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>N</i>	<i>nh</i>	<i>Hd</i>	π
Alpina	10	3,20	0,43	0,53	10	3	0,73	0,0104
Anglo-Nubiana	21	4,00	0,41	0,56	21	6	0,71	0,0127
Boer	19	4,36	0,57	0,67	19	6	0,76	0,0136
Saneen	20	5,09	0,57	0,63	20	9	0,91	0,0125
Angorá	28	6,36	0,57	0,67	28	9	0,83	0,0079
Crespa	64	7,18	0,54	0,68	64	12	0,77	0,0075
Total	162	5,03	0,51	0,62	162	37	0,93	0,0124

6.2 Distribuição dos haplótipos de mtDNA

Os 37 haplótipos encontrados em 162 indivíduos através dos seis tipos caprinos analisadas apresentaram apenas cinco haplótipos compartilhados entre diferentes grupos raciais (H5, H7, H15, H16 e H26) Onde H5 foi compartilhado entre CR e AGN, H7 entre CR, AGN e BO enquanto H15 foi compartilhado entre o maior número de tipos caprinos (BO, SA, AN e CR). O H16 esteve presente tanto em SA quanto na CR e o H26 foi compartilhado entre indivíduos de AN e CR, sendo os demais 32 haplótipos, exclusivos para diferentes agrupamentos raciais. Dentre os seis tipos caprinos o único que não compartilhou haplótipos com as demais foi a ALP, que também apresentou a menor variação haplotípica. O número máximo de passos mutacionais separando diferentes haplótipos foi igual a oito, porém, verificou-se também a ocorrência de vetores intermediários e reticulações ao longo dos ramos e entre diferentes haplótipos. Os dois haplótipos mais frequentes foram o H5 e o H7 presentes em 25 e 28 indivíduos respectivamente, seguidos pelo H15 com 11 indivíduos (Fig. 3).

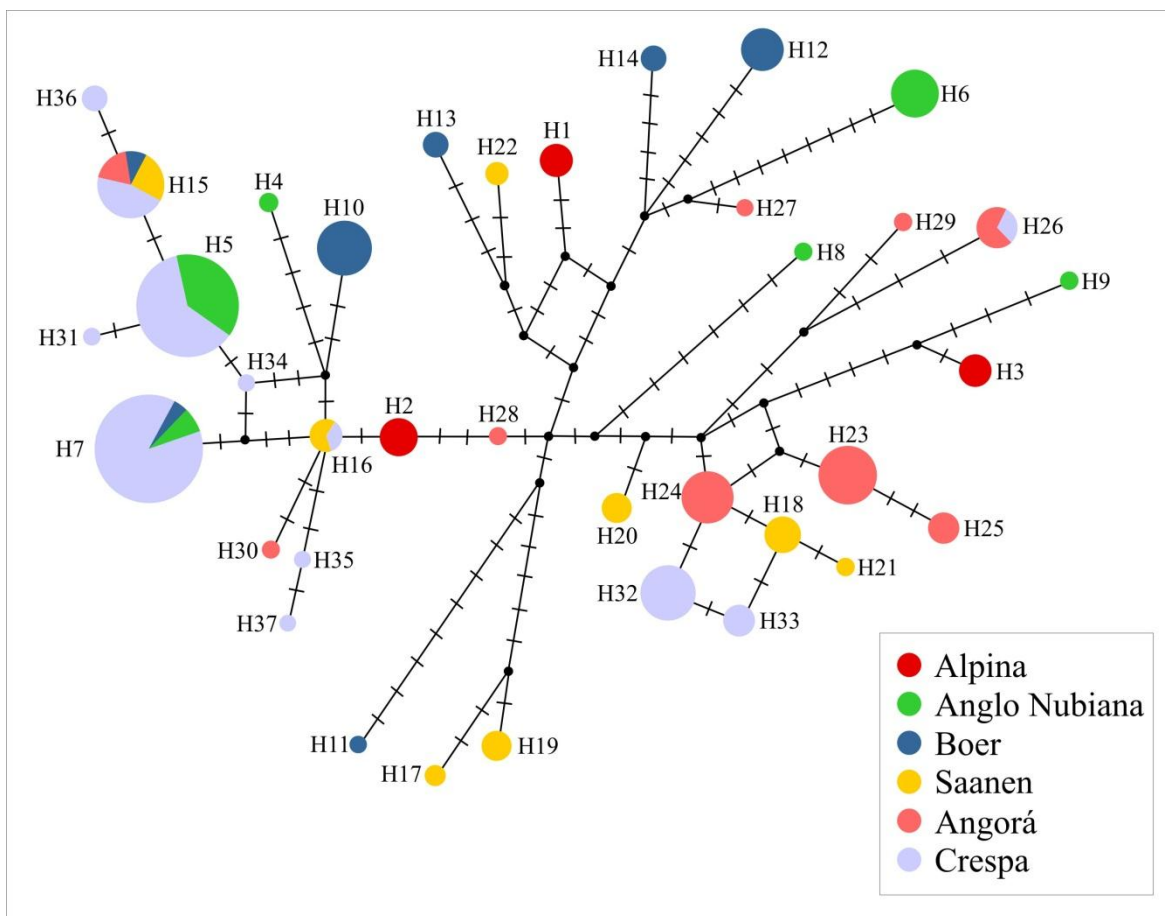


Figura 3. Relações haplotípicas observadas para as sequências de um fragmento da região HVR1 (mtDNA) nos seis tipos caprinos presentes no sul do Brasil. O tamanho dos círculos representam a frequência do haplótipo. Os pequenos círculos pretos indicam vetores intermediários. Os passos mutacionais estão indicados ao longo dos ramos.

6.3 Estrutura genética de cabras Crespas

Estimativas pareadas de fluxo gênico entre as cinco populações de cabras Crespas através dos índices de fixação (R_{ST} para microssatélites e F_{ST} para mtDNA), demonstram que a menor diferenciação genética está entre as populações SL e CA ($R_{ST} = 0,008$), enquanto para dados de mtDNA o maior fluxo encontra-se entre as populações BA e BR ($F_{ST} = 0,009$). Já as populações BR e CA apresentam evidência de maior diferenciação genética, cujos índices para ambos os marcadores, nuclear e mitocondrial são $R_{ST} = 0,155$ e $F_{ST} = 0,290$, respectivamente (Tab. 11).

Utilizou-se análise de variância molecular (AMOVA) nas populações do ecótipo Crespa a partir de dados de *loci* de microssatélites para estimar a distribuição da variação

genética entre e dentro dessas populações, e os valores encontrados foram 10,96% e 89,04%, respectivamente, mostrando uma diferença genética altamente significativa ($p < 0,001$) entre as classes avaliadas. A maior parte da variação total corresponde a diferenças entre indivíduos (89,04%) e somente uma pequena parcela (10,96%) é resultante de diferenças entre as populações (Tab. 12).

A partir de dados de inferência Bayesiana, com análises realizadas no programa STRUCTURE 2.0 (Pritchard & Wen, 2004), a probabilidade do número de populações foi estimada pelo menor valor negativo de probabilidade posterior ($\text{LnPr} = -1934,3$) referindo-se a um $k = 5$ ou seja cinco agrupamentos populacionais com diferentes graus de estruturação inferidos pelo algoritmo bayesiano foram encontrados para as cinco populações do ecótipo Crespa. Na tabela 13 os valores apresentados são referentes a estes dados, onde apenas as populações CA e SL mostram uma probabilidade acima de 50% de pertencerem a um agrupamento populacional estruturado, as demais populações apresentam percentuais inferiores a 50%. A representação da identidade de cada indivíduo é apresentada na figura 4. A figura 5 mostra a fração de identidade estimada das populações de cabras Crespas em cada um dos agrupamentos inferidos de $k = 2$ até $k = 5$ onde as cores representam os diferentes agrupamentos genéticos. Cores iguais para genótipos diferentes significam que eles pertencem ao mesmo grupo populacional, cores diferentes no mesmo indivíduo indicam a porcentagem de alelos compartilhados com outros grupos populacionais.

Tabela 11. Estimativas pareadas de fluxo gênico entre cinco populações de cabras Crespas com base em medidas de R_{ST} (microsatélites, abaixo da diagonal) e F_{ST} (mtDNA, acima da diagonal).

Pop.	1	2	3	4	5
1 CA		0,208*	0,021*	0,247*	0,290*
2 BA	0,124*		0,087	0,167*	0,009*
3 SL	0,008*	0,078*		0,227	0,164
4 AL	0,105*	0,098	0,097*		0,129*
5 BR	0,155*	0,092*	0,134*	0,100	

* $p < 0,05$

Tabela 12. Análise de variância molecular (AMOVA), a partir de *loci* de microsatélites, representando a distribuição da variação genética em cabras Crespas. Estão representados os componentes de variação e o índice de fixação. O asterisco (*) indica significância estatística ($\alpha < 0,01$).

	Componente de variação	% de variação
Entre as populações	0,41	10,96
Dentro das populações	3,38	89,04
Índice de fixação: F_{ST}: 0,10*		

Tabela 13. Análise de agrupamentos bayesianos nas cinco populações e cabras Crespas (64 indivíduos: 11*loci*). Estão representadas as identidades de cada população (Pop.) em cada um dos cinco agrupamentos ($k=5$) inferidos pelo algoritmo bayesiano.

Pop.	I	II	III	IV	V
CA	0,106	0,676	0,096	0,079	0,043
BA	0,336	0,126	0,247	0,185	0,107
SL	0,154	0,557	0,140	0,109	0,039
AL	0,177	0,177	0,193	0,193	0,125
BR	0,105	0,113	0,113	0,223	0,386

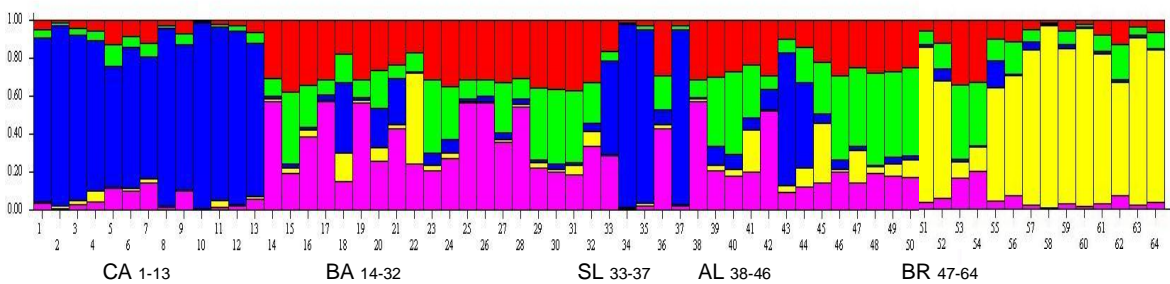


Figura 4. Representação gráfica da fração de identidade estimada para cada indivíduo (barras verticais) nas cinco populações de cabras Crespas amostradas, dado $k=5$. CA = Canguçu, BA = Bagé, SL = Santana do Livramento, AL = Alegrete, BR = Barra do Ribeiro.

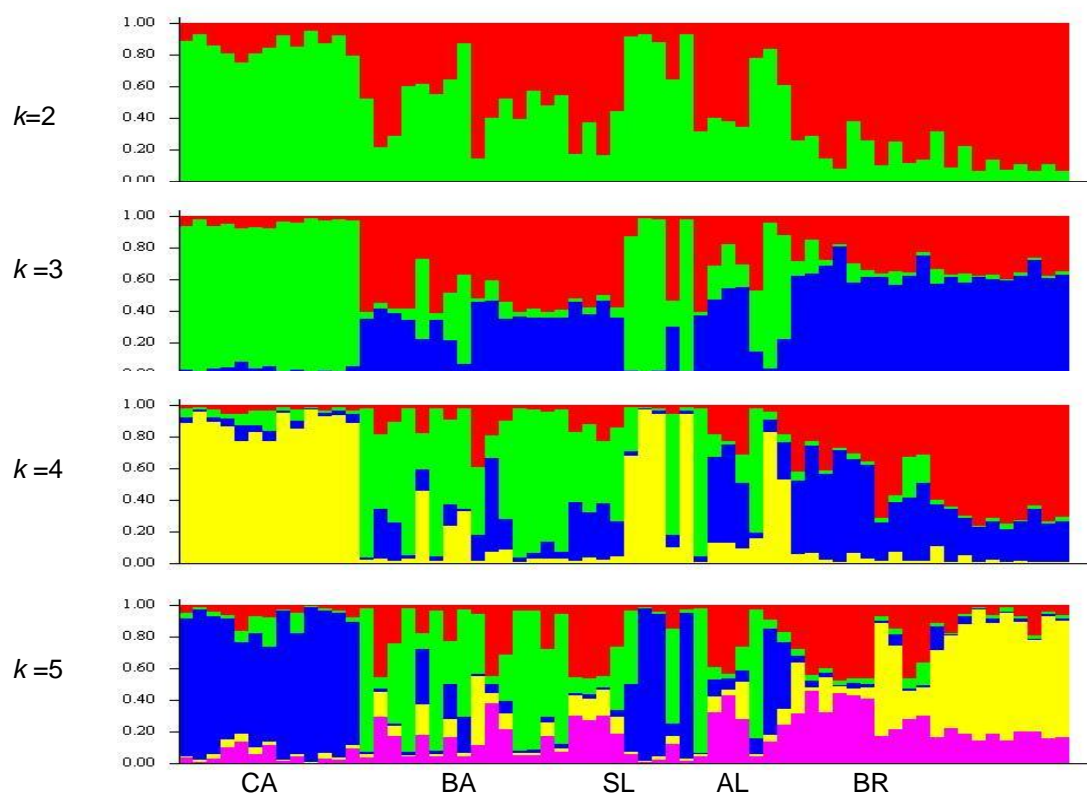


Figura 5. Representação gráfica da fração de identidade estimada das populações de cabras Crespas em cada um dos agrupamentos inferidos, para $k = 2$ a 5. Valores a esquerda de cada gráfico representam o coeficiente (Q) de participação do indivíduo em cada grupo, podendo variar de 0,00 até 1,00.

6.4 Diferenciação genética das raças

O fluxo gênico entre o ecótipo Crespa e as demais raças, para dados de frequências alélicas apresentaram valores que variaram de 0,13 entre CR e SA a 0,30 entre ALP e BO. Já para as comparações de fluxo gênico para dados de sequências a menor distância genética se encontra entre ALP e SA (0,11), seguidas por BO e SA (0,12) sendo que o maior valor de F_{ST} (0,42) foi verificado entre AN e CR (Tab. 14).

O padrão de diferenciação genética foi representado por uma distribuição dos valores obtidos da análise do componente principal com base na frequência dos alelos dos seis tipos caprinos. O eixo do componente principal 1 (PC1) resultou em 29,47% da diversidade genética total ($p > 0,05$) e o do componente principal 2 (PC2) em 23,94% ($p > 0,05$). O eixo PC1 demonstrou a grande proximidade entre as raças AN e BO e a maior

distância destas com relação a CR. Por outro lado, o eixo PC2, mostra uma proximidade entre SA e CR e a distância desta última com relação à AGN e ALP (Fig. 6).

Na análise de estruturação populacional, entre os seis agrupamentos raciais, feitos através do programa STRUCTURE 2.0 utilizou-se o número de grupos (seis) pré-determinado (ex. informação populacional prévia). Onde os menores valores de probabilidade posterior encontrados ficaram entre $\text{LnPr} = -5081,6$ e $-5051,8$ e com o valor de k variando entre 6 e 7, Seis corridas independentes para cada valor de k (1-15), correlacionando às frequências alélicas entre as populações foram realizadas (Fig. 7). Os 162 indivíduos que compõem essa amostra foram, através do algoritmo bayesiano, atribuídos a um dos seis agrupamentos pré-definidos para as seis raças analisadas, onde quase todas as raças apresentaram mais de 90% de probabilidade de pertencer a um único grupo genético bem estruturado (Tab. 15). A representação gráfica da fração de identidade estimada para cada indivíduo, bem como para cada raça amostrada, ambos para $k = 6$ estão apresentadas nas figuras 8 e 9, respectivamente.

Tabela 14. Estimativas pareadas de fluxo gênico entre os seis tipos caprinos utilizados neste estudo com base em medidas de R_{ST} (microsatélites, abaixo da diagonal) e F_{ST} (mtDNA, acima da diagonal).

Tipo caprino	1	2	3	4	5	6
1 ALP		0,256*	0,127*	0,106*	0,226	0,376*
2 AGN	0,265*		0,172	0,203*	0,376*	0,152*
3 BO	0,300*	0,237*		0,119*	0,216*	0,294
4 SA	0,188*	0,254*	0,217*		0,153*	0,237*
5 AN	0,236*	0,205*	0,161*	0,205*		0,422*
6 CR	0,198*	0,177*	0,169*	0,133*	0,140*	

* $p < 0,05$

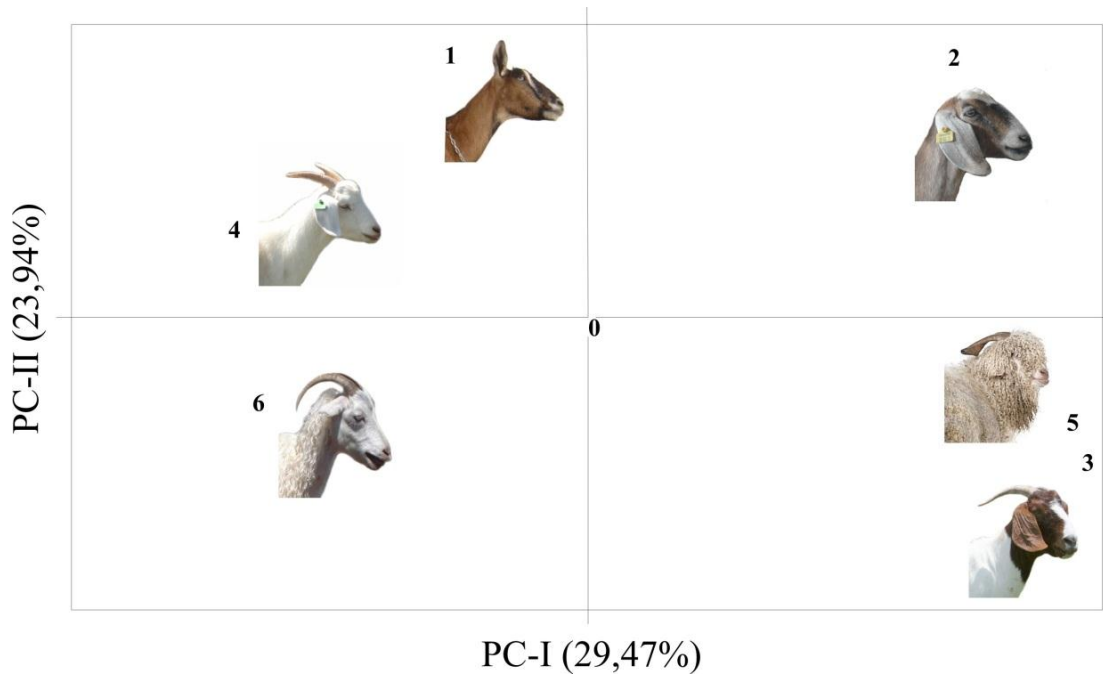


Figura 6. Análises de componentes principais, baseado nas diferenças das frequências alélicas entre os seis tipos caprinos estudados. 1 Alpina; 2 Anglo Nubiana; 3 Boer; 4 Saanen; 5 Angorá; 6 Crespa.

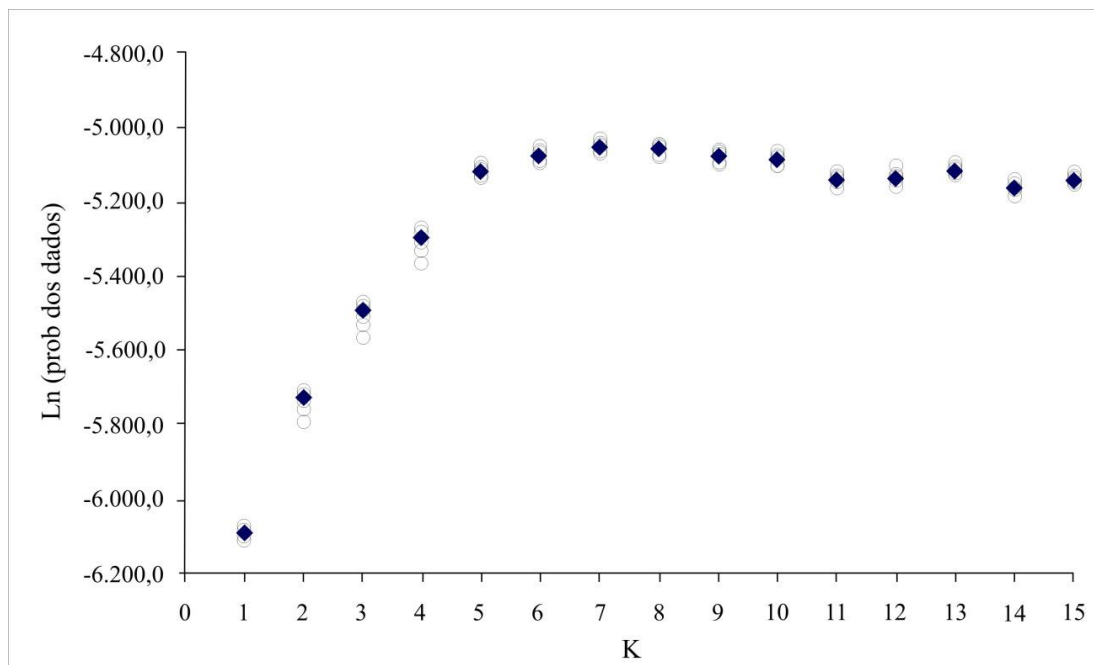


Figura 7. Probabilidade posterior estimada dos dados $[\text{LnPr}(X|K)]$ para diferentes números de agrupamentos inferidos ($k = 1-15$). Representação da probabilidade obtida para corridas individuais (\circ) e para a média (\blacklozenge) de seis corridas, em cada k .

Tabela 15. Análise de agrupamentos bayesianos nos seis tipos caprinos estudados (162 indivíduos: 11 *loci*). Estão representadas as identidades de cada tipo caprino pré-definido em cada um dos seis agrupamentos ($k = 6$) inferidos pelo algoritmo bayesiano.

Tipo caprino	Agrupamento					
	I	II	III	IV	V	VI
ALP	0,970	0,008	0,004	0,009	0,005	0,005
AGN	0,007	0,972	0,005	0,004	0,006	0,007
BO	0,009	0,010	0,957	0,007	0,007	0,010
SA	0,020	0,014	0,009	0,935	0,009	0,012
AN	0,018	0,007	0,007	0,009	0,937	0,022
CR	0,069	0,021	0,023	0,027	0,067	0,793

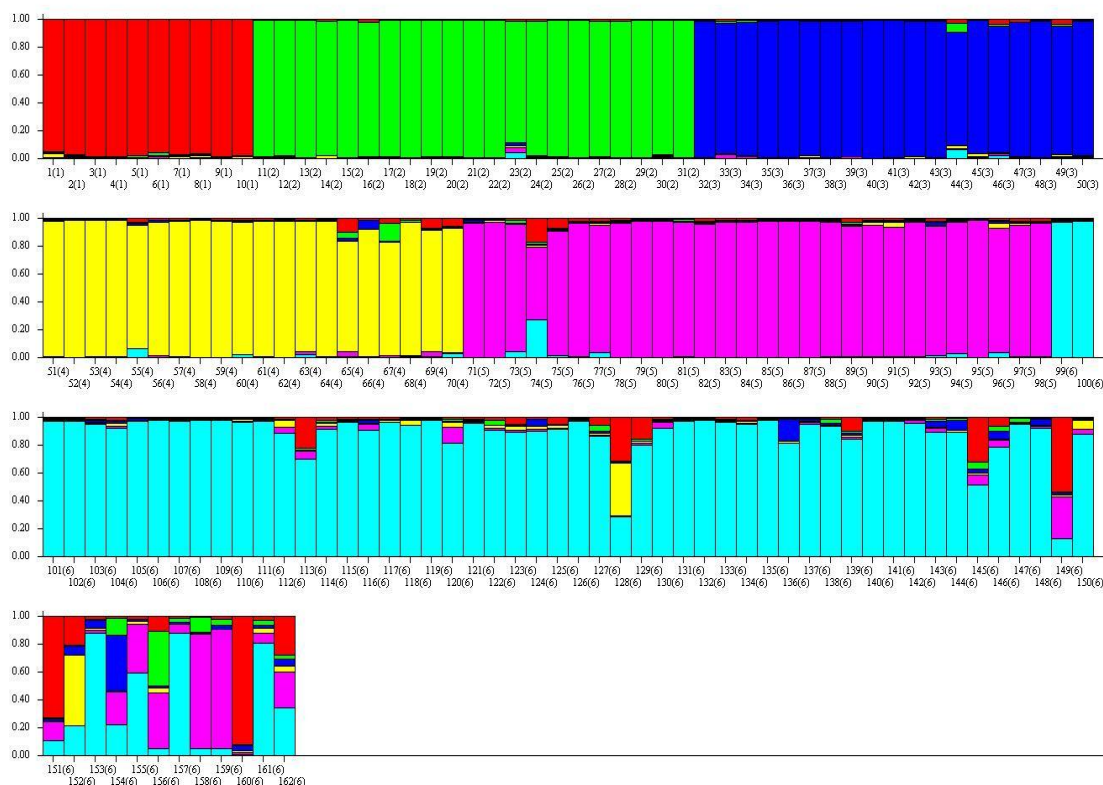


Figura 8. Representação gráfica da fração de identidade estimada para cada indivíduo (barras verticais) nos seis tipos caprinos amostrados, para $k=6$. Valores a esquerda dos gráficos representam o coeficiente (Q) de participação do indivíduo em cada grupo, podendo variar de 0,00 até 1,00 . Vermelho = Alpina, verde = Anglo Nubiana, azul = Boer, amarelo = Saanen, rosa= Angorá e Azul claro = Crespa.

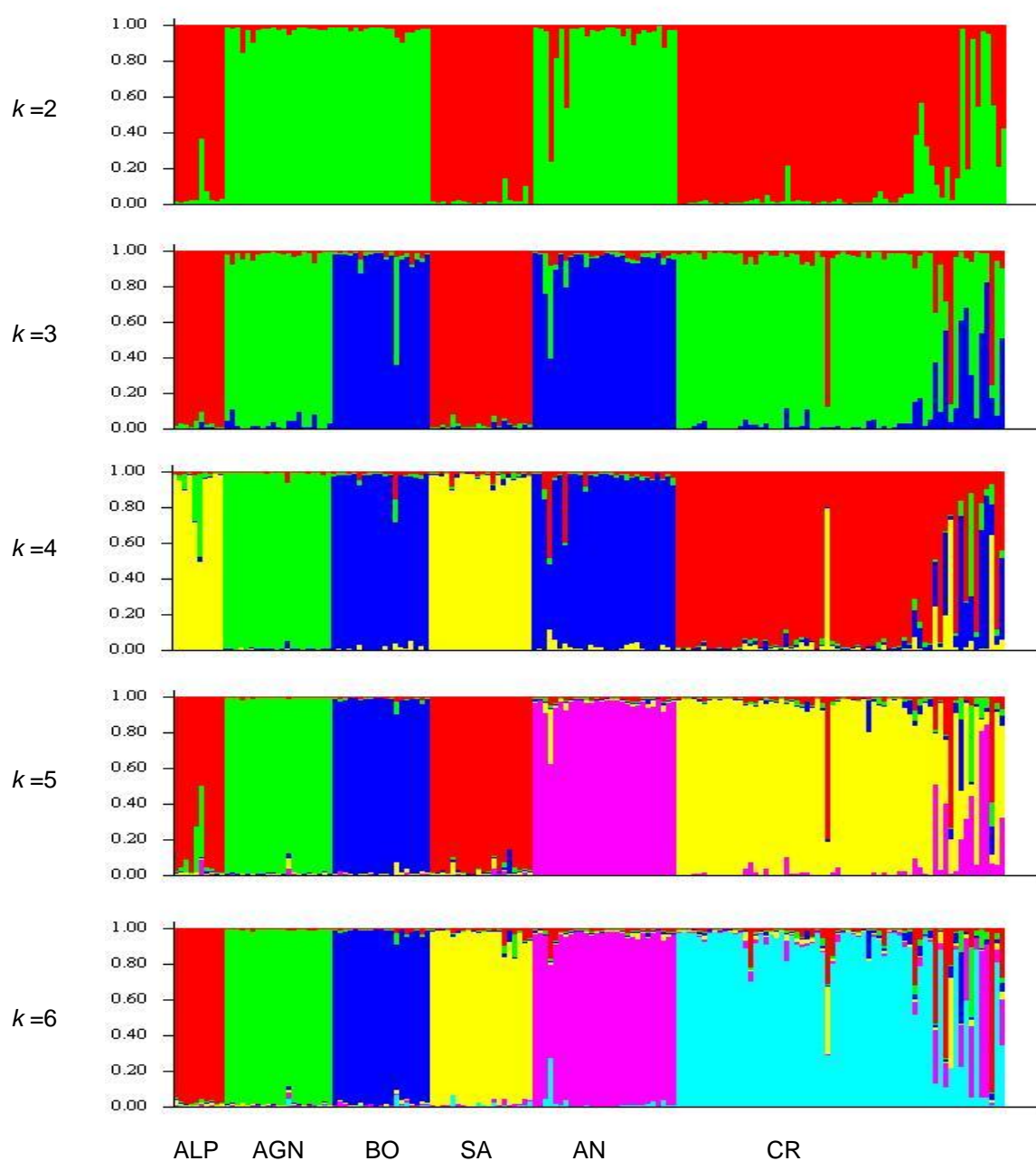


Figura 9. Representação gráfica da fração de identidade estimada de todos os indivíduos amostrados para diferentes valores de k (2 – 6); onde: ALP, Alpina; AGN, Anglo Nubiana; BO, Boer; SA, Saanen; AN, Angorá; CR, Crespá.

6.5 Análises filogenéticas

O modelo de evolução de sequência nucleotídicas selecionado através do AIC para estes dados da região controladora de mtDNA, foi o GTR+I+G (Tavaré, 1986), utilizado

tanto para as análises no PAUP quanto para as do PhyML. Já para as análises feitas no programa MEGA usou-se o modelo evolutivo JC69 (Jukes e Cantor,1969). Em todos os casos foram realizadas 100 replicações (*bootstrap*) para avaliar o suporte dos ramos. Ambas as abordagens (NJ e MV) resultaram em topologias de árvores e valores de suporte muito semelhantes, porém, devido à característica do método de verossimilhança levar em consideração todos os sítios e todas as possibilidades de mutações em todos os ramos internos para as relações filogenéticas inferidas, as árvores escolhidas para representar este conjunto de dados foram às construídas a partir dessa abordagem.

Na figura 10 apresenta-se a filogenia consenso dos 696 pb dos 64 indivíduos de cabras Crespas pertencentes as cinco populações amostradas onde verifica-se, que todos os valores de suporte dos ramos são superiores a 50%, porém, sem uma clara separação das populações em ramos terminais distintos. O clado situado na base dessa árvore filogenética é composto por sete indivíduos da população BA e cinco da população BR, com um suporte de 99%, os demais táxons são formados por indivíduos de diferentes populações.

Na construção da árvore filogenética a partir das sequências de 162 indivíduos agrupados nos seis tipos caprinos, foi usada como grupo externo *C. falconeri*, sendo duas sequências obtidas do GenBank sob números de acesso: *C. falconeri*1 (AB044305) e *C. falconeri*2 (AB044305), resultando com isso, um suporte de 99% desse grupo externo com relação aos demais agrupamentos. Para essa análise, poucos foram os valores de *bootstrap* superiores a 50%. A árvore de máxima verossimilhança não recuperou os agrupamentos raciais de *C. hircus* (cabra doméstica), separando-as em clados distintos. Apenas alguns indivíduos de cada raça aparecem em ramos terminais bem suportados, os demais aparecem mais relacionados com indivíduos de outras raças do que com aqueles da sua própria raça pré-determinada (Fig. 11).

A topologia resultante na árvore gerada com amostras dos diferentes haplogrupos indica que todas as amostras caprinas analisadas do sul do Brasil pertencem ao haplogrupo (A), sendo que na base da árvore posicionam-se os demais haplogrupos. As sequências representantes dos haplogrupos C e F aparecem na posição mais basal da árvore, seguidos pelo clado composto pelos dois subgrupos do haplogrupo B (B1 e B2) tendo o haplogrupo G como grupo irmão. O haplodrupo D aparece mais proximamente relacionado com todas as demais sequências incluindo as oito representativas do haplogrupo A (Fig. 12).



Figura 10. Árvore filogenética não enraizada com base em 696pb de um fragmento da região HVR1 do mtDNA de cabras Crespas do sul do Brasil.

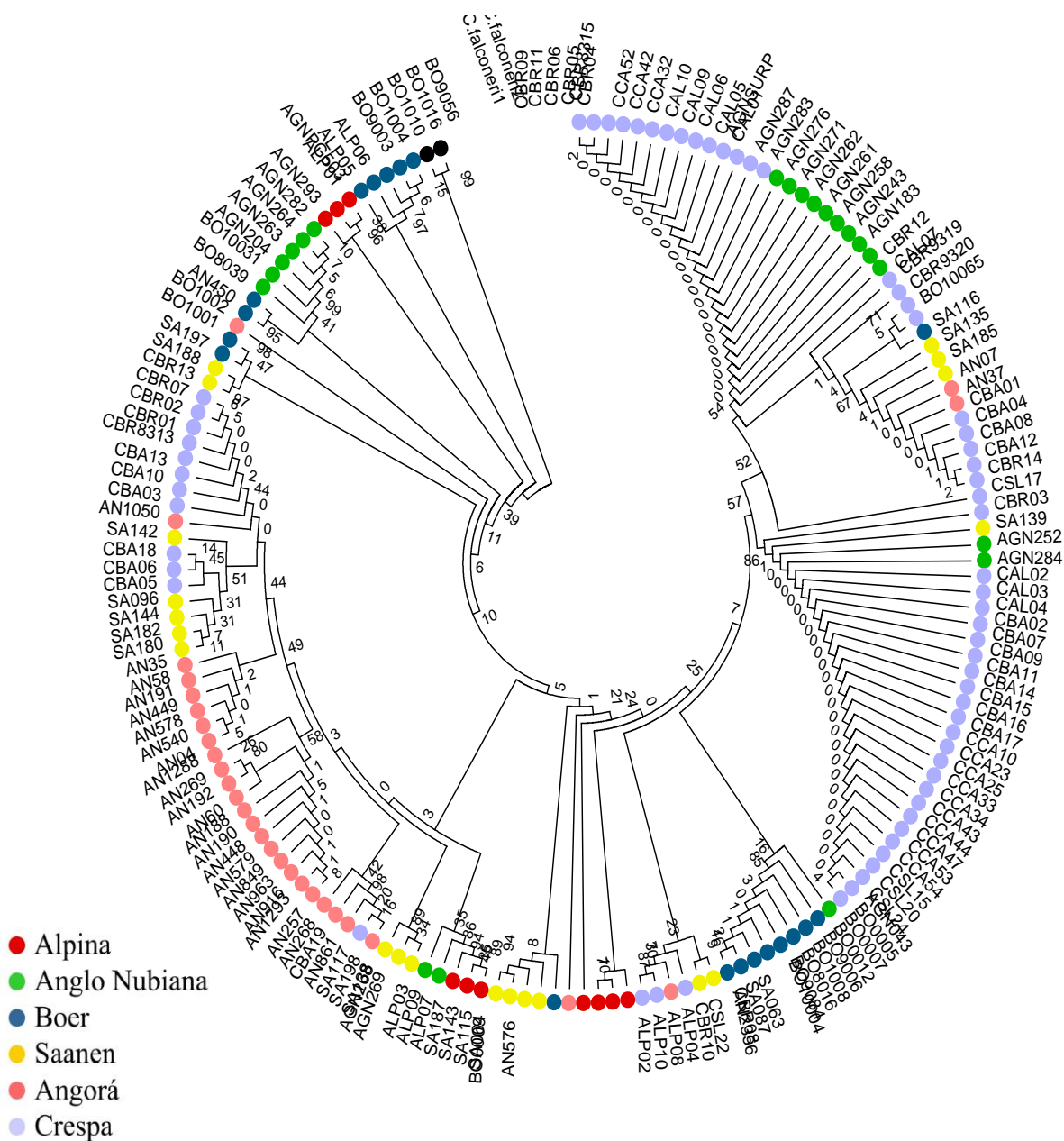


Figura 11. Árvore filogenética com base em 696pb de um fragmento da região HVR1 do mtDNA de cabras Crespas e demais raças caprinas do sul do Brasil, usando duas sequências de *Capra falconeri* como grupo externo.

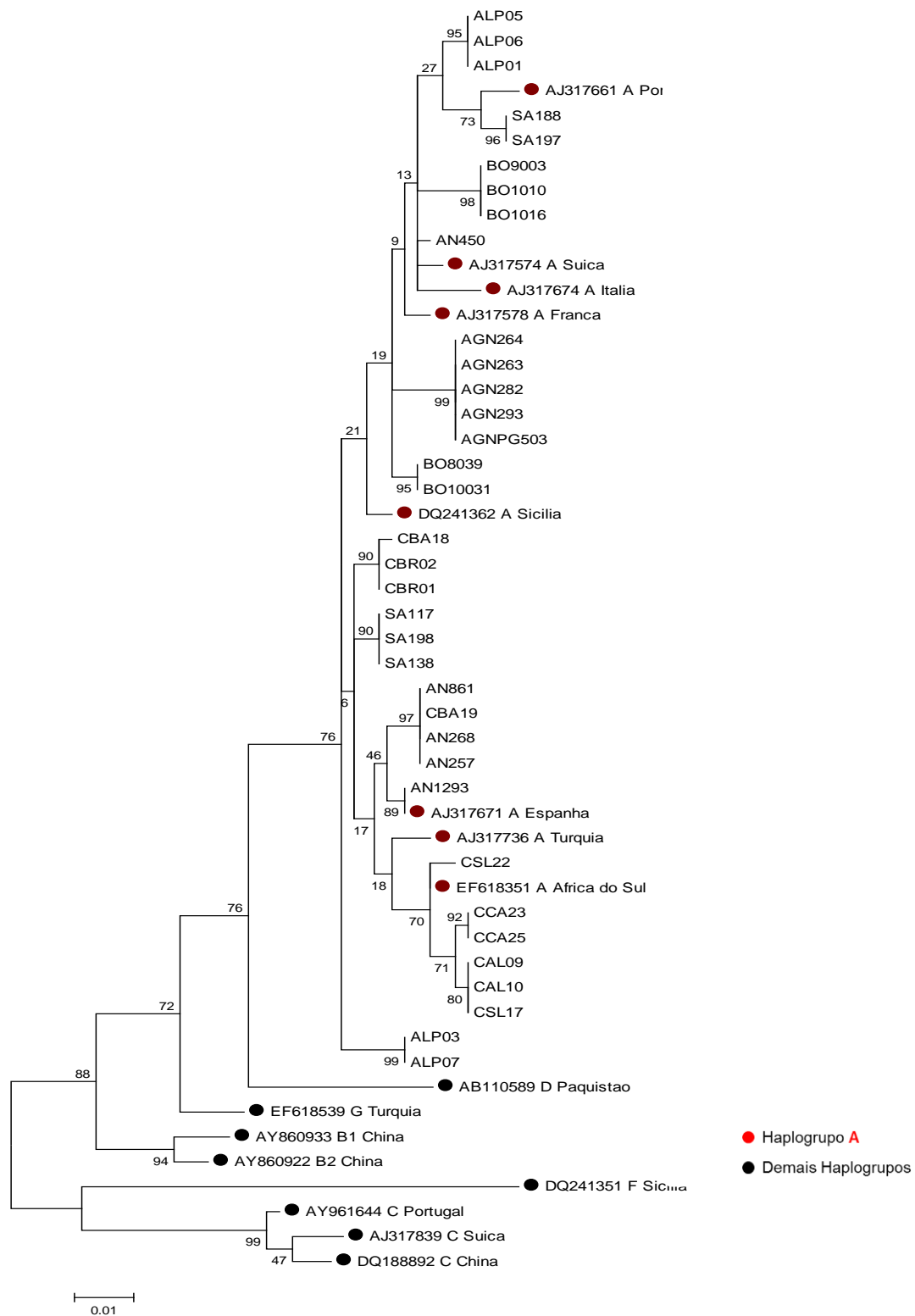


Figura 12. Árvore filogenética não enraizada com base em 696pb de um fragmento da região HVR1 do mtDNA para amostras representativas de cada tipo caprino estudado e representantes dos seis haplogrupos de mtDNA para caprinos (A; B1,B2; C; D; F; G).

7 DISCUSSÃO

7.1 Variabilidade genética

As estimativas de variabilidade genética são importantes para inferir a respeito da história evolutiva, parentesco e relações filogenéticas tanto dentro quanto entre taxa, além de contribuírem para o entendimento da capacidade dos organismos de adaptarem-se a possíveis mudanças. Indivíduos com certos alelos, ou combinações de alelos, podem ter as características necessárias para sobreviver e se reproduzir sob novas condições sanitárias, de clima, de temperatura, ou de manejo.

Os marcadores microssatélites, por apresentarem um alto grau de polimorfismo, são amplamente utilizados para caracterizar a variabilidade genética em espécies domésticas tais como: bovinos, ovinos, suínos e asininos, podendo ser usados com confiabilidade na caracterização dos rebanhos (Kumar e cols., 2000; Bruford e cols., 2003). No Brasil ainda são poucos os estudos de variabilidade em caprinos, porém, onde prevalece o uso de técnicas moleculares há destaque para análises com microssatélites, como nos trabalhos de Araújo e cols. (2004) que estudaram a variabilidade genética em caprinos da raça Moxotó no Ceará utilizando 10 *loci* de microssatélites; Menezes e Cols. (2006) que caracterizaram caprinos de raças naturalizadas utilizando 27 *loci* microssatélites e Oliveira e cols. (2007) que estudaram variabilidade, estrutura e relações genéticas entre raças brasileiras naturalizadas e raças exóticas com base em 13 *loci* de microssatélites.

No nosso estudo os 11 *loci* de microssatélites mostraram-se altamente polimórficos quando comparados aos trabalhos acima mencionados, tanto pra as análises entre as populações do ecótipo Crespa, quanto para os seis tipos caprinos analisados em conjunto. Nas Crespas, o fato da população de Santana do Livramento (SL) ter apresentado dois *loci* monomórficos, enquanto as demais tiveram os 11 *loci* polimórficos, deve-se provavelmente ao fato desta população ter o menor número de indivíduos amostrados ($n=5$) bem como o menor tamanho populacional. Essa população deve estar sofrendo efeitos da deriva genética, onde estes desvios podem levar ao desaparecimento de certos alelos e fixação de outros, independentemente do seu valor adaptativo. O tamanho populacional, também pode ser o motivo para SL apresentar a menor diversidade alélica (2,8) e a menor heterozigosidade esperada ($He=0,10$).

O *locus* ILSTS005 apresentou o menor valor médio de alelos/*locus* quando comparado a outros estudos nos quais esse mesmo *locus* foi utilizado. No estudo de Luikart e cols. (1999), para quatro diferentes raças caprinas, o número máximo de alelos para esse *locus* foi cinco, sendo o conteúdo de informação polimórfica (PIC) = 0,139. Os *loci* MAF209 e SRCRSP5 foram os mais polimórficos para as populações de Crespa, ambos com 11 alelos por *locus*, foram também os mais variáveis quando comparados com os valores obtidos no trabalho de Visser e cols. (2011) sobre parentesco em cabras da raça Angorá na África do Sul, onde o número médio de alelos para o marcador microsatélite MAF65 foi dez e para SRCRSP9, nove.

O teste realizado para verificar o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) entre as cabras Crespas revelou déficit de heterozigotos para alguns *loci* ($p < 0,05$), é sugerido por Galal (2005) que este fato esteja diretamente relacionado a cruzamentos não aleatórios que ocorrem frequentemente em raças domésticas com baixo tamanho efetivo.

Com relação às demais raças estudadas, os dez indivíduos analisados para a raça Alpina (ALP) foram homozigotos para o *locus* ILSTS005. A partir de informações da Caprisul esta é uma das poucas populações puras para a raça, presente atualmente no RS e por ter número efetivo pequeno poderia estar sofrendo efeitos da deriva genética, ou excesso de endocruzamento. O fato deste *locus* ter sido, de maneira geral, o menos polimórfico em todas as raças analisadas, corrobora com outros trabalhos prévios (ex. Menezes, 2006). Outro indício para problemas de tamanho efetivo populacional para ALP é a baixa diversidade alélica nos demais *loci* e a menor heterozigosidade esperada entre as raças. O *locus* ILSTS011 monomórfico para a raça Anglo Nubiana (AGN) é um marcador desenvolvido a partir de bovinos e que no estudo de Luikart e cols. (1999) também se mostrou pouco polimórfico para caprinos, possivelmente por encontrar-se em uma região com baixa variabilidade genética nesta espécie (Visser e cols., 2011).

Para Vaiman e cols. (1994) mais de 40% dos marcadores de microsatélites desenvolvidos para ovinos e bovinos amplificam adequadamente em caprinos e apresentam posições similares nos cromossomos, porém alguns podem localizar-se em regiões pouco polimórficas. Apesar disso, os valores referentes ao número médio de alelos foram semelhantes aos reportados em estudos sobre a variabilidade genética caprina (Saitbekova e cols., 1999; Yang e cols., 1999; Li e cols., 2002; Araújo, 2004), mostrando alto nível de polimorfismo nos *loci* analisados.

A heterozigiosidade observada para todas as raças foi baixa quando comparada aos estudos em cabras asiáticas (Barker e cols., 2001) que verificaram alto nível de heterozigiosidade para os 17 *loci* de microssatélites analisados, porém moderada quando comparada com os valores observados para cabras Suíças, Ibex e Benzoar, reportados entre 0,15 e 0,87, com elevada variação entre os *loci* (Saitbekova e cols., 1999). Desvios do EWH são esperados para raças domésticas comerciais com cruzamentos dirigidos, o que propicia o aumento na frequência de determinados genótipos. A diversidade haplotípica (*Hd*) e diversidade nucleotídica (π) de mtDNA são importantes índices para acessar polimorfismos populacionais e diferenciações genéticas. Embora seja extremamente informativo, o mtDNA possui suas limitações como marcador para estudos filogenéticos em animais domésticos e no estudo da dinâmica dos rebanhos da atualidade (Bruford e cols., 2003). Pereira e cols. (2005) analisaram 481pb da região controladora de mtDNA de 288 indivíduos de diversas raças autóctones portuguesas e obtiveram 118 sítios variáveis, no nosso estudo foram analisados 696 pb desta mesma região para 64 indivíduos do ecótipo Crespa e encontramos 24 sítios variáveis. Essa diferença pode ser relacionada ao menor número de indivíduos analisados ou ainda por Crespa apresentar distribuição restrita a apenas uma pequena região do sul do Brasil, enquanto que no trabalho de Pereira e cols. (2005) a distribuição das raças cobria uma extensa área geográfica. Ainda, no estudo de Pereira e cols. (2005) foram encontrados dois eventos de inserção e dois de deleção, diferentemente dos nossos resultados, onde nenhum evento *indel* foi verificado. Os 12 haplótipos de Crespa apresentaram uma diversidade haplotípica (*Hd*) = 0,78. Tal diversidade pode ser considerada moderada quando comparada a raças chinesas do estudo de Liu e cols. (2007), mas com relação a algumas raças deste mesmo trabalho a diversidade nucleotídica do ecótipo Crespa ($\pi = 0,0075$) pode ser considerada alta.

Para as várias análises das cabras Crespas, a população de Barra do Ribeiro (BR) se mostra a mais diferenciada, considerando a maior diversidade alélica (5,5) e heterozigiosidade média esperada (0,85) para os *loci* de microssatélites, assim como a maior diversidade haplotípica (0,79). Esta divergência das outras populações de Crespas poderia ser devido à existência de intercrossamentos com outras raças criadas nesta localidade, o que poderia estar elevando os valores de diversidade e variabilidade genética nestes animais, e que também poderia promover a descaracterização fenotípica, como observado em vários indivíduos desta população. Informações pessoais dos criadores deste

rebanho reforçam esta hipótese, sendo indicada uma alta probabilidade de cruzamentos aleatórios com outras raças também criadas na propriedade, tal como Boer.

Todas as outras raças estudadas (ALP, AGN, BO, SA e AN) apresentaram diversidade haplotípica de moderada a alta, destacando-se Saanen (SA) ($Hd=0,91$) como sendo a mais alta quando comparada a outros trabalhos da literatura (Pereira e cols., 2005; Naredi e cols., 2006; Liu e cols., 2007). Entretanto, a diversidade nucleotídica geral dessas raças foi baixa ($\pi = 0,0124$) na maioria das comparações.

Dos 37 haplótipos correspondentes à variabilidade das raças estudadas, 12 estão presentes no ecótipo CR que possui o maior número de haplótipos compartilhados, exceto com a raça ALP. Os haplótipos H5 e H7 são os mais frequentes e também estão presentes na maioria dos indivíduos de Crespas. Dada à ocorrência em um maior número de indivíduos e em diferentes raças, acredita-se que estes dois haplótipos possam ser considerados os mais ancestrais (Luikart e cols., 2001).

7.2 Estrutura genética e populacional do ecótipo Crespa

Em populações domésticas a condição de acasalamento aleatório normalmente é limitada (ou ausente), já que a permanência de animais em um rebanho está sujeita a interferências humanas, principalmente devido a critérios de seleção artificial (Simplício e cols., 2007). Um possível fator limitante de estruturação populacional em raças caprinas é a seleção de animais, que interfere diretamente no tamanho efetivo dos rebanhos e causa um decréscimo no número de indivíduos reprodutores dentro das populações. Já em populações naturais esses fatores seriam praticamente inexistentes, segundo os princípios de Wright (1951).

O conhecimento da estruturação populacional pode fornecer orientações valiosas para estratégias de conservação e gestão, especialmente para ecótipos restritos a pequenas populações, como é o caso das cabras Crespas que apresentaram valores moderados de variabilidade genética, como visto anteriormente. As análises de fluxo gênico revelaram que as populações CA e SL são as geneticamente mais próximas a partir do conjunto de *loci* de microssatélites ($R_{ST}=0,008$), enquanto que para dados de mtDNA o maior fluxo gênico está entre as populações BA e BR ($F_{ST}=0,009$). Já BR e CA são as populações com maior distância genética, ou seja, menor fluxo gênico para ambos os marcadores $R_{ST}=0,155$ e $F_{ST}=0,290$. Uma provável explicação para o alto valor de R_{ST} seria o pouco

contato entre os indivíduos das duas populações, por não ter havido troca de animais, intermediada pelos proprietários, diferentemente do que aconteceu entre CA e SL onde a estruturação genética atual de CA foi influenciada pela chegada de indivíduos de SL, conforme informações do proprietário. O alto valor de fluxo gênico entre BA e BR também se acredita ser consequência da intensa troca de animais entre as localidades no início da formação destas populações.

A interpretação dos resultados de fluxo gênico é feita de acordo com o enquadramento dos valores encontrados dentro de faixas padrões, onde valores entre 0 e 0,05 são indicativos de pouca diferenciação, entre 0,05 e 0,15 moderada diferenciação e acima de 0,15 indicam alta diferenciação genética, e revela a possibilidade de estratificação da população (Slatkin, 1993; Frankham e cols., 2002). Nossos resultados enquadram-se, de modo geral, em uma diferenciação genética moderada. Assim, nota-se um padrão moderado de estruturação populacional entre as localidades, porém com fluxo gênico considerável para a maioria delas, sugerindo que as cinco localidades representadas formam subpopulações significativamente homogêneas

Através do programa STRUCTURE, com o uso de inferência bayesiana, foi possível verificar a relação entre os indivíduos de cabras Crespas, baseando-se em probabilidade posterior. Para essas análises não foram utilizadas informações prévias da população de origem de cada indivíduo, pois o objetivo principal aqui foi identificar a existência de estrutura populacional, ou seja $k > 1$, e estimar a probabilidade do número de populações diferenciadas dentro da amostra total, a partir dos dados de microssatélites. Os valores de probabilidade posterior resultaram em um $k=5$ como sendo o mais adequado aos dados analisados, demonstrando que seriam possíveis cinco agrupamentos populacionais diferentes para a amostra analisada. Quando se analisa o percentual de identidade de cada população, associando esse valor a um dos cinco grupos sugeridos pelo programa e inferidos pelo algoritmo bayesiano, se verifica que apenas CA e SL apresentam probabilidade maior de 50% de formarem um agrupamento populacional estruturado, ressaltando ainda que ambas pertenceriam a um mesmo agrupamento, corroborando o resultado de R_{ST} que mostra a maior proximidade genética entre CA e SL. As demais populações demonstram uma fraca estruturação populacional quando verificada a probabilidade de associação com um único agrupamento genético.

A partir destes resultados podemos explicar a moderada estruturação populacional de cabras Crespas por se tratarem de pequenos grupos de indivíduos ocupando uma distribuição muito restrita, onde o principal fator que pode contribuir para esta ausência de estrutura é o pouco cuidado no manejo destes animais. Alguns autores (Luikart e cols., 2001; MacHugh e cols., 2001; Magdalena e cols., 2009) reforçam que a constante influência exercida pelos humanos sobre as populações domésticas faz com que estas apresentem fraca estruturação populacional, o que pode ser crítico principalmente para tamanhos populacionais reduzidos.

A análise de variância molecular (AMOVA) (Excoffier e cols., 1992) realizada com objetivo de verificar a significância estatística da variabilidade molecular encontrada dentro e entre as populações de cabras Crespas consiste, basicamente, em uma análise hierárquica na qual a variância total é dividida em componentes covariantes (Oliveira, 2007). Nossos resultados revelaram uma diferença genética altamente significativa ($p=0,001$) entre as classes avaliadas, onde 89,04% da variação ocorre entre os indivíduos dentro das populações e apenas 10,6% ocorre entre as populações de Crespa. Este resultado corrobora aqueles obtidos por Egito e cols. (2007). Tal estudo, abordando diversidade genética, ancestralidade individual e miscigenação nas raças bovinas no Brasil, encontrou maior variação dentro das populações, para diversas comparações em diferentes partições dos dados, tanto para mtDNA quanto para microssatélites. Similarmente, no trabalho de Oliveira (2007) sobre a origem, distribuição e relações filogenéticas entre populações de *Capra hircus* do Nordeste do Brasil e sua relação com populações do Velho Mundo, os resultados da AMOVA para as 14 populações de caprinos estudadas não mostraram estruturação, sendo que a maior parte da variação ocorreu dentro das populações (88,51%).

O conhecimento de como a variação genética é particionada entre as populações pode ter implicações importantes não só na biologia evolutiva, mas também na biologia da conservação. Assim, estimativas confiáveis de diferenciação populacional são fundamentais para entender a conectividade entre elas e representam importantes ferramentas para desenvolver estratégias de conservação.

7.3 Diferenciação genética das raças

A estatística F de Wright, através dos índices de fixação, resume a estrutura de uma população natural através da mensuração de suas frequências alélicas, onde F_{ST} estima o coeficiente médio de endogamia esperado quando, hipoteticamente, ocorrem acasalamento de reprodutores e matrizes de forma aleatória, analisando a formação de subpopulações (Weir & Cockerham, 1984). No caso de animais domésticos pode-se analisar a estruturação de raças de uma mesma espécie biológica. Grande parte dessa estruturação está associada à formação de cada raça desde o momento da domesticação da espécie, e pode ser inferido através de dados de mtDNA ou de microssatélites. É possível verificar o fluxo gênico mais atual entre os diferentes agrupamentos raciais, lembrando que em animais domésticos a diversidade genética é moldada por intervenções humanas, principalmente com fins de produtividade.

Neste estudo, as raças ALP e SA mostraram-se mais próximas geneticamente, com um moderado valor de $F_{ST} = 0,11$, o que pode estar refletindo a origem geográfica destas raças, pois ambas são originárias da Suíça. Este resultado concorda com o encontrado por Igarashi e cols. (2000), e Araújo (2004), ambos analisando distâncias genéticas para raças exóticas e naturalizadas do nordeste brasileiro.

Para o nosso conjunto de dados genéticos o maior valor de F_{ST} , ou seja, a maior diferenciação genética foi encontrada entre AN e CR, contrariamente ao esperado, dado que a hipótese mais aceita sobre a origem do ecótipo Crespa é na própria raça Angorá, da qual teria se diferenciado ao longo de anos de adaptação local, cruzamentos não controlados com outras raças e sem novas importações desta raça para o Brasil nos últimos 60 anos (G.R.P. Moreira, UFRGS, comunicação pessoal). Já com relação aos dados de microssatélites, CR e SA apresentaram a maior proximidade genética, o que provavelmente seja devido à semelhança fenotípica entre as duas raças onde pode estar havendo um fluxo gênico direcionado, com propósitos produtivos através da intervenção dos proprietários.

Egito e cols. (2002) confirmam o efeito da manipulação humana na estruturação genética das raças domésticas, onde as características adaptativas e de sobrevivência ao ambiente são, muitas vezes, desprezadas pelos pecuaristas. A maior parte dos produtores preocupam-se essencialmente com a concepção mundial de maximização da produção e forte intervenção nos sistemas de produção (ex.: manejo intensivo, controle de instalações,

medicamentos, ração, etc.). De modo geral, nossos resultados demonstram alta diferenciação genética entre os tipos caprinos estudados principalmente quando comparadas a outros trabalhos entre raças exóticas e naturalizadas do nordeste do Brasil (Mariante e cols., 2002; Santos e cols., 2005; Meneses e Cols., 2006 e Oliveira e cols., 2007).

Como os índices de fixação (F_{ST} e R_{ST}) quantificam o grau de diferença genética entre as populações, e neste estudo os valores foram moderadamente altos, podemos inferir a existência de padrões discretos de *clusters* genotípicos entre as raças.

Segundo Pritchard & Wen (2004) para a análise de estruturação populacional através de dados de microssatélites, usando o programa STRUCTURE, o número de grupos pode ser informado *a priori* sem perda de confiabilidade, pois é o conjunto de dados genéticos que definem o k (número de agrupamentos populacionais). Nossa análise foi realizada com essa informação prévia de seis grupos raciais devido à estruturação que já havia sido evidenciada por outros métodos de análise (ex. PCA). Os menores valores de probabilidade posterior (que determinam o valor mais provável de agrupamentos populacionais) variou entre $k=6$ e $k=7$ confirmando que o conjunto de dados contém pelo menos seis grupos geneticamente distintos. Enquanto ALP, AGN, BO, SA, AN tiveram probabilidade acima de 90% de pertencer a um agrupamento específico, os indivíduos de CR indicam porcentagens mais altas de genótipos compartilhados com outros grupos, cerca de 80% de sua identidade está relacionada ao agrupamento VI, mas contém cerca de 7% relacionada tanto ao agrupamento I (ALP) como ao V (AN).

Através da análise da representação gráfica da fração de identidade estimada para cada indivíduo percebe-se que as amostras cuja ancestralidade posiciona-se em outras raças, subdividindo o ecótipo Crespa, são provenientes da população de Barra do Ribeiro. Interessantemente, este rebanho contém a menor homogeneidade fenotípica entre os indivíduos que compõe a população. Este fato seria consequência do reduzido cuidado em relação a cruzamentos com outras raças presentes na propriedade, além da tentativa de modificar as características produtivas das Crespas através do cruzamento com reprodutores de raças comerciais, como relatado pelo proprietário.

Em contrapartida, observamos que a maioria das amostras representantes de CR apresenta um coeficiente de participação individual em um determinado agrupamento (Q) maior de 90%. Isso mostra que este ecótipo pode estar em um processo de estabilização

sob o ponto de vista genético. Um aspecto que pode comprometer tal fato é o fluxo gênico contemporâneo com outras raças, o que poderia colocá-las em risco de descaracterização.

A análise de componentes principais (PCA) é um método exploratório que auxilia na elaboração de hipóteses mais concretas a partir dos dados coletados (Andrade e cols. 2003). Tal método resulta no arranjo que melhor representa a distribuição dos dados, por ser capaz de separar as informações importantes, daquelas redundantes ou aleatórias. A partir dos dados obtidos neste estudo, a diferenciação genética evidenciada pelos componentes principais 1 e 2 foi significativa, onde juntos esses componentes foram capazes de explicar mais de 50% da diversidade genética, valores semelhantes aos encontrados por Oliveira (2007).

A distribuição das raças nos eixos X e Y, da representação gráfica da PCA, reforça alguns resultados já discutidos, observando-se uma clara separação de CR, tanto com relação à BO quanto a AN, recuperando os resultados dos índices de fixação assim como a distância considerável de CR com relação à ALP e AGN. Ressalta-se que todas as raças aparecem como unidades separadas, fato que está evidente também nas análises de inferência bayesianas.

7.4 Relações evolutivas

A partir da análise da rede de haplótipos não foi possível distinguir as diferentes raças, provavelmente pelo tempo de separação não ter sido suficiente para acumular mutações no mtDNA, o que permitiria diferenciá-las. Essa falta de diferenciação racial pode ser atribuída à natureza do marcador e não significa que os dados de sequências sejam insuficientes, apenas não conseguem refletir a origem recente das raças e caracterizá-las como entidades discretas (Bradley, 1996).

A presença de vetores médios, a falta de haplótipos internos e a topologia da rede de haplótipos (*Network*) pode ser resultado de polimorfismos ancestrais (com a perda dos nós ao longo do tempo) ou, os haplótipos faltantes não foram coletados por estarem em uma frequência muito baixa nas populações. Nota-se também que muitos haplótipos são exclusivos para as diferentes raças, o que de certa forma indica uma tendência à diferenciação entre elas. Observa-se três haplótipos mais frequentes. Segundo Avise (2000) se espera que os haplótipos mais antigos estejam em maior frequência que os mais

recentes, sendo mais provável que um haplótipo raro seja derivado de um comum do que de outro raro.

Segundo Luikart e cols. (2001) uma fraca estruturação genética e geográfica é característica de raças domésticas e tem sido atribuída ao extensivo transporte intercontinental destes animais desde o momento da sua domesticação. A fraca diversificação observada entre raças caprinas por meio de mtDNA é suportada, de modo geral, pela hipótese de utilização destes animais como recurso alimentar, ao acompanhar os movimentos migratórios humanos. Como consequência da rápida expansão de populações caprinas em grandes áreas geográficas, houve a estruturação dessa espécie em seis haplogrupos, ou seja, seis possíveis linhagens maternas para caprinos distribuídas através dos continentes. Essa falta de estruturação das raças, tanto genética quanto geográfica, quando pequenas áreas de distribuição são analisadas, tem sido reportada por vários estudos (Amills e cols., 2004; Chen e cols., 2005; Pereira e cols., 2005).

Dentre essas seis possíveis linhagens maternas para caprinos, o haplogrupo A é o mais representativo, tanto considerando o número total de indivíduos como o número de haplótipos, sendo altamente dominante em todos os continentes, dada sua alta frequência em diferentes áreas geográficas (89% na Ásia, 98% na Europa e 100% na África) (Liu e cols., 2007). As análises deste estudo foram concordantes com essa extensiva distribuição de haplótipos pertencentes ao haplogrupo A, provavelmente devido à alta prevalência nesse grupo de haplótipos no sul da Europa de onde provêm às raças que são criadas atualmente no sul do Brasil.

A árvore de ML, para todo o conjunto de dados do nosso estudo, não foi capaz de recuperar as raças em agrupamentos monofiléticos. O grupo externo está bem suportado, mas as raças estão sem estruturação em clados específicos, alguns grupos de indivíduos de uma determinada raça apresentam valores altos de suporte, mas não tem todos os indivíduos dentro do grupo. Para a maioria dos ramos os suportes foram muito baixos. Segundo Bruford e cols. (2003) valores baixos de suporte são esperados porque são raças de uma mesma espécie biológica que divergiram há pouco tempo e em estudos intraespecíficos politomias são esperadas. De fato, politomias são prováveis, principalmente pelo tempo de divergência entre as linhagens.

Por fim, o estoque gênico dos caprinos no sul do Brasil possui uma história recente (poucos séculos), como resultados da introdução desta espécie na América, principalmente

por portugueses e espanhóis durante a colonização. Portanto, essas raças podem não carregar uma identidade genética reconhecível através de certas análises com mtDNA. Já com uso de marcadores microssatélites essa diferenciação possui melhor resolução. Para Tuñón e cols. (1986) e Amills e cols. (2004), raças domésticas são difíceis de distinguir com base apenas em mtDNA já, marcadores nucleares mostram uma estrutura genética mais robusta.

7.5 Implicações para a conservação do ecótipo Crespa

A caracterização genética de pequenos grupos de indivíduos está entre as principais prioridades para estratégias de conservação, e pode ter implicações essenciais em todos os processos seguintes de desenvolvimento de um programa eficiente de gestão de recursos genéticos (Solé-Cava, 2001). As informações geradas neste trabalho retratam o primeiro panorama genético deste ecótipo caprino encontrado exclusivamente no RS, no qual os indivíduos até então são conhecidos informalmente como cabras Crespas, mas tratados comercialmente como pertencentes à raça caprina Angorá, devido principalmente a semelhanças fenotípicas.

Nossos principais resultados referentes à variabilidade genética, estrutura populacional e relações evolutivas das cabras Crespas, revelaram a importância de preservar esse patrimônio genético, onde os traços de singularidade dessas populações tornam relevante o fato de considerá-las reservas gênicas diferenciadas das demais raças comerciais criadas atualmente no RS.

Por se tratar de um ecótipo restrito, atualmente pouco explorado, e tendo em vista seu tamanho populacional máximo, de cerca de 600 indivíduos, é essencial que um plano de gestão seja desenvolvido para que este cenário se mantenha o mais preservado possível. A principal preocupação na conservação destes animais não está relacionada com problemas de variabilidade genética, que resultaram em valores de moderados a altos para ambos os marcadores moleculares, mas a falta de manejo adequado com as populações, pela ausência de prioridade por parte dos proprietários, que possibilitam os cruzamentos com outras raças, como foi verificado especialmente na população de BR. Este aspecto descaracteriza fenotipicamente os animais e pode, em longo prazo, vir a afetar a homogeneidade atual existente nestas populações.

A importância histórica, e as possíveis características genéticas únicas poderão ser insuficientes para incentivar a conservação desta possível nova raça perante os criadores, tornando-se necessária a existência de outros incentivos. Segundo Mariante e cols. (2002) a manutenção de qualquer população doméstica está diretamente relacionada aos proprietários e é importante promovê-la nesse sentido. Será fator determinante a divulgação das ações de manejo mais adequadas, junto aos criadores de modo a envolvê-los como parceiros fundamentais na conservação das Crespas. É importante que estes animais passem a ser vistos como parte integrante da história da região, o que pode contribuir para o aumento do seu valor comercial. É também necessário que estas cabras constituam uma fonte de rendimento onde o valor agregado a este recurso genético possibilite o interesse no aumento dos rebanhos e na manutenção destes como unidades de reprodução separadas, e com isso se mantenha a diversidade genética para que quaisquer riscos de extinção sejam afastados.

A partir desses primeiros resultados já é possível sugerir que esse tipo caprino deve ser considerado prioridade, em políticas de conservação, por se mostrar diferenciado através de análises moleculares robustas. Porém são indispensáveis mais esforços para aumentar o conhecimento, especialmente sobre a genealogia, através de informações de *pedigree*, além de análises do tamanho efetivo populacional através das gerações, de coeficiente de endogamia e caracterização do padrão morfológico. A partir desse conjunto de resultados pode-se efetivamente caracterizar as populações de cabras Crespas como uma nova raça caprina naturalizada junto ao Ministério da Agricultura. Contudo, um passo importante na caracterização genética já tem seus resultados neste estudo, onde um dos principais parâmetros é a singularidade das populações de cabras Crespas e a evidente diferenciação de outras raças caprinas do RS.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Os 11 *loci* de microssatélites analisados neste trabalho apresentaram grande potencial informativo, tanto para a quantificação da variabilidade genética e estruturação nas populações do ecótipo Crespa, quanto na avaliação destes mesmos parâmetros em relação às demais raças caprinas criadas no sul do Brasil.

2. As análises de inferência bayesiana indicaram clara estruturação genética populacional entre as raças, com altos valores de associação para cada uma delas, tendo apenas o ecótipo Crespa mostrado um valor de associação mais baixo devido principalmente a características diferenciadas na população de BR, consequência de um sistema de manejo pouco eficiente e não-prioritário.

3. Em geral os *loci* de microssatélites indicaram moderado fluxo gênico atual entre as raças estudadas. Porém, quando avaliada a estruturação racial a partir dos haplótipos mitocondriais a diferenciação foi baixa, refletindo assim a conectividade histórica e a pouco tempo de separação evolutiva entre as raças de *Capra hircus* criadas no sul do Brasil.

4. A reconstrução filogenética através dos diferentes métodos evidenciaram relações evolutivas pouco profundas entre os haplótipos, podendo ser resultado do pouco tempo de separação entre as diferentes linhagens ou ser devido ao fato de todas as sequências analisadas pertencerem a um único haplogrupo para caprinos, extensamente distribuído em diferentes continentes.

5. Os resultados encontrados em nosso estudo mostram que mesmo em áreas muito distantes a partir do centro de domesticação dos caprinos há um importante componente de diversidade que merece atenção e medidas de conservação. A caracterização de ecótipos locais é muito importante para adequar programas de manejo, permitindo aumento de produção sem perda de adaptação local.

6. Os resultados deste trabalho permitiram inferir um primeiro panorama sobre os rebanhos de caprinos restritos ao RS, visto que, a falta de informações genéticas

sobre populações domésticas está entre as principais limitações na conservação de recursos genéticos animais. Porém a continuação desse estudo é de fundamental importância, pois com os dados aqui obtidos não foi possível demonstrar a origem deste ecótipo como sendo uma versão crioula remanescente da raça Angorá, conforme as poucas informações prévias sugeriam.

7. Se cabra Crespa for algo surgido “*de novo*”, reconhecê-la como raça permitirá a valorização financeira de sua criação e ajudará a evitar a perda do perfil genético específico destes animais e de seus genes, provavelmente adaptados às condições locais. A partir de então será possível realizar uma adequada gestão dos rebanhos, e elaborar um programa de conservação que impeça o desaparecimento da primeira raça caprina autóctone do RS, antes mesmo de ser reconhecida.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adametz L (1943) *Zootecnia General*. Ed. Labor, Madrid, Espanha, 192 p.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (2002) *Biologia molecular da célula*. 4ª edição. Artes Médicas, Porto Alegre, Brasil.
- Allendorf FW, Luikart G (2006) *Conservation and the Genetics of Populations*. Editora Blackwell Publishing, 642 p.
- Almeida AM de, Schwalbach L (2000) Breves considerações sobre a raça caprina Boer. *Veterinária. Técnica-Revista do Sindicato Nacional de Medicina Veterinária, Lisboa-Portugal*, 2: 10-15.
- Amaral AF (1993) *As três sagas de uma longa história*. Porto Alegre, RS: Martins Livreiro, 243 p.
- Amills M, Capote J, Tomas A, Kelly L, Obexer-Ruff G, Angiolillo A & Sánchez A (2004) Strong phylogeographic relationships among three goat breeds from the Canary Islands. *Journal of Dairy Research*, 71: 257-62.
- Andrade MC, Pinto LCM (2003) Classificação de folhas por tamanho e forma através de descritores geométricos e análises dos componentes principais *Anais do IV Workshop em Tratamento de Imagens, NPDI/DCC/ICEx/UFMG*, p. 54-61
- Araújo AM (2004) *Paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microssatélites de DNA*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 90 p. (Tese de Doutorado em Genética e Melhoramento).
- Araújo AM, Guimarães SEF, Machado TMM, Lopes PS, Pereira CS, Silva FLR, Rodrigues MT, Columbiano VS, Fonseca CG (2006) Genetic diversity between herds of Alpine and Saanen dairy goats and naturalized Brazilian Moxotó breed. *Genet. Mol. Biol.*, 29: 67-74.
- Arias MC, Infante-Malachias ME (2001) RFLP: O emprego de enzimas de restrição para detecção de polimorfismos no DNA. In: Matioli, S.R. (ed.). *Biologia molecular e evolução*. Holos, Ribeirão Preto, 14: 143-152.
- Arevalo E, Holder DS, Derr JN et al. (1994) Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP 1, 2, 3, 4 and 5 loci. *Animal Genetics* 25: 202.
- Avice JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohlf A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.

- Barker JSF (1994) A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 5: 501-508.
- Barker JSF, Tan SG, Moore SS (2001) Genetic variation within and relationship among populations of Asian goats (*Capra hircus*). Journal of Animal Breeding Genetics, 118: 213-233.
- Belyaev DK (1979) Destabilizing selection as a factor in domestication. Journal of Heredity, 70: 301-308.
- Bennett LB, Shriver MD e Bowcock AM (1998) Markers and methods for reconstructing modern human history. DNA Sequence, 8 (5): 329-341.
- Berreta E (2001) Ecophysiology and management response of the subtropical grasslands of Southern America. In: GOMIDE, J.A., MATTOS, W.R.S., SILVA, S.C. da (Eds.) XIX International Grassland Congress, Proceedings, p. 939-946.
- Blouin MS, Parsons M, Lacaille V e Lotz S (1996) Use of microsatellite *loci* to classify individuals by relatedness. Molecular Ecology, 5: 393-401.
- Bhebhe E, Kogi J, Holder E, et al. (1994) Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP 6, 7, 8, 9 and 10 loci. Animal Genetics 25: 203.
- Bradley DG, MacHugh DE, Cunningham P and Loftus RT (1996) Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93: 5131-5135.
- Brezinsky LSJ, Kemp and Teale AJ (1993) ILSTS005-a polymorphic bovine microsatellite. Anim. Genet. 2(4): 73.
- Bruford MW e Wayne RK (1993) Microsatellites and their application to population genetic studies. Current Opinion Genetics and Development, 3: 939-943.
- Bruford M, Bradley D, Luikart G (2003) DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. Nat Rev Genet 3: 900–910.
- Bruno-de-Sousa C, Martinez AM, Ginja C, Santos-Silva F, Carolino MI, Delgado JV, Gama LT (2011) Genetic diversity and population structure in Portuguese goat breeds. Livest. Sci., 135: 131–139.
- Buchanan FC, Crawford AM (1992) Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAFz09locus. Anim. Genet. 23: 183.
- Buchanan FC, Swarbrick PA, Crawford AM (1992) Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the W 6 5 locus. Anim.Genet. 23: 85.

- Buchanan FC, Gailoway SM, and Crawford AM (1994) Ovine microsatellites at the *OarFCB5*, *OarFCB19*, *OarFCB20*, *OarFCB48*, *OarFCB129* and *OarFCB226* loci. *Anim. Genet.* 25: 60.
- Calcagnotto D (2001) Taxas de evolução e relógio molecular. In: Matioli, S.R. (ed.). *Biologia molecular e evolução*. Holos, Ribeirão Preto. 551: 63.
- Caldas, EC (1991) *A Agricultura Portuguesa através dos tempos*. Instituto Nacional de Investigação Científica, Imprensa Nacional - Casa da Moeda, Lisboa, Portugal, 653 p.
- Carlett G (1971) *Caprinos no Brasil*. Ed Nobel, São Paulo-SP, 171 p.
- Chaves R, Guedes-Pinto H, Heslop-Harrison J e Schwarzacher T (2000) The species and chromosomal distribution of the centromeric alphasatellite. I sequence from sheep in the tribe Caprini and other Bovidae. *Cytogenet Cell Genet*, 91 (1-4): 62-66.
- Chen SY, Su YH, Wu SF, Sha T, Zhang YP (2005) Mitochondrial diversity and phylogeographic Structure of chinese domestic goat. *Mol Phylogenetic Evol* 37 (3) 804-814.
- Ciofi C & Bruford MW (1999) Genetics Structure and gene flow among Komodo dragon populations inferred by microsatellite loci analysis. *Molecular Ecology* 8: 17-30.
- Clutton-Brock J (2000) Cattle, sheep, and goats south of the Sahara: an archaeozoological perspective. In: Blench RM, MacDonald KC, editors. *The origins and development of African livestock: archaeology, genetics, linguistics and ethnography*. London: UCL Press, 30-37.
- Conceição TR. CAPRISUL, informação pessoal.
- Costa JN (2005) Estudo da diversidade genética de raças caprinas do norte da Itália pela análise de polimorfismo no gene do hormônio de crescimento- GH. Programa de pós graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília: Brasília-DF, 87 p. (Dissertação de Mestrado).
- Curtain, CC (1971) On the origin of domesticated sheep. *Antiquity*, 45: 303-304.
- Danell B (1994) Methods of conservation of farm animals. In: *Genetic Resources in Farm Animals and Plants*. Report from Research Symposium, Ed. The Nordic Council of Ministers, 27-29.
- Doyle JJ, Doyle, JL (1987) A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 9(1): 11-15.
- Egito AA, Mariante AS, Albuquerque MSM (2002) Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. *Archivos de zootecnia, Córdoba*, 51(193): 39-52.

- Embrapa Caprinos (2006) Disponível em: <http://www.cnpc.embrapa.br>. Acesso em: 18/12/2011.
- Excoffier L, Smouse PE, and Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Excoffier, LG Laval, and Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Excoffier L, Heckel G (2006) Computational and Molecular Population Genetics Laboratory, Zoological Institute, University of Berne, Baltzerstrasse 6, 3012 Berne, Switzerland. laurent.excoffier@zoo.unibe.ch.
- FAO (1999) The global strategy for the managements of farm animal genetic resources. Roma, Itália, 43 p.
- FAO (2001) Production Handbook. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 11-17
- FAO (2006) The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture – in brief. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 15/12/2011.
- Fernández H, Taberlet P, Mashkour M and Luikart, G (2005) Assessing the origin and diffusion of domestic goats using ancient DNA. In : Jean-Denis Vigne, Daniel Helmer, Joris Peters, (eds.) *New methods and the first steps of mammal domestication*. Oxford, *Oxbow Books*, 50-54.
- Fernández H, Hughes S, Vigne JD, Helmer D, Hodgins G, Miquel C, Hänni C, Luikart G, Taberlet P (2006) Divergent mtDNA lineages of goats in an Early Neolithic site, far from the initial domestication areas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103: 15375-15379.
- Fernández-Stolz GP (2007) Estudos evolutivos Filogeográficos e de conservação de uma espécie endêmica do ecossistema de dunas costeiras do sul do Brasil, *Ctenomys flamarioni* (Rodentia-Ctenomyidae), através de marcadores moleculares microssatélites e DNA mitocondrial. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS: Porto Alegre, 193 p. (Tese de Doutorado).
- Ferreira ME, Grattapaglia D (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ª edição. Embrapa, Brasília.
- Forbes SH, Hogg JT (1999) Assessing population structure at high levels of differentiation: microsatellite comparisons of bighorn sheep and large carnivores. *Animal Conservation*, 2: 223-233.

- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) Introduction of Genetics of Conservation. Cambridge, Cambridge University Press, 644 p.
- Galal S (2005) Biodiversity in goats. *Small Rum Res.* 60 (1-2): 75-81.
- Georges M., and Massey J (1992) Polymorphic DNA markers in Bovidae, (World Intellectual Property Org., Geneva). WO Publ.No.92/13120.
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O (2010) "New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0." *Systematic Biology*, 59(3): 307-21.
- Glimp HA (1995) Meat goat production and marketing. *Journal of Animal Science* 73: 291±5.
- Gonzalo G, Sánchez JM (2000) Razas caprinas foráneas: Lecheras, de pelo y de otras aptitudes. *Ovis – Aula de Veterinária – Razas caprinas.* 83: 55-64.
- Goudet J (1995) FSTAT: a computer program to calculate F-statistics. *Heredity* 86:485–486.
- Guimarães Filho C (2004) Caprinocultura, produtos e mercado. EMBRAPA - CPATSA.
- Guo SW, Thompson EA (1992) Performing the exact test for Hardy–Weinberg proportion for Hare, MP (2001) Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(2): 700-706.
- Hall SJG and DG Bradley (1995) Conserving livestock breed biodiversity. *Tree*, 10: 267-270.
- Hare MP (2001) Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends Ecol.* 16 (2): 700-706
- Harris DR (1962) The distribution and ancestry of the domestic goat. *Proc. Linn. Soc. London* 173: 79-91.
- Hayes JL (1968) The Angora Goat - Origins, culture and products, Secretary of the National Association of wool manufactures. *Proceedings of the Boston Society of Natural History*, vol XI, march 18:51 p.
- Hemmer H (1990) Domestication. The decline of environmental appreciation. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, 208 p.
- Hillis DM, Moritz C and Mable BK (1996) *Molecular Systematics*. 2nd Edn., Sinauer Associates, Sunderland, MA., USA., 655p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2004) Mapa da vegetação do Brasil e Mapa de Biomas do Brasil. <http://www.ibge.gov.br> ; accessed Dezembro 2011.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2005) Pesquisa da Pecuária Municipal- 2005. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em:15/12/2011.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2006) Censo demográfico de 2006. Rio de Janeiro. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/censos/censo_agropecuario_1995_96/piauí. Acesso em: 20/12/2011.

Igarashi MLSP, Machado TM, Ferro JA, Contel EPB (2000) Estructure and genetic relationship among brazilian naturalized and imported goat breeds. *Biochemical genetics* 38: 353-365.

ISAG. Disponível em: <http://www.isag.org.uk> Acesso em: 15/12/2002.

Jardim WR (1964) Criação de caprinos. Edição Melhoramentos. São Paulo, Brasil.

Johnson WE, Slattery JP, Eizirik E, Kim JH, Raymond MM, Bonacic C, Cambre R, Crawshaw P, Nunes A, Seuánez HN, Moreira MAM, Seymour KL, Simon F, Swanson W and O'Brien SJ (1999) Disparate phylogeographic patterns of molecular genetic variation in four closely related South American small cat species. *Molecular Ecology*, 8: S79-S94

Jukes TH & Cantor CR (1969) Evolution of protein molecules. In Munro HN, editor, *Mammalian Protein Metabolism*, Academic Press, New York, p. 21-132.

Kumar D (2000), DNA markers for the differentiation of farm animal breeds. In: Sahai, R; Vijn, RK (Ed.) *Domestical Animal Diversity : Conservation and sustainable development*. Karnal: SI publications, 305-312.

Kumar S, Tamura K, Nei M (2004) Mega: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, 5: 1-2.

Leite ER (2005) Sistema de produção de caprinos e ovinos de corte no Nordeste Brasileiro. Embrapa Caprinos, 45 p.

Li MH, Zhao SH, Bian C (2002) Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite. *Genetics Selection and Evolution*, 34: 729-744.

- Liu RY, Lei CZ, Liu SH, Yang GS (2007) Genetic diversity and origin of Chinese domestic goats revealed by complete mtDNA D-loop sequence variation. *Asian-australas. J. Anim. Sci.*, 20: 178–183.
- Luikart G, Biju-Duval MP, Ertugrul O, Zagdsuren Y, Maudet C, Taberlet P (1999) Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *International Society for Animal Genetics*, 30: 431-438.
- Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne J-D, Bouvet J & Taberlet P (2001) Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 5927–5932.
- Lush JL (1945) *Animal breeding plans*. 3ª Edição, Iowa State University Press, Ames, EUA, 443 p.
- Ma RZ, Beever JE, Green CA, Russ L (1996) A male linkage map of the cattle (*Bos taurus*) genome. *J. Hered.*(in press).
- MacHugh DE, Bradley DG (2001) Livestock genetic origins: goats buck the trend. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 5382–5384.
- Magdalena S, Jorge HC, Marta M, Ane M-C, Javier C, Carmen G, Juan JJ and Paloma DT (2009) Microsatellite based genetic diversity and population structure of the endangered Spanish Guadarrama goat breed, *BMC Genetics* 10:61 doi:10.1186/1471-2156.
- Mannen H, Nagata Y, Tsuji S (2001) Mitochondrial DNA reveals that domestic goat (*Capra hircus*) are genetically affected by two subspecies of bezoar (*Capra aegagrus*). *Biochemical Genetics*, 39: 145–154.
- Mariante A da S e Cavalcanti N (2000) *Animais do Descobrimento. Raças Domésticas da História do Brasil*. Brasília: Embrapa Sede/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 232 p.
- Mariante A da S & Egito AA (2002) Animal Genetics resources in Brazil: Results of five centuries of natural selection. *Theriogenology*, 57(1): 223-235.
- Martins LF, Pereira MCB, Guimaraes JD e cols. (2005) Avaliação espermática e da concentração de proteínas solúveis no plasma seminal de bodes da raça Alpina em regime de monta controlada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(4): 1653-1659.
- Mason IL (1984) *Goat in Evolution of domesticated animals*, Longman, Nova Iorque, EUA, 452 p.
- Mayr E (1969) *Principles of Systematic Zoology*. New York, NY: McGraw-Hill.

- Meadow RH (1993) Animal domestication in the Middle East: a revised view from the eastern margin. In: Possehl GL (Ed) Harappan Civilization. Oxford and IBH, New Delhi, 295–320.
- Menezes MPC, Martinez AM, Ribeiro MN, Pimenta-Filho EC, Bermejo JVD (2006) Caracterização genética de raças caprinas nativas Brasileiras utilizando 27 marcadores microsatélites. R. Bras. Zootec., 35: 1336–1341.
- Michalakis Y, Excoffier L (1996) A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special interest to microsatellite loci. Genetics, 142: 1061-1064.
- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (2008) Manual de Legislação. Programas Nacionais de Saúde Animal do Brasil. Brasília – DF, 440 p.
- Ministério do Meio Ambiente - MMA (2000) Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Por: Conservation International do Brasil, Fundação SOS Mata Atlântica, Fundação Biodiversitas, Instituto de Pesquisas Ecológicas, Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, SEMAD/ Instituto Estadual de Florestas-MG. Brasília: MMA, 40 p.
- Miranda do Vale J (1949) Gado Bissulco: Suínos, bovinos, arietinos e caprinos. Livraria Sá da Rosa, Lisboa, 418 p.
- Molles MC Jr (2005) Ecology: Concepts and Applications. 3rd edition ed. New York. The McGraw-Hill Companies, Inc., 201 p.
- Moreira GRP (2003) Cabra e a Ovelha no Brasil: uma revisão crítica. Boletim Informativo ABCOC, Porto Alegre, RS, 4: 10-15.
- Moreira GRP, Silva MC (2004) Resgate da raça caprina angorá. CaprInforma, Porto Alegre, 7: 3-4.
- Naderi S, Rezaei HR, Taberlet P, Zundel S, Rafat SA, Naghash HR, Elbarody MAA, Ertugrul O, Pompanon F (2007) Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. PLoS ONE, 2, e1012(doi:10.1371/journal.pone.0001012).
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.
- Nesje M, Roed KH, Lifjeld JT, Lindberg P, Steens OF (2000) Genetic relationships in the falcon (*Falco peregrinus*) analyzed by microsatellite DNA markers. Molecular Ecology, 9: 53-60.
- Oliveira JD (2007) Origem, distribuição e relação genética entre populações de *Capra hircus* do Nordeste do Brasil e suas relações com populações do Velho Mundo. Curso

de pós-graduação em Genética – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto: Ribeirão Preto-SP (Tese de Doutorado).

- Oliveira JD, Igarashi MLSP, Machado TM, Miretti MM, Ferro JA, Contel EPB (2007) Structure and genetic relationships between Brazilian naturalized and exotic purebred domestic goat (*Capra hircus*) breeds based on microsatellites. *Genetics and Molecular Biology (Impresso)*, 30: 356-363.
- Oliveira JCV, Ribeiro MN, Rocha LL, Gomes-Filho MA, Delgado JV, Martinez AM, Menezes MPC, Bettencourt CM, Gama LT (2010) Genetic relationships between two homologous goat breeds from Portugal. *Small Ruminant Research*, 93: 79-87.
- Palhares JCP (2005) Sistemas de produção de frangos de corte, <http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaodeFrangodeCorte/Preservacao.html>.
- Palumbi SR (1996) Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. In: Hillis, D.M.; Moritz, C. e Mable, B.K (eds.). *Molecular systematics*. 2º edição. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA, 205-247.
- Pereira F, Pereira L, Van Asch B, Bradley DG, Amorim A (2005) The mtDNA catalogue of all Portuguese autochthonous goat (*Capra hircus*) breeds: high diversity of female at the western fringe of European distribution. *Mol Ecol* 14: 2313–2318.
- Pereira GM (2008) Avaliação do Comportamento Fisiológico de Caprinos da Raça Saanen no Semi -árido paraibano. Universidade Federal de Campina Grande - Centro de saúde e tecnologia rural unidade acadêmica de medicina veterinária campus de Patos.Patos-PB,33 p.(Monografia).
- Peters J, Von den Driesch A and Helmer D (2005) The First Steps of Animal Domestication: New Archaeozoological Approaches (Proceedings of the 9th ICAZ Conference). Vigne JD, Helmer D and Peters J (eds) Oxbow Books, Oxford, 96–124.
- Porter V (1996) *Goats of the World*. London: Farming Press, 151-156.
- Porto ML (1991) Os Campos Sulinos. Subsídio técnico para elaboração do relatório nacional do Brasil para conferência das Nações Unidas sobre meio ambiente e desenvolvimento– UNICED 92.
- Posada D and Crandall KA (1998) Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14 (9): 817-818.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly PJ (2000) Inferences of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.
- Raymond M, Rousset F (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution*, 49: 1280–1283.

- Ribeiro AC, Queiróz SA, Lui JF, Ribeiro SDA, Resende KT (2000) Genetic and phenotypic parameters estimates of production traits and genetic trend of milk yield of Saanen goats in Southeast of Brazil. *Ars Veterinaria*, London, 16(3): 198-203.
- Rice W (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- Ryder ML (1984) Sheep. *In: Evolution of domestic animals*. I.L. MSON (Ed), Longman, Londres, Reino Unido, 63-85.
- Saitbekova N, Gaillard C, Ruff GO (1999) Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics*, 30: 36-41.
- Santigo AA (1975) Os cruzamentos na Pecuária Bovina. Instituto de Zootecnia, São Paulo.
- Santos FCB, Souza BB, Alfaro CEP, César MF, Pimenta Filho EC, Acosta AAA, Santos JRS (2005) Adaptabilidade de caprinos exóticos e naturalizados ao clima semi-árido do Nordeste brasileiro. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 29(1): 142-149.
- Santos RA (1987) A cabra e a ovelha no Brasil. Uberaba, MG: Ed. Agropecuária Tropical Ltda. 479 p.
- Schlötterer C (1998) Microsatellites: In: Hoelzel, AR (ed). *Molecular genetics analysis of populations. A practical approach*. Oxford: IRL Press.
- Schneider S, Kueffer JM, Roesli D e Excoffier L (2000) Arlequin 2.1: A software for population genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labelling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 233-234.
- Simplício AA, Freitas VJF, Fonseca JF (2007) Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. *Rev. Bras. Reprodução Animal*, 31(2): 234-246.
- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations evolution, 47: 264-279.
- Snyman MA (2004) Mohair production and reproduction of Angora and Angora · Boer goat genotypes in a sub-optimum environment. *Small Rumin Res*, 53: 75-87
- Swofford DL (1998) PAUP, Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Sinauer, Massachusetts.
- Taberlet P, Luikart G (1999) Non-invasive sampling and individuals identification. *Biological Journal of the Linnean Society* . 68: 41-55.

- Taberlet P, Valentini A, Rezael HR, Naderi S, Pompanon F, Negrini R, Ajmone-Marsan P (2008) Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Mol. Ecol.* 17:275–284.
- Tavaré S (1986). "Some Probabilistic and Statistical Problems in the Analysis of DNA Sequences". *Lectures on Mathematics in the Life Sciences (American Mathematical Society)* 17: 57-86.
- Templeton AR (1998) Human races: A genetic and evolutionary perspective. *Am. Anthropol*, 100: 632–650.
- Toldo SS (1993) Physically mapped, cosmid-derived microsatellite markers as anchor loci on bovine chromosomes. *Mammalian Genome*. 4(12): 720
- Tuñón MJG (1986) Estrutura e interrelaciones genéticas de 14 agrupaciones caprinas (*C. hircus*) autóctonas españolas, estimadas mediante 14 sistemas genéticos sanguíneos. Universidade de León, Leão, Espanha (Tese de doutoramento).
- Turmbull PF e Reed CA (1974) The fauna from terminal Pleistocene of Palegawra cave, a Zarziam occupation site in Northeastern Iraq. *Fieldiana. Anthropology*, 3: 81-146.
- Vaiman D, Mercier DA (1994) Set of 99 cattle microsatellites: characterisation, syntenic mapping, and polymorphism. *Mammalian Genome*, 5: 288-297.
- Vieira LS e Cavalcante ACR (1998) Resistência antihelmíntica em nematóides gastrintestinais de caprinos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 20(3): 112-117.
- Vigilant L, Pennington R, Harpending H, Kocher TD and Wilson AC (1989) Mitochondrial DNA sequence in single hairs from a southern African population. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 9350-9354.
- Visser C, van Marle-Köster E, Friedrich H (2011) Parentage verification of South African Angora goats, using microsatellite markers: Department of Animal and Wildlife Sciences, University of Pretoria, Pretoria 0002, South Africa. *Anim. Sci.* 41(3): 250-255.
- Waits L, Taberlet P, Swenson JE, Sandegren F, Franzen R (2000) Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctus*). *Molecular Ecology*, 9: 421-431.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.

- Wyner YM, Amato G e Desalle R (1999) Captive breeding, reintroduction, and the conservation genetics of black and white ruffed lemurs, *Varecia variegata variegata*. *Molecular Ecology*, 8: 107-115.
- Yang L, Zhao SH, Li K (1999) Determination of relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Animal Genetics*, 30: 452-456.
- Zeder MA and Hesse B (2000) The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountain 10,000 years ago. *Science*, 287: 2254–2257.
- Zeder MA, Emshwiller E, Smith BD, Bradley DG, eds (2005) *Documenting Domestication* (Univ of California Press, Berkeley).
- Zeder MA (2005) The First Steps of Animal Domestication: New Archaeozoological Approaches (Proceedings of the 9th ICAZ Conference). Vigne JD, Peters J and Helmer D. *Oxbow Books*, Oxford, 125–146.
- Zilhão J (2001) Radiocarbon evidence for maritime pioneer colonization at the origins of farming in west Mediterranean Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 98: 14180–14185.