



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DAS RAÇAS
NATURALIZADAS DE SUÍNOS NO BRASIL POR
MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES**

Bruna Pena Sollero

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO/2006

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DAS RAÇAS NATURALIZADAS DE SUÍNOS NO
BRASIL POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES**

Bruna Pena Sollero

ORIENTADOR: Arthur da Silva Mariante
CO-ORIENTADOR: Samuel Rezende Paiva

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PUBLICAÇÃO: 242/2006

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO/2006

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DAS RAÇAS NATURALIZADAS DE SUÍNOS NO
BRASIL POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES**

Bruna Pena Sollero

**DISSERTAÇÃO DE Mestrado submetida à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de
Brasília, como parte dos requisitos necessários à
obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias na área
de concentração de disciplinas de produção animal.**

**Samuel Rezende Paiva, Dr. (EMBRAPA Recursos Genéticos e
Biotecnologia)
(CO-ORIENTADOR) CPF: 078.189.507-37
E-mail: samuel@cenargen.embrapa.br**

APROVADA POR:

**Arthur da Silva Mariante, Ph.D. (EMBRAPA Recursos Genéticos e
Biotecnologia)
(ORIENTADOR) CPF: 123.483.920-20
E-mail: mariante@cenargen.embrapa.br**

**Simone Eliza Facioni Guimarães, Dr. (Universidade Federal de Viçosa)
(EXAMINADOR EXTERNO) CPF: 263.260.432-04
Email: sfacioni@ufv.br**

**Concepta McManus Pimentel, Ph.D. (UnB)
(EXAMINADOR INTERNO) CPF: 688.272.881-04
Email: concepta@unb.br**

BRASÍLIA/DF, 10 de Novembro de 2006.

FICHA CATALOGRÁFICA

Sollero, Bruna Pena

Diversidade genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil por meio de marcadores microssatélites. / Bruna Pena Sollero; orientação de Arthur da Silva Mariante – Brasília, 2006.

87 p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2006.

1. Caracterização genética. 2. Conservação. 3. Estrutura populacional. I. Mariante, A. da S. II. Ph.D.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOLLERO, B. P. **Diversidade genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil por meio de marcadores microssatélites**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2006, 87 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Bruna Pena Sollero

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Diversidade genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil por meio de marcadores microssatélites.

GRAU: Mestre

ANO: 2006

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Bruna Pena Sollero

052.495.946-38

Rua Tiradentes, 407. Bairro João Brás

36570-000- Viçosa-MG - Brasil.

(031) 3891-5118. bruna@cenargen.embrapa.br

A meus pais Paulo e Dolores,
Verdadeiros exemplos de amigos e educadores... das mais
admiráveis virtudes!
Dou-lhes o sorriso que trago em minha face. O sorriso do trabalho,
da luta, do carinho, da crença, da esperança e da concretização;
que vocês tanto contribuíram para que se despertasse!

Às minhas irmãs Bianca e Bárbara,
Nascidas iluminadas!
Que reluziram meu caminho de alegria e
coragem...

Todo o meu amor!

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília e à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelo suporte técnico-científico;

À Capes, pela concessão de um ano de bolsa de estudos;

Ao meu orientador Mariante, pelos valiosos conhecimentos adquiridos, pela confiança, boa vontade, orientação e amizade;

Ao meu co-orientador Samuel, pela orientação, por todas as exigências, oportunidades de crescimento profissional e pessoal e pela amizade;

À Dany, pelas palavras de incentivo, amizade de tanto tempo e toda a ajuda dispensada, que contribuiu em grande parte para a realização deste trabalho.

À professora Simone Eliza Facioni Guimarães, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa pela participação na banca de tese, pela coleta das amostras da raça Piau e, juntamente com o Dr. Max Rothschild, coordenador do USDA Pig Genome Project (Iowa State University), pela doação de alíquotas dos *primers* utilizados neste trabalho;

Ao Dr. Dário Grattapaglia, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pela permissão do uso dos Seqüenciadores Automáticos do Laboratório de Genética Vegetal;

À professora Concepta McManus Pimentel da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília pela amizade e participação na banca de tese;

Aos pesquisadores da área de Conservação de Recursos Genéticos Animais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Sílvia, Andréa e Socorro, pela colaboração e participação; ao Zé Roberto, pelo interesse e atenção de sempre;

Ao querido Manoel, ao “Japão”, Pedro, à professora Luci Sayori Murata da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília e ao José Lopez Germano (EMATER-DF), pela contribuição e participação nas coletas;

A todas as instituições que contribuíram com a concessão de amostras: Universidade Federal de Viçosa, Embrapa Suínos e Aves, Embrapa Pantanal e Universidade Federal Rural de Pernambuco;

A todos os produtores rurais e ao pessoal do PCB (Carminha, Carol, Vinícius e Sávio)... obrigada pela credibilidade e ajuda imprescindível;

Às amigas Carla (mestre das dicas infalíveis) e Carol (minha “sósia” querida), pelas palavras certas na hora exata e pelo prazer de nossa convivência. Minhas fiéis companheiras do trabalho, “happy-hours”, “rock’s”, Km’s percorridos....tudo!

Aos amigos Léo e César, pela sincera amizade desde o início, pelos reconhecimentos, carinho e “idéias” compartilhadas... E a todos os outros colegas do LGA ainda presentes ou que já tive o prazer de trabalhar por algum tempo: Lígia, Gabriel, Emanuel, Angélica, Vanessa...

Aos novos amigos conquistados “nesta Brasília”: Jú, Marina, Karen, tantos outros... ; e todos aqueles de Viçosa (MG): Jana, Flavinha, Júlia, Fredinho, Maira, Mari, Jú Coura, e mais uma “penca”... pelos momentos de alegria, pela confiança e apreço... Que abasteceram minhas energias a cada (re) encontro;

À Gessilda, amiga e conselheira... Contribuição fundamental para o meu crescimento durante esse tempo;

De todo o coração....

À minha mãe, mulher maravilha!!! Pela doce e sábia “presença”, zelo, amparo e amizade, insubstituíveis. Por toda abdicação... por tuuuudo!

A meu querido pai... Pelas palavras de incentivo, pela oportunidade de um “cantinho ajeitado”, pelas preocupações e exemplos de perseverança e honestidade;

Às minhas irmãs “gatonas”, pela admiração, amizade e força que tanto me incentivou;

Um imenso obrigado... Aos meus avós Antônio e Doninha; pelo aconchego do lar, pelo acolhimento, ajuda e atenção de sempre.

Vôzinho... aprender com você a “voar por cima dos gelos, das pedras agriçadas, por cima de um Mundo que até parece ser pequeno, em asas de fogo e mãos de fada”... tem sido mais uma bela e importante lição de vida pra mim!

Ao Vô Domingos que descansa em paz, e à querida Vó Lica que tanto rezou por mim também.

A todos os meus queridos tios(as) e primos(as) e, em especial, ao grande tio Fernando.... pela doce e sincera amizade confortante e infalível!!!

Ao inigualável “Céu de Brasília”... e

A Deus... Meu fiel escudeiro!!! Pela guia, escuta e proteção de todo dia.

“Ensinaí-nos Senhor, a servir como merecéis, a darmos sem avaliar o custo, a lutarmos sem considerar os ferimentos, a trabalharmos sem buscar descanso, a esforçarmo-nos sem procurar recompensa, a não ser pelo fato de saber que fazemos vossa vontade.”

SANTO INÁCIO DE LOYOLA

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Raças naturalizadas de suínos no Brasil	3
2.2. Conservação genética	11
2.3. Diversidade genética e estrutura populacional	15
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo geral	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
Capítulo Único: Diversidade genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil por meio de marcadores microssatélites	
RESUMO	27
ABSTRACT	28
1. INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1. Amostragem	30
2.2. Processamento, armazenamento das amostras, extração e quantificação do DNA	31
2.3. Marcadores utilizados e padronização das reações de PCR	33
2.4. Eletroforese capilar e genotipagem	37
2.5. Análises estatísticas	38
2.5.1. Análise qualitativa	38
2.5.2. Análise quantitativa	39
2.5.2.1. Variabilidade intra-racial	39
2.5.2.2. Variabilidade inter-racial	40
2.5.2.3. Estrutura de populações e certificação racial	41
2.5.2.4. Variabilidade intra-populacional	42
2.5.2.5. Variabilidade inter-populacional	43
3. RESULTADOS	44
3.1. Análise qualitativa	44
3.2. Análise quantitativa	46
3.2.1. Variabilidade intra-racial	46
3.2.2. Variabilidade inter-racial	51
3.2.3. Estrutura de populações e certificação racial	54
3.2.4. Variabilidade intra-populacional	62
3.2.5. Variabilidade inter-populacional	62
4. DISCUSSÃO	64
4.1. Análise qualitativa	64
4.2. Análise quantitativa	65
4.2.1. Variabilidade intra-racial	65
4.2.2. Variabilidade inter-racial	70
4.2.3. Estrutura de populações e certificação racial	72
4.3. Conservação genética de suínos no Brasil	75
5. CONCLUSÕES	80
6. PERSPECTIVAS	81
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1. Grupos genéticos utilizados nas análises de microssatélites, localidades amostradas, estado, sexo, tipo de material biológico coletado (MB) e respectivas siglas e número de animais (N).	31
Tabela 2. Cromossomo de origem (Cr), seqüências dos <i>primers</i> , referências e parâmetros experimentais (tipo de fluorescência existente em cada um dos locos; variação de tamanho dos alelos; temperatura de anelamento; concentração de cloreto de magnésio; número de ciclos no termociclador) e indicação dos locos que foram tipados simultaneamente no seqüenciador automático (Multiplex) para 24 marcadores de microssatélites usados nas raças de suínos no Brasil.	35
Tabela 3. Protocolos de preparo dos <i>mix's</i> para análise de fragmentos nos Seqüenciadores Automáticos ABI 3100 e ABI 3700.	48
Tabela 4. Número de indivíduos amostrados (N), número médio de alelos (Nm) e número de alelos específicos encontrados em determinadas amplitudes de frequências alélicas (1-10%, 11-30% e 31-50%) em cada um dos doze grupos genéticos e da espécie <i>Tayassu tajacu</i> analisados com 24 locos de microssatélites.	45
Tabela 5. Diversidade genética dos 24 locos de microssatélites utilizados em cinco grupos genéticos de suínos do Brasil. Localização dos locos no genoma suíno (cromossomos - Cr), número de alelos por loco (Na), heterozigosidade observada (Ho), heterozigosidade esperada (He), conteúdo de informação polimórfica (PIC), probabilidades de exclusão 1 (PE1) e 2 (PE2), número efetivo de alelos (Ne), porcentagem de indivíduos tipados (IT), riqueza alélica (RA), valores de p obtidos nos testes de Equilíbrio de Hardy-Weinberg para Déficit de heterozigotos (EHW1) e Excesso de heterozigotos (EHW2) e erros padrão para cada valor de p entre parêntese.	48
Tabela 6. Diversidade genética intra-raacial para os cinco grupos genético de suínos obtida a partir de 24 locos de microssatélites. Número de amostras (N), heterozigosidade observada (Ho), heterozigosidade esperada (He), número de alelos identificados (Na), número médio de alelos por raça (Nm), número de alelos efetivos (Ne), conteúdo de informação polimórfica (PIC), probabilidades de exclusão 1 (PE1) e 2 (PE2), porcentagem de indivíduos tipados (%IT), porcentagem de desequilíbrio de ligação (%DL) para todos os pares de locos ($p < 0,01$), coeficiente de endogamia ao nível de indivíduo dentro de cada raça (F_{IS}), valores de p obtidos nos testes de Equilíbrio de Hardy-Weinberg para Déficit de heterozigotos (EHW1) e Excesso de heterozigotos (EHW2) e erros padrão para cada valor de p entre parênteses.	50
Tabela 7. Coeficiente de endogamia dentro das populações (F_{IS}), do conjunto das populações (F_{IT}) e coeficiente de parentesco entre indivíduos de populações diferentes (F_{ST}) para cada loco analisado. Intervalos de Confiança (IC) em nível de 99%, estimados a partir de reamostragem por <i>bootstrapping</i> .	51

Tabela	Página
Tabela 8. Matriz de valores correspondentes ao índice F_{ST} obtidos entre os possíveis pares de cinco grupos genéticos de suínos analisados.	52
Tabela 9. Matriz de distância D_A com os respectivos valores para os possíveis pares de cinco grupos genéticos de suínos analisados.	53
Tabela 10. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para 182 indivíduos amostrados entre os cinco grupos genéticos estudados. Graus de liberdade (gl); soma de quadrados (SQ); componentes de variância (CV).	54
Tabela 11. Proporção de indivíduos de cada um dos cinco grupos genéticos analisados em relação às sete populações inferidas pelo programa STRUCTURE.	56
Tabela 12. Diversidade intra-populacional considerando cada sub-população das raças Piau (Distrito Federal - DFpiau e Minas Gerais - MGpiau) e Monteiro (Distrito Federal - DFmonteiro e Pantanal-MTmonteiro). Heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), número efetivo de alelos (N_e), coeficiente de endogamia ao nível de indivíduo dentro de cada população (F_{IS}) e valores de p obtidos nos testes de equilíbrio de Hardy-Weinberg para Déficit de heterozigotos (EHW1) e Excesso de heterozigotos (EHW2) e erros padrão para cada valor de p entre parênteses.	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Frequência de alelos diagnósticos encontrados no loco S0227 para todos os grupos genéticos analisados. A cor amarela identifica a frequência do alelo específico de 238pb na raça Moura.	46
Figura 2. Dendrograma UPGMA baseado na distância D_A com os respectivos valores de <i>bootstrapping</i> em cada grupamento.	52
Figura 3. Análise de componentes principais de cinco grupos genéticos de suínos brasileiros baseada nos valores de F_{ST} obtidos a partir de 24 locos de microssatélites. Valores de <i>bootstrapping</i> foram obtidos para realizar o teste de significância para cada eixo (41%, eixo X e 33,24%, eixo Y)	54
Figura 4. Gráfico com os valores de probabilidades individuais obtidos para $K=2$.	55
Figura 5. Gráfico com os valores de probabilidades individuais obtidos para $K=3$.	55
Figura 6. Gráfico com os valores de probabilidade individuais obtidos (matriz Q) para os cinco grupos genéticos de suínos analisados. Os grupos genéticos estão separados pelas linhas negras verticais.	56
Figura 7. Número de indivíduos (eixo Y) em cada um dos cinco grupos genéticos analisados que apresentam compartilhamento de alelos com outras raças de acordo com as probabilidades apresentadas (eixo X): MS60 (A) e Landrace (B).	60
Figura 8. Número de indivíduos (eixo Y) em cada um dos cinco grupos genéticos analisados que apresentam compartilhamento de alelos com outras raças de acordo com as probabilidades apresentadas (eixo X): Moura (A), Piau (B) e Monteiro (C).	61
Figura 9. Dendrograma UPGMA baseado na distância D_A com os respectivos valores de <i>bootstrapping</i> em cada grupamento.	63

DIVERSIDADE GENÉTICA DAS RAÇAS NATURALIZADAS DE SUÍNOS NO BRASIL POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

RESUMO

Em uma primeira etapa, foi analisada a distribuição das frequências alélicas, por meio de 24 marcadores microssatélites, em doze grupos genéticos representantes da espécie *Sus scrofa*, além de um animal da espécie *Tayassu tajacu*, totalizando 205 animais. Posteriormente, com os mesmos marcadores, estimou-se a diversidade genética intra e inter-racial em cinco dos doze grupos genéticos representados por três raças naturalizadas de suínos do Brasil (Moura, Piau e Monteiro), uma raça comercial (Landrace) e um composto comercial (MS60). Foi ainda testada a existência de estruturação genética dentro dos últimos cinco grupos mencionados, totalizando 182 indivíduos. Os resultados desta segunda análise mostraram que 15,73% da variação total ($p < 0,001$) observada foi em razão das diferenças inter-raciais. Com base no dendrograma, obtido a partir da distância D_A de Nei e o método de agrupamento UPGMA, foi possível diferenciar três grupos. O primeiro representado pela raça comercial Landrace e o composto MS60, o segundo por duas raças naturalizadas (Piau e Monteiro), e o terceiro pela raça naturalizada Moura. A análise da variabilidade intra-racial indicou que a raça Piau obteve o maior valor de heterozigosidade dentre as naturalizadas, enquanto que a raça Landrace apresentou os maiores valores dentre as comerciais. A partir de uma análise bayesiana, foi possível identificar uma sub-estruturação somente dentro das raças Monteiro e Piau. Desta forma, foram observados para estas duas raças os menores valores de probabilidade de certificação racial e uma diferenciação genética significativa entre as raças Moura, Landrace e o composto MS60. O painel de marcadores microssatélites utilizados apresentou alta precisão (99,99%) para ser utilizado na exclusão de paternidade, inclusive em raças naturalizadas de suínos e se mostrou efetivo para ser usado como ferramenta importante para o manejo e conservação das raças naturalizadas de suínos.

Palavras-chave: caracterização genética, conservação, estrutura populacional.

GENETIC DIVERSITY OF NATURALIZED BRAZILIAN PIG BREEDS USING MICROSATELLITE MARKERS

ABSTRACT

On a first step, it was analyzed the allelic distribution with 24 microsatellites loci in twelve genetic groups representing the *Sus scrofa* species and one animal of the species *Tayassu tajacu*, come down to 205 animals. After that, with the same microsatellite loci, the genetic diversity was estimated within and between five of the twelve genetic groups, represented by three naturalized Brazilian pig breeds (Moura, Piau and Monteiro), one commercial breed (Landrace) and one composite (MS60). It was also tested the existence of a genetic structure within these five groups, with a total of 182 individuals. The results of this second analysis showed that 15.73% of the total variation ($p < 0,001$) observed was due to differences between breeds. Based on the dendrogram obtained from the D_A Nei's distance and the clustering method UPGMA, it was possible to differentiate three groups. The first one was formed by the commercial breed Landrace and the composite MS60, the second by two of the naturalized breeds (Piau and Monteiro) and the third by Moura naturalized breed. The analysis of the within breed variability indicated that the Piau breed presented the highest value of heterozigosity among the naturalized breeds, whereas the Landrace presented the highest value between the commercial ones. Using a baeyesian analysis, a substructure was identified only within the Monteiro and Piau breeds. In such a way, that the lower values for breed certification probability were observed for these two breeds and a significant genetic differentiation between the Moura and Landrace breeds and the composite MS60. The microsatellite marker panel showed used high precision (99.99%), also when used paternity exclusion in naturalized pig breeds and showed to be effective to be used as an important tool for the management and conservation of the naturalized pig breeds.

Key words: genetic characterization, conservation, population structure.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A carne suína é a mais consumida no mundo e o Brasil, em 2005, foi classificado como quarto colocado no ranking de produção, perdendo apenas para a China, União Européia e Estados Unidos (Giroto & Mieli, 2005). Aumentos na produtividade, em torno de 15% ao ano, em um ritmo de produção superior ao da carne bovina (SNAdebate, 2004), e maiores pesos de abate dos plantéis mundiais são uma realidade dos últimos sete anos. Como consequência do expressivo desempenho econômico, é esperado um crescimento de 4,5% na produção neste ano de 2006, podendo atingir 2,82 milhões de toneladas (122 mil toneladas a mais do que 2005) (ABIPECS, 2006). É, portanto, um mercado promissor que se encontra intimamente ancorado na competitividade, qualidade de carcaça e parâmetros higiênico-sanitários, sendo capaz de corresponder às exigências do consumidor.

Segundo Cavalcanti (2000), os primeiros suínos do Brasil foram advindos da Península Ibérica na época do descobrimento. A partir daí, sofreram influência de inúmeros fatores, agruparam-se independentemente e, com o passar dos séculos, formaram as raças locais ou naturalizadas. Dentre as raças naturalizadas de suínos criadas no país podem ser citadas o Piau, Nilo, Pirapetinga, Tatu, Canastra, Canastrão, Caruncho, Moura, Monteiro, Pereira, Canastra, Canastrão e o fenótipo Casco de Mula (Mariante *et al.*, 2003a). Essas raças foram apreciadas e exploradas por muito tempo pela população, no entanto, no início do século XX, a necessidade de aumentar a produção no Brasil, como aconteceu na Europa, fez com que se desse início ao “melhoramento genético” dessas raças primitivas por meio da importação de raças exóticas, do tipo carne, que foram utilizadas em cruzamentos absorventes sobre as raças naturalizadas. Assim, entre 1930 e 1960 foram importadas raças como: Berkshire, Tamworth, Large Black, Large White, Wessex e Hampshire (Cavalcanti, 2000). Esses cruzamentos contribuíram expressivamente para a redução da diversidade genética, com a perda de genes individuais e de combinações particulares de genes.

Somado a isto, atualmente, é visível a ineficiência nas formas de exploração e/ou nos cruzamentos programados de forma errônea e sem orientação, que agravaram esta realidade. As discrepâncias na caracterização racial e na denominação dos grupos reduzem, de uma forma geral, a quantidade de informações disponíveis sobre as diversidades genética e funcional das raças de suínos (Rothschild, 2003), além de criarem uma grande dificuldade na interpretação e organização dos poucos levantamentos efetuados; limitando o progresso de pesquisas nesta espécie.

Considerando o valor histórico, cultural e econômico das raças naturalizadas, cuja real importância para a sustentabilidade da suinocultura extensiva brasileira ainda não foi suficientemente avaliada, a diversidade genética é um critério essencial para determinar prioridades em programas de conservação. Há, portanto, uma necessidade de se manter a diversidade genética máxima desta espécie, precavendo-se de necessidades imprevistas e cruciais para o futuro desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Raças naturalizadas de suínos do Brasil

A domesticação da espécie suína provavelmente ocorreu há 9.000 anos atrás por meio da influência de populações locais de suínos selvagens (Bökönyi, 1974), e dois tipos principais de suínos domésticos foram identificados por Darwin (1868), sendo um do tipo europeu (*Sus scrofa*) e outro Asiático (*Sus indicus*). De fato, existe uma dualidade quanto à origem dos suínos, onde por um lado se afirma uma descendência singular a partir da espécie *Sus scrofa*, ou origem dupla (*Sus scrofa* e *Sus indicus*). Entretanto, sabe-se que sua origem se deu há mais de 65 milhões de anos e pelo menos 16 subespécies já foram identificadas (Ollivier, 1998).

Os primeiros suínos a chegarem às Américas foram provavelmente trazidos por Cristóvão Colombo, em sua viagem a Santo Domingo, em 1493. No Brasil, os primeiros exemplares foram introduzidos por Martim Afonso de Souza, e eram representantes das raças portuguesas (Alentejana e Bísara), espanholas (Galega e Perijordina), italiana (Napolitana) e asiática (Macau) (Castro *et al.*, 2002), que influenciaram a formação das atuais raças nacionais de suínos brasileiras. Desta forma, estudos que possam estabelecer uma clara diferenciação entre as distintas variedades e uma completa caracterização de cada uma delas nos âmbitos morfológico, funcional e principalmente genético, serão de grande valia na identificação de semelhanças e diferenças entre raças de diferentes países, obtendo melhores explicações sobre suas origens evolutivas, bem como seus antecessores, possivelmente comuns entre algumas raças.

Devido ao fato destas raças ainda serem pouco estudadas, principalmente no Brasil, o uso de descritores, que consigam distinguir os grupamentos raciais de ordem morfológica relacionadas invariavelmente ao exterior do animal podem caracterizar fenotipicamente os diferentes tipos raciais (EMBRAPA, 1990). Assim, aspectos como cor da pelagem, presença ou não de cerdas, tipo de perfil e de orelhas, são os mais utilizados na

caracterização fenotípica dos suínos. Uma caracterização fenotípica baseada nestes parâmetros foi realizada em algumas das raças brasileiras naturalizadas de suínos encontradas no estado de Pernambuco (Silva *et al.*, 2006). Os autores não descartaram a necessidade de uma caracterização a nível molecular para que a diversidade genética existente possa ser efetivamente mensurada.

As raças naturalizadas de suínos mais representativas e conhecidas no Brasil serão descritas a seguir. Como atualmente todas as raças naturalizadas encontram-se ameaçadas de extinção, seus efetivos populacionais são muito reduzidos, o que faz com que a maioria das referências bibliográficas aqui utilizadas para descrevê-las sejam bastante antigas, refletindo a época em que essas raças predominavam no Brasil.

Piau



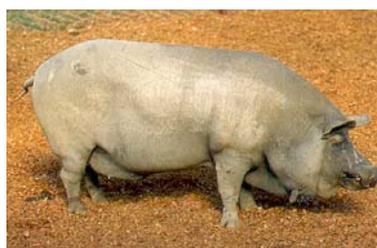
A raça Piau é considerada a melhor e mais importante raça naturalizada nacional (Cavalcanti, 1984). Há indícios de que esta raça originou-se na zona compreendida pelo sul de Goiás, Triângulo Mineiro e Oeste de São Paulo. A maior concentração da raça está situada na bacia do rio Paranaíba, e foi considerada a raça mais freqüente encontrada por Castro *et al.* (2002) no Distrito Federal.

A palavra Piau, de origem indígena, significa malhado ou pintado. Para o leigo, todo o porco de fundo branco e malhas pretas (ou escuras), redondas ou irregulares, é um Piau. Existem, no entanto, Piaus grandes, médios e pequenos. Os animais apresentam um perfil retilíneo ou subcôncavo, focinho de comprimento mediano e pouca papada, orelhas do tipo ibérico, pele escura

com cerdas lisas, abundantes e uniformemente distribuídas pelo corpo. Pode ser considerado como uma variedade do porco Canastrão, e alguns técnicos afirmam ser fruto do cruzamento entre porcos Canastra e reprodutores das raças Polland-China e Duroc-Jersey. Segundo Vianna (1956) os animais Piau mais bem caracterizados são aqueles que possuem porte grande e uniformidade de coloração e tipo. Os animais representantes desta raça são pouco exigentes quanto ao manejo, e aconselháveis para utilização em cruzamentos que visem produção de carne.

A seleção do porco Piau foi iniciada na Fazenda Experimental de Criação de São Carlos, São Paulo, em 1939. O rebanho utilizado proveniente de São Paulo, Goiás e Triângulo Mineiro, foi suficiente para o desenvolvimento de trabalhos em melhoramento genético com a finalidade de conseguir um animal de dupla utilidade, isto é, carne e toucinho (Vianna, 1956). Outros estudos com esta raça também vêm sendo desenvolvidos desde 1998 na Universidade Federal de Viçosa (MG), onde são cruzados com raças comerciais visando produção e avaliação de linhagens segregantes (Guimarães *et al.*, 2002).

Nilo



Embora não se conheça com exatidão a origem do porco Nilo, sua semelhança com o Alentejano de Portugal e com o ibérico da Espanha, leva a crer que tenha se originado dessas duas raças.

No levantamento realizado no Distrito Federal já mencionado (Castro *et al.*, 2002), foi a segunda raça mais encontrada. São porcos de tamanho médio, que apresentam ausência de cerdas, corpo de cor preta e ossatura fina. Apresentam grande capacidade de engorda, podendo atingir um peso vivo

entre 180 e 200 kg e um percentual de gordura entre 65 e 69%. Embora a quantidade de carne produzida seja pequena, é de excelente qualidade (Athanassof, 1932). Também chamado de porco Nilo - Canastra, apresenta perfil sub-côncavo, com orelhas do tipo Ibérico pouco acentuado. Por sua grande rusticidade e facilidade de manejo alimentar, o Nilo é uma raça muito indicada para sistemas simples de produção. Uma avaliação a nível de caracterização fenotípica realizada em municípios do Estado de Pernambuco sobre esta raça, foi considerada pouco relevante, pois apenas um exemplar foi amostrado, e constatou-se uma baixa ocorrência desta raça na região (Silva *et al.*, 2006).

Pirapetinga



O porco Pirapetinga é muito antigo na Zona da Mata, em Minas Gerais, onde existiram criações importantes dessa raça como em Pedro Leopoldo, chegando a serem produzidos 263 leitões em um total de 37 ninhadas (Vianna, 1956). A raça originou-se, provavelmente, em fazendas localizadas na bacia do rio Pirapetinga, de onde se disseminou por municípios vizinhos e pelo Estado do Espírito Santo. O mesmo autor ainda especulou a possibilidade desta raça ser uma variedade de porcos Tatu.

Esta raça possui tamanho médio, orelhas em pé do tipo asiáticas, poucas cerdas, corpo preto ou arroxeadado, comprido e estreito, com pouca musculatura e ossatura, sendo considerado de prolificidade e precocidade médias. Possui grande facilidade de engorda, aproveitando uma grande

variedade de alimentos. Produz um toucinho de ótima qualidade, apresentando um bom rendimento de gordura.

Moura



O histórico desta raça não menciona exatamente sua origem, mas relata que os animais multiplicaram-se rapidamente espalhando-se pelos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Por muito tempo essa raça acompanhou as migrações de colonos. Os animais apresentam rusticidade, prolificidade e prepotência genética como características marcantes, mesmo após sucessivos cruzamentos indiscriminados com outras raças (Silva, 1987). De 1990 a 1995, foram registrados na ABCS (Associação Brasileira de Criadores de Suínos) 1.668 suínos desta raça no estado do Paraná. Também chamado de porco arsado, outrora eram abundantes nos municípios de São Joaquim, Lages e Curitibanos (SC). Atualmente existe um núcleo de conservação que vem sendo mantido pela Embrapa Suínos e Aves, localizado em Concórdia- SC.

Existem relatos de que antigamente, os animais eram soltos no mês de abril para comerem pinhões livremente no campo. Em setembro, os produtores prendiam-nos, representando o sistema de engorda do inverno (http://www.radiobras.gov.br/ct/1996/materia_160896_4.htm). Tal prática se assemelha àquela praticada em Portugal e Espanha com os suínos do tipo ibérico. Durante o final do outono e parte do inverno esses se alimentam, sobretudo, de frutos como a “bellota”, sobrevivendo em pastagens naturais características da região e produzindo carne de alta qualidade e muito apreciada pelos consumidores (Pimenta *et al.*, 2004).

O porco Moura apresenta um perfil cefálico do tipo subcôncavo ou retilíneo, orelhas intermediárias entre ibéricas e célticas. A pelagem preta entremeada de pelos brancos (tordilha) é a mais característica da raça. Apresenta uma leve papada, pescoço curto, peito medianamente largo, dorso e lombo largo e pouca massa muscular. Geralmente criado a solta, é capaz de sobreviver às condições mais adversas. Machado (1967) destaca sua capacidade de oferecer uma boa progênie quando cruzados com suínos da raça Landrace.

Monteiro



Existente em sua maioria no Pantanal matogrossense, o Monteiro (nome proveniente da mescla do idioma português e castelhano) é considerado uma raça asselvajada, pois formou-se desde a guerra do Paraguai em 1864, quando inúmeras fazendas foram saqueadas e plantações destruídas. Suínos de diversas raças (Duroc, Tamworth e Caruncho) encontraram boas condições na forma de vida livre e, a partir de cruzamentos indiscriminados formaram o porco Monteiro. Herrera *et al.* (1996) consideram esta raça muito semelhante ao javali, apresentando conformação do corpo e cabeça em formas de cunha, coloração preto-acinzentada ou marrom, orelhas pequenas e eretas, perfil afilado, membros fortes e ágeis e focinho longo. As cerdas são bem assentadas e de médio comprimento, eriçáveis na parte superior do corpo ao longo do pescoço e linha dorso-lombar. São mais ativos à noite e apresentam um olfato extremamente sensível facilitando a localização de alimentos escondidos sob a vegetação, utilizando o focinho e as presas para cavar e cortar raízes. Suas adaptações fisiológicas e comportamentais que se refletem

na morfologia, assemelham-se a seus ancestrais selvagens e os diferenciam cada vez mais do porco doméstico, ainda que pertençam à mesma espécie. Apesar de sua rusticidade, nas explorações melhoradas apresentam bastante precocidade, habilidade materna e são muito indicados para sistemas de criação a campo.

Na região de Nhecolândia no Pantanal, o porco Monteiro constitui uma das espécies mais visadas para a prática da caça, e há algum tempo tem sido utilizada em cruzamentos com o javali com o objetivo de obter uma carne mais saudável e saborosa (Rosa *et al.*, 2000). Nesta região eles também disputam o mesmo nicho ecológico onde vivem o queixada (*Tayassu pecari*) e o cateto (*Tayassu tajacu*), animais pertencentes à família *Tayassuidae*, cada vez mais raros e que hoje são preservados (Gonela, 2003). De forma geral, o processo de introdução de outras raças vem descaracterizando o padrão do porco Monteiro em algumas regiões, especialmente no sul do Pantanal.

Casco de Mula



Sua denominação provém do fato de serem sindáctilos, ou com o casco fundido. O primeiro reporte de sindactília em suínos se deve a Charles Darwin, e os define como fenômeno de mutação (Castro, 2003; citado por Lemus Flores *et al.* 2005). Alguns autores apontam o Brasil como sendo o centro de origem desses animais, e que daqui teriam sido levados alguns reprodutores para os Estados Unidos, onde o fenótipo (que provavelmente não podem ser considerados como raça) foi selecionado e fixado. Chamado também de Casco

de Burro, é o que tem suas populações em estado mais crítico de desaparecimento (Mariante *et al.*, 2003b).

Curiosamente, no México existe uma raça denominada “Cerdo Pata de Mula”, encontrada nas costas do Golfo, sobretudo em Veracruz. É pouco abundante, e de forma semelhante, apresenta sindactilia, condição que na opinião de alguns, o faz mais resistente à febre aftosa e à peste porcina clássica. Possuem pelos de colorações variadas, porte médio e perfil predominantemente côncavo (Lemus Flores *et al.*, 2005). Tais peculiaridades fenotípicas propõem maiores investigações a respeito da origem e distribuição geográfica desse fenótipo, bem como estudos citogenéticos mais aprofundados que justifiquem a importância em se preservar esta rara composição genética.

Caruncho



Segundo Vianna (1956) os animais da raça Caruncho são de porte pequeno, grandes produtores de gordura e apresentam um temperamento tranqüilo. Possuem corpo volumoso e roliço, com pelagem muito semelhante à do Piau. Cabeça larga, testa achatada, maxilar inferior mais pronunciado que o superior e papada volumosa são características facilmente observadas nessa raça.

Há alguns anos, foram criados em algumas fazendas na região do Triângulo Mineiro no município de Capinópolis, e também selecionada por fazendeiros do Rio de Janeiro. Nos últimos 10 anos tem-se encontrado alguns animais destas raças em algumas fazendas do norte de Goiás. São animais

indicados para pequenas propriedades rurais onde a produção visa a subsistência. O cruzamento das fêmeas com varrões de raças melhoradas exóticas não é aconselhável, devido ao risco de partos distócicos.

2.2. Conservação genética

Os recursos genéticos compreendem a diversidade do material genético contido nas variedades primitivas, obsoletas, tradicionais e modernas, que constituem parte essencial da biodiversidade e são responsáveis pelo desenvolvimento sustentável da agricultura e da agroindústria. Estes recursos genéticos são constituídos pela variabilidade genética organizada em um conjunto de materiais diferentes entre si, denominados germoplasma. Portanto, o germoplasma é o elemento dos recursos genéticos que maneja a variabilidade genética inter e intra-específica, de forma a conservá-la e utilizá-la na pesquisa em geral (Guedes *et al.*, 1998).

Por tudo isso, torna-se clara a importância dos recursos genéticos, principalmente animais, que podem ser usados no presente e/ou futuro para a alimentação, agricultura e outros fins. Neste contexto, a partir de 1983, a Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (Embrapa) incluiu em seu Programa de Conservação de Recursos Genéticos, até então exclusivos para o Germoplasma de planta, a conservação de recursos genéticos animais. Este programa compreende a conservação destes recursos em diversos Centros de Pesquisa da própria empresa, bem como em universidades, empresas estaduais de pesquisa e propriedades particulares, sob a coordenação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília- DF).

Segundo Mariante *et al.* (1996), as etapas envolvidas no processo de conservação de espécies compreendem a identificação das populações em risco de extinção ou diluição genética; a caracterização fenotípica e genética; e a avaliação do potencial produtivo da população. Um dos fatores mais importantes a ser considerado é o grau de desaparecimento a que está submetida uma raça, sendo, no entanto, difícil de ser avaliado, pois outros

tantos fatores estão envolvidos na sobrevivência de uma raça, além de influenciar a variação genética contida dentro dela. Por estes motivos, muitas vezes esta identificação encontra-se fora do controle das sociedades de criadores de raças ou agências de conservação (Gandini *et al.*, 2004).

Ruane (1999) estabeleceu um painel de critérios a serem considerados ao se decidir se uma determinada raça é merecedora de participar de um programa de conservação. O grau de desaparecimento e as características únicas da raça são um dos critérios essenciais discutidos. Do ponto de vista econômico, as diversidades funcionais e genéticas também devem ser usadas na determinação das diferenças entre raças, bem como na decisão de quais devem ser prioritariamente preservadas.

Dentre as metodologias existentes para conservar a diversidade genética animal, incluem-se as conservações *in situ* e *ex situ*. A conservação é considerada *in situ* quando as populações são mantidas em Núcleos de Conservação localizados nos habitats de origem dos animais. A conservação considerada *ex situ* pode ser *in vivo*, quando os animais são mantidos fora do local onde foram naturalmente selecionados (como preservação em zoológicos), ou *in vitro*, quando o material genético (sêmen, embriões ou ovócitos) é mantido em botijões de nitrogênio líquido, ou Bancos de Germoplasma. De acordo com a Convenção da Diversidade Biológica (1992), o método *in situ* de conservação deve ser o prioritário.

No que diz respeito à conservação *ex situ*, o congelamento de sêmen de varrões vem sendo estudado desde 1969, no entanto, devido ao sistema de exploração extensivo, no qual se encontra a maioria das raças naturalizadas, o manejo individual, como exposição a manequins, pode ser mais um fator limitante, como demonstrado em estudos com suínos ibéricos (Poto *et al.*, 2000). Até o momento o Banco de germoplasma não conta com amostras de sêmen ou embriões criopreservados da espécie suína. Considerando uma situação onde as populações encontram-se em sérios riscos de extinção, e o número de machos é escasso, esta conservação é imprescindível para manter a escassa variabilidade genética das raças naturalizadas. Portanto, estratégias de unificação ou intercâmbio de técnicas e protocolos podem garantir um

desenvolvimento mais eficiente da aplicação de métodos de conservação, podendo assim, suprir necessidades urgentes de manter a diversidade genética. Paralelamente, o refinamento de técnicas moleculares que corroboram para a formação/manutenção de Bancos de DNA, deve ser valorizado, pois representam um reservatório de informações científicas tanto para o presente como para o futuro (Egito *et al.*, 2005).

Uma Rede Iberoamericana, pertencente ao programa de ciência e tecnologia para o desenvolvimento (CYTED), colaborou a favor da conservação dos recursos genéticos de animais domésticos dos distintos grupos das regiões latino americanas, bem como incentivou estudos para a conservação de seus sistemas de exploração tradicionais visando manter o equilíbrio biológico, social e ecológico (Delgado, 2000). Propostas de criação de novos laboratórios que sejam referências em genética molecular na América do Sul, também já apoiados por esta Rede, propõem acelerar e intensificar o desenvolvimento da caracterização das raças naturalizadas como um todo (Sereno *et al.* 2000). Neste contexto, estudos comparativos entre países da América do Sul e Ibéricos que expliquem melhor as diferenças e semelhanças entre as raças estudadas, podem ser incentivados e valorizados.

Na Europa, diversas medidas adicionais como apoio às explorações, associações de criadores, produtos certificados bem como políticas de subsídio, representam um importante estímulo na estratégia nacional de conservação dos recursos genéticos (Telo da Gama, 2002). Um projeto lançado pela Comissão Européia em 1998 chamado “Caracterização da variação genética em suínos europeus” com o intuito de facilitar a manutenção e exploração da biodiversidade desta espécie (PigBioDiv), demonstrou os benefícios da avaliação da diversidade genética dos suínos europeus, considerando tanto populações de raças comerciais como locais. A segunda versão do projeto (PigBioDiv2) incluiu raças chinesas, com o propósito de estender experiências européias para a China (Blott *et al.*, 2003). De forma semelhante, um banco de dados europeu de genética animal tem sido estabelecido como um reservatório para identificar algumas raças e acessar os níveis de risco as quais estão submetidas (Rothschild, 2003).

No que diz respeito à conscientização dos criadores e a elaboração de propostas alternativas para promover a preservação e conservação genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil, alguns diagnósticos já foram realizados. Em 1987, o projeto de pesquisa “Levantamento, Avaliação, Exploração e Preservação de grupos raciais de suínos nativos” desenvolveu estudos sistemáticos sobre suas principais características baseando-se em um núcleo formado por algumas destas raças na Universidade Federal de Minas Gerais (Garcia *et al.*, 1996). Mais recentemente, outro trabalho diagnosticou a situação da criação dos suínos locais, encontrados no município de Remigio, interior da Paraíba (Silva Filha *et al.*, 2005), pesquisando o tamanho, a localização das unidades de criação, a situação econômica das mesmas, os manejos (sanitário e alimentar), as instalações, a assistência técnica e a fiscalização, pertinentes aos respectivos rebanhos localizados. Os levantamentos vêm concluindo que esta espécie necessita de cuidados especiais e maior atenção, pois poucos agricultores que criam raças naturalizadas possuem apenas pequenos rebanhos. Desta forma, se não houverem estudos voltados para a conservação dessas raças, sua extinção será inevitável. Estes levantamentos podem ser considerados de grande valia, pois permitem que se faça maiores esclarecimentos sobre questões como cruzamentos direcionados, infra-estrutura, assistência técnica, subsídios e principalmente sobre o papel representativo destas raças nos sistemas de produção. Além disso, podem contribuir para os avanços nos estudos de diversidade genética.

Até bem pouco tempo, os trabalhos sobre caracterização genética realizados envolviam, na sua maioria, as raças comerciais, principalmente em se tratando da espécie suína. Os poucos trabalhos envolvendo raças nativas incluíam, fundamentalmente, estudos citogenéticos, grupamentos sanguíneos e polimorfismos protéicos (Egito *et al.*, 2002).

2.3. Diversidade genética e estrutura populacional

Nos últimos anos, com o avanço da biologia molecular, a descoberta de microssatélites de DNA, e o uso da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), tornou-se possível a identificação de polimorfismos em vários sítios genômicos nos animais, revolucionando, as possibilidades de monitoramento genético da espécie suína. Segundo Rothschild (2006), novos marcadores genéticos continuam sendo identificados e mapeados nesta espécie, além dos estudos das interações entre mapas e a expansão dos mapas de QTL. No início de 2006 já existiam mais de 1.588 genes e 2.493 marcadores da espécie suína identificados e depositados em bancos de dados.

Os marcadores genéticos são capazes de assistir na seleção visando melhora da qualidade de carne e podem ser considerados como uma das mais excitantes oportunidades para a indústria animal. No entanto, a valorização da utilidade destes marcadores na avaliação das diferenças genéticas existentes dentro da espécie suína deve ser enfatizada, de forma a avançar nos estudos de conservação de sua diversidade.

A diversidade genética das espécies domésticas está refletida na variedade de tipos e raças que existem e na variação presente dentro de cada uma delas. A perda de um único tipo ou raça compromete o acesso a seus genes e combinações genéticas únicas que poderão ser úteis no futuro (Egito *et al.*, 2002). O método mais utilizado para quantificar esta diversidade genética é a análise dos genótipos de indivíduos não aparentados entre si, selecionados de uma população sobre investigação (Groenen *et al.*, 2003). Vários estudos têm validado a eficiência na utilização de marcadores do tipo microssatélite para avaliar essa diversidade genética e a relação entre algumas raças de suínos.

Existem três níveis fundamentais que determinam a diversidade gênica de uma espécie: variação genética dentro de indivíduos (heterozigosidade); diferenciação genética entre indivíduos dentro de uma população; e diferenças genéticas entre populações (Ollivier & Foulley, 2005). Os programas de conservação devem proteger todos estes componentes de diversidade

genética, de forma a reter o máximo da variação total e manter a estrutura genética natural da população. Mais especificamente, a detecção da variabilidade entre raças é resultante de longos processos evolutivos e pode ser válida para prever mudanças no próprio meio ambiente (Gandini *et al.*, 2004).

Sabe-se que vários fatores podem afetar a possibilidade de identificar aquelas raças puras ou híbridas, incluindo a diferenciação genética entre as populações, o número e a variabilidade de marcadores selecionados, o número de animais analisados por raça e finalmente a escolha do método a ser aplicado (Cornuet *et al.*, 1999; Hansen *et al.*, 2001). Além destes, outros conhecimentos são úteis na predição do estado atual e futuro a que está submetida a diversidade genética de uma população em questão. Podemos ressaltar a consideração das forças evolutivas fortuitas ou não, que atuam nas raças ou grupamentos definidos (Ruane, 2000), a exemplo, populações de tamanho reduzido que são mais expostas a flutuações gênicas aleatórias (deriva genética) através das gerações, o que tende a reduzir a variabilidade genética.

Estudos revelam que a maior causa da erosão genética é a tendência ao crescimento daquelas raças modernas, servindo às necessidades de alto investimento e produção da agricultura industrial (Cardellino, 2003). De forma semelhante, Sereno *et al.* (2000) já afirmavam que em se tratando de aves e suínos, praticamente não existem mais raças autóctones, e o que resta encontra-se em risco de extinção. Tais espécies de ciclo curto têm refletido rapidamente os resultados da massiva pressão de seleção exercida nas raças modernas, ou seja, a efetiva queda da diversidade genética e cada vez mais o desconhecimento sobre a origem e o potencial produtivo das raças naturalizadas. Por tudo isso, esforços para determinar a que níveis de risco de extinção estão as espécies domésticas devem ser considerados, não somente na Europa, mas também em outras partes do mundo.

Numerosos estudos sobre diversidade genética vêm sendo desenvolvidos em muitos países, e mais extensamente focados nas raças Europeias (Baumung *et al.*, 2004). Este mesmo autor cita que em mais da

metade da Europa (71%) e países norte-americanos (100%) são realizados estudos em diversidade, enquanto esta proporção é bem menor na Ásia (25%) e América do Sul (21%). Em aproximadamente 90% de todos os projetos analisados, locos de microssatélites são os marcadores genéticos mais utilizados, seguidos por marcadores bioquímicos como polimorfismo protéico (29%) e RFLP (Restriction Fragment-Length Polymorphism) (17%). A utilização de marcadores recomendados pela FAO para cada espécie se destacou na espécie suína, onde todos os locos recomendados eram utilizados em pelo menos 71% de todos os projetos, sendo que alguns mais informativos chegaram a utilizar 86%.

Em Cuba, a produção suína está estreitamente ligada à economia do país, principalmente nas regiões orientais. Atualmente, o censo detectou mais de cinco milhões de cabeças, em sua maioria, encontradas nas produções familiares e setores não especializados, onde a exploração das raças crioulas de suínos aproveita todos os recursos naturais e os diferentes subprodutos agrícolas (Rodríguez *et al.*, 2002). Neste país tem-se buscado esclarecer a estrutura genética da população de suínos atual, pois o baixo interesse pelas raças das décadas passadas, bem como a mestiçagem indiscriminada com raças mais selecionadas e produtivas têm levado a redução do número efetivo de raças puras nas populações. Recentemente, se concluiu que mesmo os suínos cubanos sendo derivados das raças ibéricas, depois de mais de 500 anos de deriva genética e migração, tais raças encontram-se geneticamente bem distintas entre si (Martínez *et al.*, 2005).

Na Índia, apesar do isolamento geográfico, existe uma considerável miscigenação entre as populações de suínos nativos do norte e do nordeste, devido ao elevado fluxo gênico dessas raças entre as regiões com propósitos produtivos e reprodutivos (Behl *et al.*, 2002). Considera-se ainda que as raças suínas naturalizadas deste país sofrem pouca ou nenhuma pressão de seleção, o que também justifica a próxima relação genética detectada entre elas.

Antes mesmo da chegada dos primeiros suínos no Brasil, a China já os criava há mais de 5.000 anos (Vianna, 1956), e ainda hoje a suinocultura

constitui um dos setores de grande importância na economia rural desse país. Mais de 100 raças naturalizadas de suínos estão presentes na China, representando quase um terço do total existente no mundo (Li *et al.*, 2000). Entretanto, a caracterização do vasto recurso genético na China tem sido priorizada nas raças chinesas de suínos (Fang *et al.*, 2005). A identificação mais precisa da estruturação genética de alguma destas raças suínas locais, de forma a oferecer métodos efetivos para mantê-las e utilizá-las, tem sido proposta.

No México, a diversidade genética das raças crioulas de suínos vem declinando desde o início deste século devido a introdução e ampla utilização das raças modernas (Lemus Flores *et al.*, 2001). Estas raças crioulas de suínos, semelhantemente aquelas encontradas em outros países latino-americanos, são criadas em comunidades rurais pouco tecnificadas, e existe dificuldade em caracterizá-las como raças puras. São consideradas muito heterogêneas e tem-se conseguido conservar grande parte das características únicas destas populações. Portanto, importância tem sido dada para a caracterização e o resgate do efetivo populacional das raças crioulas restantes, investigando suas capacidades produtivas, populações originadas de diferentes regiões, e bem como suas relações filogenéticas com aquelas raças modernas (Lemos Flores *et al.*, 2005).

Na Argentina, o conhecimento de características morfo-estruturais e fenotípicas das raças naturalizadas de suínos possibilitou o estabelecimento de padrões raciais e variedades dentro das populações (Revidatti *et al.*, 2005), sendo que estudos sobre as distâncias genéticas existentes entre estas e outras raças, como as ibéricas, também foram propostos.

Apesar de sua escassa dimensão, a Espanha é um país de elevada riqueza animal e vegetal. A diversidade de suas raças autóctones tem sido sustentada mediante estudos de caracterização desde o âmbito de descrições etnológicas até a caracterização da variabilidade do material genético existente. Na espécie suína, tais estudos são amplamente difundidos, ocupando o terceiro lugar em prioridade, perdendo apenas para as espécies bovina e eqüina (Camacho *et al.*, 2000).

Diante do fato de que populações ou espécies ameaçadas de extinção possuem sua estrutura genética provavelmente alterada, ou fragmentada, e com conseqüente perda de heterozigosidade, conservacionistas e geneticistas têm buscando identificar a variação gênica existente dentro de populações. Uma população é dita como tendo uma estrutura populacional hierárquica, se as sub-populações puderem ser agrupadas progressivamente em níveis (Hartl & Clark, 1997).

Recentemente, alternativas de métodos de agrupamento têm sido propostos, os quais permitem a inferência de estrutura de populações e a designação de indivíduos a populações, sendo úteis para definir unidades de conservação (Fabuel *et al.*, 2004). Neste contexto, microssatélites têm comprovado sua vasta aplicabilidade na investigação de estruturas populacionais de diversas espécies de animais domésticos (Jordana *et al.*, 2003; Parker *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2006;). Estudos realizados por Martínez *et al.* (2000) na Península Ibérica, indicaram que a estrutura populacional deve ser mantida de forma a conservar a importante diversidade refletida nas raças suínas locais com relação à sua adaptação ao ambiente e ao desempenho produtivo de cada uma delas.

Apesar de uma intensa pressão de seleção na maioria dos países, devido à maior produtividade das raças suínas comerciais, é sabido que ainda existe uma grande variedade de raças nativas de suínos, tanto na Europa (33% do total) como na China (34% do total) (Blott *et al.*, 2003). Desta forma, programas de conservação para estas raças em todo o mundo, devem ser priorizados, com o cuidado de serem enfocados sob vários níveis, desde ecossistemas e comunidades até indivíduos, possibilitando um resgate eficiente dos efetivos que ainda restam. Por isso, é necessária uma visão de uso futuro desses conhecimentos, de forma a manejar estes importantes recursos genéticos da melhor forma possível, disponibilizando-os para estudos futuros com esta espécie.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Caracterizar, por meio de marcadores moleculares microssatélites, a diversidade genética existente nas principais raças de suínos naturalizadas do Brasil.

3.2. Objetivos específicos

- Analisar a distribuição das frequências alélicas de doze grupos genéticos da espécie *Sus scrofa* e de um animal Cateto da espécie *Tayassu tajacu*;
- Quantificar a variabilidade genética intra e inter-racial em cinco grupos genéticos de suínos naturalizados e comerciais;
- Testar a existência de estruturação de populações dentro dos cinco grupos genéticos estudados;
- Estimar as probabilidades para o cálculo de certificação racial para cada um dos cinco grupos genéticos analisados;
- Estimar as probabilidades de exclusão de paternidade total e para cada um dos cinco grupos genéticos analisados;
- Propor estratégias de manejo que auxiliem na decisão e/ou manutenção de Programas de Conservação da espécie suína.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS, Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora da Carne Suína. Disponível em: <<http://www.abipecs.com.br>>. Acesso em: 9 jun. 2006.

ATHANASSOF, N. **Os suínos – Manual do criador**. São Paulo, Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo, 1932, p. 28-40.

BAUMUNG, R.; SIMIANER, H.; HOFFMANN, I. J. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 121, p. 361-373, 2004.

BEHL, R.; KAUL, R.; SHEORAN, N.; BEHL, J.; TANTIA M. S.; VIJH, R. K. Genetic identity of two Indian pig types using microsatellite markers. **Animal Genetics**, v. 33, p. 158-167, 2002.

BLOTT, S.; ANDERSSON, L.; GROENEN, M.; SANCRISTOBAL, M.; CHEVALET, C.; CARDELLINO, R.; LI, N.; HUANG, L.; LI, K.; PLASTOW, G.; HALEY, C. Characterisation of genetic variation in the pig breeds of China and Europe- The PIGBIODIV2 project. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, p. 207-217, 2003.

BÖKÖNYI, S., 1974. **History of Domestic Mammals in Central and Eastern Europe**. Akademiai Kiado, Budapest.

CAMACHO, M. E.; DELGADO, J. V.; BARBA, C. J. B. Recursos genéticos de animales domésticos en España: Situación actual y sistemas tradicionales de explotación. **Archivos de Zootecnia**, v. 49, p. 423-430, 2000.

CARDELINO, R.A. Animal Genetic Resources conservation and development: The role of FAO. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, n. 198, p. 185-192, 2003.

CASTRO, S. T. R.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; GERMANO, J. L. Census of brazilian naturalized swine breeds. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, p. 235-239, 2002.

CASTRO, G. Contribución al estudio racial de los recursos zoogenéticos porcinos criollos del Uruguay. Comisión Sectorial de la Investigación Científica. Universidad de la República Uruguay. 10p, 2003.

CAVALCANTI, S. S. **Produção de Suínos**. Campinas, SP: Instituto Campeiro de Ensino Agrícola, 1984. 453 p.

CAVALCANTI, S. S. **Suinocultura Dinâmica**. Rome: FEP – MVZ Ed. Contagem, 2000. 494p.

Ciência Tecnologia e Meio Ambiente. **Espécies foram substituídas por não terem mais utilidade.** <http://www.radiobras.gov.br/ct/1996/materia_160896_4.htm>. Acesso em 25 jul. 2006.

CORNUET, J.M., PIRY, S.; LUIKART, G.; ESTOUP, A.; SOLIGNAC, M. New Methods Employing Multilocus Genotypes to Select or Exclude Populations as Origins of Individuals. **Genetics**, v. 153, p. 1989-2000, 1999.

DARWIN, Charles. Domestic Pig. In: **The Variation of Animals and Plants under Domestication**. 2ed. New York: D. Appleton & Co.1883, p. 68-82. Disponível em: <<http://pages.britishlibrary.net/charles.darwin/texts/variation/variation03.html>>. Acesso em: 27 jul. 2006.

DELGADO, J. V. Red Iberoamericana sobre la conservación de la biodiversidad de los animales domésticos locales para el desarrollo rural sostenible (CYTED. XII-H). **Animal genetic resources information (AGRI)**, v. 28, p. 63-67, 2000.

EGITO, A. A; MARIANTE A. da S.; ALBUQUERQUE, M. do S. M. Programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos Animais. **Archivos de Zootecnia**, v. 51, p. 39-52, 2002.

EGITO, A.A.; ALBUQUERQUE1, M.S.M.; CASTRO, S.T.R.; PAIVA, S.R.; MARQUES, J.R.F.; MCMANUS, C.; MARIANTE, A. da S.; ABREU, U.P.G.; SANTOS, S.A.; SERENO, J.R.; FIORAVANTI, M.C.S.; VAZ, C.M.; NOBRE, F.V.; OLIVEIRA, J.V.; DE CARVALHO, J.H.; COSTA, M.R.; RIBEIRO, M.N.; LARA, E M.A. Situação atual do banco de DNA de recursos genéticos animais no Brasil **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 283-288, 2005.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN. 1990. **Os suínos nacionais**. Brasília- DF.

FABUEL, E.; BARRAGÁN, C.; SILIÓ, L.; RODRÍGUEZ, M. C.; TORO, M. A. Analysis of genetic diversity and conservation priorities in Iberian pigs based on microsatellite markers. **Heredity**, v. 93, p. 104-113, 2004.

FANG, M.; HU, X.; JIANG, T.; BRAUNSCHWEIG, M.; HU, L.; DU, Z.; FENG, J.; ZHANG, Q.; WU, C.; LI, N.. The phylogeny of Chinese indigenous pig breeds inferred from microsatellite markers. **Animal Genetics**, v. 36, p. 7-13, 2005.

GANDINI, G.C.; OLLIVIER, L.; DANELL, B; DISTL, O.; GEORGIOUDIS, A.; GROENEVELD, E; MARTYNIUK, E.; VAN ARENDONK, J.A.M.; WOOLLIAMS, J. A. Criteria to assess the degree of endangerment of livestock breeds in Europe. **Livestock Production Science**, v. 91, p. 173–182, 2004.

GARCIA, S. K.; BARBOSA, A., S. Conservação e estudo de raças suínas brasileiras na UFMG - 12 anos. In: Simpósio nacional de melhoramento animal, 1., 1996, Ribeirão Preto. **Anais eletrônicos**... Ribeirão Preto: SP, 1996, p.295-297. Disponível em: <<http://www.sbmaonline.org.br/anais/i/trabalhos/it25.pdf>> Acessado em 15 jun. 2006.

GIROTTI, A. F.; GIELE, M. Suínos: Análise do desempenho atual. A situação no Mundo. Embrapa Suínos e Aves, 2005. Disponível em:<<http://www.cnpsa.embrapa.br/index.php?ids=Sq4r54z6x&pg=1&ano=2005>> Acesso em: 10. Out. 2006.

GONELA, A. **Aplicação de marcadores microssatélites de *Sus scrofa domestica* na caracterização genética de populações de *Sus scrofa sp* (porco-Monteiro) e *Tayassu pecari* (queixada)**. Ribeirão Preto, 2003. 88f. Tese (Doutorado)- Universidade de São Paulo, 2003.

GROENEN, M. A. M.; JOOSTEN, R.; BOSCHER, M-Y.; AMIGUES, Y.; RATTINK, A.; HARLIZIUS, B.; VAN DER POEL, J. J.; CROOIJMANS, R.. The use of microsatellite genotyping for population studies in the pig using individual and pooled DNA samples. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, p. 145-155, 2003.

GUEDES, A. C.; GOEDERT, C. O.; MOREIRA, J. R. A.; BUSTAMANTE, P. G. e colaboradores.1998. Estratégia nacional de diversidade biológica. Convenção sobre Diversidade Biológica - Artigo 9: Conservação *Ex Situ*. Ministério do Meio Ambiente.

GUIMARÃES, S. E. F.; LOPES, O. S.; PIRES, A. V.; SOARES, M. A. M.; WENCESLAU, A. A.; CARMO, F. M. S.; BENEVENUTO JUNIOR, A. A.; GOMIDE, L. A. M. Programa genoma de suínos brasileiros e suas perspectivas de aplicação prática. In: Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 4., 2002, Campo Grande. **Anais**... Campo Grande: MS, 2002.

HANSEN, M. M.; KENCHINGTON, E.; NIELSEN, E. E. Assigning individual fish to populations using microsatellite DNA markers. **Fish and Fisheries**, v. 2, p. 93-112, 2001.

HARTL, D. L. & CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. 3ed. (Sinauer Associates) Sunderland: Massachusetts, 1997. 481p.

HERRERA, R. C. S. P., SOUZA, R.; HERRERA, H. M.; MAURO, R. de A. Hábitos alimentares do Porco Monteiro (*Sus scrofa*) no Pantanal da Nheocolândia, Mato Grosso do Sul. In: Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal, 2., 1996, Corumbá. Manejo e conservação. **Resumos**... Brasília: Embrapa SPI, 1996, p. 67.

JORDANA, J.; ALEXANDRINO, P; BEJA-PEREIRA, A.; BESSA, I.; CANON, J.; CARRETERO, Y.; DUNNER, S.; LALOE, D.; MOAZAMI-GOUDARZ, K.; SANCHEZ, A.; FERRAND, N. Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 120, p. 73–87, 2003.

LEMUS FLORES, C.; ULLOA-ARVIZU, R.; RAMOS-KURI, M.; ESTRADA, F. J.; AND ALONSO, R. Genetic analysis of Mexican hairless pig populations1. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 3021–3026, 2001.

LEMUS FLORES, C., SPILSBURY, M. de L. A.; SIERRA, J. E. A. Evolución y origins del cerdo criollo em Latinoamérica. In: LEMUS FLORES, C; SPILSBURY, M. de L. A. **El cerdo pelón mexicano y otros credos criollos**. México: Universidad Autónoma de Nayarit, 2005, p. 15-28.

LI, K.; CHEN, Y.; MORAN, C.; FAN, B.; ZHAO, S AND PENG, Z. Analysis of diversity and genetic relationships between four Chinese indigenous pig and one Australian commercial pig breed. **Animal Genetics**, v. 31, p. 322-325, 2000.

MACHADO, L. C. P. **Os suínos**. Editora A Granja. Porto Alegre-RS, 1967, 662 p.

MARIANTE, A. da S.; MENDONÇA, J. F. B.; PEZZINI, T. G. e colaboradores. 2003a. Informe nacional sobre a situação dos recursos genéticos animais do Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília- DF.

MARIANTE A. da S.; CASTRO S. T. R; ALBUQUERQUE M. do S. M.; PAIVA S. R.; GEMANO J. L. Pig Biodiversity in Brazil. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, p. 245-248, 2003b.

MARIANTE, A. da S. Conservação de recursos genéticos animais no Brasil. In: Simpósio nacional de melhoramento animal, 1., 1996, Ribeirão Preto. **Anais eletrônicos...** Ribeirão Preto: SP, 1996, p. 82-86. Disponível em: <<http://www.sbmaonline.org.br/anais/i/palestras/ip13.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2006.

MARTÍNEZ, A. M.; DELGADO, J. V.; RODERO, A.; VEGA-PLA, J. L. Genetic structure of the Iberian Pig breed using microsatellites. **Animal Genetics**, v. 31, p. 295-301, 2000.

MARTÍNEZ, A. M.; PÉREZ-PINEDA, E.; VEGA-PLA, J.L.; BARBA, C.; VELÁZQUEZ, F.J.; DELGADO, J.V. Caracterización genética del cerdo criollo cubano con microsatélites. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 369-375, 2005.

MARTÍNEZ, A. M.; ACOSTA, J.; VEGA-PLA, J. L.; DELGADO, J. V. Analysis of the genetic structure of the canary goat populations using microsatellites. **Livestock Science**, v. 102, p. 140-145, 2006.

OLLIVIER, L. Genetic improvement of the pig. En: The genetics of the pig. Eds. Rothschild and Ruvinsky CAB International, p. 511-540, 1998.

OLLIVIER, T. L.; FOULLEY, J-L. Aggregate diversity: New approach combining within- and between-breed genetic diversity. **Livestock Production Science**, v. 95, p. 247-254, 2005.

PARKER, H. G.; KIM, L. V.; SUTTER, N. B.; CARLSON, S.; LORENTZEN, T. D.; MALEK, T. B.; JHONSON, G. S.; DEFRANCE, H., B.; OSTRANDER, E. A.; KRUGLYAK, L. Genetic structure of the purebred domestic god. **Science**, v. 302, p. 1160-1164, 2004.

PIMENTA, J.; TELO DA GAMA, L.; SILVA, F.; CAROLLINO, N.; CAROLINO, I. **Razas porcinas autóctonas em Portugal. Espanha**. In: DELGADO, J. V. Biodiversidad Porcina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. Universidade de Córdoba, 2004, p. 71-85.

POTO, A.; PEINADO, B.; SERENO, J. R. B.; CABELLO, A; BARBA, C. Programas de conservación ex situ en España. **Porci**, v. 60, p. 49-59, 2000.

REVIDATTI, M. A., CAPELLARI, A.; PRIETO, P. N.; DELGADO, J. V. Recurso genético porcino autóctono en el Nordeste de la república argentina. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 97-100, 2005.

ROSA, G. O.; BUZATO, I. A. B.; BARROS, D. R.; PENZO, A. P.; BULHÕES, W. M. G.; MARTINS, D. A. Avaliação do javonteiro - produto resultante do cruzamento do Javali com o porco Monteiro. In: Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal, 3., 2000, Corumbá. Os desafios do novo milênio. **Resumos...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2000, p.294.

RODRÍGUEZ, F. J. V.; PÉREZ, H. B.; MARCHECO, E. C.; PÉREZ, E. P.; CAPOTE, C. J. B. El cerdo criollo cubano en la jurisdicción de Bayazo. **Archivos de Zootecnia**, v. 5, p. 253-258, 2002.

ROTHSCHILD, M. F. Approaches and Challenges in Measuring Genetic Diversity in Pig. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, p. 129-135, 2003.

ROTHSCHILD, M. F. **Pig Genome Coordinator's Annual Update**. Brief summary of the pig genome coordination program for 2005. (January 14, 2006). Disponível em: <<http://www.animalgenome.org/pigs/community/NRSP8/2005/CoordinatorReport.html>>. Acesso em: 20 ago. 2006.

RUANE, J. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetics resources. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 116, p. 317-323, 1999.

RUANE, J. A framework for prioritizing domestic animal breeds for conservation purposes at the national level: a Norwegian case study. **Conservation Biology**, v. 4, p. 1385-1393, 2000.

SERENO, J. R. B. SERENO, F. T. P. S. Recursos genéticos animales brasileños y sus sistemas tradicionales de explotación. **Archivos de Zootecnia**, v. 49, p. 405-414, 2000.

SILVA, N. M. **O Mouro no Brasil**. Curitiba, PR: Universidade Federal do Paraná, 1987. 24p.

SILVA FILHA, O. L.; ALVES, D. N. M.; SOUZA, J. F.; PIMENTA FILHO, E. C.; SERENO, J. R. B.; GOMES DA SILVA, L. P.; RIBEIRO, M. N.; OLIVEIRA, R. J. F.; CASTRO, G. Caracterização da criação de suínos locais em sistema de utilização tradicional no estado da Paraíba, Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 523-528, 2005.

SILVA, E. C.; DUTRA, JR., W. M.; MARQUEZIN, C.; de MELO, B. C. M.; LIMA, M. S.; CALADO, V. H. V.; NASCIMENTO, C. L. M. M. Caracterização do perfil cefálico e tipo de orelha das raças suínas nativas no estado de Pernambuco. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 16., 2006, Recife. **Anais...** Recife: PE, 2006.

SNAdebate. Cadeia Produtiva das Carnes. In: Congresso de Agribusiness da SNAdebate, 6., Revista **A lavoura- SNA 107 anos**. Setembro, Rio de Janeiro, p. 6-11, 2004.

TELO DA GAMA, L. Atividades de conservação e utilização sustentável dos recursos genéticos animais em portugal activities of conservation and sustainable use of animal genetic resources in portugal. **Archivos de Zootecnia**, v. 5, p. 29-31, 2002.

VIANNA, A.T. **Os suínos- Criação prática e econômica**. Série didática no. 6. 2 ed. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro. 1956.

DIVERSIDADE GENÉTICA DAS RAÇAS NATURALIZADAS DE SUÍNOS NO BRASIL POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

RESUMO

Em uma primeira etapa, foi analisada a distribuição das freqüências alélicas, por meio de 24 marcadores microssatélites, em doze grupos genéticos representantes da espécie *Sus scrofa*, além de um animal da espécie *Tayassu tajacu*, totalizando 205 animais. Posteriormente, com os mesmos marcadores, estimou-se a diversidade genética intra e inter-racial em cinco dos doze grupos genéticos representados por três raças naturalizadas de suínos do Brasil (Moura, Piau e Monteiro), uma raça comercial (Landrace) e um composto comercial (MS60). Foi ainda testada a existência de estruturação genética dentro dos últimos cinco grupos mencionados, totalizando 182 indivíduos. Os resultados desta segunda análise mostraram que 15,73% da variação total ($p < 0,001$) observada foi em razão das diferenças inter-raciais. Com base no dendrograma, obtido a partir da distância D_A de Nei e o método de agrupamento UPGMA, foi possível diferenciar três grupos. O primeiro representado pela raça comercial Landrace e o composto MS60, o segundo por duas raças naturalizadas (Piau e Monteiro), e o terceiro pela raça naturalizada Moura. A análise da variabilidade intra-racial indicou que a raça Piau obteve o maior valor de heterozigosidade dentre as naturalizadas, enquanto que a raça Landrace apresentou os maiores valores dentre as comerciais. A partir de uma análise baesiana, foi possível identificar uma sub-estruturação somente dentro das raças Monteiro e Piau. Desta forma, foram observados para estas duas raças os menores valores de probabilidade de certificação racial e uma diferenciação genética significativa entre as raças Moura, Landrace e o composto MS60. O painel de marcadores microssatélites utilizados apresentou alta precisão (99,99%) para ser utilizado na exclusão de paternidade, inclusive em raças naturalizadas de suínos e se mostrou efetivo para ser usado como ferramenta importante para o manejo e conservação das raças naturalizadas de suínos.

Palavras-chave: caracterização genética, conservação, estrutura populacional.

GENETIC DIVERSITY OF NATURALIZED BRAZILIAN PIG BREEDS USING MICROSATELLITE MARKERS

ABSTRACT

On a first step, it was analyzed the allelic distribution with 24 microsatellites loci in twelve genetic groups representing the *Sus scrofa* species and one animal of the species *Tayassu tajacu*, come down to 205 animals. After that, with the same microsatellite loci, the genetic diversity was estimated within and between five of the twelve genetic groups, represented by three naturalized Brazilian pig breeds (Moura, Piau and Monteiro), one commercial breed (Landrace) and one composite (MS60). It was also tested the existence of a genetic structure within these five groups, with a total of 182 individuals. The results of this second analysis showed that 15.73% of the total variation ($p < 0,001$) observed was due to differences between breeds. Based on the dendrogram obtained from the D_A Nei's distance and the clustering method UPGMA, it was possible to differentiate three groups. The first one was formed by the commercial breed Landrace and the composite MS60, the second by two of the naturalized breeds (Piau and Monteiro) and the third by Moura naturalized breed. The analysis of the within breed variability indicated that the Piau breed presented the highest value of heterozygosity among the naturalized breeds, whereas the Landrace presented the highest value between the commercial ones. Using a bayesian analysis, a substructure was identified only within the Monteiro and Piau breeds. In such a way, that the lower values for breed certification probability were observed for these two breeds and a significant genetic differentiation between the Moura and Landrace breeds and the composite MS60. The microsatellite marker panel showed used high precision (99.99%), also when used paternity exclusion in naturalized pig breeds and showed to be effective to be used as an important tool for the management and conservation of the naturalized pig breeds.

Key words: genetic characterization, conservation, population structure.

1. INTRODUÇÃO

A suinocultura brasileira é baseada principalmente em sistemas de produção intensivos e de alto nível tecnológico, onde estão presentes raças de elevados padrões genéticos, especializadas para produção de carne (Mariante *et al.*, 2003). Os suínos descritos como “tipos naturalizados”, que garantiram o sustento de famílias brasileiras durante século, foram sendo substituídos por estas raças comerciais desde o século XX, marcado pela massiva importação e uso de raças exóticas, principalmente da Europa (Cavalcanti, 2000).

As raças naturalizadas que apresentam características como rusticidade, resistência a enfermidades, baixa exigência de manejo e alimentação e uma alta adaptabilidade estão sendo criadas em pequenas propriedades rurais, sem nenhum tipo de controle de acasalamento ou processo de seleção. Atualmente, a perda da diversidade genética observada nestas raças, assim como as discrepâncias raciais na caracterização racial e na denominação dos grupos é fato preocupante, e pouco se sabe sobre a distribuição geográfica e o tamanho efetivo das populações remanescentes.

A conservação destas raças naturalizadas, que se encontram ameaçadas de extinção, é válida visto que são animais altamente adaptados ao nosso ambiente por alguns séculos de contato com biomas específicos (Vianna, 1956). São, portanto, consideradas fontes potenciais de novas variantes genéticas de extrema importância para o futuro da suinocultura nacional, onde a alta pressão de seleção sobre as raças comerciais poderá levar a uma drástica redução da variabilidade genética.

No Brasil, poucos estudos sobre a avaliação da diversidade genética têm sido realizados com a espécie suína, principalmente em se tratando de raças naturalizadas. Este trabalho se propõe a avaliar a diversidade genética existente em três raças naturalizadas de suínos (Piau, Monteiro e Moura) uma raça comercial (Landrace) e o composto MS60, além de testar a existência de estruturação genética dentro das populações analisadas, a partir de marcadores microssatélites. Foi ainda realizada uma análise qualitativa que incluiu outros oito grupamentos genéticos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Foram coletadas amostras de sangue, pelo ou tecido muscular de 204 suínos naturalizados e comerciais da espécie *Sus scrofa* de ambos os sexos (Tabela 1) e um animal de uma das espécies de pecarídeos (*Tayassu tajacu*) conhecido como Cateto, totalizando 205 animais. Desejou-se amostrar animais não aparentados, ou com pelo menos três gerações de distância.

Amostras de sangue foram coletadas da maioria dos animais na veia marginal da orelha a partir de agulhas estéreis e tubos de 15 mL (tipo Falcon) contendo 0,5 M do anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) pH 8,0. Coleta de pelos de alguns animais também foi realizada, de modo a capturar os bulbos capilares utilizados para extrair o DNA. Algumas amostras também de tecido muscular foram coletadas a partir do músculo “Semimembranosus”, vulgarmente conhecido como coxão-mole. Os diferentes materiais biológicos amostrados variaram conforme a disponibilidade daqueles cedidos por Instituições ou propriedades e/ou bem como devido às preferências de cada produtor quanto a forma de realização da coleta.

O termo grupos genéticos foi utilizado neste trabalho, pois alguns destes amostrados não podem ser considerados como raça. É o caso do composto comercial MS60, lançado pela Embrapa Suínos e Aves, também conhecido como “Suíno *Light*”, que é o resultado do cruzamento das raças Duroc, Large White e Pietrain. Da mesma forma se enquadra o fenótipo Casco de Burro, que ainda não possui um status genético definido.

Tabela 1. Grupos genéticos utilizados nas análises de microssatélites, localidades amostradas, estado, sexo, tipo de material biológico coletado (MB) e respectivas siglas e número de animais (N).

Grupos genéticos	Localidade	Estado	Machos	Fêmeas	MB	Siglas	N
Landrace	Embrapa Suínos e Aves	SC		24	Sangue	SLD	24
	Núcleo Rural Rio Preto	DF	1	6	Sangue		7
Monteiro	Fazenda Sucupira *	DF	1	1	Sangue	SMT	2
	Haras Valença	DF	5	6	Sangue		11
	Núcleo Rural Tabatinga	DF	2	1	Sangue		3
	Poconé-Pantanal	MT	6	10	Pelo		16
	Núcleo Rural Ponte Alta	DF	3		Sangue		3
	Chácara- Brasília	DF	1	1	Sangue		2
Moura	Embrapa Suínos e Aves	SC	10	25	Sangue	SMO	35
MS60	Embrapa Suínos e Aves	SC	15	33	Sangue	SMS	48
Piau	Fazenda Sucupira *	DF	1	2	Sangue	SPI	3
	Sobradinho	DF	2	2	Sangue		4
	Núcleo Rural Capão Seco	DF	1	1	Sangue		2
	Núcleo Rural Jardim II	DF	1		Sangue		1
	Núcleo Rural Buriti Veremelho	DF		1	Sangue		1
	Universidade Federal de Viçosa	MG	5	10	Pelo		15
	Núcleo Rural Rio Preto	DF		4	Sangue		4
	Universidade Federal Rural de Perbambuco	PE	1		Pelo		1
Caruncho	Fazenda Sucupira *	DF	1	1	Pelo	SCR	2
Casco de Burro	Fazenda Sucupira *	DF	1		Sangue	SCB	1
Cateto	Núcleo Rural Jardim II	DF	1		Pelo	SCA	1
Duroc	Embrapa Suínos e Aves	SC	2	2	Sangue	SDC	4
Large White	Embrapa Suínos e Aves	SC	2		Sangue	SLW	2
	Núcleo Rural Rio Preto	DF		1	Sangue		1
Nilo	Fazenda Sucupira *	DF	1	1	Sangue	SNI	2
	Núcleo Rural Rio Preto	DF	1	2	Sangue		3
Pietrain	Universidade Federal de Viçosa	MG	NI	NI	Músculo	SPN	4
Pirapetinga	Núcleo Rural Carirú	DF	1	1	Pelo	SPT	2
	Núcleo Rural Tabatinga	DF		1	Sangue		1
Total			65	136			205

* Fazenda Sucupira pertencente à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília- DF; NI- Sexo não identificado.

2.2. Processamento, armazenamento das amostras, extração e quantificação do DNA

O processamento das amostras para separação dos componentes sangüíneos foi realizado após recebimento ou coleta efetiva das amostras em até no máximo cinco dias, quando armazenadas a -20° C. Após uma

centrifugação a 3000 rpm/10' a camada de leucócitos foi retirada e armazenada a -20°C para posterior extração. As hemácias foram lavadas com solução salina a 0,9 % e armazenadas a -20°C em um tampão de estocagem de eritrócitos baseado em sódio. Amostras de plasma também foram armazenadas a -20°C em microtubos de 1,5-2,0 ml. O DNA genômico das amostras sanguíneas foi extraído de células brancas seguindo o protocolo adaptado de Miller *et al.* (1988), baseado em sal (NaCl).

Os pelos coletados dos animais foram condicionados a seco em tubos de 50 ml (tipo falcon) ou em envelopes de papel. Em torno de 25 a 30 bulbos capilares, por amostra, foram selecionados e cortados em sua base para proceder a extração do DNA. As amostras de tecido muscular foram estocadas em tubos de 15 ml (tipo falcon) contendo etanol absoluto para a fixação dos tecidos, e 1cm³ do material foi suficiente para efetuar a extração do DNA. Para ambos os tipos de tecidos, a técnica de extração seguiu o protocolo adaptado de Boyce *et al.* (1989), utilizando-se o detergente catiônico CTAB (brometo de cetil-trimetilamônio).

A quantificação do DNA extraído de células brancas, para avaliar sua integridade e qualidade, foi feita por espectrofotometria (*Pharmacia Biotech GeneQuant II*). Dessa forma, procedeu-se a leitura da Absorbância a 260 nm (A_{260}), cujo comprimento de onda é da região ultravioleta. A relação entre as leituras obtidas nos comprimentos de onda A_{260} e A_{280} (A_{260}/A_{280}), que fornece uma estimativa da pureza do ácido nucléico, e a verificação da concentração do DNA extraído, também foram avaliadas. O gel de agarose 1,0 % foi usado para verificar se o DNA genômico estava fragmentado, bem como para comparar suas concentrações com aquelas obtidas pelo espectrofotômetro.

A solução contendo o DNA extraído e quantificado foi distribuída em dois microtubos de 0,6 mL em volumes iguais, de maneira que um microtubo foi para compor o Banco de DNA do Laboratório de Genética Animal (LGA) localizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília-DF) como estoque, e a outra alíquota para realização do experimento e uso contínuo. As amostras de DNA para trabalho, obtidas a partir de sangue, foram padronizadas para uma concentração de 3ng/μl em um volume final de 200 μl.

As amostras extraídas de pelo, devido ao fato de resultarem em um volume final relativamente pequeno, não foram quantificadas e diluídas. Os microtubos destinados ao Banco de DNA foram mantidos em Freezer -80°C , e aquelas utilizadas rotineiramente eram conservadas no Freezer a -20°C . Todo processo de extração, quantificação e armazenamento foi registrado em um Banco de dados montado no programa Microsoft Access.

2.3. Marcadores utilizados e padronização das reações de PCR

Foram analisados 24 locos de microssatélites para a realização deste trabalho (Tabela 2), selecionados a partir de em uma revisão bibliográfica que identificou aqueles mais relevantes em análises de diversidade genética de suínos, bem como os parâmetros tais como Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) e Heterozigosidade apresentados por cada um e principalmente a disponibilidade de concessão para as análises. Dentre estes, apenas nove estão na lista recomendada pela FAO/ISAG (2004). A estratégia adotada na seleção dos locos foi escolher pelo menos um loco em cada cromossomo autossômico e sexual (X) de suínos, com exceção dos cromossomos 6 e 18 que não foram incluídos.

As reações da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram realizadas em volumes de 20 μl que consistiam de 3 μl de DNA (3 $\text{ng}/\mu\text{l}$), 1,0 μl de cada iniciador *forward* e reverso (4 μM); 1,6 μL de dNTPs (2,5 mM); 2,0 μl de Tampão 10X (Tris HCl 1 M, pH 8,4 100 mM, KCl 500 mM); 1,5 ou 2,0 μl de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (cloreto de magnésio hexa-hidratado a 50 mM); 0,2 μl (1 unidade) de Taq DNA Polimerase (5U/ μl) e água MiliQ autoclavada para completar o volume final. As concentrações de MgCl_2 e água variaram de acordo com a otimização para cada loco. Em algumas reações, principalmente aquelas que utilizavam DNA extraído de pelo, 1,6 μL de BSA (2,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) foram utilizados a fim de aumentar a quantidade e qualidade do produto amplificado, já que o DNA extraído deste tipo de tecido, apesar de mais concentrado, está mais sujeito à degradação devido contaminações.

As reações de PCR foram realizadas em termocicladores (*DNA Thermal cycler*) e seguiram a estratégia de amplificação de *StepDown* para a maioria dos locos. Esta consiste em utilizar diferentes temperaturas de anelamento em cada ciclo da PCR com o propósito de aumentar a taxa de produtividade do mesmo. Desta forma, a programação da máquina foi separada em duas etapas: A primeira consistiu de (1) 94°C por cinco minutos; (2) 94°C por um minuto; (3) Temperatura específica máxima de anelamento (variável entre 53 e 62°C) decrescendo 0,5°C a cada ciclo (dez) compreendido pelas etapas 2, 3 e 4. A segunda etapa foi composta por (4) 72°C por um minuto; (5) 94°C por um minuto; (6) Temperatura específica mínima de anelamento (variável entre 48 e 57°C) mantida por 25 ciclos compostos pelos passos 5, 6 e 7; (7) 72°C por um minuto; (8) extensão final a 72°C por trinta minutos e (9) 4°C até guardar a -20°C. A tabela 2 mostra as respectivas otimizações para cada loco. Para a detecção de falsos positivos foi incluída uma reação controle realizada sem a adição do DNA (controle negativo).

Os produtos amplificados foram visualizados inicialmente em géis de agarose 2% para identificar possíveis falhas. A eletroforese foi realizada em uma voltagem de 120 Volts por tempo variável de acordo com o tamanho (pb) dos fragmentos. Os géis foram corados com brometo de etídeo, analisados sob luz Ultra-Violeta e fotografados por meio do equipamento *Eagle Eye™ II* (*Stratagene*). Um marcador de peso molecular de 1 Kb Plus (Invitrogen) foi utilizado para verificar se de fato houve amplificação dos fragmentos esperados.

Tabela 2. Cromossomo de origem (Cr), seqüências dos *primers*, referências e parâmetros experimentais (tipo de fluorescência existente em cada um dos locos; variação de tamanho dos alelos; temperatura de anelamento; concentração de cloreto de magnésio; número de ciclos no termociclador) e indicação dos locos que foram tipados simultaneamente no seqüenciador automático (Multiplex) para 24 marcadores de microssatélites usados nas raças de suínos no Brasil.

Marcador	Cr	Seqüências primers (5'-3')	Marcação	Tamanho (pb)	Temperatura (°C)	MgCl ₂ (mM)	Ciclos	Multiplex	Referência
S0313	1	CCTACTTTACAAGGACTAGAC GGATCTTAGTGGGCC	HEX	140-172	57-52	1,5	40	D	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
*SW240	2	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA	TET	84-118	53-48	2	35	D	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
*SW72	3	ATCAGAACAGTGCGCCGT TTGAAAATGGGGTGTTC	FAM	103-113	55-50	0,5	40	G	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
*S0002	3	GAAGCCAAAGAGACAAGTGC GTTCTTTACCCACTGAGCCA	HEX	191-219	60-55	1,5	40	D	Fredholm <i>et al</i> , 1993.
SW445	4	CCTCCCTGGCACTCATTG CACACACACAAGCAGGTGC	TET	184-206	58	2	35	C	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
S0227	4	GATCCATTTATAATTTTAGCACAAGT GCATGGTGTGATGCTATGTCAAGC	HEX	228-254	57	1,5	35	A	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
SW995	5	TTAAGCACTTCATGGAGCTTTG CATAATGGAAATACCGGGTCC	FAM	140-174	60-55	1,5	40	D	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
S0025	7	TCTCCCTTCCCTCCATCTCT CTCCATCAGCCAAAAACATT	FAM	102-116	50	1,5	35	B	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
*SW2410	8	ATTTGCCCCCAAGGTATTTTC CAGGGTGTGGAGGGTAGAAG	HEX	104-122	55-50	2,5	35	B	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
S0225	8	GCTAATGCCAGAGAAATGCAGA CAGGTGGAAAGAATGGAATGAA	HEX	168-190	60-55	2	40	F	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
SW539	9	CCCATCCACGCTAAGAAGAG TCAACGGGAACAATTGAAG	FAM	144-166	60-55	2	35	B	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
SW951	10	TTTCAAACTCTGGCACCAG GATCGTGCCCAAATGGAC	HEX	121-133	58	1,5	35	A	Rohrer <i>et al</i> , 1994.

* Locos recomendados pela FAO/ISAG (2004).

Tabela 2. Continuação.

Marcador	Cr	Seqüências primers (5'-3')	Marcação	Tamanho (pb)	Temperatura (°C)	MgCl ₂ (mM)	Ciclos	Multiplex	Referência
*SW830	10	AAGTACCATGGAGAGGGAAATG ACATGGTTCCAAAGACCTGTG	FAM	174-204	60-55	2	35	B	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
S0230	11	AACAGCCCAAGTGCCCAT TCCCCCTCCACTTCCTTC	FAM	293-315	60-55	2	35	B	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
*SW2008	11	CAGGCCAGAGTAGCGTGC CAGTCCTCCAAAAATAACATG	HEX	87-107	60-55	2	40	E	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
SW957	12	AGGAAGTGAGCTCAGAAAGTGC ATGGACAAGCTTGTTTTCC	HEX	121-147	58	2	40	E	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
SW1962	12	AGTCAAATAGTGGAAGAAGTAAAG AACATTTGGTAACTTATCTGCTTGC	FAM	152-180	63	2,5	40	E	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
SWR1008	13	ACAGCCACCAACAGTGTG GAACTTCCATATGCTGCAAGTG	HEX	205-251	62	1,5	40	E	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
S0007	14	TTACTTCTTTGGATCATGTC GTCCCTCCTCATAATTTCTG	HEX	160-200	62-57	2	40	G	Fredholm <i>et al</i> , 1993.
*SW857	14	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC GATCCTCCTCCAAATCCCAT	HEX	140-160	60-55	2	35	B	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
S0088	15	AGCTGACTTTTAAAAGCAGTGCTC AGTCACCTCTAGGCGTGATCAGCT	TET	146-168	58	2	35	C	Ellegren <i>et al</i> , 1993.
*S0026	16	AACCTTCCCTTCCCAATCAC CACAGACTGCTTTTACTCC	HEX	84-102	60-55	1,5	35	A	Rohrer <i>et al</i> , 1996.
*SW24	17	CTTTGGGTGGAGTGTGTGC ATCCAAATGCTGCAAGCG	TET	93-121	60-55	2	35	C	Rohrer <i>et al</i> , 1994.
SW980	X	CTTCAGTGTAGTCCAAGTGGC GATGTTTTGCTGATAGGAAGGG	FAM	115-131	53-48	2	35	F	Rohrer <i>et al</i> , 1994.

* Locos recomendados pela FAO/ISAG (2004).

2.4. Eletroforese capilar e genotipagem

Após refazer todas as falhas de amplificação nos locos selecionados, foram montados sistemas *Multiplex* para realizar a eletroforese capilar (Tabela 2). Os principais critérios para sua montagem foram o tamanho dos alelos observados e a marcação fluorescente de cada loco. A eletroforese capilar foi realizada em Seqüenciadores Automáticos modelos *ABI Prism 3100* e *3700* (*Applied Biosystems*) pertencentes ao Laboratório de Genética Vegetal sediado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília- DF). Os resultados não foram gerados a partir de apenas uma máquina em razão de fatores como disponibilidade e/ou problemas técnicos ocasionais. Desta forma, 16 locos (S0227, S0026, SW951, S0025, SW539, SW857, SW830, S0230, SW2410, SW24, SW445, S0008, S0225, SW980, SW72 e S0007) foram analisados no *ABI Prism 3100* e oito locos (S0002, SW995, S0313, SW240, SWR1008, SW957, SW2008 e SW1961) analisados no *ABI Prism 3700*.

Os protocolos de preparo das amostras para eletroforese capilar foram diferentes para cada máquina utilizada (Tabela 3). Após o preparo, as amostras foram desnaturadas a 96°C por cinco minutos e imediatamente resfriadas em gelo para diminuir a taxa de anelamento das fitas de DNA do material amplificado.

Para garantir a isenção de qualquer viés proveniente da eletroforese de cada placa analisada, amostras controles foram selecionadas para serem repetidas em todas as corridas. Portanto, qualquer deslocamento de determinado alelo, calculado em número de pares de bases, pode ser identificado entre uma corrida e outra.

Baseado em um padrão de tamanho molecular marcado com fluorescência ROX, desenvolvido por Brondani e Grattapaglia (2001), a análise dos fragmentos das amostras mediante escoreamento das bandas foi possível por meio do programa *GeneScan* (*Applied Biosystems*). Posteriormente, a tipificação alélica foi feita através do programa *Genotyper* (*Applied Biosystems*) para a identificação de polimorfismos.

Tabela 3. Protocolos de preparo dos *mix*'s para análise de fragmentos nos Sequenciadores Automáticos *ABI* 3100 e *ABI* 3700.

Reagentes (µL)	ABI3100	*ABI3700
Produto Amplificado	1,2	0,2
Água		1,0
ROX (Brondani e Grattapaglia, 2001)	1,0	0,25
Formamida Hi-Di	7,8	9,75
Total	10,0	11,2

* As amostras submetidas ao modelo *ABI* 3700 foram diluídas em água à proporção de 1:5 (produto amplificado/ água).

2.5. Análises estatísticas

As análises foram feitas sob duas perspectivas: qualitativa e quantitativa. A primeira contabilizou todos os doze grupos genéticos da espécie *Sus scrofa* além do animal Cateto da espécie *Tayassu tajacu*, totalizando 205 animais (Tabela 1).

A segunda análise levou em conta apenas cinco dos doze grupos genéticos da espécie *Sus scrofa*, os quais tinham uma amostragem acima de 30 animais (Landrace, Monteiro, MS60, Moura e Piau). Por meio desta, as estimativas de variabilidade intra e inter-racial, além da estrutura populacional e certificação racial puderam ser avaliadas para os 182 indivíduos representantes destes cinco grupos genéticos. Posteriormente, a fim de ajudar a interpretação das análises anteriores, a variabilidade intra e inter-populacional foi verificada nas raças Monteiro e Piau.

2.5.1. Análise qualitativa

Esta compreendeu a análise das freqüências gênicas dos grupos genéticos por meio do programa MS_Tools (Park, 2001) para verificação de alelos diagnósticos nos 205 animais analisados.

2.5.2. Análise quantitativa

2.5.2.1. Variabilidade intra-racial

Para analisar a variabilidade genética intra-racial dos 182 animais, o programa Cervus (Marshall *et al.*, 1998) foi utilizado para calcular as frequências alélicas e parâmetros genéticos populacionais tais como: Heterozigosidade esperada (H_e), observada (H_o) e diversidade alélica para cada loco e conteúdo de informação polimórfica (PIC) para cada loco e população. As estimativas de heterozigosidades esperadas (H_e) e observadas (H_o) para cada grupo genético foram calculadas por meio do programa MS_Tools. O número efetivo de alelos (N_e) para cada grupo genético e loco foi calculado utilizando-se a seguinte fórmula:

$$N_e = 1 / (1 - H_e);$$

Onde H_e corresponde à heterozigosidade esperada de cada grupo genético ou loco, respectivamente.

Duas probabilidades de exclusão de paternidade (PE) para cada grupo genético e cada loco também foram estimadas por meio do programa Cervus. Na primeira (PE1) foi estimada a chance de exclusão quando se conhece apenas o genótipo do filho, já na segunda (PE2), quando além do filho, o genótipo de um dos possíveis pais é conhecido. Esta última é mais comum em animais domésticos.

Com o objetivo de auxiliar a seleção dos melhores locos para formação de um futuro painel de caracterização genética de suínos brasileiros, foram estimados, para cada um dos marcadores utilizados, a riqueza alélica, e os índices propostos por Weir & Cockerham (1984): F_{IT} , F_{ST} e F_{IS} , por meio do programa FSTAT (Goudet, 2002). O modelo de alelos infinitos foi considerado e valores de *bootstrapping* (Efron, 1985) foram obtidos para estimar intervalos de confiança a 99% de cada um dos índices. O coeficiente de endogamia (F_{IS}) dentro de cada raça, incluindo os testes de Déficit e Excesso de heterozigotos para este índice em cada uma delas, também foram possíveis mediante

utilização do programa FSTAT. Os valores de p foram estabelecidos por 120.000 permutações para cada população.

Para avaliar a existência de equilíbrio de Hardy-Weinberg dentro dos marcadores e das populações analisadas de suínos, o programa Arlequin (Excoffier *et al.*, 2005) foi utilizado, sendo os testes globais para Déficit e Excesso de heterozigotos possíveis mediante o programa Genepop (Raymond & Rousset, 1995). Valores de p exatos foram obtidos pelo método de Cadeias de Markov mediante análise com os seguintes parâmetros: 2500 dememorizações, 120 *batches* e 1000 permutações.

O desequilíbrio gamético, definido como a associação não ao acaso de alelos entre diferentes locos, foi estimado para todas as possíveis combinações de locos (276) em cada raça estudada. Sob a hipótese nula de que “genótipos de um loco são independentes dos genótipos de outro loco”, tais testes foram realizados por meio do programa Genepop. O algoritmo utilizado foi baseado na análise de tabelas de contingências simples definidas entre os genótipos identificados entre dois locos. Cada tabela de contingência foi testada por meio do método de Cadeias de Markov com 1.200.000 iterações para criar as regiões de aceitação e rejeição da hipótese. Os valores de probabilidades foram estimados a partir de um Teste Exato de Fisher.

2.5.2.2. Variabilidade inter-racial

Para testar as relações existentes entre os cinco grupos genéticos analisados foi estimado o índice de Fixação F_{ST} proposto por Weir & Cockerham (1984), que leva em consideração apenas a variância das frequências dos alelos observados, calculado pelo programa Arlequin. As frequências alélicas apresentadas nas populações também foram comparadas através de distâncias genéticas estabelecidas pelo programa DISPAN (Ota, 1993). Testou-se, portanto, o padrão de distância genética padrão de Nei (1972) e D_A (Nei *et al.*, 1983) para construção de dendrogramas tanto pelo método algorítimo de *Neighbor joining* (Saitou & Nei, 1987), bem como pelo

método de UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) (Sneath & Sokal, 1973). Análises de *bootstrap* com 1000 replicações foram utilizadas para avaliar a consistência interna dos agrupamentos sugeridos, bem como a magnitude dos efeitos de erros amostrais.

A análise de componentes principais foi realizada a partir dos valores de F_{ST} estimados entre os pares de cada grupo genético a partir do programa PCA (Goudet, 1999). Valores de *bootstrapping* foram obtidos a partir de 3000 repetições para testar a consistência dos componentes principais obtidos e gerar os resultados. Esta análise não impõe hierarquias às Unidades operacionais taxonômicas, e diminui a possibilidade de agrupamentos espúrios oriundos de pressuposições de métodos de agrupamento (Paiva, 2005).

2.5.2.3. Estrutura de populações e certificação racial

Duas estratégias foram realizadas para quantificar a estrutura de populações entre e dentro dos grupos genéticos de suínos analisados. A primeira foi uma Análise de Variância Molecular (AMOVA) para medir o quanto da variação observada foi devido à variação inter e intra-racial, utilizando o programa Arlequin. Com o mesmo programa, a variabilidade entre os grupos genéticos também foi quantificada por meio dos valores de F_{ST} e testada a partir de 100.000 iterações de Cadeias de Markov e 1000 permutações.

A segunda estratégia foi estimar a estruturação genética das raças com base na informação individual dos genótipos para cada loco a partir do programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Os indivíduos foram designados (probabilisticamente), por inferência bayesiana, a determinadas populações ou agrupados a uma ou mais populações. Para estas estimativas foram utilizados os métodos de Cadeia de Markov e Monte Carlo, de maneira que foi calculada, para cada indivíduo, a probabilidade de um dado genótipo X fazer parte de uma dada população K: $\ln \Pr(X/K)$. Foram estimadas as probabilidades para valores de K que variaram de um até dez. Para testar a regularidade dos resultados, cada valor de K foi estimado duas vezes

independentemente a partir de 100.000 iterações. Assim, foi possível obter uma estimativa do número de sub-populações existentes entre as amostras, assumindo-se que estas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A probabilidade de certificação racial também foi estimada por um outro método de estatística bayesiana proposto por Rannala & Mountain (1997) (*Assignment test*) por meio do programa Arlequin, inferindo quais as raças que possuíam maiores índices de cruzamento. A probabilidade dos indivíduos pertencerem às suas raças pré-estabelecidas foi obtida a partir das frequências alélicas estimadas em cada amostra, assumindo que todos os locos utilizados são independentes, de maneira que a probabilidade individual global é obtida como o produto da probabilidade individual de cada loco. Simulações de Monte Carlo foram utilizadas para criar as regiões de aceitação e rejeição da hipótese de cada indivíduo corresponder a sua raça de origem e 10.000 genótipos para cada raça foram simulados.

2.5.2.4. Variabilidade intra-populacional

Baseado nas mesmas metodologias utilizadas para obtenção das estimativas de heterozigosidades esperada (H_e) e observada (H_o), número efetivo de alelos (N_e), coeficiente de endogamia (F_{IS}) e testes globais para Déficit e Excesso de heterozigotos em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada um dos cinco grupos genéticos, nesta análise, tais estimativas foram avaliadas em cada uma das populações representantes de regiões diferentes, tanto da raça Monteiro como da raça Piau, separadamente. Desta forma, os animais da raça Monteiro amostrados na região do Distrito Federal e no Pantanal, bem como os da raça Piau coletados no Distrito Federal e em Minas Gerais, foram analisadas a nível intra-populacional como quatro populações distintas.

2.5.2.5. Variabilidade inter-populacional

A variabilidade inter-populacional considerando as populações existentes dentro da raça Monteiro e da raça Piau também foi avaliada. Dessa forma, a distância D_A (Nei et al., 1983) e o método de inferência de UPGMA (Sneath & Sokal, 1973) foram utilizados para gerar o dendrograma.

3. RESULTADOS

3.1. Análise qualitativa

Com base nas frequências alélicas encontradas nos 205 animais analisados a partir de 24 microssatélites, um total de 256 alelos foram identificados de forma que 55 alelos foram diagnósticos em determinados grupos genéticos (Tabela 4).

De forma geral o número de alelos diagnósticos apresentou-se distribuído entre a maioria dos locos, sendo os locos SWR1008 e SW995 aqueles que apresentaram uma maior concentração de alelos diagnósticos (5 e 7, respectivamente). Vale ressaltar que apenas em três locos não foram identificados alelos diagnósticos (S0025, SW24 e S0225).

Os locos SW951, SW445 e SW1962 apresentaram alelos diagnósticos somente na raça Monteiro, outros três (S0026, SW857 e SW72) exclusivamente na raça Piau, e o loco SW980 apresentou alelos diagnósticos apenas na raça Landrace. Nas raças Duroc, Pirapetinga, Pietrain, e no fenótipo Casco de Burro, nenhum alelo diagnóstico foi observado. A raça Caruncho apresentou dois alelos diagnósticos a frequências de 25%, entretanto, foi representado por apenas dois animais.

Alelos diagnósticos encontrados em um percentual igual a 50% só ocorreram na espécie *Tayassu tajacu* (Cateto).

Tabela 4. Número de indivíduos amostrados (N), número médio de alelos (Nm) e número de alelos específicos encontrados em determinadas amplitudes de freqüências alélicas (1-10%, 11-30% e 31-50%) em cada um dos doze grupos genéticos e da espécie *Tayassu tajacu* analisados com 24 locos de microssatélites.

Grupos genéticos	N	Nm	1-10%	11-30%	31-50%
Landrace	31	6,17	9	1	
Monteiro	37	5,83	10	1	1
Moura	35	4,46	1	1	1
MS60	48	5,92	4		
Piau	31	7,25	15	1	
Caruncho	2	2,13		2	
Casco de Burro	1	1,67			
Cateto (<i>Tayassu tajacu</i>)	1	1,68			3
Duroc	4	2,58			
Large White	3	2,75		1	1
Nilo	5	3,45	2	1	
Pietrain	4	2,75			
Pirapetinga	3	2,67			
Total	205	3,8	41	8	6

A raça que apresentou a maior incidência de alelos diagnósticos foi a Piau, seguida pela Monteiro e Landrace. Entretanto, dentre os alelos diagnósticos encontrados na primeira classe de freqüências alélicas estabelecida (1-10%), 13 dos 15 alelos diagnósticos encontrados na raça Piau foram detectados uma única vez, assim como seis dos 10 detectados na raça Monteiro e sete dos nove encontrados na raça Landrace.

A raça Moura, apesar de apresentar poucos alelos diagnósticos, dois de seus três alelos diagnósticos apresentaram-se em freqüências relativamente altas: 31% no loco S0227 e 19% no loco SW2008. Neste primeiro, 55% da população (N=19) apresentaram o determinado alelo diagnóstico de 238pb (Figura 1).

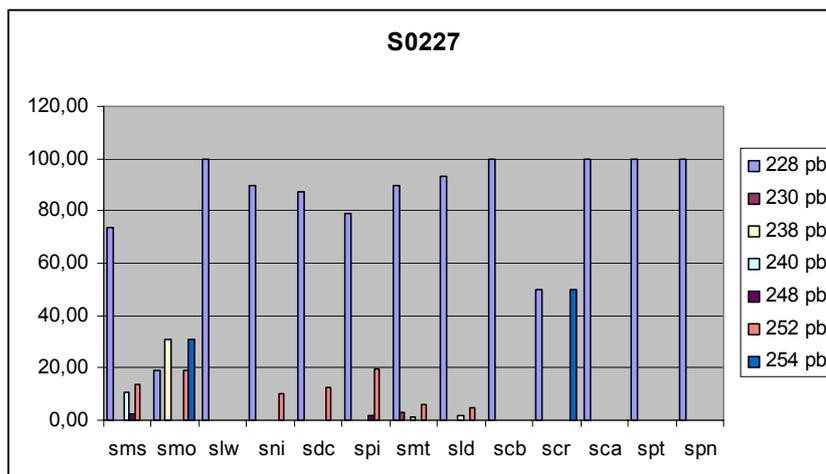


Figura 1. Frequência de alelos diagnósticos encontrados no loco S0227 para todos os grupos genéticos analisados. A cor amarela identifica a frequência do alelo específico de 238pb na raça Moura.

SMS=MS60; SM0-Moura; SLW=Large-White; SNI=Nilo; SDC=Duroc; SPI=Piau; SMT=Monteiro; SLS=Landrace; SCB=Casco de Burro; SCR=Caruncho; SCA=Cateto; SPT=Pirapetinga; SPN=Pietran.

3.2. Análise quantitativa

3.2.1. Variabilidade intra-racial

Na análise dos 24 locos de microssatélites para os cinco grupos genéticos com maiores efetivos que totalizaram 182 animais, 241 alelos foram encontrados. O número de alelos obtidos individualmente dentro dos locos testados (Tabela 5) variou de cinco (S0225 e SW72) a 19 (SWR1008) (Tabela 5). O número efetivo de alelos, também considerado uma medida de estimativa da diversidade genética, variou entre 1,23 a 9,09, sendo equivalentes aos valores de heterozigosidade obtidos nos mesmos locos: SW539 e S0007, respectivamente. As estimativas de riqueza alélica, obtidas a partir de 24 animais de cada grupo genético estudado, mostraram que novamente o loco SW539 obteve o menor valor (3,954) e o loco SWR1008 o maior valor (13,912).

Os maiores valores de PIC (*Polymorphism Information Content*) encontrados foram para os locos SW857, SW445, S0002, SWR1008 e S0007, sendo este último, o maior dentre todos (0,877). Em razão dos baixos valores

obtidos nos locos SW539 e S0088, estes não devem ser recomendados para compor um painel de análise de exclusão de paternidade. Baseado nos resultados de probabilidade de exclusão combinada (PE1 e PE2) para os cinco grupos genéticos referentes a 0,9999 e 0,9999, respectivamente, pôde-se constatar a alta precisão deste painel na exclusão de falsos pais em análises que incluam animais representantes das raças Monteiro, Piau, Moura, Landrace e o composto MS60. Quando testado um outro painel formado apenas pelos dez marcadores mais informativos, a probabilidade de exclusão manteve-se alta (PE1=0,9993 e PE2=0,9999), demonstrando a confiabilidade inalterada quando considerada a PE2. Observou-se que onze dos 24 locos foram significativos quando se aplicou o teste global de EWH para Déficit de heterozigotos: SW72, S0002, SW445, S0025, SW539, SW951, SW2008, SW957, S0088, S0026 e SW980.

Tabela 5. Diversidade genética dos 24 locos de microssatélites utilizados em cinco grupos genéticos de suínos do Brasil. Localização dos locos no genoma suíno (cromossomos - Cr), número de alelos por loco (Na), heterozigosidade observada (Ho), heterozigosidade esperada (He), conteúdo de informação polimórfica (PIC), probabilidades de exclusão 1 (PE1) e 2 (PE2), número efetivo de alelos (Ne), porcentagem de indivíduos tipados (IT), riqueza alélica (RA), valores de p obtidos nos testes de Equilíbrio de Hardy-Weinberg para Déficit de heterozigotos (EHW1) e Excesso de heterozigotos (EHW2) e erros padrão para cada valor de p entre parêntese.

Locus	Cr	Na	Ho	He	PIC	PE(1)	PE(2)	Ne	%IT	RA	EHW1	EHW2
S0313	1	12	0,688	0,810	0,784	0,457	0,631	5,26	95	8,595	0,0734 (0,0081)	0,9251 (0,0073)
SW240	2	14	0,687	0,747	0,719	0,369	0,553	3,95	98	8,150	0,1446 (0,0115)	0,833 (0,0124)
SW72	3	5	0,155	0,526	0,483	0,147	0,303	2,10	78	4,118	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
S0002	3	13	0,604	0,872	0,855	0,579	0,735	7,81	79	10,072	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
SW445	4	12	0,675	0,872	0,856	0,583	0,738	7,81	83	10,183	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
S0227	4	7	0,360	0,476	0,450	0,125	0,287	1,90	97	5,347	0,0306 (0,0019)	0,9677 (0,0024)
SW995	5	13	0,633	0,786	0,753	0,409	0,587	4,67	97	8,006	0,0234 (0,0003)	0,9674 (0,0041)
S0025	7	8	0,500	0,702	0,671	0,309	0,495	3,35	94	6,499	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
SW2410	8	9	0,549	0,497	0,466	0,135	0,297	1,98	95	5,325	0,9572 (0,0033)	0,0496 (0,0038)
S0225	8	5	0,580	0,601	0,543	0,193	0,349	2,50	96	4,450	0,1314 (0,0047)	0,8649 (0,0047)
SW539	9	6	0,156	0,193	0,188	0,019	0,104	1,23	98	3,954	0,0005* (0,0001)	0,9994 (0,0002)
SW951	10	7	0,413	0,609	0,571	0,214	0,388	2,71	98	5,602	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
SW830	10	10	0,604	0,795	0,765	0,427	0,604	4,87	100	7,400	0,0156 (0,0022)	0,9806 (0,0026)
S0230	11	11	0,657	0,815	0,787	0,458	0,633	5,40	96	7,803	0,4285 (0,0155)	0,5498 (0,0173)
SW2008	11	9	0,525	0,730	0,691	0,333	0,513	3,70	97	6,964	0,0006* (0,0002)	0,9993 (0,0002)
SW957	12	12	0,243	0,825	0,803	0,491	0,663	5,71	74	9,724	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
SW1962	12	8	0,754	0,753	0,710	0,344	0,522	4,04	98	5,537	0,9704 (0,0034)	0,0313 (0,0036)
SWR1008	13	19	0,756	0,863	0,852	0,590	0,743	7,29	94	13,912	0,1395 (0,0132)	0,8427 (0,0147)
S0007	14	15	0,763	0,890	0,877	0,630	0,774	9,09	97	11,676	0,5601 (0,0199)	0,4188 (0,0206)
SW857	14	11	0,764	0,830	0,806	0,490	0,661	5,88	97	8,573	0,5629 (0,0148)	0,382 (0,0135)
S0088	15	9	0,305	0,384	0,372	0,083	0,232	1,62	97	6,143	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
S0026	16	8	0,665	0,762	0,720	0,359	0,536	4,20	100	6,068	0,0008* (0,0003)	0,9986 (0,0005)
SW24	17	9	0,644	0,798	0,770	0,432	0,611	4,95	95	7,471	0,2465 (0,0107)	0,7386 (0,0109)
SW980	X	9	0,292	0,718	0,678	0,317	0,496	3,54	84	6,704	0,0001* (0,0001)	0,9999 (0,0001)
MÉDIA		10,04	0,5405	0,702	0,674	0,9999	0,9999**	4,39	93%	7,420		

* $p < 0,001$; ** Os valores de PE1 e PE2, correspondem à probabilidade conjunta de exclusão de paternidade.

Os valores correspondentes a PE2 também foram elevados em todas as raças, sendo proporcionais aos valores de PIC e heterozigosidade observada em relação à heterozigosidade esperada (Tabela 6).

Os valores médios de heterozigosidades observadas nas populações variaram entre 0,44 e 0,60 e apresentaram-se inferiores aos valores médios de heterozigosidades esperadas (0,57 e 0,69). Na raça Monteiro, o número efetivo de alelos (2,32) e a heterozigosidade esperada (0,57) corresponderam aos mais baixos valores entre todas as raças analisadas. Já a raça Piau, apresentou os maiores valores para estas estimativas de número efetivo de alelos e heterozigosidade esperada (3,22 e 0,69 respectivamente) e, portanto, entre as raças naturalizadas, esta foi a que apresentou a maior diversidade genética. A raça Landrace apresentou o maior valor de heterozigosidade observada, sobressaindo-se ligeiramente da raça Piau. Comparações entre estes resultados sugerem que, de uma forma geral, ainda existe uma considerável variabilidade genética dentro desses grupos genéticos analisados, principalmente em se tratando de raças naturalizadas em vias de extinção.

Com relação ao índice F_{IS} (Coeficiente de endogamia), os grupos Monteiro, Piau e MS60 apresentaram, respectivamente, os maiores valores e, portanto, foram significativos ($p < 0,001$) para o teste de Déficit de heterozigotos. Tais resultados corroboraram com os obtidos no teste global de EHW para Déficit de heterozigotos, onde apenas as raças Moura e Landrace mantiveram-se em equilíbrio.

O desequilíbrio de ligação testado entre todos os pares de locos para cada população individualmente, foi significativo ($p < 0,01$) em todas elas. No entanto, observou-se que a raça Landrace e o composto MS60 apresentaram uma menor porcentagem de desvios em relação ao equilíbrio gamético, enquanto nas raças naturalizadas, um maior número de combinações entre locos foi significativo, principalmente na raça Monteiro (13,8%) (Tabela 6).

Tabela 6. Diversidade genética intra-raacial para os cinco grupos genético de suínos obtida a partir de 24 locos de microssatélites. Número de amostras (N), heterozigosidade observada (Ho), heterozigosidade esperada (He), número de alelos identificados (Na), número médio de alelos por raça (Nm), número de alelos efetivos (Ne), conteúdo de informação polimórfica (PIC), probabilidades de exclusão 1 (PE1) e 2 (PE2), porcentagem de indivíduos tipados (%IT), porcentagem de desequilíbrio de ligação (%DL) para todos os pares de locos ($p < 0,01$), coeficiente de endogamia ao nível de indivíduo dentro de cada raça (F_{IS}), valores de p obtidos nos testes de Equilíbrio de Hardy-Weinberg para Déficit de heterozigotos (EHW1) e Excesso de heterozigotos (EHW2) e erros padrão para cada valor de p entre parênteses.

Grupos genéticos	N	Ho	He	Na	Nm	Ne	PIC	PE1	PE2	%IT	%DL	F_{IS}	EHW1	EHW2
Landrace	31	0,60	0,63	148	6,17	2,70	0,95	0,9995	0,9999	0,954	3,63*	0,044	0,0320 (0,0008)	0,9983 (0,0006)
Monteiro	37	0,44	0,57	140	5,83	2,32	0,52	0,9971	0,9999	0,908	13,81*	0,228**	0,0001** (0,0001)	0,9999 (0,0001)
Moura	35	0,57	0,58	107	4,46	2,38	0,52	0,9978	0,9999	0,962	4,36*	0,010	0,0020 (0,0006)	0,9970 (0,0006)
MS60	48	0,53	0,60	142	5,92	2,50	0,56	0,9991	0,9999	0,919	2,18*	0,137**	0,0001** (0,0001)	0,9999 (0,0001)
Piau	31	0,58	0,69	174	7,25	3,22	0,64	0,9999	0,9999	0,946	6,54*	0,159**	0,0001** (0,0001)	0,9999 (0,0001)

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$.

Tabela 7. Coeficiente de endogamia dentro das populações (F_{IS}), do conjunto das populações (F_{IT}) e coeficiente de parentesco entre indivíduos de populações diferentes (F_{ST}) para cada loco analisado. Intervalos de Confiança (IC) em nível de 99%, estimados a partir de reamostragem por *bootstrapping*.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
S0313	0,036	0,180	0,150
SW240	0,013	0,090	0,077
SW72	0,656	0,710	0,153
S0002	0,255	0,321	0,089
SW445	0,135	0,250	0,134
S0227	0,033	0,335	0,314
SW995	0,059	0,233	0,177
S0025	0,137	0,330	0,221
SW2410	-0,144	-0,093	0,045
S0225	-0,076	0,074	0,133
SW539	0,156	0,181	0,031
SW951	0,276	0,346	0,092
SW830	0,094	0,274	0,198
S0230	0,037	0,235	0,202
SW2008	0,112	0,329	0,243
SW957	0,632	0,716	0,216
SW1962	-0,121	0,040	0,145
SWR1008	-0,032	0,148	0,174
S0007	-0,024	0,175	0,194
SW857	-0,045	0,109	0,146
S0088	0,121	0,246	0,141
S0026	0,076	0,140	0,072
SW24	0,065	0,218	0,166
SW980	0,444	0,627	0,312
Média	0,114	0,255	0,16
I.C. 99%	0,026-0,226	0,168-0,361	0,128-0,191

De acordo com as estatísticas de Weir & Cockerham (1984), foram estimados os índices F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} para cada loco (Tabela 7). Foi observado, em média, um valor de 11% de consangüinidade (F_{IS}), 25% de subdivisão da população (F_{IT}) e 16% de diferenciação entre as populações (F_{ST}).

3.2.2. Variabilidade inter-racial

De acordo com a análise de diferenciação genética existente entre os possíveis pares de grupos genéticos, os valores de F_{ST} (tabela 8) evidenciaram uma maior diferenciação entre as raças Monteiro e Moura, sendo a menor,

vista entre as raças Landrace e Piau. Após 1000 permutações, todos os valores apresentados foram significativamente diferentes de zero ($p < 0,05$).

Tabela 8. Matriz de valores correspondentes ao índice F_{ST} obtidos entre os possíveis pares de cinco grupos genéticos de suínos analisados.

Grupos genéticos	Moura	Piau	Monteiro	Landrace
MS60	0,16773*	0,11957*	0,21610*	0,09733*
Moura		0,15136*	0,23313*	0,19139*
Piau			0,0941*	0,08750*
Monteiro				0,17894*

* $p < 0,05$

Comparando os resultados obtidos pelas matrizes de distância D_A (Nei *et al.*, 1983) e de Nei (1972), a primeira possibilitou a inferência de uma árvore mais representativa baseada tanto no método de UPGMA como no método algorítimo de *Neighbor joining*, e com valores de *bootstrapping* mais confiáveis quando utilizado o método UPGMA.

O dendrograma selecionado indica a separação de três grupos distintos (Figura 2). O primeiro grupamento formado pela raça comercial Landrace e o composto comercial MS60 obteve 87% de confiabilidade. O segundo grupo, formado por duas raças naturalizadas (Piau e Monteiro), apresentou um valor de *bootstrapping* igual a 91%. Tais valores, quando utilizada a distância de Nei (1972) para a inferência da árvore pelo método UPGMA, apresentaram-se inferiores: 82% e 80%, respectivamente. O terceiro foi representado pela raça Moura que se mostrou a mais diferenciada e distante em relação às outras analisadas.

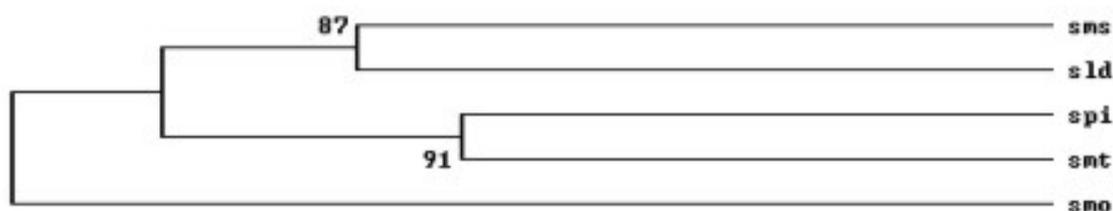


Figura 2. Dendrograma UPGMA baseado na distância D_A com os respectivos valores de *bootstrapping* em cada grupamento.

SMS=MS60, SLD=Landrace, SPI= Piau, SMT=Monteiro, SMO=Moura.

A maior distância genética foi encontrada entre as raças Moura e Monteiro (0,3501), e esta última se apresentou mais relacionada com a raça Piau (0,1740) (Tabela 9).

Tabela 9. Matriz de distância D_A com os respectivos valores para os possíveis pares de cinco grupos genéticos de suínos analisados.

Grupos genéticos	Moura	Piau	Monteiro	Landrace
MS60	0,2766*	0,2163*	0,3237*	0,2051*
Moura		0,2698*	0,3501*	0,3358*
Piau			0,1740*	0,2027*
Monteiro				0,3042*

* $p < 0,001$

Os resultados obtidos pelo dendrograma foram confirmados pela análise de componentes principais para os cinco grupos genéticos avaliados. O primeiro e segundo componentes apresentaram valores de 41% e 33,24%, respectivamente, de maneira que o resultado percentual acumulativo destes dois correspondeu a 74,84% do total da variação observada (Figura 3). Desta forma, o segundo componente principal foi capaz de distinguir novamente a raça Moura de todas as outras analisadas e pôde-se observar mais claramente a proximidade da raça naturalizada Piau com as raças comerciais, mas principalmente com a raça Monteiro. O resultado do teste global para F_{ST} foi igual a 0,14305.

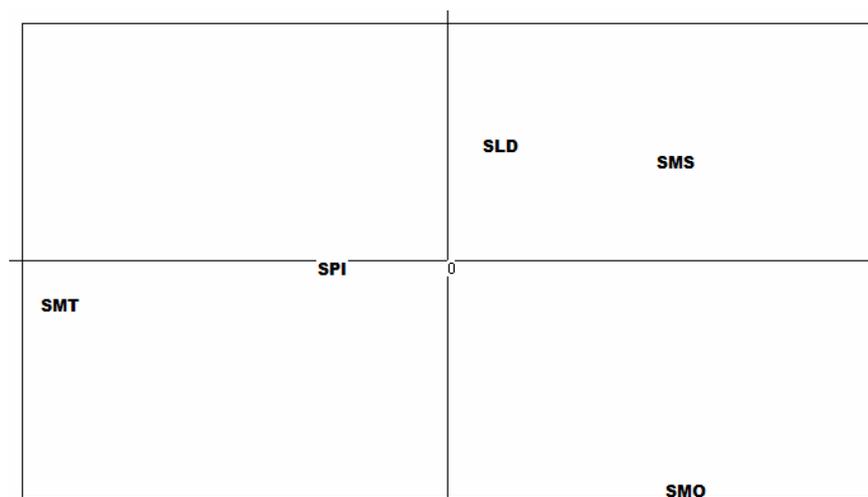


Figura 3. Análise de componentes principais de cinco grupos genéticos de suínos brasileiros baseada nos valores de F_{ST} obtidos a partir de 24 locos de microssatélites. Valores de *bootstrapping* foram obtidos para realizar o teste de significância para cada eixo (41%, eixo X e 33,24%, eixo Y).

SMT=Monteiro, SPI= Piau; SMO= Moura; SLD=Landrace e SMS= MS60.

3.2.3. Estrutura de populações e certificação racial

A estrutura populacional nos níveis de populações existentes dentro dos cinco grupos genéticos foi verificada pelo teste de AMOVA (Tabela 9). Observou-se que 15,73% ($p < 0,001$) da variabilidade existente está distribuída entre os grupos genéticos e em grande parte (84, 27%) dentro desses grupos.

Tabela 10. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para 182 indivíduos amostrados entre os cinco grupos genéticos estudados. Graus de liberdade (gl); soma de quadrados (SQ); componentes de variância (CV).

Fonte de Variação	gl	QM	SQ	CV
Entre populações	4	371,639	1,196	15,73*
Dentro de populações	359	2302,806	6,414	84,27
Total	363	2674,445	7,611	

* $p < 0,001$

Os resultados obtidos pelo programa STRUCTURE, mostraram a distribuição e influência de cada grupo genético dentro das populações inferidas.

Quando observada a análise inferindo apenas duas populações (K=2) pelo mesmo programa, verificou-se a separação das raças naturalizadas daquelas comerciais (Figura 4). Portanto, a evidência de introgressão gênica da raça comercial Landrace e do composto, também comercial, MS60 nas raças naturalizadas, principalmente dentro da raça Piau, pode ser visualizada (Figura 4).

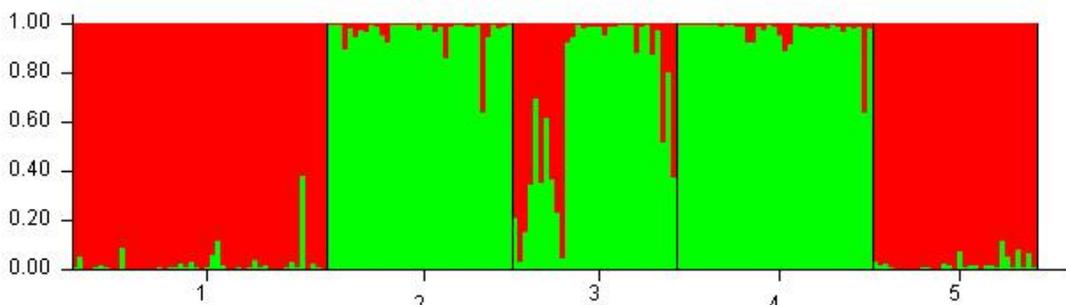


Figura 4. Gráfico com os valores de probabilidades individuais obtidos para K=2.

Vermelho= Raça comercial Landrace (5) e o composto MS60 (1), verde= Raças naturalizadas Moura (2), Piau (3) e Monteiro (4).

O gráfico gerado quando três populações (K=3) enfatizou a diferença da raça Moura em relação a todas as outras, além de sugerir uma única população formada por indivíduos das raças Piau e Monteiro e manter a raça comercial Landrace e o composto comercial MS60 numa mesma população (Figura 5).

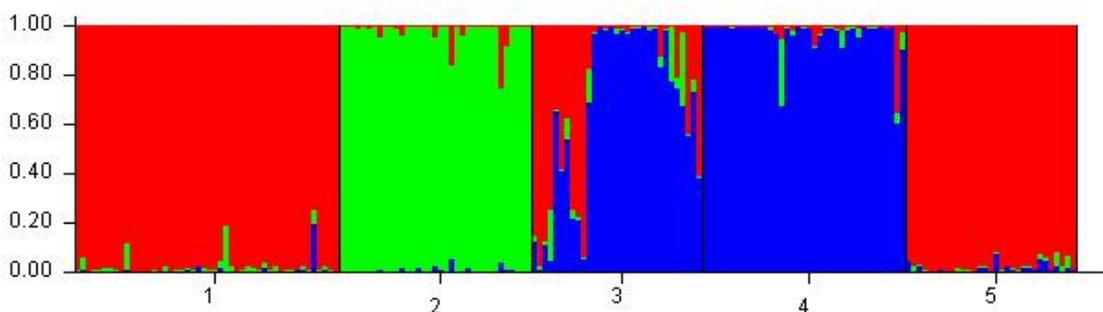


Figura 5. Gráfico com os valores de probabilidades individuais obtidos para K=3.

Vermelho= Raça comercial Landrace (5) e composto MS60 (1), verde= Raça naturalizada Moura (2) e azul= Raças naturalizadas Piau (3) e Monteiro (4).

Diante das possibilidades testadas, o valor de K que mostrou ser mais adequado para explicar o conjunto de dados fornecidos foi igual a sete ($\ln P(X/K) = -10307,9$) (Figura 6).

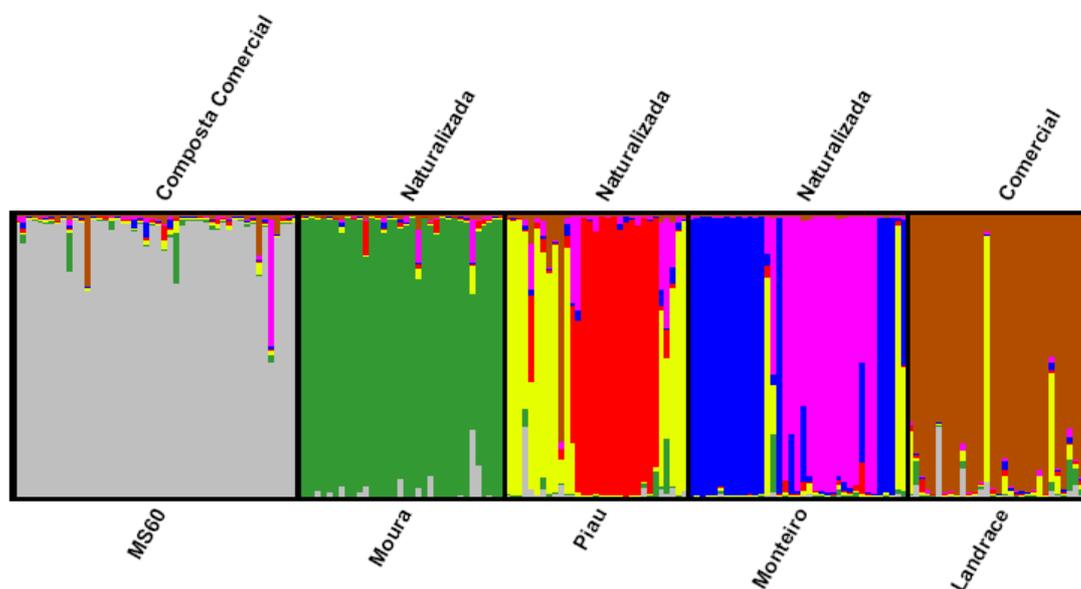


Figura 6. Gráfico com os valores de probabilidade individuais obtidos (matriz Q) para os cinco grupos genéticos de suínos analisados. Os grupos genéticos estão separados pelas linhas negras verticais.

Cinza= MS60, verde= Moura, amarelo= Sub-população da raça Piau da região do Distrito Federal, vermelho= Sub- população da raça Piau de Minas Gerais, azul= Sub-população da raça Monteiro da região do Distrito Federal, rosa= Sub-população da raça Monteiro do Mato Grosso (Pantanal) e marrom= Landrace.

Com base neste valor de K escolhido, a Tabela 11 mostra as probabilidades de certificação dos cinco grupos genéticos amostrados ao longo das sete populações inferidas.

Tabela 11. Proporção de indivíduos de cada um dos cinco grupos genéticos analisados em relação às sete populações inferidas pelo programa STRUCTURE.

Grupos genéticos	Populações Inferidas (K)						
	A	B	C	D	E	F	G
Landrace	0,082	0,007	0,022	0,006	0,013	0,862	0,008
Monteiro	0,068	0,410	0,004	0,494	0,010	0,004	0,010
Moura	0,008	0,012	0,021	0,003	0,941	0,006	0,009
MS60	0,008	0,014	0,939	0,006	0,013	0,015	0,005
Piau	0,390	0,063	0,018	0,012	0,017	0,043	0,458
Fst para K	0,031	0,186	0,181	0,332	0,282	0,170	0,239

De acordo com a tabela 11, a terceira e quinta populações inferidas (C e E) estão diretamente relacionadas, respectivamente, ao composto MS60 e à raça Moura. Os valores observados (0,939 e 0,941) comprovam a alta proporção das mesmas, refletindo uma maior identidade genética. Entretanto, dois animais representantes do composto MS60 mostraram-se influenciados por alelos presentes na raça Moura, outros dois indivíduos com alelos em comum com a raça Landrace, e outro com quase a metade de sua identidade referente a alelos da raça Monteiro (Figura 6). Na raça Moura, dois indivíduos, sendo um de forma mais expressiva, apresentaram-se influenciados por alelos das raças Piau e Monteiro. Nesta mesma raça, foram identificados também, alguns animais relacionados com o composto comercial MS60.

A população F, que apresentou uma probabilidade de certificação de 0,862 para a raça Landrace, sugeriu que alguns animais pertencentes a essa raça (um proveniente da Embrapa Suínos e Aves em Concórdia-SC e principalmente aqueles coletados no Núcleo Rural Rio Preto-DF), mostraram-se influenciados por alelos presentes na população de animais Piau amostrados pelas redondezas do Distrito Federal.

A população A apresentou-se a mais sub-estruturada dentre todas inferidas, principalmente entre as raças Piau e Landrace. Portanto, a relação genética entre estas duas raças ficou ainda mais evidente, confirmando a influência de alelos da raça Landrace em alguns animais da raça Piau coletados nas regiões de Sobradinho e no Núcleo Rural Capão Seco (ambas situadas no Distrito Federal). Observou-se também a influência de alelos do composto MS60 e da raça Moura (em menor proporção) em alguns destes indivíduos da raça Piau. Ainda com relação à população A, foi observada a existência de alelos em comum entre animais da raça Piau provenientes do Núcleo Rural Rio Preto e da raça Monteiro advindos da região do Pantanal Matogrossense e também do Distrito Federal. A figura 6 evidencia essa influência na raça Piau (representados pela cor amarela) por indivíduos da raça Monteiro (rosa e azul). Os animais da raça Piau advindos da Fazenda Sucupira mostraram-se bem caracterizados dentro da sub-população proposta, com pouca ou insignificante influência de alelos de outras raças.

De forma semelhante ao observado na população A, a população G sugeriu uma sub-estruturação (Tabela 11) apontando compartilhamento de alelos dos indivíduos da raça Piau provenientes da Granja de Melhoramento de Suínos da Universidade Federal de Viçosa com animais Monteiro advindos da região do Pantanal Matogrossense. Assim, a sub-estruturação da raça Piau entre animais da região do Distrito Federal e Minas Gerais foi claramente observada pelas cores amarelo e vermelho, respectivamente (Figura 6).

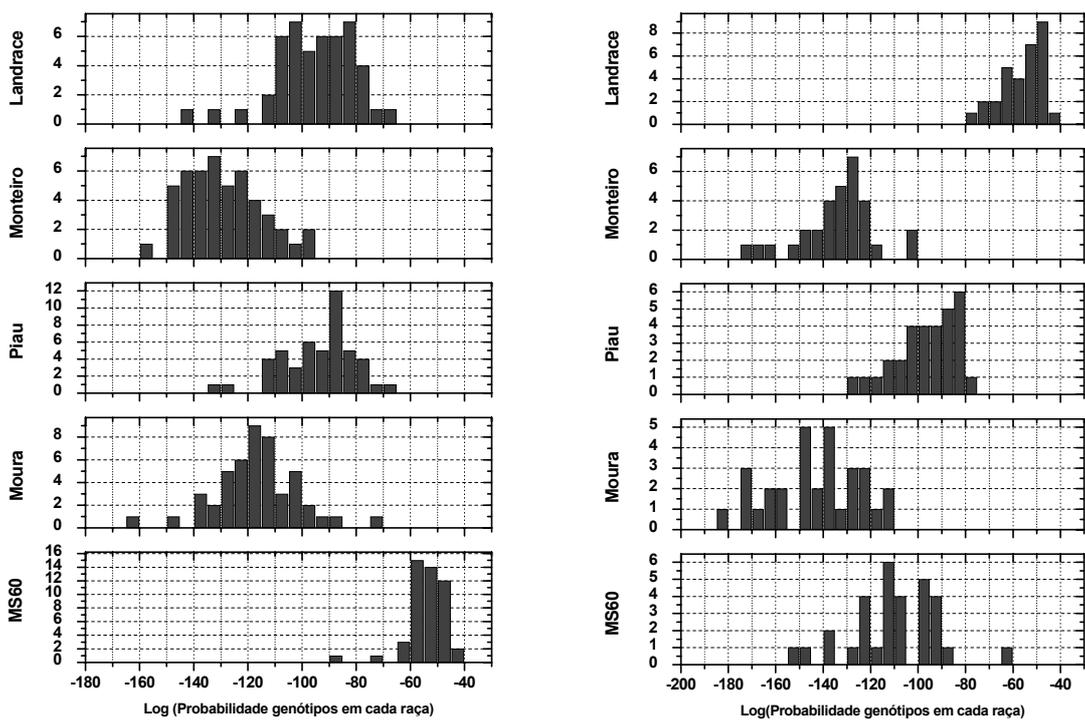
Por último, as populações B e D representaram a sub-estruturação sugerida da raça Monteiro entre animais das regiões do Distrito Federal e Pantanal Matogrossense, marcadas pelas cores azul e rosa na figura 6, respectivamente. Os animais coletados no Núcleo Rural Tabatinga e em Brasília, designados à população B, foram aqueles que apresentaram alelos em comum com indivíduos da raça Piau também amostrados no Distrito Federal. Por outro lado, a população D apresentou-se menos influenciadas por alelos presentes na raça Piau, mas alguns animais designados a esta população apresentaram alelos em comum com animais da mesma raça (Monteiro), no entanto, pertencentes à outra sub-população proposta (B), referentes àqueles coletados no âmbito do Distrito Federal. Os animais pertencentes à Fazenda Sucupira mostraram-se bem caracterizados dentro da sub-população proposta para animais Monteiro do Distrito Federal.

A identificação de sub-estruturação dentro das raças Piau e Monteiro sugeriu a menor probabilidade racial constatada nestas raças, principalmente na raça Piau. Esta por sua vez, mostrou-se mais fortemente influenciada por outras raças.

Com base nos valores de F_{ST} para cada população inferida (K) (tabela 11), ficou claro que a população D apresentou maior variabilidade genética existente entre suas sub-populações sugeridas (0,332). Por outro lado, na população A este valor foi o mais baixo, resultado da menor discrepância entre os valores de probabilidades de certificação apresentados nas raças que a compunham.

A probabilidade de um determinado genótipo pertencer a um determinado grupo genético, dentre os cinco estudados, bem como o número de indivíduos designados a determinadas populações foram quantificados mediante aplicação do *Assignment test* (Figuras 7 e 8). Os resultados corroboraram, em parte, com aqueles identificados pelo programa STRUCTURE. Portanto, os grupos com maiores probabilidades de classificações corretas também foram, respectivamente, a raça Moura (Figura 8-A), o composto MS60 e a raça Landrace (Figura 7-A e B, respectivamente). O compartilhamento de alelos entre as raças naturalizada Piau e Monteiro (Figura 8- B e C, respectivamente) mais uma vez pode ser identificado, como visto na figura 8-C, no entanto, com relação a estas raças, essa última se mostrou mais influenciada por alelos de outras raças do que a primeira. Em outras palavras, um maior número de indivíduos representantes da raça Monteiro se apresentaram com genótipos probabilisticamente mais adequados a se enquadrarem em populações de outras raças.

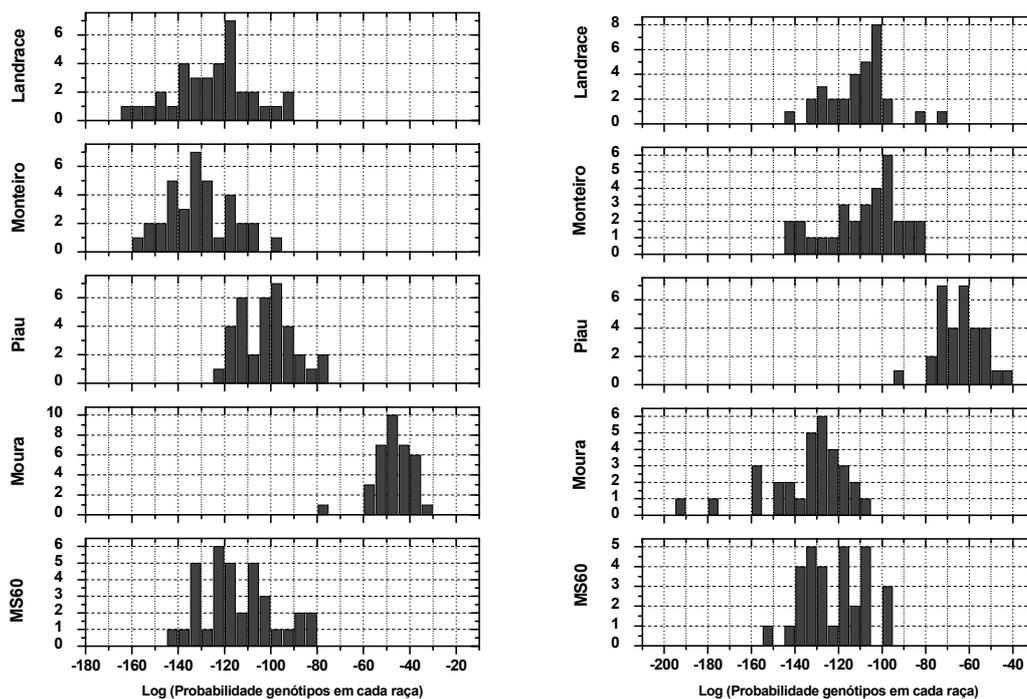
Pelo *Assignment test* pode-se também ser identificado um animal representante da raça Landrace proveniente do Núcleo Rural Rio Preto (DF) apresentando compartilhamento de alelos com indivíduos da raça Piau, corroborando com o sugerido pelo programa STRUCTURE.



A

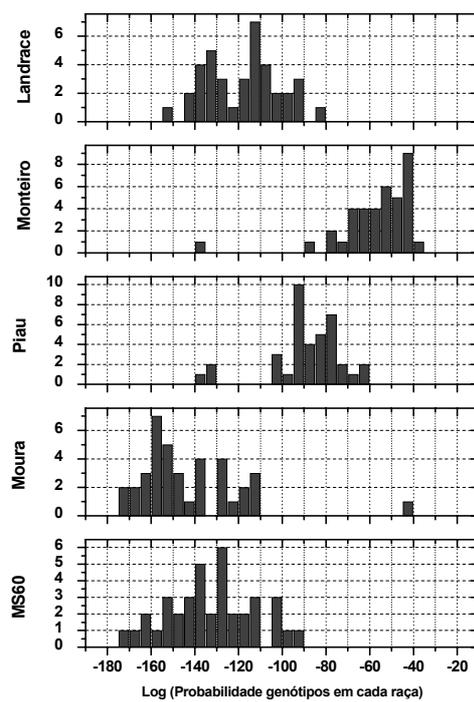
B

Figura 7. Número de indivíduos (eixo Y) em cada um dos cinco grupos genéticos analisados que apresentam compartilhamento de alelos com outras raças de acordo com as probabilidades apresentadas (eixo X): MS60 (A) e Landrace (B).



A

B



C

Figura 8. Número de indivíduos (eixo Y) em cada um dos cinco grupos genéticos analisados que apresentam compartilhamento de alelos com outras raças de acordo com as probabilidades apresentadas (eixo X): Moura (A), Piau (B) e Monteiro (C).

3.2.4. Variabilidade intra-populacional

De acordo com a tabela 12, os valores de heterozigosidades esperadas (He) e número efetivo de alelos sugeriram que a sub-população da raça Piau representada pelos animais do Distrito Federal contribuiu em grande parte para a alta variabilidade genética detectada nesta raça. Entretanto, esta sub-população apresentou um significativo valor de F_{IS} ($p < 0,001$) para o teste de Déficit de heterozigotos, bem como para o teste global de EHW também para Déficit de heterozigotos. Por outro lado, a sub-população de Minas Gerais, apesar de ter apresentado valores de heterozigosidades esperadas (He) e número efetivo de alelos mais baixos, não apresentou um elevado valor de F_{IS} , bem como não foi significativa para os testes de Déficit de heterozigotos.

Na raça Monteiro, as duas sub-populações também apresentaram heterozigosidades observadas (H_o) menores do que as esperadas (He), elevados valores de F_{IS} e mostraram-se significativas ($p < 0,001$) para os testes de Déficit de heterozigotos.

Tabela 12. Diversidade intra-populacional para cada sub-população das raças Piau (Distrito Federal- DFpiau e Minas Gerais- MGpiau) e Monteiro (Distrito Federal- DFmonteiro e Pantanal-MTmonteiro). Heterozigosidade observada (H_o) e esperada (He), número efetivo de alelos (Ne), coeficiente de endogamia ao nível de indivíduo dentro de cada população (F_{IS}) e valores de p obtidos nos testes de equilíbrio de Hardy-Weinberg para Déficit de heterozigotos (EHW1) e Excesso de heterozigotos (EHW2) e erros padrão para cada valor de p entre parênteses.

Populações	H_o	He	Ne	F_{IS}	EHW1	EHW2
DFpiau	0,59	0,70	3,33	0,156*	0,0001(0,0001)*	0,9999(0,0001)*
MGpiau	0,55	0,57	2,32	0,028	0,1124(0,0041)	0,8700(0,0054)
DFmonteiro	0,39	0,49	1,96	0,211*	0,0001(0,0001)*	0,9999(0,0001)*
MTmonteiro	0,51	0,57	2,32	0,120*	0,0001(0,0001)*	0,9999(0,0001)*

* $p < 0,001$

3.2.5. Variabilidade inter-populacional

O dendrograma obtido pelo método de inferência UPGMA e pelas distâncias D_A (Nei *et al.*, 1983) (Figura 9) revelou que a sub-população da raça Piau do Distrito Federal se manteve mais próxima principalmente da raça

Landrace, com um valor de *bootstrapping* para este agrupamento igual a 55%. A outra sub-população representante do rebanho de Minas Gerais, mostrou-se mais relacionada com as duas sub-populações da raça Monteiro. Estas por sua vez, se mostraram agrupadas, apresentando um valor de *bootstrapping* igual a 69%.

De forma geral, estes resultados esclareceram melhor as distâncias genéticas entre os grupos genéticos quando consideradas as sub-populações.

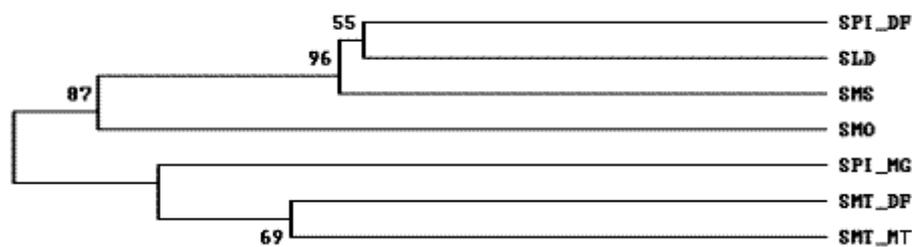


Figura 9. Dendrograma UPGMA baseado na distância D_A com os respectivos valores de *bootstrapping* em cada agrupamento.

SPI-DF= Sub-população da raça Piau do Distrito Federal, SLD= Landrace, SMS= MS60, SMO= Moura, SPI-MG= Sub-população da raça Piau de Minas Gerais, SMT-DF= Sub-população da raça Monteiro do Distrito Federal, SMT-MT= Sub-população da raça Monteiro do Mato Grosso (Pantanal).

4. DISCUSSÃO

4.1. Análise qualitativa

Apesar da baixa amostragem realizada em sete grupos genéticos e no Cateto (*Tayassu tajacu*), foi observada uma razoável variabilidade qualitativa, de maneira que muitos destes grupos genéticos apresentaram alelos diagnósticos. A espécie *Tayassu tajacu*, que foi representada por apenas um indivíduo, apresentou alelos diagnósticos a uma frequência de 50%, o que é de se esperar por se tratar de uma outra espécie. Existe, praticamente, uma transferência total dos locos utilizados em *Sus scrofa* para a espécie *T. tajacu*. Similarmente, Gonella (2005) detectou heterologia em alguns locos de microssatélites entre a raça Monteiro e a espécie *Tayassu pecari*, esta última muito semelhante ao Cateto. No Pantanal Matogrossense, o porco Monteiro tem disputado o mesmo nicho ecológico que o Cateto, sendo este último considerado um animal cada vez mais raro. Assim sendo, pode-se propor outras análises baseando-se em um maior número de amostras representativas inclusive da região do Pantanal.

A ausência de alelos diagnósticos no fenótipo Casco de Burro, poderia reforçar a dificuldade de defini-lo como raça, mas como sugeriram Li *et al.* (2000), a aplicação de classificação racial com base na existência de alelos específicos, não pode ser considerada quando se tem uma baixa amostragem. Posteriores estudos para investigar a diversidade genética, bem como o padrão racial e o status genético do fenótipo desse grupamento genético deverão ser considerados.

A maioria dos alelos diagnósticos foram encontrados a uma baixa frequência (<10%), enquanto Fan *et al.* (2002) constataram que poucos dos alelos específicos detectados em populações de suínos chineses encontravam-se nesta classe. Como mais de 50% dos alelos diagnósticos, encontrados a esta frequência (<10%), foram representados por apenas uma cópia nas raças Piau, Monteiro e Landrace, estes podem ser devido a possíveis erros de genotipagem. San Cristobal *et al.* (2006) descartaram alelos encontrados uma

única vez em raças suínas europeias afirmando ser o resultado de erros de genotipagem.

4.2. Análise quantitativa

4.2.1. Variabilidade Intra-racial

De forma geral, pôde-se constatar que o número de alelos diagnósticos pouco contribuiu para explicar a diversidade genética dos grupos genéticos representados por um maior número de amostras (Landrace, Monteiro, MS60, Moura e Piau). A raça Monteiro, por exemplo, mesmo possuindo um elevado número de alelos específicos, pode ser considerada a raça de menor variabilidade genética, quando analisado o número de alelos efetivos e a estimativa de heterozigosidade esperada.

Já a raça naturalizada Piau, apresentou a maior diversidade genética dentre todas analisadas, principalmente devido a alta variabilidade genética detectada na população amostrada no Distrito Federal, resultado do elevado grau de cruzamentos com outras raças. Lemus Flores *et al.* (2001) a partir de análises com suínos de raças mexicanas, sugeriram que a elevada heterozigosidade encontrada pode ser explicada pela ocorrência de uma baixa pressão de seleção e pela escassez de programas de melhoramento.

Considerável diversidade genética foi apresentada no composto MS60 e o fato de ser uma raça sintética, formada por três raças comerciais, pode ser uma explicação. Comparando as estimativas de heterozigosidade esperadas e o número efetivo de alelos, a raça comercial Landrace mostrou uma variabilidade genética superior a todas as outras raças, a exceção da naturalizada Piau. Kim *et al.* (2005) observaram um valor de heterozigosidade esperada na raça Landrace (0,702) superior a todas as outras raças comerciais e naturalizadas chinesas, coreanas e europeias estudadas. A raça Moura mostrou-se com uma diversidade genética superior apenas com relação à raça Monteiro, e pode-se justificar devido a diferenças em tamanho efetivo dessas duas populações.

Dos cinco grupos genéticos analisados, as raças Monteiro e Piau e o composto MS60 não se mostraram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). A deficiência de heterozigotos detectada e, conseqüentemente, o aumento de indivíduos homozigotos em relação ao esperado pode sugerir a ocorrência do efeito Wahlund nas raças Monteiro e Piau, o que pode indicar uma possível sub-estruturação dentro de suas populações. O próprio fato das amostras terem sido coletadas em regiões diferentes pode também ser outro indicativo para a ocorrência de tal sub-estruturação. Como sugerido por Kim *et al.* (2005), a ocorrência de efeito Wahlund seria a explicação mais plausível para justificar o desvio detectado nas raças analisadas em relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os animais tanto da raça Monteiro como da raça Piau, amostrados na região do Distrito Federal, pertenciam a pequenas propriedades onde a maioria dos cruzamentos entre os animais não são controlados e o efetivo populacional é reduzido. A seleção de animais não aparentados em populações com estas características geralmente é dificultada, e pode também influenciar nos resultados de desvio em relação ao EHW, como proposto por Fan *et al.* (2002) analisando raças chinesas naturalizadas.

Os animais representantes do composto MS60 foram coletados de um único rebanho e fazem parte de uma população provavelmente formada a partir de poucos indivíduos, o que poderia tornar sua base genética restrita. Desta forma, pode-se supor que exista um efeito fundador nesta população, o que também pode contribuir para este desvio, assim como sugeriram Yang *et al.* (2003) ao verificarem o desequilíbrio de HW em algumas populações locais de suínos chineses. A própria pressão de seleção sob os indivíduos deste grupo genético, que em sua composição já possuem um elevado grau de cruzamento, pode ser mais uma justificativa para o desvio em relação ao EHW.

Por outro lado, as raças Landrace e Moura mantiveram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg devido, provavelmente, ao fato de os animais serem representantes de um rebanho de tamanho efetivo maior com poucos eventos de migração, onde a ocorrência de fixação de alelos pode ser evitada. Estudando raças européias naturalizadas e comerciais de suínos, Laval *et al.* (2000) observaram que, ao contrário do observado no presente trabalho, a

maioria das raças mantiveram-se em EHW, à exceção da raça Landrace e de uma raça local. Esses autores justificaram tal desvio pelos elevados valores de F_{IS} apresentados por estas raças. Neste estudo, foi observado realmente que as raças Landrace e Moura não apresentaram um valor significativo de F_{IS} , enquanto os outros três grupos genéticos, que se mostraram desviados em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, obtiveram valores significativos de F_{IS} para déficit de heterozigotos.

Como os animais da raça Monteiro coletados na região Distrito Federal para este trabalho eram pertencentes a rebanhos muito pequenos, e aqueles da região do Pantanal faziam parte de uma população mantida em cativeiro, provavelmente, com um efetivo populacional também reduzido, estas características da amostragem podem ter contribuído para o elevado grau de endogamia observado nesta raça. Vale ressaltar que San Cristobal *et al.* (2006) inferiram que valores positivos de F_{IS} detectados em algumas raças européias de suínos podem ser devido à sub-estruturação das populações. Segundo Thévenon & Couvet (2002), a consangüinidade tem um impacto muito grande sobre a capacidade de sobrevivência dos animais em populações de tamanho reduzido, o que conseqüentemente pode contribuir para o grau de desaparecimento de uma raça.

Na raça Piau, o excesso de indivíduos homozigotos em relação ao EHW foi constatado, coincidindo com os valores significativos de F_{IS} , como constatado nos animais do Distrito Federal, diferentemente daqueles de Viçosa (MG). Canul *et al.* (2005) analisando populações de suínos mexicanos, inferiram que diferenças nos valores de heterozigosidade esperadas e observadas podem indicar que a amostragem não se encontra dentro das expectativas do equilíbrio.

As condições nas quais os animais das raças naturalizadas Monteiro e Piau foram amostrados, o indicativo da existência de sub-estruturações nestas populações e a provável ocorrência de cruzamentos com outras raças e também entre animais aparentados, podem ter contribuído para o elevado grau de desequilíbrio gamético observado nestas duas raças. O desequilíbrio de

ligação observado em raças da espécie bovina, também foi justificado pelos mesmos fatores (McHugh *et al.*, 1997).

De uma forma geral, os cinco grupos genéticos de suínos apresentaram heterozigosidade observadas inferiores aos valores de heterozigosidade esperadas e estas estimativas, assim como a diversidade alélica, se mostraram variáveis entre estas populações. Este padrão de distribuição também foi verificado por Li *et al.* (2004) avaliando diversidade genética em raças nativas chinesas. No entanto, os parâmetros heterozigosidade esperada e número efetivo de alelos variaram proporcionalmente entre as raças e refletiram mais precisamente sobre os níveis de variabilidade genética intra-racial. Behl *et al.* (2006) analisando três raças naturalizadas de suínos indianos e uma comercial com 23 microssatélites, encontraram valores mais altos de heterozigosidade esperada (0,74 a 0,83) e um número efetivo de alelos variando entre 4,78 e 5,34. Por outro lado, Fang *et al.* (2005) obtiveram um valor médio inferior para este parâmetro (0,50) e uma amplitude de variação do número de alelos de 1,7 a 4,8 analisando 32 raças nativas chinesas, três raças comerciais e dois tipos selvagens com 34 microssatélites. Neste caso, maior que a amplitude identificada entre as cinco raças brasileiras de suínos estudadas (2,32 a 3,22).

Os valores de heterozigosidades esperadas para os locos S0026, SW951, S0225 e S0227 foram superiores aos valores encontrados nestes mesmos locos em um estudo com raças cubanas nativas de suínos por Martínez *et al.* (2005): 0,51; 0,52; 0,47; 0,25; respectivamente. Laval *et al.* (2000) analisando oito locos em comum aos testados no presente trabalho em onze raças européias de suínos, detectaram um maior número de alelos quando comparados os locos S0225, SW72, SW24 e S0227 (10, 9, 13 e 8), entretanto outros quatro locos com menor número de alelos (S0026=7, SW875=9, SW951=4 e SW240=11). A diversidade alélica de 10,04, obtida por este painel de microssatélites, mostrou-se superior quando comparada com o valor de 7,62 obtido por Fan *et al.* (2003). Considerando que estes parâmetros variam muito conforme número e variedade de locos utilizados, além do tamanho amostral, a possibilidade de maiores comparações é limitada.

O valor médio do conteúdo de informação polimórfica (PIC) detectado (0,674), foi semelhante ao valor de 0,691 encontrado por Li *et al.* (2000), que testaram 27 locos em raças chinesas e australianas, dos quais nove também foram utilizados neste trabalho (SW24, S0227, S0225, SW951, SW72, SW857, S0026, SW240 e S0002).

Adicionalmente, o PIC observado nos locos revelou um painel capaz de obter elevados valores de probabilidade de exclusão de paternidade nos grupos genéticos analisados, inclusive nas raças naturalizadas, mesmo sendo representado por apenas nove marcadores recomendados pela FAO/ISAG (2004). O valor das probabilidades se manteve alto (PE1=0,9993 e PE2=0,9999) quando se utilizou apenas os dez locos mais polimórficos. Esta semelhança nos resultados obtidos quando se utilizou 24 ou dez locos, sinaliza para uma possível redução tanto no tempo de execução quanto nos custos de material utilizado nas análises.

Pode-se observar que as probabilidades de exclusão mais altas foram detectadas nos grupos genético que possuíam maior heterozigosidade, assim como verificaram Luikat *et al.* (1999), analisando a acurácia de 22 marcadores microssatélites na aplicação de testes de paternidade em cabras. Por outro lado, estes mesmos autores sugeriram que locos que se apresentam desviados do EHW afetam o valor desta probabilidade, o que não aconteceu no presente trabalho. O desvio observado em onze locos pode ser principalmente atribuído à ocorrência de sub-estruturação dentro de algumas raças, como proposto por Jordana *et al.* (2003), avaliando diversidade genética em raças da espécie bovina. Estes mesmos autores analisando os índices de fixação F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} nos locos, para estimar o grau de diferenciação entre as populações, observaram que o valor do índice F_{IS} (0,076) apresentou-se positivo e o de F_{IT} (0,139) maior que o F_{ST} (0,068). No presente trabalho identificou-se a mesma variação, porém, com valores superiores (0,114; 0,255 e 0,160, respectivamente).

4.2.2. Variabilidade Inter-racial

A estimativa de F_{ST} utilizada para mensurar o grau de divergência entre populações ou raças é fortemente influenciada pelo nível de diversidade existente dentro das populações (Wright, 1951). Dessa forma, a análise de diferenciação entre pares de grupos genéticos evidenciou que as raças Landrace e Piau apresentaram-se mais relacionadas (0,087) devido, provavelmente, à ocorrência de migrações e conseqüentes cruzamentos, principalmente entre os animais amostrados no Distrito Federal. Por outro lado, a maior divergência genética foi encontrada entre as raças Monteiro e Moura. Vale ressaltar que as raças comerciais também se mostraram muito diferentes geneticamente do Monteiro. Uma vez que as amostras destas raças foram coletadas em lugares distintos, pode ser descartada a hipótese de um fluxo gênico recente. De uma forma geral, a natureza da amostra, os diferentes tipos de marcadores utilizados, o tamanho populacional amostrado e a estrutura genética das populações em questão, influenciam os valores de F_{ST} , portanto, comparações com resultados de outros países são limitadas.

A distância D_A (Nei *et al.* 1983) geralmente é considerada mais adequada para a obtenção de topologias baseadas no modelo de alelos infinitos e mais indicada para verificar distâncias genéticas a nível populacional do que específico. Baumung *et al.* (2004) afirmaram que 51% dos projetos de diversidade genética analisados em bovinos, caprinos, ovinos, suínos e aves, utilizaram a distância D_A (Nei *et al.* 1983). Estes dados reforçam a escolha desta distância para inferir sobre a relação genética entre as raças analisadas de suínos.

Comparado ao algoritmo *Neighbor joining*, o método UPGMA escolhido, além de ter apresentado os maiores valores de *bootstrapping*, é também considerado superior quando subseqüentes migrações entre populações estão presentes, como sugeriram Achmann *et al.* (2004) estudando diversidade inter-racial entre populações de eqüinos. Corroborando com os resultados obtidos, Kim *et al.* (2005) também encontraram maiores valores de *bootstrapping* pelo método de UPGMA do que pelo *Neighbor joining*. Utilizando a distância D_A ,

Martínez *et al.* (2000) inferiram que os valores de *bootstrapping* obtidos em conjunto com o método de *Neighbor joining*, não foram suficientes para diferenciar claramente as variedades de suínos ibéricos.

Com base nas análises pela distância genética proposta, onde as frequências alélicas são comparadas entre as populações, os resultados, como esperado, foram bem semelhantes aos encontrados pela matriz de F_{ST} e puderam ser mais compreendidos quando analisada a variabilidade inter-populacional que considerou as sub-populações existentes dentro das raças Monteiro e Piau. A menor distância genética encontrada foi entre estas duas raças, o que sugere a ocorrência de compartilhamento de alelos principalmente entre a população da raça Piau coletada na Granja de Melhoramento Genético da Universidade Federal de Viçosa (MG) com a raça Monteiro. Era esperado que esta população da raça Piau mostrasse uma relação mais próxima com as raças comerciais, pois as raças Landrace e Large White também compõem o rebanho desta granja. Entretanto, provavelmente os animais coletados foram aqueles utilizados na formação de famílias segregantes, ou seja, não cruzados. Além disso, o dendrograma apresentado pela análise inter-populacional não apresentou o valor de *bootstrap* que confirma a confiabilidade do agrupamento desta população da raça Piau com a raça Monteiro. Por outro lado, por serem raças naturalizadas, a possibilidade destas raças possuírem uma mesma origem genética não deve ser desconsiderada, mas posteriores estudos poderiam, de forma mais aprofundada, esclarecer tal suposição.

O não agrupamento da raça Moura com as outras duas raças naturalizadas sugere que eventos de migração pouco possam ter ocorrido em razão das próprias distâncias geográficas entre elas. Esta é uma raça típica da região sul do Brasil, e provavelmente o processo de sua formação foi influenciado por raças distintas àquelas que podem ter interferido nas raças Piau e Monteiro, originárias das regiões Sudeste e Centro-oeste, respectivamente.

O distanciamento genético da raça Moura, também observado em relação à raça Landrace e o composto MS60, pode sugerir que sua origem genética, provavelmente ibérica, difere destas raças comerciais. Baseando-se

em polimorfismos protéicos, Tagliaro *et al.* (1995) mostraram, contrariamente, uma similaridade genética da raça Moura com as raças comerciais Landrace e Large White. Os autores inferiram que tal similaridade foi devido a cruzamentos recorrentes, pois também partiram do pressuposto de que suas origens genéticas fossem distintas. Considerando que alelos específicos em determinadas raças podem ser mais uma medida simples de diferenciação de populações, a elevada frequência de alelos específicos encontrada em alguns locos pode também ter contribuído para o afastamento da raça Moura em relação às demais. Portanto, a raça Moura pode ser considerada uma raça naturalizada que ainda possui alta distinção genética comparada às outras. Tal fato sugere a viabilidade de estudos mais criteriosos sobre suas características fenotípicas, produtivas e reprodutivas, a fim de propor sua utilização em sistemas de cruzamentos, bem como em outros programas de conservação.

Os resultados pela análise de componentes principais coincidiram com a distribuição das raças proposta pela árvore UPGMA; evidenciaram a separação destas em três blocos distintos e realçaram a proximidade da raça Piau com as raças comerciais. Isto sugere a maior disseminação desta última quando comparada com as outras naturalizadas.

Saitbekova *et al.* (1999) concluíram que a análise dos componentes principais mostrou-se mais explicativa do que a árvore inferida pelo método algorítimo de *Neighbor joining* para diferenciar claramente raças nativas de cabras. Comparado ao resultado obtido pela soma dos dois componentes principais (74%), Fan *et al.* (2002) observaram que apenas 41% da variação total existente entre raças chinesas de suínos foram geometricamente representadas pela análise de dois componentes principais.

4.2.3. Estrutura de populações e certificação racial

O valor do Índice de Diferença Gênica (F_{ST}) encontrado na Análise de Variância Molecular (AMOVA) mostrou que aproximadamente 16% da variabilidade genética está distribuída entre as cinco raças ou grupos genéticos brasileiros de suínos, sendo sua maior parte, compartimentalizada dentro

destas populações. Valores inferiores para tal estimativa (8%) foram encontrados entre três raças naturalizadas indianas em uma análise de diversidade genética utilizando 23 locos de microssatélites (Behl *et al.*, 2006). Por outro lado, San Cristobal *et al.* (2006) analisando 70 populações de raças européias de suínos com 50 microssatélites, observaram que 21% de toda variabilidade genética existente era devida a diferenças entre estas raças.

Estudos sobre a estrutura de populações em raças de suínos têm sido geralmente baseados em métodos de inferência de distâncias, como proposto por Laval *et al.* (2000) utilizando a árvore individual de UPGMA. No entanto, mais recentemente, outros métodos mais adequados têm sido propostos para testar a existência de subdivisão em populações, raças ou variedades de espécies domésticas (Caballero & Toro, 2002).

Por meio do programa STRUCTURE foi estimado o grau de sub-estruturação das raças naturalizadas e comerciais de suínos brasileiros, bem como a probabilidade de cada indivíduo pertencer a uma determinada raça. Este programa já tem sido utilizado em análises de raças naturalizadas de suínos (Fabuel *et al.*, 2004), bem como na espécie ovina (ex., Paiva, 2005).

Constatou-se uma estruturação de populações nas raças Piau e Monteiro. Teoricamente, esta estrutura poderia ser uma consequência da formação genética das populações originais das quais os grupos genéticos analisados teriam derivado. No entanto, segundo Pritchard *et al.* (2000), as populações inferidas podem, não necessariamente, corresponder à sua população ancestral “real”, e sim, serem compostas ou influenciadas pela amostragem realizada. Os resultados sugeriram que algumas raças estudadas possuem uma estrutura críptica, ou seja, existem indivíduos que, apesar da semelhança morfológica externa com a raça, não possuem a mesma semelhança no nível molecular. A raça Piau, por exemplo, possui características que podem ser facilmente confundidas com as de outras raças, o que dificulta a distinção entre animais puros e cruzados, e conseqüentemente leva produtores a definir estratégias incorretas de cruzamentos. Por outro lado, a raça Monteiro, mesmo que sub-estruturada, possui características

morfológicas marcantes e bem distintas de todas as outras raças analisadas, sendo, portanto, menos influenciada por outras raças.

A estrutura genética observada nestas duas raças, Piau e Monteiro, pode ser considerada uma consequência tanto da introgressão genética por indivíduos de outras populações, como de um isolamento reprodutivo que possa ter produzido gargalos populacionais, assim como Álvarez *et al.* (2004) sugeriram estudando sub-populações em raças de ovelhas. Na raça Piau, além destes dois fatores mencionados, o diferencial de manejo de rebanho aplicado parece ter sido o que mais precisamente afetou sua sub-estruturação, conforme observado nos animais amostrados da Granja de Melhoramento Genético da Universidade Federal de Viçosa em relação aos animais do Distrito Federal.

Os indivíduos das raças Piau e Monteiro amostrados em núcleos rurais do Distrito Federal, próximos uns aos outros, também se mostraram compartilhando alelos. Nestes núcleos os proprietários pouco sabem sobre a origem dos animais, o efetivo populacional é reduzido e mais de uma raça são criadas conjuntamente sob pouca interferência nos esquemas de cruzamentos com finalidades para a produção de carne, visando quase que exclusivamente a subsistência. Além disso, intercâmbios de animais entre propriedades ocorrem frequentemente.

A similaridade entre as raças Piau e Landrace proposta pela análise de diferenciação genética entre raças pelo índice F_{ST} , pôde ser confirmada. O compartilhamento de alelos foi visto especialmente entre os indivíduos amostrados dos núcleos rurais do Distrito Federal. Entretanto, o fato de alguns animais da raça Landrace amostrados em Santa Catarina apresentarem influenciados por alelos da raça Piau, pode-se sugerir a ocorrência de cruzamentos num passado recente.

Por outro lado, as elevadas probabilidades de certificação racial observadas na raça Landrace, no composto MS60 e na raça naturalizada Moura, sugerem a existência de barreiras genéticas entre estas raças. Portanto, perfis raciais podem ser definidos a partir de genótipos dos indivíduos de cada raça como método de comparação, como proposto por

Parker *et al.* (2004) ao analisar diferenças genéticas mais pronunciadas entre raças da espécie canina, aplicando-se também o programa STRUCTURE.

Segundo Martínez *et al.* (2006), a identidade genética deve ser considerada como complemento importante para as informações sobre características morfológicas de uma população. Neste contexto, o painel de microssatélites proposto foi considerado de grande precisão e, portanto, pode ser sugerido para a aplicação em estudos que envolvam questões sobre o reconhecimento de populações, principalmente naqueles, onde a diversidade intra-racial é mais expressivo, o que dificulta a diferenciação racial.

Por meio da aplicação do teste de certificação (*Assignment test*), os resultados coincidiram apenas em parte com os obtidos pelo programa STRUCTURE, por mostrarem que a raça Monteiro encontra-se mais influenciada por alelos de outras raças do que a raça Piau. Por outro lado, esta análise também confirmou o compartilhamento de alelos entre estas duas raças. Kim *et al.* (2005) observaram que o sucesso obtido pelo *Assignment test*, comprovado por uma elevada porcentagem de indivíduos corretamente designados às suas respectivas raças, pode ter sido devido ao elevado grau de diferenciação genética encontrado entre as raças de suínos analisadas. Vega-Pla *et al.* (2003) baseando-se também em uma estatística baysiana para indicar designação correta de raças nativas de suínos ibéricos, observaram que indivíduos originados do cruzamento de raças diferentes apresentaram menores probabilidades de genótipos corretamente designados às suas respectivas populações. Este seria o resultado da exploração comercial sem o controle de cruzamentos ou programas de melhoramento.

4.2.4. Conservação genética de suínos no Brasil

É imprescindível considerar a contribuição relativa da variabilidade genética intra e inter-populacional, bem como suas correlações para indicar prioridades e manejo de conservação (Ollivier & Foulley, 2005). Foi observado que a diversidade genética dos cinco grupos genéticos analisados e a identificação de suas estruturas populacionais permitiram esclarecer o quanto

de variabilidade e identidade genética, principalmente as raças naturalizadas, apresentam atualmente. Segundo Caballero & Toro (2002) decisões de conservação utilizando apenas métodos de distâncias genéticas podem ser completamente confusos ou incompletos quando aplicados em raças de uma mesma espécie, ou em geral, em sub-populações de uma dada meta-população.

Diante dos benefícios econômicos associados com a exploração da raça Monteiro na região do Pantanal, pode-se concluir que a maior implantação de programas de conservação nesta região deva ser incentivada para um melhor aproveitamento de todo o rebanho. Controlando os cruzamentos e mantendo um efetivo populacional suficiente, será possível manejar adequadamente a variabilidade ainda existente. Além disso, poderão ser controladas a disseminação e a caça indiscriminada destes animais, evitando impactos ambientais, já que muitos produtores desta região os consideram uma “praga”. Mourão *et al.* (2002) através de levantamentos realizados nesta região revelaram que os animais desta raça, apesar de serem protegidos pela lei federal 5197/67, vêm sendo caçados para subsistência por moradores locais. Estes os capturam, castram, soltam os leitões machos e abatem a tiros, tanto os castrados como as porcas adultas, eventualmente encontradas. Os porcos Monteiro foram encontrados mais freqüentemente no Pantanal central e estimou-se uma abundância não corrigida de cerca de 9.800 (EP~1.400) grupos e, portanto, considerados uma população estabelecida e vigorosa.

Com relação aos animais Monteiro amostrados no Distrito Federal, entende-se ser necessário difundir o conhecimento sobre o risco de extinção desta raça entre os produtores para que imponham medidas que evitem cruzamentos entre animais aparentados e/ou com animais de outras raças. Neste último caso, quando não possuírem um rebanho preservado, ou seja, de raça pura.

O nível de consangüinidade revela-se em função do tamanho e estrutura populacional. A depender da espécie e da intensidade deste impacto no efetivo populacional, poderá afetar negativamente o crescimento de toda uma população ao ponto de levá-la à sua extinção (Gandini, 2004). Em se tratando

de efetivos populacionais muito reduzidos, como visto na região do Distrito Federal, a introdução de outros animais pode ser sugerida. Com isto poderá ser aumentado o grau de heterozigosidade (variabilidade genética) da raça Monteiro e aos poucos ir aumentando os rebanhos. Porcos Monteiro advindos da região do Pantanal podem ser uma boa opção, assim como visto na Fazenda Sucupira, onde o único casal de porcos Monteiro é desta região e tem se mostrado bem adaptado. De forma semelhante, Fan *et al.* (2002) após verificarem, pela árvore de *Neighbour joining*, um estreito agrupamento de duas linhagens da raça chinesa Meishan (pequeno e médio Meishan) pertencentes a regiões distintas, propuseram a formação de um único grupo de conservação que incluísse exemplares de ambas as linhagens, a fim de aumentar a variabilidade genética da raça. Vale ressaltar que a decisão para conservação deve incluir vários fatores, dentre eles: adaptação a ambientes específicos, resistência a doenças, características específicas de valores econômicos, além do valor cultural e social da raça (Ruane, 1999).

A elevada quantidade de alelos raros surpreendentemente encontrados na raça Monteiro, bem como nas outras naturalizadas, ressalta a importância e viabilidade em se preservá-las. Caballero & Toro (2000) sugeriram que o resultado ideal de um manejo de conservação seria que cada descendente tivesse a mesma proporção dos genomas de cada um de seus fundadores e a máxima retenção de seus alelos. Assim, a mistura dos alelos raros e comuns deverá ocorrer de forma a igualar as contribuições gênicas e evitar a perda de alelos raros.

Com relação à raça Piau, entende-se que deva ser dada especial atenção à forma e objetivos que têm orientado sua utilização. Apesar de ser considerada a raça de maior variabilidade genética entre todas analisadas, caracteriza-se como uma raça de baixa identidade genética devido à elevada influência de alelos de outras raças. Há necessidade de se manter a integridade genética desta raça para que as pesquisas afins continuem avançando. Dessa forma, seu potencial genético diferencial poderá ser utilizado mais efetivamente como alternativa para futuros imprevistos na área de melhoramento animal. Barbosa *et al.* (1997) conseguiram obter ganhos

consideráveis nas características de peso do leitão ao nascer, aos 21 e 42 dias de idade, através de um índice de seleção proposto para um rebanho da raça Piau. Com isso, mais uma alternativa foi proposta para programas de melhoramento que utilizam como critério a seleção destas características, visando um maior aproveitamento da rusticidade da raça. Uma vez que a diversidade entre raças desenvolve papel importante nos benefícios da heterose e da complementariedade de genes em sistemas de cruzamentos, caso a variabilidade da raça Piau não seja devidamente mantida, tais objetivos não poderão ser atingidos.

Esta raça, assim como a Monteiro, apresentou um coeficiente de endogamia significativo e sabe-se que acasalamentos consangüíneos podem diminuir a fecundidade da raça, aumentando sua mortalidade e os defeitos congênitos. Segundo Ollivier & Foulley, (2005), quando os coeficientes de endogamia são elevados nas sub-populações, manter a diversidade entre estas é mais viável do que criar meta-populações com objetivos de melhoramento por seleção. Pode-se sugerir, portanto, como uma alternativa eficaz de manejo para a conservação da raça Piau, a exclusão de animais que se apresentem influenciados por alelos de outras raças - o que vale também para as demais raças que se apresentaram com maior identidade genética - e a formação de um número maior de núcleos de conservação que selecionem os animais mais bem caracterizados fenotipicamente e não aparentados. Um estudo mais detalhado que venha a utilizar um maior número de animais representantes do núcleo de conservação de Recife (PE) pode também ser sugerido, visto que o único animal analisado neste trabalho apresentou 95% de identidade genética. Assim, a utilização de alguns destes exemplares para compor um núcleo de conservação da raça poderá contribuir para a variabilidade do rebanho. A determinação do nível de risco de extinção das raças por meio de aplicações de questionários e investigações sobre sistemas de cruzamentos e caracterização morfológica dos efetivos restantes deve também ser incentivada, e considerada prioridade na elaboração de programas de conservação.

A raça Moura pelo fato de ter sido coletada em um rebanho sendo conservado, apresentou um nível considerável de diversidade genética. Entretanto, a escassez de outros núcleos de conservação pode limitar a manutenção desta variabilidade. De forma geral, poucos núcleos de conservação existem no Brasil, e iniciativas governamentais ou mesmo por parte de ONG's devem tentar, portanto, reverter este quadro. Conforme os núcleos de conservação vão sendo ampliados, novos rebanhos podem ser identificados; a intenção é de melhorar esta relação, como sugere Egito *et al.* (2002). Desta forma, um maior número de indivíduos poderão ser pesquisados, servindo como base para estudos comparativos até mesmo com outros países e para propostas de manejo que permitam aumentar a variabilidade das raças através da complementariedade genética. Somado a isto, o aumento dos núcleos de conservação permitirão o congelamento de embriões, resfriamento e congelamento de sêmen, formação de bancos de germoplasma e importação e exportação do material genético de forma mais efetiva, contribuindo para a otimização do uso de machos e fêmeas que apresentem alto valor genético (Visscher *et al.*, 2000).

Com base nos resultados de maiores identidade genética apresentados pelas raças Moura e Landrace e o composto MS60, pode-se inferir quais animais devem ser descartados para que se faça o refinamento dos rebanhos. Tal estratégia pode ser ainda mais importante, visto que a raça Moura encontra-se em um programa de conservação. A inclusão de novos animais que possam contribuir com um diferencial genético para o aumento da diversidade, também pode ser sugerido baseando-se na comparação de genótipos.

Considera-se ideal que os programas de conservação permitam que as populações mantenham vigor e potencial necessários para atingir seus objetivos, sem esforço e alto capital de investimento (Gandini *et al.*, 2004). Por isso, as práticas de manejo devem ser coerentes e valorizadas enquanto alternativas de conservação.

5. CONCLUSÕES

- As raças naturalizadas Piau e Monteiro apresentam-se sub-estruturadas;
- A raça naturalizada Moura, a raça comercial Landrace e o composto MS60 possuem maiores probabilidades de certificação racial do que as demais raças analisadas;
- O painel de 24 marcadores microssatélites testado é capaz de estimar elevadas probabilidades de exclusão de paternidade para cada grupo genético analisado;
- Os resultados permitem a proposição de estratégias de manejo de conservação das raças naturalizadas;
- É necessário promover a ampliação do conhecimento sobre a valorização e importância da conservação das raças naturalizadas brasileiras por parte da sociedade.

6. PERSPECTIVAS

Os resultados aqui encontrados poderão servir como um piloto para estudos posteriores que, possivelmente, serão capazes de esclarecer as relações filogenéticas entre as raças suínas. Permitirão, ainda, avaliar características poligênicas economicamente importantes, por meio da análise de genes candidatos. Desta forma, será possível obter informações essenciais para a implementação e manutenção de trabalhos de conservação e estudos de melhoramento genético, além de provavelmente permitir uma reconstrução histórica da colonização.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHMANN, R; CURIK, I.; DOVC, P.; KAVAR, T.; BODO, I; HABE, F.; MARTI, E.; SÖ LKNER, J.; BREM, G. Microsatellite diversity, population subdivision and gene flow in the Lipizzan horse. **Animal Genetics**, v. 35, p. 285-292, 2004.

ÁLVAREZ , I.; ROYO , L. J.; FERNÁNDEZ, I.; GUTIÉRREZ , J. P.; GÓMEZ, E.; GOYACHE, F. Genetic relationships and admixture among sheep breeds from Northern Spain assessed using microsatellites. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2246–2252, 2004.

BARBOSA, A. S.; ARAÚJO, C. V.; AQUINO, L. H.; OLIVEIRA, A. I. G.; GONÇALVES, T. M. Estimativas de índices de seleção de características reprodutivas de suínos da raça piau. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 36, 1997, Juiz de Fora. **Anais eletrônicos...** Juiz de Fora: MG, 1997. Disponível em: <<http://www.sbz.org.br/anais1997/Mea/bamea262.pdf> > . Acesso em: 13 jun. 2006.

BAUMUNG, R.; SIMIANER, H.; HOFFMANN, I. J. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 121, p. 361-373, 2004.

BEHL, R.; SHEORAN, N.; BEHL, J.; VIJH, R. K. Genetic analysis of Ankamali pigs of India using microsatellite markers and their comparison with other domesticated Indian pig types. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 123, p. 131-135, 2006.

BOYCE, T. M.; ZWICK, M. E; AQUADRO, C. F. Mitochondrial DNA in bark weevils: size, structure, and heteroplamy. **Genetics**, v. 123, p. 825-836, 1989.

BRONDANI, R. P. V.; GRATTAPAGLIA, D. Cost-Effective Method to Synthesize a Fluorescent Internal DNA Standard for Automated Fragment Sizing. **BioTechniques**, v. 31, p. 793-800, 2001.

CABALLERO, A.; TORO, M. A. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. **Genetic Research**, v. 75, 331-343, 2000.

CABALLERO, A.; TORO, M. A. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. **Conservation Genetics**, v. 3, p. 289-299, 2002.

CAVALCANTI, S.S. **Suinocultura Dinâmica**. Rome: FEP – MVZ Ed. Contagem. 2000. 494p.

CANUL, S. M.; SIERRA, V. A.; MARTÍNEZ, M. A.; ORTIZ, O. J.; DELGADO, J. V.; VEGA-PLA, J. L.; PÉREZ, G. F. Caracterización genética del cerdo pelón mexicano mediante marcadores moleculares. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 267-272, 2005.

EFRON, B. Bootstrap confidence intervals for a class of parametric problems. **Biometrika**, v. 72, p. 45-58, 1985.

EGITO, A. A.; MARIANTE A. S.; ALBUQUERQUE, M. do S. M. Programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos Animais. **Archivos de Zootecnia**, v. 51, p. 39-52, 2002.

ELLEGREN, H.; JOHANSSON, M.; CHOWDHARY, B. P.; MARKLUND, S.; RUYTER, D.; MARKLUND, L.; BRAUNER-NIELSEN, P.; EDORS-LILJA, I.; GUSTAVSSON, I.; JUNELA, R. K.; ANDERSSON, L. Assignment of 20 microsatellite markers to the porcine linkage map. **Genomics**, v. 16, p. 431, 1993.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin, ver.3.0: **An Integrated Software Package for Population Genetic Data Analysis**. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Berne.

FABUEL, E.; BARRAGÁN, C.; SILIÓ, L.; RODRÍGUEZ, M. C.; TORO, M. A. Analysis of genetic diversity and conservation priorities in Iberian pigs based on microsatellite markers. **Heredity**, v. 93, p. 104-113, 2004.

FAN, B.; WANG, Z.-G.; LI, Y.-J.; ZHAO, X.-L.; LIU, B.; ZHAO, S.-H.; YU, M.; LI, M.-H.; CHEN, S.-L.; XIONG, T.-A.; AND LI, K. Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. **Animal Genetics**, v. 33, p. 422-427, 2002.

FAN, B.; YANG, S.-L.; LIU, B.; YU, S.-H. ZHAO; LI, K. Characterization of the genetic diversity on natural populations of Chinese miniature pig breeds. **Animal Genetics**, v. 34, p. 465-476, 2003.

FANG, M.; HU, X.; JIANG, T.; BRAUNSCHWEIG, M.; HU, L.; DU, Z.; FENG, J.; ZHANG, Q.; WU, C.; LI, N. The phylogeny of Chinese indigenous pig breeds inferred from microsatellite markers. **Animal Genetics**, v. 36, p. 7-13, 2005.

FAO. 2004. Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers New Microsatellite marker sets –Recommendations of joint ISAG/FAO Standing Committee (to be presented at ISAG 2004).

FREDHOLM, M.; WINTWRO, A. K.; CHRISTENDEN, K.; KRISTENSEN, B.; NIELSEN, P. B.; DAVIES, W.; ARCHIBALD, A. Characterization of 24 porcine (DA-DC) N microsatellites: Genotyping of unrelated animals from breeds and linkage studies. **Mammalian Genome**, v. 4, p. 187, 1993.

GANDINI, G. C.; OLLIVIER, L.; DANELL, B.; DISTL, O.; GEORGOUDIS, A.; GROENEVELD, E.; MARTYNIUK, E.; VAN ARENDONK, J. A. M.; WOOLLIAMS, J. A. Criteria to assess the degree of endangerment of livestock breeds in Europe. **Livestock Production Science**, v. 91, p. 173-182, 2004.

GONELA, A. **Aplicação de marcadores microssatélites de *Sus scrofa domestica* na caracterização genética de populações de *Sus scrofa sp* (porco-Monteiro) e *Tayassu pecari* (queixada)**. Ribeirão Preto, 2003. 88f. Tese (Doutorado)- Universidade de São Paulo, 2003.

GOUDET, J. **PCA-GEN, Version 1.2**. Institute of Ecology, Biology Building, UNIL, Lausanne, Switzerland, 1999.

GOUDET, J. **FSTAT Version 2.9.3.2 for windows: a computer program to calculate F-statistics**, 2002.

JORDANA, J.; ALEXANDRINO, P.; BEJA-PEREIRA, A.; BESSA, I.; CANON, J.; CARRETERO, Y.; DUNNER, S.; LALOE, D.; MOAZAMI-GOUDARZ, K.; SANCHEZ, A.; FERRAND, N. Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. **Journal of Animal Breeding Genetic**, v. 120, p. 73-87, 2003.

KIM, T. H.; KIM, K. S.; CHOI, B. H.; YOON, D. H.; JANG, G. W.; LEE, K. T., CHUNG, H. Y.; LEE, H. Y.; PARK, H. S. AND J. W. LEE. Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2255-2263, 2005.

LAVAL, G.; IANNUCELLIA, N.; LEGAULT, C.; MILANA, D.; GROENEN, M. A.M.; GIUFFRAD, E.; ANDERSSOND, L.; NISSENE, P. H.; JÂRGENSENE, C. B.; BEECKMANN, P.; GELDERMANN, H.; FOULLEY, J.; CHEVALETA, C.; OLLIVIER, L. Genetic diversity of eleven European pig breeds. **Genetics Selection Evolution**, v. 32, p. 187-203, 2000.

LEMUS FLORES, C.; ULLOA-ARVIZU, R.; RAMOS-KURI, M.; ESTRADA, F. J.; AND ALONSO, R. Genetic analysis of Mexican hairless pig populations¹. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 3021-3026, 2001.

LI, K.; CHEN, Y.; MORAN, C.; FAN, B.; ZHAO, S AND PENG, Z. Analysis of diversity and genetic relationships between four Chinese indigenous pig and one Australian commercial pig breed. **Animal Genetics**, v. 31, p. 322-325, 2000.

LI, S-J; YANG, S-H.; ZHAO, S-H.; FAN, B.; YU, M.; WANG, H-S.; LI, M.-H.; LIU, B.; XIONG, T.-A.; LI, K. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 368-374, 2004.

LUIKART, G.; BIJU-DUVAL, M-P; ERTUGRUL, O.; ZAGDSUREN, Y.; MAUDET, C.; TABERLET, P. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). **Animal Genetics**, v. 30, p. 431-438, 1999.

MACHUGH, D. E.; SHRIVER, M. D.; LOFTUS, R. T.; CUNNINGHAM, P.; BRADLEY, D. G. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of Taourine and Zebu cattle (*Bos Taurus and Bos indicus*). **Genetics**, v. 146, p. 1071-1086, 1997.

MARIANTE, A. da S.; MENDONÇA, J. F. B.; PEZZINI, T. G. e colaboradores. 2003. Informe nacional sobre a situação dos recursos genéticos animais do Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília- DF.

MARSHALL T. C.; SLATE J.; KRUK L & PEMBERTON J. M. Statistical Confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 639-655, 1998.

MARTÍNEZ, A. M.; DELGADO, J. V.; RODERO, A.; VEGA-PLA, J. L. Genetic structure of the Iberian Pig breed using microsatellites. **Animal Genetics**, v. 31, p. 295-301, 2000.

MARTÍNEZ, A. M.; PÉREZ-PINEDA, E.; VEGA-PLA, J.L.; BARBA, C.; VELÁZQUEZ, F.J.; DELGADO, J.V. Caracterización genética del cerdo criollo cubano con microsatélites. **Archivos de Zootecnia**, v. 54, p. 369-375, 2005.

MARTÍNEZ, A. M.; ACOSTA, J.; VEGA-PLA, J. L.; DELGADO, J. V. Analysis of the genetic structure of the canary goat populations using microsatellites. **Livestock Science**, v. 102, p. 140-145, 2006.

MILLER, S.A., DYKES, D. D. AND POLESKY, H. F. A simple setting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, p. 1215, 1988.

MOURÃO, G. M.; COUTINHO, M. E.; MAURO, R. A.; TOMÁZ, W. M.; MAGNUSSON, W. **Levantamentos aéreos de espécies introduzidas no Pantanal: Porcos ferais (porco Monteiro), gado bovino e búfalos**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n 28. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal. Dezembro, 2002.

NEI, M. Genetic distances between populations, **American Naturalist**, n. 106, p. 283-292, 1972.

NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. **Journal of Molecular Evolution**, 19, 153-170, 1983.

OTA T. DISPAN, genetic distance and phylogenetic analysis. Institute of Molecular Evolutionary Genetics, The Pennsylvania State University, 1993.

OLLIVIER, T. L.; FOULLEY, J-L. Aggregate diversity: New approach combining within- and between-breed genetic diversity. **Livestock Production Science**, v. 95, p. 247-254, 2005.

PAIVA, S. R. **Caracterização da diversidade genética de ovinos no Brasil com quatro técnicas moleculares**. Viçosa, 2005. 108f. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Viçosa, 2005.

PARK, S. D. E, **Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection**. University of Dublin, 2001. [Ph.D. thesis (in prep.)].

PARKER, H. G.; KIM, L. V.; SUTTER, N. B.; CARLSON, S.; LORENTZEN, T. D.; MALEK, T. B.; JHONSON, G. S.; DEFRANCE, H., B.; OSTRANDER, E. A.; KRUGLYAK, L. Genetic structure of the purebred domestic god. **Science**, v. 302, p. 1160-1164, 2004.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945-959, 2000.

RANNALA, B.; MOUNTAIN, J., L. Detecting immigration by using multilocus genotypes. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 94, p. 9197-9201, 1997.

RAYMOND, M. L. & ROUSSET, F. An exact test for population differentiation. **Evolution**, v. 49, p. 1280-1283, 1995.

ROHRER, G. A.; ALEXANDER, L. J.; KEELER, J. W.; SMITH, T. P.; BEATTIE, C. W. A microsatellite linkage map of the porcine genome. **Genetics**, v. 136, p. 231, 1994.

ROHRER, G. A; ALEXANDER, L. J.; HU, Z.; SMITH, T. P. L.; KEELER, J. W.; BEATTIE, C. W. A comprehensive map of the porcine genome. **Genome Research**, v. 6, p. 371, 1996.

RUANE, J. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetics resources. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 116, p. 317-323, 1999.

SAITBEKOVA, N.; GAILLARD, C.; OBEXER-RUFF, G.; DOLF, G. Genetic diversity in Swiss goats breeds based on microsatellite analysis. **Animal Genetics**, v. 30, p. 36-41, 1999.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology Evolution**, v. 4, p. 406-425, 1987.

SANCRISTOBAL, M.; CHEVALET, C.; HALEY, C. S.; JOOSTEN, R.; RATTINK, A. P.; HARLIZIUS, B.; GROENEN, M. A. M.; AMIGUES, Y.; BOSCHER, M.-Y.; RUSSELL, G.; LAW, A.; DAVOLI, R.; RUSSO, V.; DÉSAUTÉS, C.; ALDERSON, L.; FIMLAND, E.; BAGGA, M.; DELGADO, J. V.; VEGA-PLA, J. L.; MARTINEZ, A. M.; RAMOS, M.; GLODEK, P.; MEYER, J. N.; GANDINI, G. C.; MATASSINO, D.; PLASTOW, G. S.; SIGGENS, K. W.; LAVAL, G.; ARCHIBALD, A. L.; MILAN, D.; HAMMOND, K.; CARDELLINO, R. Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. **Animal Genetics**, v. 37, p. 189-198, 2006.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy**, WH Freeman, San Francisco, 1973.

TAGLIARO, C. H.; FRANCO, M. H. L. P.; BRITO, B. G. Protein polymorphism and genetic relationships in Mouro in relation to other breeds of pigs reared in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Genética**, n. 18, v. 11, p. 69-73, 1995.

THÉVENON, S.; COUVET, D. The impact of inbreeding depression on population survival depending on demographic parameters. **Animal Conservation**, v. 5, p. 53-60, 2002.

VEGA-PLA, J.L., MARTÍNEZ, A.M.; CABELLO, A.; RODRÍGUEZ-GALLARDO, P.P.; DELGADO, J.V. Preliminary study of individual assignment of Iberian Pigs using DNA genetic markers. **Archivos de Zootecnia**, v. 52, p. 225-230, 2003.

VIANNA, A.T. **Os suínos - Criação prática e econômica**. Série didática no. 6. 2 ed. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro. 1956.

VISSCHER, P.; PON-WONG, R.; WHITTEMORE, C.; HALEY, C. Impact of biotechnology on (cross) breeding programmes in pigs. **Livestock Production Science**, v. 65, p.57-70, 2000.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F – statistics for the analysis of the population structure. **Evolution**, v. 38, p. 1358-1370, 1984.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann. Eugen.**, v. 15, p. 323-354, 1951.

YANG, S.; WANG, Z.; LIU, B.; ZHANG, G.; ZHAO, S.; YU, M.; FAN, B.; LI, M.; XIONG, T.; LI, K. Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds. **Genetics Selection Evolution**, v. 35, p. 657-671, 2003.