

Distâncias genéticas em equinos (*Equus caballus*) por meio de marcadores microssatélites

Genetic distance of horses (*equus caballus*) using DNA microsatellites

COSTA, Maria Rosa 1

MARQUES, José Ribamar Felipe 2

SILVA, Caio Santos 3

SAMPAIO, Maria Iracilda da Cunha 4

BERMEJO, Juan Vicente Delgado 5

SILVA, Fabiane Késia Silva da 6

VEGA PLA, José Luiz 7

1, 2,3,6 Embrapa Amazônia Oriental

4 Universidade Federal do Pará UFPA

5 Universidade de Córdoba- Espanha

7 Laboratório de Genética Molecular Córdoba- Espanha

Autor para correspondência: mrco@cpatu.embrapa.br

Recebido em 20 de maio de 2009; aceito em 20 de julho de 2009

RESUMO

A raça Marajoara é bastante difundida e utilizada nas fazendas da ilha de Marajó e está sendo mantida em conservação no Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental - BAGAM, da Embrapa Amazônia Oriental, sendo altamente adaptada às condições climáticas e ao relevo que caracterizam essa região. Foram utilizadas amostras da raça Marajoara (54), Puruca (47), Mangalarga (30), Puro Sangue Inglês (47), Árabe (25), Pantaneiro (63) coletados no Brasil e Lusitano (93), Árabe (48), Asturcon (39), Pura Raça Espanhola (60), Puro Sangue Inglês (46), Losino (59), Mallorquina (30), Menorquina (69) e Potoka (27) coletados na Espanha. Foram utilizados 22 iniciadores (HTG4, AHT4, HMS7, ASB2, ASB17, HMS6, ASB23, HTG10, HMS3, LEX33, T287, T294, T297, T301, T312, T321, T325, T333, T341, T394, T343 e T344) amplificados pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os produtos da PCR foram separados em gel desnaturante de poliácridamida 6%. Foram detectados 236 alelos, com média igual a 7,5 alelos/locus, variando entre 16 e 6 alelos. As médias de Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) e as heterozigosidades observadas (H_o) e esperadas (H_e), conforme as raças estudadas, foram respectivamente, 0,7610, 0,7873 e 0,7413. A estimativa da estatística F de Wright (1978) mostrou que a variação entre as raças foi maior (F_{st} 8,1%) do que dentro delas (F_{is} 0,78%), demonstrando que a diferenciação genética neste estudo foi maior entre as raças do que dentro de cada uma delas. Foram observados poucos desvios em relação ao equilíbrio de Hardy - Weinberg. A menor distância genética observada foi entre a raça Marajoara e a Puruca seguida da Mangalarga. Os resultados sugerem que a raça Marajoara representa um grupo genético claramente distinto de outras raças excetuando-se a Puruca que pode ser utilizada como reservatório de genes para esta, com razoável variabilidade genética. Medidas de conservação e manejo devem ser intensificadas nesse importante recurso genético brasileiro a fim de evitar a sua descaracterização e perda de identidade genética.

PALAVRAS-CHAVE conservação animal, distância genética, DNA, marcadores moleculares, raças equinas, variabilidade.

ABSTRACT

The breed Marajoara, kept in conservation in the Animal Germplasm Bank at the Amazônia Oriental-BAGAM, is highly adapted to the climatic and morphological conditions that characterizes the Marajó island. In this study, samples of the Marajoara (54), Puruca (47), Mangalarga (30), Puro Sangue Inglês (47), Árabe (25), Pantaneiro (63) collected in Brazil, Lusitano (93), Árabe (48), Asturcon (39), Pura Raça Espanhola (60), Puro Sangue Inglês (46), Losino (59), Mallorquina (30), Menorquina (69) and Potoka (27) collected in Spain, races were employed for the genetic characterization of the Marajoara breed. Twenty-two primers were used (HTG4, AHT4, HMS7, ASB2, ASB17, HMS6, ASB23, HTG10, HMS3, LEX33, T287, T294, T297, T301, T312, T321, T325, T333, T341, T394, T343 and T344) and amplified through the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The PCR products were separated in 6% polyacrylamide gel. Two hundred thirty-six alleles were detected, which has a mean value of 7.5 alleles /locus, varying between 16 and 6 alleles. The averages of Polymorphism Information Content (PIC) and the observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity values were of 0.7610, 0.7873 and 0.7413, respectively. The F values statistics

(Wright, 1978) showed that the variation between the races was higher (Fst 8.1) than within the races (Fis 0.78%). The loci not showed Hardy-Weinberg disturb. The lowest genetic distance was observed between the Marajoara and Puruca breeds, because of the short genetic distance between the Marajoara and Mangalarga breeds. The results suggest that the Marajoara breed represents a clearly distinct genetic group from the other breeds, with exception of the Puruca breed, which can be used as its genetic pool, with reasonable genetic variability. Management programs must emphasize this important Brazilian genetic resource, in order to prevent the lost of the original characteristics and genetic identity.

KEY WORDS: animal conservation, DNA, genetics distance, horse breeds, molecular markers, variability.

I. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o terceiro maior rebanho equino do mundo, com 5,9 milhões de cabeças, segundo números da FAO (Food and Agriculture Organization), de 2002, perdendo apenas para México e China. Segundo relatos históricos, os primeiros cavalos introduzidos no Marajó são de procedência lusitana. Após a sua introdução, foram submetidas às mais adversas condições de um ecossistema totalmente diferente do seu continente de origem (TEIXEIRA, 1995). Na Amazônia, especificamente na ilha do Marajó no estado do Pará, o cavalo Marajoara é uma das raças mais importantes, sendo originada no Brasil, estando adaptada às condições climáticas e ao relevo plano e alagado que caracterizam a ilha. Esses animais são imprescindíveis para o desenvolvimento da pecuária da Ilha de Marajó, pois são utilizados na "lida" diária no campo, graças às características que desenvolveram como: grande resistência às adversidades do meio e rusticidade, velocidade nos galopes curtos e versatilidade aos ambientes diversificados. São indispensáveis para suprir as necessidades de tração (de carroças), nos trabalhos rotineiros das fazendas regionais, com baixo custo operacional. Além disso, são utilizados na programação turística de esporte e lazer da Ilha, anualmente, visto que participam de "provas" de resistência, enduros e corridas. O efetivo atual está em torno de 150.000 cabeças, a grande maioria mestiçada com outras raças (MARQUES; COSTA; SILVA, 2001).

A contribuição das raças ancestrais na formação do cavalo marajoara ainda não está geneticamente esclarecida. Por outro lado, ele vem se descaracterizando ao longo do tempo, devido a cruzamentos indiscriminados com outras raças, ainda que seja possível identificar núcleos com características fenotípicas da Raça, conforme o padrão estabelecido pela A.B.C.C.R.M (Associação Brasileira dos Criadores de Cavalos da Raça Marajoara), criada em 1979. Um núcleo de cavalos Marajoara vem sendo mantido no Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental / BAGAM, da Embrapa Amazônia Oriental, com o intuito de conservar esse germoplasma, assim como, intensificar os estudos de caracterização genética que permitam elucidar as dúvidas sobre a origem dessa raça e fornecer informações sobre a estrutura genética atual, visando subsidiar programas de melhoramento genético, permitindo a consolidação desse grupo genético.

O objetivo deste trabalho foi de caracterizar geneticamente a raça Marajoara, utilizando loci microsatélites, visando esclarecer a estrutura genética da população atual e especular sobre sua origem.

II. MÉTODOS

As amostras de sangue de cavalos das raças Marajoara (MJ) e Puruca (PU) foram obtidas de animais pertencentes ao Núcleo de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental - BAGAM - PA e em fazendas localizadas na ilha de Marajó- PA, nos municípios de Salvaterra e Soure. Primeiramente, foram selecionados animais das tropas de diferentes fazendas de criadores que possuíam animais registrados. A amostragem foi efetuada com animais o menos aparentados possível, conforme livro de registro da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos da Raça Marajoara-ABCCRM, nos principais rebanhos da ilha do Marajó. Foram amostrados 54 indivíduos da raça Marajoara (MJ) e 47 da raça Puruca (PU). Para a amostragem das raças Mangalarga (MG), Puro Sangue Inglês (PSIBR) e Árabe (EA) utilizaram-se amostras de DNA pertencentes ao Laboratório de Genética Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia- DF, sendo utilizadas 30, 47 e 25 respectivamente. Para os estudos comparativos com a raça Pantaneiro (PA) e Raças Puras Espanholas e Lusitanas utilizou-se a base de dados do Laboratório de Genética Molecular que pertence ao Serviço de Cria Cabalar do Ministério da Defesa Espanhol, sendo utilizadas 63 de Pantaneiro (PA), 93 de Lusitano (LUS), 48 de Árabe (ARA), 39 de Asturcon (AST), 60 de Pura Raça Espanhola (ESP), 46 de Puro Sangue Inglês (ING), 59 de Losino (LOS), 30 de Mallorquina (MAL), 69 de Menorquina (MEN) e 27 de Potoka (POT). O DNA foi extraído a partir de sangue total utilizando um protocolo inorgânico pré-estabelecido. Foram utilizados vinte e dois microsatélites (HTG4, AHT4, HMS7, ASB2, ASB17, HMS6, ASB23, HTG10, HMS3, LEX33, T287, T294, T297, T301, T312, T321, T325, T333, T341, T394, T343, T344). A amplificação dos microsatélites foi realizada com a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase-PCR. Para a separação dos diversos fragmentos obtidos através da PCR se submeteram-se esses produtos à eletroforese em gel de poliacrilamida em um sequenciador automático ABI 377XL. As amostras foram previamente misturadas com um marcador de tamanhos de fragmentos e com formamida. Desnaturalizou-se a mistura, submetendo-a a uma temperatura de 95 °C durante 2 minutos e se colocou em cada poço do gel 1,5 µl. Os resultados das análises de fragmentos e a caracterização alélica

realizaram-se mediante os softwares GENESCAN ANALYSIS v 3.1.2 e GENOTYPER v 2.5, respectivamente. No GENESCAN ANALYSIS v.3.2.1, o tamanho dos produtos amplificados foi calculado utilizando-se uma curva de regressão que toma como referência um marcador interno de tamanhos pré-estabelecidos. O marcador interno utilizado foi o Genescan HV 400. A utilização do sequenciador automático e do programa GENESCAN ANALYSIS possibilitou a marcação dos primers com fluorocromos de três cores distintas (azul, verde, e amarelo), utilizando-se a cor vermelha para marcar o padrão interno. Os dados resultantes dessa análise alimentaram o software Genotyper v2.5 que, pela leitura de cada pico detectado, identificou os tamanhos dos alelos em cada indivíduo para cada locus estudado. A distribuição da variabilidade genética dentro e entre raças foi estudada por meio da estatística F de Wright (1969), de acordo com Weir e Cockerman (1984) com o software GENETIX v 4.04 (BELKHIR, 2001). Foram calculadas as distâncias genéticas entre populações segundo a proposta de Nei (1972), utilizando-se o programa Populations 1.2.28 (LANGELA, 2002) e construiu-se uma árvore de topologia genética, segundo o método UPGMA. Realizou-se uma análise fatorial de correspondência (LEBART; MORINEAU; TABARD, 1977) para detectar possíveis misturas entre indivíduos de diferentes populações. Esta análise é feita com o módulo "AFC Populations", do GENETIX v 4.04. O valor das frequências alélicas foi obtido contando-se diretamente os alelos presentes em cada microssatélite, considerando-se a presença de homozigose quando se observou um só alelo. A análise das frequências alélicas obtidas para cada microssatélite por população foi realizada pelo GENEPOP v3.1c (RAYMOND ; ROUSSET, 1995).

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram detectados 236 alelos para os 22 microssatélites estudados, e todos os loci foram polimórficos e o número de alelos detectados variou de 6 para o locus HMS6 até 16 para o locus ASB17. Barker (1994) sugere para estudos de diversidade a utilização de loci com, no mínimo, quatro diferentes alelos. A média dos alelos variou entre 4,8 para o locus ASB23 e 9,6 para o locus ASB17, indicando, em média, a alta diversidade alélica nos grupos estudados. Em geral, observa-se uma relação direta entre o número de alelos de cada marcador e a média de alelos, sendo o microssatélite ASB17 o mais polimórfico apresentando 16 alelos, porém, essa circunstância nem sempre se cumpre, podendo ocorrer microssatélites que apresentem muitos alelos e têm média de alelos mais baixa que outros microssatélites, com um número menor de alelos totais. Este é o caso do microssatélite ASB23 com 10 alelos e uma média de 4,8. Os valores de PIC para cada microssatélite variaram entre 0,8396 para o locus T394 e 0,5872 para o T294. Os marcadores AHT4, HTG10, T297, T321, T333, e T394 apresentaram valores de PIC maiores que 0,80. Em relação ao PIC, que mostra o quão informativo é o marcador, valores acima de 50% são considerados bastante informativos, conferindo maior confiabilidade à seleção dos mesmos (BOTSTEIN et al, 1980) e os marcadores escolhidos para este trabalho estão de acordo com esse critério. Os valores de He variaram entre um máximo de 0,80 para o marcador T394 e um mínimo de 0,65 para os marcadores HTG4 e HMS6. Para a heterozigiosidade observada o mínimo foi de 0,66 para o locus HTG4 e o máximo de 0,82 para o locus T394. Valores de heterozigiosidade ligeiramente superiores foram obtidos por Sereno (2002), caracterizando a raça Pantaneira com doze marcadores, dentre os quais nove foram analisados neste trabalho, sendo HTG4, AHT4, HMS7, ASB2, ASB17, HMS6, ASB23, HTG10 e LEX33. Valores semelhantes foram obtidos por Guérin, Bertand e Amigues (1994) e Cañon et al.(2000). Deve-se avaliar, ainda, as diferenças entre as heterozigiosidades, pois são indicativas do quanto os marcadores estão equilibrados comparando-se com os resultados da prova de Hardy-Weinberg. Neste estudo observou-se uma considerável homogeneidade, em todos os casos, pois, mesmo nas maiores diferenças obtidas nos marcadores T321 e HMS6 os valores foram baixos (0,046 e 0,035). Por outro lado, as menores diferenças foram encontradas para os marcadores ASB17 e LEX33 (0,002). Analisando-se de maneira conjunta os valores do PIC e das heterozigiosidades encontrados observa-se que, neste estudo, refletem o polimorfismo de cada marcador nas populações estudadas. A média de alelos em cada população indica, de uma certa forma, a variabilidade genética das populações estudadas. Os valores oscilaram entre 5,68 (Puro Sangue Inglês) e 8,50 (Pantaneiro). Em geral, espera-se que os valores mais altos procedam das variedades mais numerosas e difundidas e os mais baixos se associem a variedades cujos animais sejam mais consanguíneos. Outra maneira de avaliar a diversidade genética para um determinado grupo genético é mediante a proporção de indivíduos heterozigotos presentes na população ou heterozigiosidade. No caso da heterozigiosidade observada, o valor mais baixo (0,6353) foi obtido na raça Árabe e o maior (0,7854), na raça Pantaneiro. Para a heterozigiosidade esperada, o menor valor corresponde a raça Árabe (0,6725) e o maior valor de 0,7960 corresponde à Marajoara. Isso pode ser explicado pela condição de ambas as raças, pois, enquanto a Árabe constitui um grupo genético fixado e homogêneo, sendo, inclusive, fornecedora de genes em todo o mundo, a raça Marajoara encontra-se ainda em fase de fixação como um grupo genético definido. Os valores obtidos apontam para uma situação de equilíbrio de Hardy-Weinberg, no caso deste estudo, porém, nem sempre isto ocorre sobretudo, quando se trata de populações animais submetidas à seleção. Quando as diferenças entre as heterozigiosidades observadas e a esperada são muito grandes significa que a população não está em equilíbrio, seja pelos efeitos de consanguinidade ou porque o tamanho da amostra é reduzido. Em geral, se considera que um nível de heterozigiosidade média superior a 0,5 indica que a bateria de microssatélites é aceitavelmente informativa para estudos de caracterização genética. As menores diferenças entre as He e Ho ocorreram na Pura Raça Espanhola (0,004), Menorquina (0,003), Potoka (0,005), Árabe (0,001), Puruca(0,008),

Pantaneiro (0,005), Losino (0,007) e Puro Sangue Inglês (0,006). A maior diferença foi no Lusitano (0,046). Os resultados de heterozigidade observada aqui obtidos são ligeiramente superiores aos encontrados por Silva (2006), quando estudou a caracterização de seis raças de cavalos naturalizados, dentre as quais três foram incluídas neste trabalho (Pantaneiro, Mangalarga e Puro Sangue Inglês), que apresentaram os valores de 0,63; 0,70 e 0,62, respectivamente. Tal resultado é bem coerente, pois, na prática, observa-se que tais raças são de formação recente, envolvendo cruzamentos com outras raças, como é o caso do PSI e Mangalarga ou formação por meio de isolamento reprodutivo, porém com base genética dos fundadores bem aberta, como é o caso do Pantaneiro.

Os valores de GST são bastante similares aos de $F_{st}(\Theta)$ e oscilam entre 0,0592 para o locus AHT4 e 0,1354 para o T321. O valor médio de $F_{st}(\Theta)$ para todos os loci foi de 8% e variou de 13% para o locus T321 a 5% para o locus AHT4, dentro de um intervalo de confiança de 95%. Analisando-se tal diferenciação pode-se deduzir que, apesar das raças equinas apresentarem fenótipos diversos e viverem nos mais diversos ambientes em todo o mundo, apresentam-se bem semelhantes no genótipo, evidenciando que formam grupos homogêneos bem fixados. Para o GST, este valor é de 9%, indicando que somente essa proporção é responsável pela diferença entre populações e 91% correspondem às diferenças entre indivíduos. Um resultado superior a 0,10 já indica um considerável nível de diferenciação.

Os valores de $F_{st}(\Theta)$ indicam o nível de diferenciação genética médio que se manifesta nas subpopulações definidas e é a fração da diversidade total que é causada pela diferença entre populações ou mesmo pela proporção da variância gênica total devida à subdivisão. De acordo com Wright (1969), valores de F_{st} entre 0,05 e 0,15 indicam diferenciação moderada, entre 0,15 e 0,25, alta e acima de 0,25, muito alta. A coluna F (Fit) indica o coeficiente de consanguinidade para o total da população e a coluna f (Fis) a média deste obtida a partir do coeficiente de consanguinidade de cada uma das subpopulações em que se divide a população e indica a proporção da variância contida em subpopulações ou variabilidade genética intrarracial e podem assumir valores entre -1 e 1. Os valores de Fit(F) vão de 0,0274 para o locus HMS6 até 0,1272 para o locus T333. O Fis (f) oscila entre valores de -0,0090 para o locus T325 e 0,0424 para o locus HTG10. Os valores baixos de Fis (f) indicam que há pouca consanguinidade dentro das populações para cada um dos marcadores e comprovam que os marcadores se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os valores negativos indicam que há um excesso de heterozigotos, ainda que em nenhum caso tenha alcançado o valor de -0,1. Essa baixa expressão de consanguinidade e o excesso de heterozigidade indicam que os grupos genéticos, conseguiram, ao longo dos tempos, nos mais diversos ambientes, desenvolver genes próprios, conferindo características singulares e peculiares. Neste estudo, o cavalo Marajoara demonstra isso, quando sobrevive em região inóspita, onde a combinação de alta umidade e temperatura, resultou num fenótipo bem adaptado e produtivo. O valor de F de 8,8%, para todos os loci, demonstra que as subpopulações são homogêneas em uma análise global. Valores de Fit (F) superiores a 0,10 indicam uma baixa resolução dos marcadores em estudos de diferenciação genética. Neste caso, somente quatro marcadores apresentaram um F superior a 0,10. Valores similares foram obtidos por Sereno (2002) estudando a caracterização genética da raça Pantaneira que, igualmente à Marajoara, sobrevive em condições adversas. Resumindo-se, pode-se afirmar que a diferenciação genética entre as populações é maior do que dentro de cada uma delas. Disso deduz-se que, apesar das raças equinas, em geral, estarem muito próximas geneticamente, conseguiram fixar grupos genéticos ou ecotipos bem característicos, de acordo com as condições ambientais de cada local onde se desenvolveram e receberam manejo diferenciado. Na estimativa das distâncias genéticas se incluiu a totalidade dos indivíduos tipificados. Foram calculadas quatro distâncias genéticas distintas. Em relação à distância genética, levando-se em conta a raça Marajoara, objeto deste estudo, na Tabela 01 observa-se, que as maiores distâncias genéticas obtidas, no caso a DA, de Nei, foram com o Puro Sangue Inglês (ING e PIBR), seguindo-se Mallorquina (MAL) e Árabe (ARA e EA); as menores distâncias foram com o Puruca (PU) e Mangalarga (MG). Para a distância D_s , as maiores distâncias foram com o Puro Sangue Inglês (ING e PSIBR), Mallorquina (MAL) e Pura Raça espanhola (ESP). Para as menores distâncias repetiu-se a mesma ordem, ou seja, Puruca (PU) seguindo-se a Mangalarga (MG).

Tabela 1 – Matriz de distâncias genéticas entre populações obtidas segundo método DA (Nei 83) em cima da diagonal e segundo o método estandar Ds (Nei 72) embaixo dela.

	<i>ARA</i>	<i>EA</i>	<i>ESP</i>	<i>LUS</i>	<i>ING</i>	<i>PIBR</i>	<i>AST</i>	<i>LOS</i>	<i>POT</i>	<i>MAL</i>	<i>MEN</i>	<i>MG</i>	<i>MJ</i>	<i>PU</i>	<i>PA</i>
ARA		0,07	0,19	0,18	0,22	0,21	0,22	0,23	0,23	0,28	0,24	0,24	0,18	0,17	0,35
EA	0,11		0,17	0,16	0,21	0,20	0,23	0,22	0,24	0,27	0,24	0,23	0,18	0,18	0,35
ESP	0,36	0,36		0,06	0,20	0,19	0,17	0,15	0,15	0,19	0,16	0,17	0,13	0,13	0,28
LUS	0,33	0,33	0,36		0,20	0,19	0,16	0,14	0,14	0,18	0,15	0,16	0,12	0,13	0,26
ING	0,46	0,46	0,33	0,36		0,02	0,27	0,27	0,26	0,27	0,27	0,22	0,20	0,21	0,34
PIBR	0,41	0,41	0,46	0,33	0,36		0,25	0,26	0,25	0,27	0,25	0,22	0,20	0,20	0,32
AST	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,14	0,17	0,22	0,21	0,17	0,17	0,16	0,30
LOS	0,37	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,11	0,22	0,16	0,15	0,13	0,12	0,25
POT	0,43	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,20	0,17	0,15	0,12	0,12	0,25
MAL	0,46	0,46	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,18	0,20	0,19	0,19	0,33
MEN	0,42	0,42	0,46	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,18	0,16	0,15	0,31
MG	0,43	0,43	0,42	0,46	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,11	0,13	0,23
MJ	0,31	0,31	0,43	0,42	0,46	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,30		0,05	0,23
PU	0,29	0,29	0,31	0,43	0,42	0,46	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,36		0,24
PA	0,62	0,62	0,29	0,31	0,43	0,42	0,46	0,43	0,37	0,37	0,41	0,46	0,33	0,45	

Nota: Destacam-se as menores distâncias.

Para as distâncias de Reynolds (1983) e Shriver et al., (1995). No primeiro caso, as maiores distâncias foram com o Árabe (ARA e EA), Puro Sangue Inglês (ING e PSIBR), e Pantaneiro (PA). Os menores foram com o Puruca (PU), Potoka (POT) e Mangalarga (MG). Do mesmo modo, no segundo caso, as maiores distâncias genéticas obtidas, foram com o Puro Sangue Inglês (ING e PSIBR) e Árabe (EA e ARA). Para as menores distâncias repetiu-se o resultado mais constante, ou seja, Puruca (PU) seguindo-se a Mangalarga (MG) e Lusitano (LUS). Observando os resultados, pode-se inferir que as matrizes obtidas, nas diferentes metodologias de cálculo, são proporcionalmente similares, pois, na maioria dos casos, as maiores distâncias estão entre a raça Marajoara e o Puro Sangue Inglês (ING e PSIBR), em seguida, o Árabe (ARA e EA) e o Malloquina (MAL), havendo algumas inversões nessa ordem, sendo quase constante na maior diferenciação o Puro sangue Inglês (ING e PSIBR). Por outro lado, as menores distâncias estão sempre entre o Puruca (PU) e Mangalarga (MG).

Tabela 2 – Matriz de distâncias genéticas entre populações obtidas segundo método de Reynolds et al (1983) em cima da diagonal e de Shriver et al (1995) Dsw embaixo dela.

	<i>ARA</i>	<i>EA</i>	<i>ESP</i>	<i>LUSI</i>	<i>ING</i>	<i>PIBR</i>	<i>AST</i>	<i>LOS</i>	<i>POT</i>	<i>MAL</i>	<i>MEN</i>	<i>MG</i>	<i>MJ</i>	<i>PU</i>	<i>PA</i>
ARA		0,03	0,11	0,10	0,14	0,13	0,12	0,12	0,12	0,14	0,13	0,12	0,09	0,09	0,16
EA	0,30		0,09	0,08	0,12	0,12	0,11	0,10	0,11	0,12	0,12	0,12	0,08	0,08	0,15
ESP	0,63	0,62		0,02	0,10	0,09	0,08	0,07	0,07	0,08	0,07	0,08	0,05	0,05	0,12
LUS	0,54	0,42	0,18		0,10	0,09	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07	0,05	0,05	0,11
ING	0,83	0,79	0,64	0,57		0,00	0,13	0,12	0,10	0,13	0,13	0,10	0,08	0,09	0,13
PIBR	0,74	0,78	0,58	0,55	0,08		0,12	0,11	0,10	0,12	0,11	0,10	0,08	0,08	0,13
AST	0,61	0,78	0,57	0,50	1,12	1,04		0,06	0,07	0,10	0,09	0,06	0,06	0,06	0,12
LOS	0,60	0,70	0,48	0,43	0,94	0,86	0,37		0,04	0,10	0,08	0,06	0,05	0,05	0,09
POT	0,61	0,73	0,53	0,56	0,84	0,84	0,45	0,39		0,08	0,08	0,05	0,04	0,05	0,09
MAL	0,70	0,68	0,47	0,43	0,76	0,70	0,70	0,52	0,62		0,07	0,08	0,06	0,07	0,13
MEN	0,53	0,65	0,42	0,38	0,84	0,70	0,46	0,38	0,50	0,38		0,07	0,06	0,06	0,12
MG	0,61	0,76	0,47	0,45	0,88	0,80	0,42	0,35	0,46	0,56	0,40		0,04	0,05	0,08
MJ	0,53	0,56	0,34	0,29	0,59	0,55	0,49	0,34	0,33	0,40	0,37	0,29		0,01	0,08
PU	0,51	0,57	0,32	0,28	0,66	0,58	0,44	0,25	0,40	0,32	0,25	0,30	0,15		0,09
PA	0,92	1,01	0,84	0,78	1,01	0,89	0,73	0,63	0,63	0,74	0,64	0,54	0,51	0,63	

Tais resultados podem indicar que a raça Marajoara iniciou um processo de diferenciação genética com o cavalo árabe há bastante tempo, não obstante este compartilhar do conjunto gênico que lhe deu origem. Por sua vez, os dados sugerem que a raça Mangalarga tem formação recente no genoma da raça Marajoara, o que é comprovado pela pouca diferenciação observada em todos os casos. Já a raça Puruca aparece, constantemente, muito próxima da Marajoara, sugerindo que repartem o mesmo ou grande parte do mesmo conjunto gênico, isto é, não se encontram divergências entre o cavalo Marajoara e o minicavalo Puruca, pelo contrário, observa-se que esses grupos estão muito próximos geneticamente.

A partir da matriz de distância DA, construíram-se as árvores de distância segundo o método UPGMA na qual essas afirmações podem ser constatadas quando se observa claramente que os grupos genéticos mais distantes da raça Marajoara são PA, ARA, MAL, ING e PSIBR e as mais próximas são o PU, MG; LOS, POT, LUS e ESP. Vale a pena ressaltar que as árvores obtidas não dão informação sobre a evolução das populações e tampouco quais são as mais antigas ou mais modernas e, sim, as relações genéticas entre as populações estudadas com o método UPGMA, os valores de replicação são maiores, obtendo-se árvores com maior consistência e as diferenças estão mais de acordo com a porcentagem de replicações que geram cada ramo.

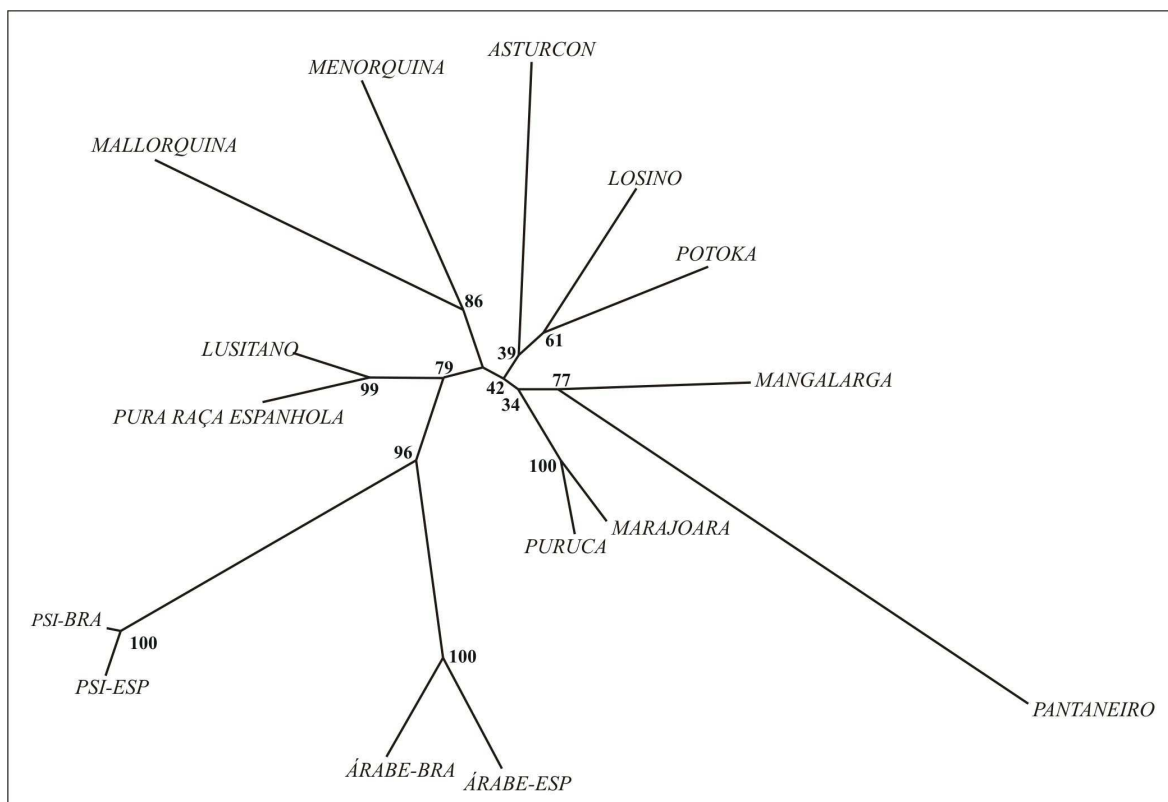


Figura 1. Árvore de distância, segundo o método UPGMA.

Assim, observa-se, claramente, grande proximidade genética entre as raças Marajoara e Puruca, com valor de "bootstrap", demonstrando total confiabilidade (100%), mostrando pouca diferença dos genomas, em que os cruzamentos absorventes na raça Puruca fizeram com que, hoje, se possa considerar essa raça como um verdadeiro reservatório de genes para a raça Marajoara, não obstante as diferenças fenotípicas, que nada mais são que o resultado de uma forte pressão de seleção, sobre poucos caracteres, principalmente com base em características morfológicas, destacando-se a altura.

IV. CONCLUSÃO

Os valores significativos de números de alelos, heterozigosidades, estatísticas F, GST e distâncias genéticas obtidos mostram o cavalo Marajoara bem estruturado geneticamente, muito próximo do Puruca e bastante diferenciado das outras raças e o número de alelos detectados, assim como, os valores das heterozigosidades, mostraram que existe variabilidade genética moderada no grupo estudado

V. REFERÊNCIAS

BARKER, J. S. F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 5, 1994, Guelph. Proceedings... Guelph: International Committee for World Congresses on Genetics Applied to Livestock Production, 1994. v. 5, p. 501-508.

BELKHIR K, BORSA P., CHIKHI L. RAUFASTE N. BONHOMNE F. GENETIX 4,02, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Géome, population, interactions: CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France, 2001.

BOTSTEIN, D; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, Chicago, v. 32, n. 3, p. 314-331, May 1980.

CAÑON, J et.al. The genetic structure of Spanish celtic horse breeds inferred from microsatellite data. *Animal Genetics*, v. 31, p. 39-48, 2000.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2002). Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 15/01/2009.

GUÉRIN G; BERTAND M; AMIGUES Y. Characterisation of seven new horse microsatellites: HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7, HMS8. *Animal Genetics*, v. 25, p. 62, 1994.

LANGELA, O. Populations 1.2.28. CNRS UPR9034. Disponível em:<<http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/populations/index.php>>. Acesso em 18/02/2009.

LEBART, L.; MORINEAU, A.; TABARD, N. *Statistique de la descrição das técnicas*. Paris: Dunod.1977.

MARQUES, J. R. F.; COSTA, M. R.; SILVA, A. O. A. Banco de Recursos Genéticos Animais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v. 21, p. 32-39, 2001.

NEI, M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, Chicago, v. 106, p. 283-292, 1972.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP. (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, v. 86, p. 248-249, 1995.

REYNOLDS, J.; WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, Baltimore, v. 105, p. 767-779, 1983.

SERENO, F. T. P. S. *Caracterización genética del caballo pantaneiro*. 2002.126 f. Tese de doutorado. Faculdade de Veterinária, Universidade de Córdoba, Córdoba,2002.

SILVA, A. C. M e. *Caracterização Genética de Cavalos Naturalizados Usando Marcadores Microsatélites*.Tese de mestrado. Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. 69 p. 2006.

SHRIVER, M. D; JIN, L.; BOERWINKLE, E.; DEKA, R.; FERRELL, R. E.; CHAKRABORTY, R. A. NOVEL. Measure of genetic distance for highly polymorphic tandem repeat loci. *Molecular Biology Evolution*, v. 12, p. 914-920, 1995.

TEIXEIRA, J. C. Condicionamentos históricos e ecológicos do Cavalo marajoara. *O Cavalo marajoara*, n. 12, p. 13, 1995b.

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

WRIGHT, S. *Evolution and the genetics of populations: The theory of gene frequencies*. Chicago: University of Chicago.1969. v. 2.