

## Caracterización genética de la cabra Criolla Cubana mediante marcadores microsatélites

E. Chacón<sup>1</sup>, A. Martínez<sup>2</sup>, M. La O<sup>3</sup>, F.J. Velázquez<sup>1</sup>, E. Pérez<sup>1</sup> y J. Vicente Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Granma, Cuba

<sup>2</sup>Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, España

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias «Jorge Dimitrov»

Correo electrónico: echaconm@udg.co.cu

Para caracterizar genéticamente la cabra Criolla Cubana, como parte del proyecto para la conservación y mejora de esta raza, declarada en peligro de extinción en el año 2003, se recolectaron muestras de pelo de 40 animales. De estos, 33 % procedían del único núcleo genético de la raza existente en Cuba, localizado en la Empresa Genética «Manuel Fajardo», en Jiguaní, Granma. El resto pertenecía a varias fincas, cooperativas de producción agropecuarias y otras explotaciones de las provincias Granma, Santiago de Cuba y Holguín. Se utilizó un panel de 26 microsatélites, recomendados por la FAO y la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG) para estudios de diversidad genética de la especie caprina. La amplificación de los mismos se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los fragmentos amplificados, separados por electroforesis en geles de poliacrilamida. Se calcularon las frecuencias alélicas, las heterocigosidades esperadas (He) y las observadas (Ho) y el contenido de información polimórfica (PIC), así como el equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) por marcador. El número medio de alelos encontrado por *locus* fue de 6.38. La totalidad de los loci estudiados resultaron polimórficos en la raza, y 77 % de ellos mostró un contenido de información polimórfica (PIC) elevado. Esto, unido a la presencia de más de 58 % de individuos heterocigotos, evidencia que la cabra Criolla Cubana es un ente racial con identidad propia, que posee una elevada diversidad genética.

Palabras clave: *Cabras Criollas, polimorfismo, microsatélites*

Latinoamérica posee una amplia diversidad de recursos genéticos animales, utilizados en diferentes sistemas y en variadas condiciones ecológicas y sociales. Una muestra de ello son los pequeños rumiantes encontrados en la región, originados por selección natural, como consecuencia del aislamiento genético a que estuvieron sometidos durante siglos (Devendra y McLeroy 1982).

En este ámbito se sitúan la cabra Criolla Cubana y sus similares americanas, originarias de una mezcla de razas introducidas en América, provenientes de España y Portugal, en su generalidad. Algunas también eran nativas de las islas del Atlántico (Islas Canarias, Islas Azores, Islas de Madeira e Islas de Cabo Verde), que eran parte de la ruta obligatoria de los navegantes hacia América (Tejera 1998).

En la actualidad, la influencia de razas mejoradas ha llevado a muchas razas locales al borde de la extinción, incluso, antes de ser definidas, estudiadas o catalogadas (Martínez *et al.* 2007). La cabra Criolla Cubana es un ejemplo de ello. Esta raza, debido al mestizaje indiscriminado con respecto a otras (Saanen, Nubia, Alpina y Toggenburg), y al escaso conocimiento de su diversidad genética, ha sido declarada en peligro de extinción (FAO 2003).

El estudio de estos recursos genéticos se ha convertido en una prioridad de muchos países, al entender que con ellos pueden solventarse necesidades humanas, además de beneficiar al medio ambiente. Estas razones han incentivado acciones encaminadas a fomentar, rescatar, cuidar y mejorar dichos recursos, según sea el caso (Henson 1992). Se ha profundizado además en otros

aspectos, relacionados con el conocimiento de la pureza de la raza, la relación genética entre poblaciones, las relaciones filogenéticas entre razas y las características de la diversidad genética de las poblaciones. En los últimos años se ha enfatizado en la asignación de un individuo o su producto a una raza determinada (Quiroz *et al.* 2005).

En la actualidad, muchos estudios acerca de la conservación de razas se basan en los análisis genéticos mediante el uso de marcadores microsatélites (Aranguren y Jordana 2001).

Enmarcados en este contexto, y debido a la necesidad de un mayor conocimiento de la cabra Criolla Cubana, los marcadores microsatélites constituyen una herramienta fundamental para conocer la estructura genética de nuestras poblaciones caprinas Criollas, como parte del perfeccionamiento de programas nacionales dirigidos al rescate, conservación y utilización de esta raza.

### Materiales y Métodos

Se recolectaron muestras de pelo de 40 animales de la raza Criolla Cubana, 33 % procedían del único núcleo genético de la raza existente a nivel nacional, localizado en la Empresa Genética «Manuel Fajardo», Jiguaní, Granma. El resto pertenecía a varias fincas, cooperativas de producción agropecuaria, y otras explotaciones de las provincias Granma, Santiago de Cuba y Holguín.

Las muestras de pelo de cada animal se conservaron en sobres de papel individuales, a temperatura ambiente, sin que fueran necesarias otras condiciones.

El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Genética Molecular de la Unidad de Veterinaria del

Departamento de Genética de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba, España. Las condiciones de extracción de ADN a partir de bulbo capilar se realizó según el protocolo adaptado de Walsh *et al.* (1991).

*Microsatélites caracterizados.* Se estudiaron 26 microsatélites (BM6506, BM8125, BM1818, CSRD247, ETH225, HAUT27, ILSTS011, INRA63, INRA5, SPS115, TGLA122, BM6526, CSRM60, CSSM66, ETH10, INRA6, MM12, HSC, McM527, SRCRSP8, OarFCB48, BM1329, OarFCB11, OarFCB304, MAF209 y MAF65), algunos seleccionados y recomendados por el comité de expertos de la FAO/ISAG para estudios de diversidad genética en cabras (FAO 1998) (tabla 1).

*Amplificación y electroforesis de las secuencias microsatélites.* Los microsatélites se amplificaron mediante PCR, según la metodología descrita por Martínez *et al.* (2000). Para separar por tamaño los fragmentos obtenidos, se sometieron mediante la PCR a una electroforesis en gel de poliacrilamida, utilizando un secuenciador automático ABI Prism 377 XL. Se marcaron para ello los cebadores de ADN con fluorocromos de tres colores diferentes (azul, verde y amarillo), y otro de color rojo para marcar un estándar de tamaño, lo que optimizó el rendimiento del gel (tabla 2). Para la preparación del gel se utilizó el kit Reprogel 377 (Amersham Pharmacia Biotech), siguiendo las recomendaciones del fabricante. El análisis de los fragmentos y el genotipado se realizó con los programas informáticos Genescan y Genotyper 3.7 NT.

Tabla 1. Loci múltiples, tamaños de los fragmentos, fluorocromo y temperaturas de acoplamiento utilizadas

Multiplex	Loci	Tamaño (pb)	Fluorocromo	Temp. acoplamiento (°C)	Referencias
M1	BM6506	190-228	HEX	55	Bishop & Kappes 1994
	INRA63	153-185	HEX		Vaiman <i>et al.</i> 1994
	CSRD247	208-250	FAM		FAO 2004
	ETH225	130-165	NED		Barendse & Armitage 1994
	TGLA122	130-180	FAM		Georges & Massey 1992
M2	INRA5	125-155	HEX	55	Vaiman <i>et al.</i> 1994
	HAUT27	125-160	NED		Thieven & Salinas-Toledo 1997
	BM8125	100-128	FAM		Bishop & Kappes 1994
M3	ILSTS011	253-295	HEX	55	Luikart <i>et al.</i> 1999
	SPS115	235-265	NED		Moore & Byrne 1993
	BM1818	250-290	FAM		Li <i>et al.</i> 2002
M4	CSSM66	175-265	HEX	55	Barendse & Armitage 1994
	BM6526	145-195	FAM		Bishop & Kappes 1994
M5	INRA6	100-130	HEX	55	Bishop & Kappes 1994
	MM12	85-135	NED		Mommens & Coppieters 1994
M6	OarFCB304	130-180	HEX	55	Yang <i>et al.</i> 1999
	OarFCB11	120-160	FAM		Yang <i>et al.</i> 1999
	MAF209	100-125	HEX		Luikart <i>et al.</i> 1999
	MAF65	110-152	NED		Luikart <i>et al.</i> 1999
	BM1329	153-185	NED		Bishop & Kappes 1994
M7	HSC	270-306	HEX	55	ISAG 2002
	McM527	150-190	NED		ISAG 2002
	SRCRSP8	210-260	NED		Luikart <i>et al.</i> 1999
M8	CSRM60	75-110	FAM	60	Moore y Byrne 1994
M9	ETH10	200-230	FAM	55	Solinas y Fries 1993
	OarFCB48	140-170	FAM		Yang <i>et al.</i> 1999

Tabla 2. Fluorocromos empleados para marcar los cebadores y color de emisión con el juego de filtros D en el secuenciador ABI 377 XL

Fluorocromo	Nombre químico	Color de emisión
TET	4,7,2',7'-tetracloro-6-carboxifluoresceína	Verde
6-FAM	6-carboxifluoresceína	Azul
HEX	4,7,2',4',5'7'-hexacloro-6-carboxifluoresceína	Amarillo
TAMRA	N,N,N',N'-tetrametil-6-carboxirodamina	Rojo

Se analizaron las gráficas de las bandas obtenidas con el programa GENESCAN y se identificaron los diferentes alelos presentes en cada uno de los microsatélites.

*Análisis estadístico.* El cálculo de las frecuencias alélicas se basó en el conteo directo de los alelos encontrados en cada *locus*. Las observaciones con apenas un alelo son consideradas homocigotos.

Las frecuencias alélicas para cada *locus* resultaron de dividir el número de alelos iguales por el número total de alelos. Para su determinación se empleó el programa informático GENETIX versión 4.01, (Belkhir 1999).

*Cálculo de la heterocigosidad.* Se calculó la heterocigosidad observada (H) y la heterocigosidad esperada (He). La H se obtuvo por recuento directo de los individuos heterocigotos y la He se calculó a partir

$$He = 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2$$

de las frecuencias génicas, supuesto equilibrio Hardy-Weinberg, mediante la fórmula de Nei (1973):

$x_i$ ,: frecuencia del alelo i

k : número de alelos

Las heterocigosidades para el conjunto de los marcadores y para cada uno de ellos en el total de las muestras analizadas se obtuvieron con el programa informático GENETIX, versión 4.01 (Belkhir 1999).

*Cálculo del Contenido de Información Polimórfica (PIC).* El contenido de información polimórfica (PIC) se obtuvo mediante la fórmula propuesta por Botstein *et al.* (1980), con el complemento «The Excel Microsatellite Toolkit», utilizando el programa MS EXCEL 2000.

*Cálculo de la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg.* Para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) por marcador se desarrolló un test exacto o de probabilidad de Fisher, usando el algoritmo en cadena de Monte Carlo-Markov (Guo y Thompson 1992). Los cálculos se realizaron mediante el programa informático GENEPOP, versión 3.4 (Raymond y Rousset 1995), con 100 baterías de 1000 repeticiones, para  $P < 0.05$ .

### Resultados y Discusión

El número de alelos detectados por marcador en la población caprina Criolla Cubana se muestra en la tabla 3. Resultaron polimórficos los 26 microsatélites estudiados. Se encontraron 164 alelos en total, con valores por *locus* que oscilan entre dos (*ETH225*) y once (*MM12*). La mayoría de los marcadores presentó entre cinco y nueve alelos totales, lo que indica una elevada diversidad alélica en esta raza.

El número de alelos obtenidos por *locus* analizados estuvieron en correspondencia con el número mínimo de alelos sugerido por Barker (1994), con excepción de los loci *ETH225* y *MAF209*, con dos y tres alelos respectivamente. Según este autor, un número inferior a cuatro alelos por *locus* reduce el efecto sobre el error

Tabla 3. Microsatélites tipificados por marcador en la cabra Criolla Cubana

Locus	N.	N. A	He	Ho	PIC
BM 1329	35	5	0.618	0.714	0.626
BM 6506	38	5	0.707	0.395	0.706
BM 8125	40	8	0.808	0.825	0.821
BM1818	39	6	0.743	0.717	0.750
CSRD247	39	7	0.611	0.666	0.614
HSC	40	9	0.768	0.750	0.774
MM12	40	11	0.810	0.775	0.820
OarFCB48	40	5	0.657	0.525	0.667
SRCRSP8	40	8	0.764	0.575	0.762
INRA 63	40	6	0.600	0.450	0.603
MAF209	40	3	0.584	0.625	0.586
HAUT 27	40	6	0.716	0.725	0.727
ILSTS 011	40	6	0.404	0.250	0.434
SPS115	40	4	0.332	0.275	0.361
TGLA 122	40	5	0.593	0.525	0.627
BM6526	40	9	0.787	0.825	0.793
CRSM60	40	6	0.656	0.700	0.684
CSSM66	39	9	0.849	0.538	0.860
INRA6	39	9	0.788	0.641	0.797
McM527	40	5	0.574	0.650	0.581
OarFCB11	40	8	0.753	0.625	0.752
OarFCB304	40	7	0.567	0.500	0.595
MAF65	40	7	0.718	0.650	0.732
ETH 225	40	2	0.237	0.275	0.230
ETH10	40	4	0.535	0.500	0.541
INRA5	40	4	0.592	0.571	0.980
Promedio		6.31	0.645	0.587	0.670

Tamaño de la muestra (N). Número de Alelos (N.A). Heterocigosidad esperada (He). Heterocigosidad observada (Ho) y Contenido de Información Polimórfica (PIC)

patrón para cálculos de distancia genética entre poblaciones.

Al igual que en la cabra Criolla Cubana, Avellanet *et al.* (2007) informaron en la raza Mallorquina solo dos alelos para el *locus MAF209*. Luikart *et al.* (1999) y Carrera *et al.* (2006) describen un comportamiento similar para este *locus*, al estudiar cabras españolas y brasileñas respectivamente, donde encontraron poco polimorfismo.

El número medio de alelos encontrado en este estudio en la cabra Criolla Cubana (6.38) no difiere de lo informado por Li *et al.* (2002) y Acosta *et al.* (2005) en cabras autóctonas Chinas y Majoreras (Canarias), respectivamente. Igual, se muestran muy próximos a los descritos por Carrera (2005) para cabras brasileñas de las razas Serrana Azul, Moxotó, Marota, Canindé, Repartida y Graúna, con valores totales de alelos promedio por *locus* de 6.22, 6.29, 6.07, 6.5, 6.70, 6.56, respectivamente. Son también muy cercanos a los encontrados por Dixit *et al.* (2008), quienes registraron un valor de 6.02, al caracterizar genéticamente la raza Kutchi de la India.

Este indicador es superior al descrito por Garrine (2007) en poblaciones de cabras Mozambicanas y al informado por Azor *et al.* (2008) en cabras Criollas de Chile, con número promedio de 5.1 alelos por *locus*. También superó el valor encontrado por Muema *et al.* (2009) para cabras de África Subsahariana, quienes informaron 3.82 en las poblaciones evaluadas en Ujiji y Guinea Bissau, y 5.1 en las de Ugogo.

En la tabla 3 se presentan los valores de heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) por marcador analizado, los cuales varían entre un mínimo de 0.23, para el marcador ETH225, y un máximo de 0.849, para el CSSM66. De forma similar se comportó la heterocigosidad observada ( $H_o$ ), con valores entre 0.244 para el marcador ILSTS 011, y 0,809 para el BM6526.

Los marcadores BM1329, BM8125, BM1818, HSC, MM12, HAUT27, BM6526 muestran mayor polimorfismo, con valores de heterocigosidad observada superiores a 70 %. Ott (1992) considera que un marcador es altamente polimórfico cuando presenta heterocigosidad superior a 70 %. El alto grado de polimorfismo encontrado en los marcadores BM8125, HSC, MM12, BM6526 también fue informado por Carrera *et al.* (2006) en cabras brasileñas.

La heterocigosidad media observada fue de 58.7 %. Más de 76 % de los marcadores estudiados mostraron valores superiores a 50 %, lo que es un indicador de elevada variabilidad genética. Asimismo, la existencia de un valor promedio de individuos heterocigotos por encima de 58 % indica que la raza caprina Criolla Cubana presenta alto grado de diversidad genética.

Estos indicadores no mostraron diferencias con respecto al valor descrito por Avellanet *et al.* (2007), al caracterizar genéticamente la raza Mallorquina (0.588), y a lo encontrado por Saitbekova *et al.* (1999) en nueve razas caprinas suizas. Por el contrario, fueron inferiores a los descritos por Parejo *et al.* (2006) para la raza Retinta Extremeña, y a los informados por Jordana *et al.* (2007) para la cabra

Blanca Rasquera, ambos casos con valores de heterocigosidad media observada de 0.66.

Con respecto al contenido de información polimórfica (PIC) para cada microsatélite estudiado, de los 26 marcadores utilizados en este estudio, 23 resultaron muy informativos, con valores de PIC superiores a 0.5 (tabla 3). Entre ellos, los marcadores BM8125, MM12 y CSSM66 se destacan como los más informativos ( $PIC > 0.82$ ). Asimismo, Acosta *et al.* (2005), al caracterizar genéticamente la cabra Majorera de Fuerteventura, describen estos marcadores entre los de mayor PIC.

Solo dos marcadores (*ILSTS011* y *SPS115*) resultaron medianamente informativos. El marcador (*ETH225*) no presentó un adecuado polimorfismo, y no es informativo para la raza, por lo que debe ser excluido en futuros estudios. Estos valores de PIC coinciden con los descritos por Li *et al.* (2002), Jandurova *et al.* (2004) y Carrera *et al.* (2006).

De igual forma, los valores de las heterocigosidades y del PIC para cada marcador tienen comportamientos bastante similares (tabla 3). Esto coincide con Vaiman *et al.* (1994), quienes plantearon la existencia de una relación directa entre el PIC y la heterocigosidad, ya que cuando aumenta uno también lo hace el otro. Además, al encontrarse cercanos, indican a priori que se realizó un muestreo adecuado, y confirman la calidad de los marcadores seleccionados para el estudio de la diversidad genética de esta raza.

Es importante destacar que el marcador CSSM66, por su elevado polimorfismo y su alto valor de PIC, pudiera indicar que es muy informativo, aunque en realidad no se debe considerar como tal, pues presenta un comportamiento anómalo, como muestra la gran diferencia que existe entre la  $H_e$  y la  $H_o$ . Este desequilibrio queda confirmado al realizarse una prueba de Equilibrio Hardy-Weinberg (tabla 4).

Un comportamiento similar para este marcador fue registrado por Martínez *et al.* (2005a) en cinco razas caprinas españolas, y también por Carrera (2005) en al-

Tabla 4. Valores de probabilidad obtenidos en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg ( $P < 0.05$ )

Locus	Probabilidad	Locus	Probabilidad
BM1329	0.9170	SPS115	0.0157
BM 6506	0.0001	TGLA 122	0.2269
BM8125	0.2384	BM6526	0.0218
BM1818	0.2245	CRSM60	0.5670
CSR247	0.5511	CSSM66	0.0000
HSC	0.3312	INRA6	0.0021
MM12	0.1293	McM527	0.3796
OarFCB48	0.1287	OarFCB11	0.0536
SRCRSP8	0.0035	OarFCB304	0.0964
INRA63	0.1810	MAF65	0.2283
MAF209	0.2088	ETH 225	10.000
HAUT27	0.9868	ETH10	0.4642
ILSTS01	0.0005	INRA5	0.6779

Subrayados los microsatélites que están en desequilibrio

gunas razas brasileñas. Según Martínez *et al.* (2005a), el desequilibrio encontrado indica que los resultados obtenidos a partir de este marcador deben tratarse con mucha precaución. Para evitar posibles errores de los resultados, en los tratamientos estadísticos posteriores se elimina este microsatélite.

El análisis integral de la tabla 3 permite plantear que la raza presenta polimorfismo en todos los microsatélites analizados, y que posee una variación alélica y promedio adecuado de alelos por *locus*. Manifiesta además, alto porcentaje de individuos heterocigotos. La mayoría de los *loci* resultaron altamente informativos. Este comportamiento indica que esta batería de microsatélites es adecuada para estudiar la diversidad genética de la cabra Criolla Cubana, a la vez que demuestra la presencia de una raza con elevada diversidad genética.

Desde el punto de vista genético, zootécnico y económico, estos resultados tienen gran significación. El agrupamiento de loci de mejor comportamiento permitirá utilizar en trabajos futuros una batería simplificada de microsatélites. Esta podría estar representada por 13 microsatélites (BM 1329, BM 8125, BM1818, CSRD247, HSC, MM12, HAUT 27, BM6526, CRSM60, INRA6, OarFCB11, MAF65, INRA5), que presentan como promedio siete alelos, 0.706 de (Ho) y 0.759 de (PIC). Debe adicionarse el consiguiente ahorro que representan estos resultados para el país, según los costos por animal analizado.

Martínez *et al.* (2005b) plantearon la factibilidad del uso de una batería simplificada, con elevado polimorfismo, en trabajos de asignación de individuos a la raza y en estudios genealógicos.

Uno de los primeros pasos en el estudio de la estructura de una población es la detección de desviaciones en las proporciones de Hardy-Weinberg, reveladoras de la ocurrencia de procesos de selección, migración y apareamientos no aleatorios, entre otros.

En la tabla 4 se recogen los valores de probabilidad obtenidos en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg para todas las combinaciones *locus*/población. Subrayando los marcadores que no se encuentran en EHW ( $P < 0.1$ ), un total de 17 marcadores de los 26 estudiados resultaron estar en equilibrio, y nueve no lo estuvieron.

El hecho de haber encontrado 65 % de los marcadores en EHW presupone que los perfiles genéticos formados por las frecuencias alélicas de los animales analizados manifiestan una tendencia al agrupamiento en una población homogénea. El desequilibrio de Hardy-Weinberg, encontrado en los marcadores *SPS115*, *CSSM66* y *OarFCB304*, también ha sido descrito por Martínez *et al.* (2004), al caracterizar genéticamente la cabra Blanca Andaluza.

Al igual que en otras especies, era de esperar la presencia de *locus* en estado de desequilibrio, ya que todas las poblaciones domésticas están sometidas a selección artificial, una de las fuerzas que alteran el EHW por definición.

Se concluye que la cabra Criolla Cubana es un ente racial con identidad propia, que posee una elevada diversidad genética. La totalidad de los microsatélites estudiados resultó polimórfica, y 77 % de ellos mostró un contenido de información polimórfica elevado. Estos resultados evidencian la utilidad de esta batería de microsatélites en posteriores estudios con esta raza.

## Referencias

- Acosta, J. M., Martínez, A. M., Pestano, J., Cabello, A., Brown, R. P., Sarah-Rey, S. & Delgado, J. V. 2005. Caracterización genética de la cabra Majorera de Fuerteventura con microsatélites. *Arch. Zootec.* 54: 265
- Aranguren, M. J. A. & Jordana, J. 2001. Utilización de marcadores de ADN (Microsatélites) en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción. Disponible: [http://www.avpa.ula.ve/articulos\\_libres/AVPA\\_conservacion.pdf](http://www.avpa.ula.ve/articulos_libres/AVPA_conservacion.pdf). Consultado: 15/2/2007
- Avellanet, R., Rodellar, C., Martín-Burriel, I., Osta, R., Pons, A. & Zaragoza, P. 2007. Caracterización genética de una raza caprina en peligro de extinción: Mallorquina. *Arch. Zootec.* 56:381
- Azor, P. J., Valera, M., Sarria, J., Avilés, J. P., Nahed, T. J., Delgado, M. P. & Castel, J. M. 2008. Estimación de las relaciones genéticas entre razas caprinas españolas y criollas utilizando microsatélites. *Revista ITEA.* 2:323
- Barendse, W. & Armitage, S. M. A. 1994. Genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics.* 6:227
- Barker, J. S. F. 1994. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. *World Congress on Genetic Applied to Livestock Production.* 21:501
- Belkhir, K. 1999. Genetix: Logiciel sous Windows<sup>TM</sup> pour la génétique des populations. *Laboratoire Génome, Populations, Interactions.* CNRS UPR 9060
- Bishop, M. D. & Kappes, S. M. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics.* 136:619
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, H. & Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American J. Human Genetics.* 32:314
- Carrera, M. M. P. 2005. Variabilidade e relações genéticas entre raças caprinas nativas brasileiras, Ibéricas e canárias. *Universidades Federele da Paraíba, PERNANBUCO y Ceará.* Tesis Dr. Cs.
- Carrera, M. M. P., Martínez, M. A., Ribeiro, N. M., Cavalcanti, P. F. E. & Delgado, B. J. V. 2006. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microsatélites. *Rev. Bras. Zootec.* 35:1339
- Devendra, C. & McLeroy. 1982. *Goat production in the tropics.* C.A.B. Ed., London, U.K. 183 pp.
- Dixit, S. P., Verma, N. K., Ahlawat, S. P. S., Aggarwal, R. A. K., Kumar, S., Chander, R. & Singh, K. P. 2008. Molecular genetic characterization of Kutchi breed of goat. *Current Sci.* 95:949
- FAO. 1998. *Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans: Management of small populations at risk.* FAO. Rome
- FAO. 2003. *Informe del país sobre la situación nacional de los recursos zoogenéticos en animales de Granja.* Cuba.
- FAO. 2004. *Secondary guidelines for development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans: measurement of domestic animal diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers.* Rome

- Garrine, C. M. L. P. 2007. Genetic characterization of indigenous goat populations of Mozambique. Dissertation. University of Pretoria. Disponible: <http://upetd.up.ac.za/thesis/available/etd-05082008145341/unrestricted/dissertation.pdf>. Consultado: 16/7/2008
- Georges, M. & Massey, J. M. 1992. Polimorphic DNA markers in Bovidae. Patent WO 92/13102
- Guo, S. W. & Thompson, E. A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48:361
- Henson, E.L. 1992. *In situ* conservation of livestock and poultry. *Animal Production and Health Paper*. 99:112
- ISAG. 2002. International Society of Animal Genetic. Disponible: <http://www.isag.org.uk>. Consultado: 9/12/2005
- Jandurova, O. M., Kott, T., Kottova, B. & Czernekova, V. 2004. Seven microsatellite markers useful for determining genetic variability in white and brown short-haired goat breeds. *Small Ruminant Res.* 52:271
- Jordana, J., Marmi J., Carné, S. & Ferrando, A. 2007. Caracterización genética del último reducto caprino autóctono de Catalunya: la cabra Blanca de Rasquera. VIII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Ecuador. Disponible: <http://www.rac.uab.es/bibliografia/articulos/Blanca/CYTED07.pdf>. Consultado: 11/4/2006
- Li, M., Zhao, S., Bian, C., Wang, H., Wei, H., Liu, B., Yu, M., Fana, B., Chen, L., Zhu, M., Li, S., Xiong, T. & Li, K. 2002. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genet. Sel. Evol.* 34:729
- Luikart, G., Biju-Duval, M. P., & Ertugrul, O. 1999. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics*. 30:434
- Martínez, M., Delgado, J. V., Rodero, A. & Vega-Pla, J. L. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Animal Genetics*. 31:295
- Martínez, M., Vega-Pla, J. L., Menezes, M. P. C, Ribero, M. N., Bruno de Sousa, C., Camacho, M. E., Revidatti, M. A., Galarza, A., Stemmer, A., Sponenberg, P., Seguí, B., Rocha, L. L., Chacón, E., Pimenta, E., Capote, J., Amills, M., Gama, L.T., Cabello, A. & Delgado, J. V. 2007. Relaciones genéticas entre razas caprinas ibéricas y latinoamericanas. VIII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Quevedo. Ecuador
- Martínez, M. Amparo., Carrera, M. P., Acosta, J. M., Rodríguez-Gallardo, P. P., Cabello, A., Camacho, E., & Delgado, J. V. 2004. Genetic characterization of the Blanca Andaluza goat based on microsatellite markers. *South African J. Animal Sci.* 34:18
- Martínez, M. Amparo., Martín, D., Lozano, J. M., Cabello, A. & León, J. M. 2005b. Control de la Genealogía mediante microsatélites. *Rev. OVIS.* 100:57
- Martínez, M., Quiroz, J., Camacho, M. E., Barba, C. & Vega-Pla, J. L. 2005a. Caracterización genética de poblaciones caprinas. *Rev. OVIS.* 100:43
- Mommens, G. W. & Coppieters, A. 1994. Dinucleotide repeat polymorphism at the bovine MM12E6 and MM8D3 loci. *Animal Genetics* 25:368
- Moore, S. S. & Byrne, K. 1993. Dinucleotide polymorphism at the bovine calmodulin independent adenylylase locus. *Animal Genetics* 24:150
- Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 44, Número 3, 2010.
- Moore, S. S. & Byrne, K. 1994. Characterization of 65 bovine microsatellites. *Mammalian Genome* .5:84
- Muema, E. K., Wakhungu, J. W., Hanotte, O. & Jianlin, Han. 2009. Genetic diversity and relationship of indigenous goats of Sub-saharan Africa using microsatellite DNA markers. *Livestock Research for Rural Development*. 21:2.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sci. of USA.* 321 pp.
- Ott, J. 1992. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. *American J. Human Genetics.* 51:283
- Parejo, J. C., Padilla, J. A., Sansinforiano, M. E., Rabasco, A., Martínez-Trancón, M., Portilla, J., Mateos, S. & Salazar, J. 2006. Caracterización genética de la raza caprina retinta extremeña mediante el estudio de microsatélites. En: <http://acteon.webs.upv.es/CONGRESO/AIDA%2007/Parejo%20et%20al..pdf>. Consultado: 24/7/2007
- Quiroz, J., Landi, V., Martínez, M. Amparo., Barba, C. & Vega-Pla, J. L. 2005. Asignación de individuos a poblaciones caprinas a partir de técnicas moleculares. *Revista OVIS.* 100:67
- Raymond, M. & Rousset, F. 1995. GENEPOP (Version 3.4). Population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Heredity* 86: 248
- Saitbekova, N., Gaillard, C. & Ruff, G. O. 1999. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics* 30:36
- Solinas-Toldo, S. & Fries, R. 1993. Physically mapped, cosmiderived microsatellite markers as anchor loci on bovine chromosomes. *Mammalian Genome* 4:720
- Tejera, G.A. 1998. Los cuatro viajes de Colón y las Islas Canarias. 1492-1502. Cabildo de La Gomera. Ed. Francisco Lemus. 167 pp.
- Thieven, U. & Solinas-Toldo, S. 1997. Polymorphic CAmicrosatellites for the integration of the bovine genetic and physical map. *Mammalian Genome* 8:52
- Vaiman, D., Mercier, D., Moazami-Goudarzi, K., Eggen, A., Ciampolini, R., Lepingle, A., Velmala, R., Kaukinen, J., Varvio, S. L. & Martin, P. 1994. A set of 99 cattle microsatellites: characterization, synteny mapping, and polymorphism. *Mammalian Genome* 5:288
- Walsh, P. S., Metzger, D. A. & Higuchi, R. 1991. Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* 10:506
- Yang, L., Zhao, S. H. & Li, K. 1999. Determination of relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Animal Genetics* 30:452

**Recibido: 5 de junio de 2009**