

## Genetic diversity of the Landim mozambicano goat

### Diversidad genética del caprino Landim mozambicano

A. Cavele<sup>1</sup>, E. Pérez Pineda<sup>2\*</sup>, N. Fonseca<sup>2</sup>, J.L. Ramírez<sup>2</sup>, D. Verdecia<sup>2</sup>, María A. Martínez<sup>3</sup>, J.V. Delgado<sup>3</sup>, C.J. Barba<sup>3</sup> and J. Grizelj<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estación Zootécnica de Angónia. Instituto de Investigaciones Agrarias de Mozambique. Distrito de Angonia, Tete, Mozambique

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Granma. Carretera a Manzanillo, km 17 ½, CP 85100, Bayamo, Granma, Cuba.

<sup>3</sup>Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba, España. Campus Rabanales, Córdoba, España.

<sup>4</sup>Facultad de Veterinaria. Universidad de Zagreb. Vjekoslav Hejzel Street 55, 10 000, Zagreb, Croacia.

\*Email: eperezp@udg.co.cu

A. Cavele: <https://orcid.org/0000-0003-3569-253X>

E. Pérez-Pineda: <https://orcid.org/0000-0001-5040-5493>

N. Fonseca: <https://orcid.org/0000-0001-6635-3165>

J.L. Ramírez: <https://orcid.org/0000-0002-0956-0245>

D. Verdecia: <https://orcid.org/0000-0002-4505-4438>

María A. Martínez: <https://orcid.org/0000-0002-6944-0501>

J.V. Delgado: <https://orcid.org/0000-0003-1657-8838>

C.J. Barba: <https://orcid.org/0000-0001-8363-1673>

J. Grizelj: <https://orcid.org/0000-0001-5963-3409>

With the purpose of determine the genetic diversity of the "Landim Mozambicano" goat, a panel of 33 microsatellites molecular markers were analyzed, selected and recommended by the "Comité de Expertos de la FAO" and the "Sociedad Internacional de Genética Animal" for diversity studies in sheep and goats species. Hair samples of 60 individuals from six Mozambique provinces (Manica, Tete, Sofala, Nampula, Gaza e Inhambane) were taken, which groups the highest number of animals from the breed. The ADN of the capillary bulb was extracted and amplified by PCR in the laboratorio de Biología Molecular del Animal Breeding Consulting, S.L, de la Universidad de Córdoba, España. Electrophoresis in poliacrilamide gel was carried out to separate the obtaining fragments in an Automatic Sequencer ABI Prism® 377 XL (Applied Biosystems). The fragments analysis and genotyped was performed by the informatics programs Genescan and Genotyper 3.7 NT. It was determined: allele total per marker, expected and observed heterozygosities and Polymorphic Information Content. All the microsatellites were polymorphic, a total of 214 alleles with 6.4 as average per marker were found. From the analyzed panel a total of 29 were informative, 11 highly informative and 3 exceptionally informative for the breed. As main find, the heterozygosities reached values higher than 60 %. It is concluded that the microsatellites battery was adequate to study the breed, four of them can be excluded in future studies and the "Landim" goat is a breed with adequate genetic diversity.

Key words: *goats, markers, ADN, Mozambique.*

Thousands years of animal production and controlled reproduction combined with the natural selection effects, has been gave place to the great genetic diversity among the world animals populations. The goats are among the most ancient animals in being

Con el propósito de determinar la diversidad genética del caprino Landim Mozambicano, se analizó el panel de 33 marcadores moleculares de tipo microsatélites, seleccionados y recomendados por el Comité de Expertos de la FAO y la Sociedad Internacional de Genética Animal para estudios de diversidad en las especies ovina y caprina. Se tomaron muestras de pelo de 60 individuos de seis provincias de Mozambique (Manica, Tete, Sofala, Nampula, Gaza e Inhambane) que concentra la mayor cantidad de animales de la raza. En el laboratorio de Biología Molecular del Animal Breeding Consulting, S.L, de la Universidad de Córdoba, España, se procedió a extraer el ADN del bulbo capilar y posterior amplificación mediante PCR. Para separar los fragmentos obtenidos se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida en un Secuenciador automático ABI Prism® 377 XL (Applied Biosystems). El análisis de los fragmentos y el genotipado se realizó mediante los programas informáticos Genescan y Genotyper 3.7 NT. Se determinó: total de alelos por marcador, Heterocigocidades esperada y observada y Contenido de Información Polimórfica. Todos los microsatélites resultaron polimórficos, se encontraron 214 alelos, con promedio de 6.4 por marcador. Del panel analizado 29 marcadores resultaron informativos, 11 altamente informativos y 3 excepcionalmente informativos para la raza. Como hallazgo fundamental las Heterocigocidades alcanzaron valores superiores al 60%. Se concluye que la batería de microsatélites resultó adecuada para estudiar la raza, 4 de ellos se pueden excluir en futuros estudios y el caprino Landim constituye una raza con adecuada diversidad genética.

Palabras clave: *caprinos, marcadores, ADN, Mozambique.*

Miles de años de producción animal y reproducción controlada, combinados con los efectos de la selección natural, han dado lugar a la gran diversidad genética entre las poblaciones de animales del mundo. Los caprinos, por su parte, se encuentran entre los animales

domesticated, is one of the species more use to produce meat and milk, and it is estimated that there are more than 500 goat breeds in the planet, of which the 89 % live in African continent (FAO 2015). Skapetas and Bampidis (2016) reported that about 95 % of the world's total of goats is in the tropical developing countries, mainly in Asia and Africa, while Arellano *et al.* (2020) refer that, for the ability of adapting to different environments, goats have great diversity as a result of natural selection.

In Mozambique Republic the animal and agricultural production is the main source of income and job for 85 % of the rural population. Goats are use for meat production, providing profits for small breeders, which have more than 95 % of the national census. In the country the goat raising plays an important socio-economic and cultural role because besides to satisfy the food needs of the rural sector, the surpluses are sell or exchange with other products, which allow to financing the health, school, parties and traditional ceremonies (Nhamcumbe *et al.* 2017).

The Landim goat is genetic heritage from Mozambique, and despite its high contribution to people feeding, this genetic resource has been little studied. There is not enough information related with the regularities of their traditional production systems, their morphologic structure and neither of their genetic diversity, aspects that limit the national strategic design effective for its conservation and improvement. These deficiencies determined that the objective of this research was to determine the genetic diversity of the breed using microsatellites molecular markers, as contribution to the conservation and genetic improvement of breed.

### Materials and Methods

*Animal material.* For the molecular analysis hair samples of 60 Landim goats from six Mozambique provinces (Manica, Tete, Sofala, Nampula, Gaza and Inhambane) were taken, where there are the highest number of animals from the breed. The hairs were taken from the back of the nape and were individually placed in plastic bags. Origin, sex and hair color were identified for each animal. The samples were move to Laboratorio de Biología Molecular del Animal Breeding Consulting, S.L, en la Universidad de Córdoba, España. The ADN was taking from the capillary bulb, in accordance with the conditions collected in this protocol.

*Used materials.* TE: Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM pH=8, Buffer K of extraction: 40 mL of Tris-HCl 1M (pH=8.5), 20 mL of NaCl, 2.5M, 10 mL of EDTA 0.5M, 10 mL of SDS at 10 % and H<sub>2</sub>O up to 200 mL; Sodium acetate 3M pH=5.2, Isopropanol, Ethanol at 70 % and hair simple with root

*Methods.* Wash 10 hairs with root from each animal with bidistilled water and then with ethanol at 100%,

más antiguos en ser domesticados, es una de las especies más utilizadas para producir carne y leche, y se estima que en el planeta existen más de 500 razas caprinas, de las cuales el 89 % habitan en el continente africano (FAO 2015). Skapetas y Bampidis (2016) informaron que cerca del 95 % del total mundial de los caprinos se encuentran en los países tropicales en vías de desarrollo, fundamentalmente en Asia y África, mientras que Arellano *et al.* (2020) refirieron que, por la habilidad de adaptarse a diferentes ambientes, los caprinos tienen gran diversidad como resultado de la selección natural.

En la República de Mozambique la producción animal y agrícola constituye la principal fuente de ingresos y empleo para el 85 % de la población rural. Los caprinos se utilizan para la producción de carne, proporcionando ganancias para los pequeños criadores, los que poseen más del 95 % del censo nacional. En el país la capricultura desempeña un importante papel socio-económico y cultural porque además de satisfacer las necesidades alimentarias del sector rural, los excedentes se venden o intercambian con otros productos, lo cual le permite financiar la salud, la escuela, las fiestas y las ceremonias tradicionales (Nhamcumbe *et al.* 2017).

El caprino Landim es patrimonio genético de Mozambique, y a pesar de su alta contribución a la alimentación del pueblo, este recurso genético ha sido poco estudiado. No existe suficiente información relacionada con las regularidades de sus sistemas tradicionales de producción, de su estructura morfológica y tampoco de su diversidad genética, aspectos que limitan el diseño de una estrategia nacional eficaz para su conservación y mejora. Estas insuficiencias condicionan que el objetivo de la presente investigación fue determinar la diversidad genética de la raza utilizando marcadores moleculares de tipo microsatélites, como contribución a la conservación y mejora genética de la raza.

### Materiales y Métodos

*Material animal.* Para el análisis molecular se tomaron muestras de pelos de 60 cabras Landim de seis provincias de Mozambique (Manica, Tete, Sofala, Nampula, Gaza e Inhambane) donde se concentran la mayor cantidad de animales de la raza. Los pelos se tomaron de la parte posterior de la nuca y se depositaron de manera individual en bolsas de plástico. Se identificaron para cada animal, su procedencia, sexo y color del pelaje. Las muestras se trasladaron al Laboratorio de Biología Molecular del Animal Breeding Consulting, S.L, en la Universidad de Córdoba, España. El ADN se extrajo del bulbo capilar, de acuerdo con las condiciones que se recogen en el siguiente protocolo.

*Materiales utilizados.* TE: Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM pH=8; Tampón K de extracción: 40 mL de Tris-HCl 1M (pH=8.5), 20 mL de NaCl, 2.5M, 10 mL de EDTA 0.5M, 10 mL de SDS al 10 % y H<sub>2</sub>O hasta 200 mL; Acetato Sódico 3M pH=5.2, Isopropanol; Etanol al 70 % y Muestra de pelo con raíz

*Método.* Lavar 10 pelos con raíz de cada animal con

let dried, cut the hair roots with sterilized scissors in alcohol and put into micro tubes. Add 300  $\mu$ L of extraction buffer, crush the roots with a plunger, add 150  $\mu$ L of sodium acetate 3M pH=5.2, put the micro tubes in the freezer (-20 °C) at least for 20 minutes, centrifugate during 10 minutes at 13.000 rpm. Pick up the supernatant and put it in another clean 1.5 mL micro tube. Throw away the precipitate. Add the same quantity to the extracted from isopropanol, put it in the freezer (-20 °C) at least 20 minutes, centrifugate during 30 minutes at 13.000 rpm. Throw away the supernatant and dry the precipitate at air or with a vacuum pump. Redissolve the precipitate in 100  $\mu$ L of TE pH=8 and eep at -20 °C.

*Analyzed microsatellites.* A total of 33 microsatellites molecular markers were used, selected and recommended by the experts committee from FAO/ISAG genetic diversity studies in sheep and goats species (FAO 2011). The markers were: BM1329, BM1818, BM6506, BM6526, BM8125, CRSM60, CSR247, CSSM66, ETH10, ETH225, HAUT27, HSC, ILSTS8, ILSTS011, ILSTS19, INRA5, INRA6, INRA172, INRA63, MAF65, MAF209, MM12, OarFCB11, OarFCB20, OarFCB48, OarFCB304, SPS115, SRCRSP5, SRCRSP8, SRCRSP23, SRCRSP24, TGLA53, and TGLA122.

*Amplification and electrophoresis of microsatellites sequences.* The microsatellites were amplified by PCR, according to Martínez (2001) methodology in 25  $\mu$ L of the final volume of a reaction: 5  $\mu$ L of ADN (3 ng/ $\mu$ L), 2.5 Mm of magnesium chloride, 1 unit of Taq Polymerase, 200 mM of dNTPs and 0.25 mM of primers. The reaction cycle was of 10 minutes at 94 °C, fallow by 35 cycles at 94 °C per 30", 55 – 60 °C per 45" and 72 °C per 30", finally, after the 35 cycles, it was keep 10' at 72 °C.

To carry out the separation by size of the fragments obtaining by PCR, they were submitted to electrophoresis in poliacrilamide gel in an automatic sequencer ABI Prism® 377 XL (Applied Biosystems), marking the ADN primers with fluorochrome of three different colors (blue, green and yellow), applying other fluorochrome of a fourth color (red) to mark an standard of sizes. In this way the gel yield was optimized since various microsatellites of same size and marked with three different fluorochromes can be loaded in a same bowl. The used fluorochromes are described in table 1.

agua bidestilada y después con etanol 100 %. Dejar secar. Cortar las raíces de los pelos con unas tijeras esterilizadas con alcohol e introducirlos en microtubos. Añadir 300  $\mu$ L de tampón de extracción. Triturar las raíces con un émbolo. Añadir 150  $\mu$ L de acetato sódico 3M pH=5.2. Colocar los microtubos en el congelador (-20 °C) al menos durante 20 minutos. Centrifugar durante 10 minutos a 13.000 rpm. Recoger el sobrenadante y ponerlo en otro microtubo de 1.5 mL limpio. Desechar el precipitado. Añadir igual volumen al extraído de isopropanol. Colocar en el congelador (-20 °C) durante al menos 20 minutos. Centrifugar durante 30 minutos a 13.000 rpm. Eliminar el sobrenadante. Lavar el precipitado con 150  $\mu$ L de etanol al 70 %. Centrifugar durante 5 minutos a 13.000 rpm. Eliminar el sobrenadante y dejar secar el precipitado al aire o con una bomba de vacío. Resuspender el precipitado en 100  $\mu$ L de TE pH=8 y Conservar a -20 °C.

*Microsatélites analizados.* Se utilizaron 33 marcadores moleculares de tipo microsatélites seleccionados y recomendados por el comité de expertos de la FAO/ISAG para estudios de diversidad genética en las especies ovina y caprina (FAO 2011). Los marcadores fueron: BM1329, BM1818, BM6506, BM6526, BM8125, CRSM60, CSR247, CSSM66, ETH10, ETH225, HAUT27, HSC, ILSTS8, ILSTS011, ILSTS19, INRA5, INRA6, INRA172, INRA63, MAF65, MAF209, MM12, OarFCB11, OarFCB20, OarFCB48, OarFCB304, SPS115, SRCRSP5, SRCRSP8, SRCRSP23, SRCRSP24, TGLA53, y TGLA122.

*Amplificación y electroforesis de las secuencias microsatélites.* Los microsatélites se amplificaron mediante PCR, según la metodología de Martínez (2001) en 25  $\mu$ L de volumen final de una reacción: 5  $\mu$ L de ADN (3 ng/ $\mu$ L), 2.5 Mm de cloruro de magnesio, 1 unidad de Taq Polimerasa, 200 mM de dNTPs y 0.25 mM de primers. El ciclo de reacción fue de 10 minutos a 94 °C, seguidos de 35 ciclos a 94 °C por 30", 55 – 60 °C por 45" y 72 °C por 30", finalmente, después de los 35 ciclos, se mantuvo 10' a 72 °C.

Para realizar la separación por tamaños de los fragmentos obtenidos mediante PCR, se sometieron estos a la electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático ABI Prism® 377 XL (Applied Biosystems), marcando los cebadores de ADN con fluorocromos de tres colores diferentes (azul, verde y amarillo), aplicando otro fluorocromo de un cuarto color (rojo) para marcar un estándar de tamaños. De esta forma

Table 1. Fluorochrome used to mark the primers and emission color with the set of filters D in the sequencer ABI 377 XL.

Fluorochrome	Nomenclature	Emission color
TET	4,7,2',7'-tetrachlorine-6-carboxyfluoresceine	Green
6-FAM	6-carboxyfluoresceine	Blue
HEX	4,7,2',4',5'7'-hexachloro-6carboxyfluoresceine	Yellow
TAMRA	N,N,N',N'-tetramethyl-6-carboxyrodamine	Red

For the gel preparation the kit Reprogel 377 (Amersham Pharmacia Biotech) was used in accordance with the manufacture recommendations. The fragments analysis and genotyped was performed with the informatics programs GENESCAN ANALYSIS (Genescan 672v.2.0.2 and GENOTYPER® version 2.5.2).

*Statistical analysis. Calculation of allelic frequencies.* The calculation of allelic frequencies was based on the direct count of the alleles found in each locus. The observations with at least an allele were considered homozygote. When assuming that there is an ideal equilibrium state Hardy-Weinberg (EHW), the variance of an allelic frequency can be described through the binomial expression:

$$\sigma_x^2 = \frac{x(1-x)}{2n}$$

where x is the allelic frequency and n the number of sampled individuals .

The allelic frequencies for each lotus turned into divide the number of the same alleles per the total number of alleles. For its determination the informatics program GENEPOP, version 3.1c (Raymond and Rousset 1996) was used.

*Heterozygosity calculation.* The heterozygosity observed (Ho) and the heterozygosity expected (He) were calculated. The H was obtained by direct recount of the heterozygotes individuals and the He was calculated from the gene frequencies, the supposed equilibrium Hardy-Weinberg, using the Nei (1973) formula:

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

where: xi is the allele frequency I and k is the number of alleles

For the set of markers and for each of them in the total of analyzed samples, the heterozygosities were calculated with the informatics program GENEPOP, version 4.2.

*Calculation of the Polymorphic Information Content (PIC).* Its determination, the basic data of each allele frequency were introduced in a worksheet EXCEL® (Microsoft), the formula proposed by (Botstein *et al.* 1980) was used:

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^k x_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2x_i^2 x_j^2$$

where: k is the number of alleles, xi, xj : alleles frequency i y j respectively.

## Results and Discussion

*Detected alleles.* Table 2 shows that all the analyzed microsatellites showed polymorphism and the Landim population have a total of 214 alleles, with an allelic

se optimizó el rendimiento del gel ya que se pueden cargar en un mismo pocillo varios microsatélites de igual tamaño y marcados con tres fluorocromos distintos. Los fluorocromos utilizados se describen en la tabla 1.

Para la preparación del gel se utilizó el kit Reprogel 377 (Amersham Pharmacia Biotech) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El análisis de los fragmentos y el genotipado se realizó con los programas informáticos GENESCAN ANALYSIS (Genescan 672v.2.0.2 y GENOTYPER® versión 2.5.2).

*Análisis estadísticos. Cálculo de las frecuencias alélicas.* 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 se consideraron homocigotos. Al asumir que existe un estado ideal de equilibrio Hardy-Weinberg (EHW), la varianza de una frecuencia alélica se puede describir mediante la expresión binomial:

$$\sigma_x^2 = \frac{x(1-x)}{2n}$$

donde x es la frecuencia alélica y n el número de individuos muestreados.

Las frecuencias alélicas para cada locus resultan de dividir el número de alelos iguales por el número total de alelos. Para su determinación se empleó el programa informático GENEPOP, versión 3.1c (Raymond y Rousset 1996).

*Cálculo de la heterocigosidad.* Se calcularon la heterocigosidad observada (Ho) y la heterocigosidad esperada (He). La H se obtuvo por recuento directo de los individuos heterocigotos y la He se calculó a partir de las frecuencias génicas, supuesto equilibrio Hardy-Weinberg, empleando la fórmula de Nei (1973):

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

donde: xi es la frecuencia del alelo i; k es el número de alelos

Para el conjunto de los marcadores y para cada uno de ellos en el total de las muestras analizadas, las heterocigosidades se calcularon con el programa informático GENEPOP, versión 4.2.

*Cálculo del Contenido de Información Polimórfica (PIC).* Para su determinación, se introdujeron los datos básicos de las frecuencias de cada alelo, en una hoja cálculo EXCEL® (Microsoft), y se utilizó la fórmula propuesta por (Botstein *et al.* 1980):

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^k x_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2x_i^2 x_j^2$$

donde k es el número de alelos, xi, xj : frecuencia de los alelos i y j respectivamente.

## Resultados y Discusión

*Alelos detectados.* El primer hallazgo que se observa



population that varies between 2 alleles in the locus ETH225 and 13 in the locus HSC, while the majority have between 4 and 8 alleles, with an average value of 6.4 for the breed; aspects that constitutes the first evidence that the breed have genetic variability. The total of alleles founded is lower to the value reported by Silva *et al.* (2019) in the Black creole goat from Mexico, but exceeded the number founded by Bustamante (2019) in Peruvian goats from Lima and Piura which represented 172 y 165, respectively. The values of the Venezuelan

en la tabla 2 fue que todos los microsatélites analizados mostraron polimorfismo, y que la población Landim posee un total de 214 alelos, con una dotación alélica que varía entre 2 alelos en el locus ETH225 y 13 en el locus HSC, mientras que la mayoría presentan entre 4 y 8 alelos, con un valor promedio de 6.4 para la raza; aspectos que constituyen la primera evidencia de que la raza posee variabilidad genética. El total de alelos encontrado resulta inferior al valor de 243 que reportaron Silva *et al.* (2019) en la cabra criolla Negra de México, pero supera la cantidad encontrada

Table 2. Number of alleles per marker, heterozygosities and PIC in the population of Landim goats.

Locus	No. of alleles	He	Ho	PIC
BM1329	5.00	0.568	0.644	0.511
BM1818	8.00	0.717	0.744	0.677
BM6506	7.00	0.743	0.577	0.694
BM6526	8.00	0.716	0.704	0.665
BM8125	8.00	0.724	0.822	0.671
CRSM60	6.00	0.803	0.813	0.762
CSR247	9.00	0.716	0.511	0.670
CSSM66	12.00	0.853	0.439	0.825
ETH10	4.00	0.686	0.644	0.613
ETH225	2.00	0.315	0.113	0.263
HAUT27	8.00	0.775	0.622	0.730
HSC	13.00	0.837	0.681	0.808
ILSTS8	4.00	0.536	0.555	0.421
ILSTS11	5.00	0.590	0.488	0.498
ILSTS19	4.00	0.611	0.704	0.548
INRA5	6.00	0.700	0.777	0.636
INRA6	9.00	0.749	0.777	0.703
INRA172	5.00	0.598	0.636	0.508
INRA63	3.00	0.643	0.644	0.560
MAF65	8.00	0.598	0.522	0.567
MAF209	3.00	0.455	0.444	0.405
MM12	11.00	0.854	0.844	0.828
OarFCB11	7.00	0.795	0.697	0.753
OarFCB20	6.00	0.717	0.704	0.658
OarFCB304	8.00	0.510	0.511	0.485
OarFCB48	6.00	0.688	0.533	0.624
SPS115	3.00	0.343	0.355	0.314
SRCRSP5	6.00	0.761	0.755	0.715
SRCRSP8	8.00	0.638	0.568	0.588
SRCRSP23	8.00	0.696	0.688	0.640
SRCRSP24	5.00	0.533	0.525	0.495
TGLA053	5.00	0.515	0.395	0.476
TGLA122	4.00	0.682	0.733	0.609
Total	214.00			
Average SD	6.40	0.657	0.6117	
	2.61	0.023	0.0128	

He= heterozygosity expected, Ho= heterozygosity observed.

PIC=polyomorphic information content, SD= standard deviation.

creole goat (182) and the Cuban creole were lower too, according to Aranguren *et al.* (2013) and Chacón *et al.* (2018).

In a previous study of this breed Garrine (2010) obtained an average of 5.5 alleles, figure that do not coincide with the 6.4 average alleles founded in this study, which can be due to the sampling performed by that author did not include animals from all the regions of the country, and lower number of microsatellites were analyzed (17), although 11 of the included in this analysis were used. The average value of 6.4 alleles founded in this research is similar to what some authors reported in different goat breeds of several latitudes. De Sousa *et al.* (2011) reported 6.9 alleles for six native goats from Portugal, Chacón *et al.* (2018) showed 6.38 in the Cuban creole goat and in this same environment are the Iranian and Saudi goats and from Kashmir in China, according to Vahidi *et al.* (2014), Al-Atiyat *et al.* (2015) and Du *et al.* (2017), respectively.

In this indicator, the Landim breed exceeds the Santanderena goat studied by Jiménez *et al.* (2014) which showed an average of 4.23 alleles. On the other hand, Landim breed is exceeded by the Nigerian breeds Maradi, West African Dwarf and Sahel that averaged 7.9, 8.7 and 8.2 alleles, respectively according to Murital *et al.* (2015) and for the Apureña breed which show allelic average of 8.6 as Gómez (2013) point out. Also the Mexican Black creole goat (8.1 alleles) studied by Silva *et al.* (2019) and the dairy goats from South Africa according to Bosman *et al.* (2015) have better performance.

There were four microsatellites (ETH225, INRA63, MAF209 and SPS115) that showed less than 4 alleles. Similar find was informed by Chacón *et al.* (2017) in the Cuban creole goat, where the locus ETH225 and MAF209 has 2 and 3 alleles, respectively. For this last marker, Murital *et al.* (2015) found 3 alleles in Nigerian goats and Gómez (2013) detected only 2 alleles in the Apurimeña goat from Peru. It also coincides with Aranguren-Mendez (2013) that showed little polymorphism for INRA63 marker in Brazilian and Venezuelan goats; also because of the lack of alleles of this locus has in the Mahabubnagar breed form India, Raghavendra (2016) propose eliminating it from goat diversity studies. These results suggest that those markers can be excluded in future diversity studies in Landim goat, in turn that the other 29 used to new studies of the breed, included those of the genetic distance between populations.

The microsatellites MM12, CCSM66 and HSC were the one with the higher number of alleles with 11, 12 and 13, respectively. In this same locus in the study with the Cuban creole goats there were respective values of 11, 9 and 9 alleles. Higher number were reported by Gómez (2013) in the Apurimeño goat that found 10, 18 and 13 for each of them, respectively, and higher

por Bustamante (2019) en cabras peruanas de las razas Lima y Piura que presentaron 172 y 165, respectivamente. Resultaron inferiores también los valores de la cabra criolla venezolana (182) y criolla cubana (164) según divulgaron (Aranguren *et al.* 2013 y Chacón *et al.* 2018).

En un estudio previo de esta raza Garrine (2010) obtuvo un promedio de 5.5 alelos, cifra que no coincide con los 6.4 alelos promedio encontrados en este estudio, lo que puede obedecer a que el muestreo realizado por aquel autor no incorporó animales de todas las regiones del país, y se analizaron menor cantidad de microsatélites (17), aunque se utilizaron 11 de los incluidos en este análisis. El valor promedio de 6.4 alelos encontrado en esta investigación es similar a lo que reportaron varios autores en diferentes razas caprinas de varias latitudes. De Sousa *et al.* (2011) informaron 6.9 alelos para seis cabras autóctonas de Portugal, Chacón *et al.* (2018) indicaron 6.38 en la cabra Criolla cubana y en ese mismo entorno se encuentran las cabras iraníes, saudíes y de Cachemira en China, según Vahidi *et al.* (2014), Al-Atiyat *et al.* (2015) y Du *et al.* (2017), respectivamente.

En este indicador, la raza Landim supera a la cabra Santanderena estudiada por Jiménez *et al.* (2014) que presentó un promedio de 4.23 alelos. Por el contrario, la raza Landim es superada por las razas nigerianas Maradi, West African Dwarf y Sahel que promediaron 7.9, 8.7 y 8.2 alelos, respectivamente según Murital *et al.* (2015) y por la raza Apureña que muestra promedio alélico de 8.6 tal como apunta Gómez (2013). También se comportan mejor (8.1 alelos) la cabra criolla Negra mexicana estudiada por Silva *et al.* (2019) y las cabras lecheras de Sudáfrica según reportaron Bosman *et al.* (2015).

Se encontraron cuatro microsatélites (ETH225, INRA63, MAF209 y SPS115) que mostraron menos de 4 alelos. Un hallazgo similar informó Chacón *et al.* (2017) en la cabra Criolla Cubana, donde los locus ETH225 y MAF209 presentaron 2 y 3 alelos, respectivamente. Para este último marcador, Murital *et al.* (2015) en cabras nigerianas encontraron 3 alelos y Gómez (2013) detectaron sólo 2 alelos en la cabra Apurimeña del Perú. Se coincide además con Aranguren-Mendez (2013) que señalaron poco polimorfismo para el marcador INRA63 en cabras brasileñas y venezolanas; también por la escasa dotación alélica que presenta este locus en cabras de la raza Mahabubnagar de la India, Raghavendra (2016) propone eliminarlo de estudios de diversidad caprina. Estos resultados sugieren que dichos marcadores se pueden excluir en futuros estudios de diversidad en el caprino Landim, a la vez que los 29 restantes utilizarlos para nuevos estudios de la raza, incluidos los de distancias genéticas entre poblaciones.

Los microsatélites MM12, CCSM66 y HSC fueron los que presentaron mayor número de alelos con 11, 12 y 13, respectivamente. En estos mismos locus en el estudio con las cabras Criollas cubanas se encontraron valores respectivos de 11, 9 y 9 alelos. Cifras superiores fueron reportados por Gómez (2013) en el caprino

values (19, 35 and 20) reported Murital *et al.* (2015) in Nigerian goats.

*Heterozygosities and Polymorphic Information Content (PIC)*. Table 2 shows the values of the obtained He and Ho by each marker and it can be seen that both exceeded the 60%, with figures of 0.657 and 0.611, respectively, showing that the breed has a good diversity degree, because more than the 50 % of individuals are heterozygotes. These obtained diversity values are higher than the indicated averages for this breed by Garrine *et al.* (2010) which were 0.60 and 0.54 for He and Ho, respectively and for Pafuri breed, another Mozambican goat breed, the He reached 0.67 and the Ho 0.58.

In a study performed in the same laboratory where this study was carried out, and with the use of the same markers, three Nigerian goat breeds were researched, Murital *et al.* (2015) obtained He of 0.67 in Maradi breed, 0.70 in the West African Dwarf breed and 0.68 in Sahel breed, all of them exceeded the Landim goat but, in the case of Ho do not occur in that way since 0.61, 0.59 and 0.60, were obtained, respectively. In the case of Saanen breed there were higher values for He and Ho (0.66 and 0.64, respectively) and more closer in Kalahari breed (0.67 and 0.63).

In American breeds as the native from the apurina region in Peru, Gómez (2013) reported higher values of He (69 %) and Ho (66 %), respectively. Ginja *et al.* (2017) reported for the creole goat from Peru a value of He 0.64 similar to those founded in this study. In that environment is also the Colombian goat Santandereana for which Jiménez *et al.* (2014) reported 60 % of heterozygotes individuals. However, Chacón *et al.* (2018) founded 58 % of heterozygotes individuals in the Cuban creole goat, slightly lower to the percentage of heterozygotes of the Landim goat.

The evaluation of heterozygosities per marker showed that the He and the Ho had variation among minimum values of 0.315 and 0.113, respectively in the microsatellite ETH225 and maximum values of 0.854 and 0.844, respectively in the MM12, which show the correspondence of these values with the microsatellites that has the lower and higher number of alleles. This levels that the heterozygosities values in the Landim goat has similarity with the level 0.31 to 0.81 that Asian goats showed, according to Sulabda *et al.* (2012) and Hussain *et al.* (2013), but are lower to the levels of He (0.20 and 0.90) and Ho (0.18 and 0.93) that were obtained in the Mexican Black creole breed according to Silva *et al.* (2019) reported.

With the exception of the markers ETH225, MAF209 and SPS115 which has lower number of alleles, the resting has a good polymorphism, exceeding all, the 50% in both heterozygosities; which is evidence that this breed has an adequate genetic diversity.

Apurimeño que encontró 10, 18 y 13 para cada uno de ellos, respectivamente y valores más elevados (19, 35 y 20) reportaron Murital *et al.* (2015) en cabras de Nigeria.

*Heterocigosidades y Contenido de Información Polimórfica (PIC)*. En la tabla 2 se presentan los valores de las He y Ho obtenidas por cada marcador y se puede apreciar que ambas sobrepasan el 60%, con cifras de 0.657 y 0.611, respectivamente, lo que denota que la raza posee buen grado de diversidad, ya que cumple la condición de que más del 50% de los individuos resultan heterocigotos. Estos valores de diversidad obtenidos son superiores a los promedios indicados para esta misma raza por Garrine *et al.* (2010) que fueron de 0.60 y 0.54 para la He y Ho, respectivamente y para la raza Pafuri, otra raza caprina mozambicana, la He alcanzó 0.67 pero la Ho resultó ser 0.58.

En un trabajo realizado en el mismo laboratorio donde se realizó este estudio, y con el empleo del mismo panel de marcadores, donde se investigaron tres razas caprinas nigerianas, Murital *et al.* (2015) obtuvieron He de 0.67 en la raza Maradi, 0.70 en la raza West African Dwarf y 0.68 en la raza Sahel, por lo que todas superaron al caprino Landim pero, no ocurrió así en el caso de la Ho ya que se obtuvieron 0.61, 0.59 y 0.60, respectivamente. En el caso de la raza Saanen también encontraron valores superiores tanto para la He como la Ho (0.66 y 0.64, respectivamente) y más cercanos en la raza Kalahari (0.67 y 0.63).

En razas americanas como las autóctonas de la región apurina del Perú, Gómez (2013) reportó valores superiores de He (69 %) y Ho (66 %), respectivamente. Ginja *et al.* (2017) informaron para las cabras criollas del Perú un valor de He de 0.64 similar al encontrado en este trabajo. En ese entorno también se encuentra la cabra colombiana Santandereana para la cual Jiménez *et al.* (2014) informaron 60 % de individuos heterocigotos. Sin embargo, Chacón *et al.* (2018) encontraron el 58 % de individuos heterocigotos en la cabra criolla cubana, ligeramente inferior al por ciento de heterocigotos del caprino Landim.

La evaluación de las heterocigosidades por marcador arrojó que la He y la Ho experimentaron variación entre valores mínimos de 0.315 y 0.113, respectivamente en el microsatélite ETH225 y valores máximos de 0.854 y 0.844, respectivamente en el MM12, lo que evidencia la correspondencia de estos valores con los microsatélites que poseen el menor y el mayor número de alelos. Estos rangos que toman los valores de heterocigosidad en el caprino Landim tienen similitud con el rango 0.31 a 0.81 que muestran las cabras asiáticas, según Sulabda *et al.* (2012) y Hussain *et al.* (2013), pero son inferiores a los rangos de He (0.20 y 0.90) y de Ho (0.18 y 0.93) que se obtuvieron en la raza criolla Negra mexicana según reportaron Silva *et al.* (2019).

Con excepción de los marcadores ETH225, MAF209 y SPS115 que poseen menor cantidad de alelos, los restantes cuentan con un buen polimorfismo, sobrepasando todos, la cifra de 50 % en ambas heterocigosidades; lo que constituye otra evidencia de

From the 33 microsatellites analyzed, a total of 11 obtained Ho values higher to 70%, that is why they can be qualify as highly polymorphic for the breed, if it taken into account what Ott (1992) stated, that a marker has this category when exceeded the mentioned value. These markers are: BM1818, BM6526, BM8125, CRSM60, ILSTS019, OarFCB11, MM12, OarFCB20, SRCRSP05, INRA005 and INRA006. It coincide with Gómez (2013) in four microsatellites (BM1818, BM6526, CRSM60 and MM12) that reached more than 70 % of Ho in Apureña breed and with Chacón *et al.* (2017) in three (BM1818, MM12 and BM6526) in the Cuban creole breed.

Another indicator of interest showed in table 2 is the Polymorphic Information Content, which is used to determine the informative quality of the marker. It can be see that, from the 33 markers used in this study, a total of 25 were very informative, and only 8 (ETH225, ILSTS008, ILSTS011, MAF209, OarFCB304, SPS115, SRCRSP24 and TGLA053) did not reached such designation due they do not reached the PIC value higher to 50 %, as the international scientific community requires to identify the markers with higher informative quality. The markers CSSM66, HSC and MM12 by having the PIC above 80 % can be considered as exceptionally informative for Landim breed.

An aspect to highlight is that the values of PIC and heterozygosities have similarity, or direct relation, the increase of one of them causes the increase of the other one. Regarding that relation, Vaiman *et al.* (1994) explained that the proximity between the values of both indicators show the marker quality for diversity studies in determine breeds, and it can also said that is the result of performing the correct sampling in the studied population.

### Conclusions

All the microsatellites were polymorphic because the used battery is adequate to study the genetic diversity of Landim breed. It has the appropriate genetic diversity because more than the 60 % of the individuals are heterocigotes. Most of the markers were highly informative with PIC higher than 50 %, 11 of them reached the more than the 70 % of heterocigosity and PIC, and 3 exceeded 80 %, which make them exceptionally informatives for the breed. These finds should take into account to improve the national strategy of conservation and breed improvements, as well as for future molecular studies with the breed.

### Acknowledgments

Thanks to the Landim goat breeders that allow obtaining samples of their animals and contributing valuable information to perform the adequate sampling; to the management of Instituto de Investigaciones Agrarias from Mozambique which make easier the time

que esta raza presenta una diversidad genética adecuada.

De los 33 microsatélites analizados 11 obtuvieron valores de Ho superiores al 70 %, por lo que se pueden calificar como altamente polimórficos para la raza, si se tiene cuenta lo postulado por Ott (1992), que un marcador posee esta categoría cuando sobrepasa el valor antes mencionado. Estos marcadores son: BM1818, BM6526, BM8125, CRSM60, ILSTS019, OarFCB11, MM12, OarFCB20, SRCRSP05, INRA005 e INRA006. Se coincide con Gómez (2013) en cuatro microsatélites (BM1818, BM6526, CRSM60 y MM12) que alcanzaron más del 70 % de Ho en la raza Apureña; y con Chacón *et al.* (2017) en tres (BM1818, el MM12 y el BM6526) en la raza Criolla cubana.

Otro indicador de interés que aparece en la tabla 2 es el contenido de información polimórfica, que se utiliza para determinar la calidad informativa del marcador. Se aprecia que, de los 33 marcadores utilizados en este estudio, 25 resultaron muy informativos, y solo 8 (ETH225, ILSTS008, ILSTS011, MAF209, OarFCB304, SPS115, SRCRSP24 y TGLA053) no alcanzaron tal designación por no alcanzar el valor de PIC superior al 50 %, como exige la comunidad científica internacional para identificar los marcadores con mayor calidad informativa. Los marcadores CSSM66, HSC y MM12 por presentar el PIC por encima del 80 % se pueden considerar como excepcionalmente informativos para la raza Landim.

Un aspecto a señalar es que los valores de PIC y de las heterocigosidades tienen similitud, o sea tienen relación directa, de manera que el aumento de uno provoca el aumento del otro. Respecto a esa relación, Vaiman *et al.* (1994) plantearon que la proximidad entre los valores de ambos parámetros indica la calidad del marcador para estudios de diversidad en razas determinadas y se permite inferir también que es el resultado de realizar el muestreo correcto en la población objeto de estudio.

### Conclusiones

Todos los microsatélites resultaron polimórficos por lo que la batería utilizada es adecuada para estudiar la diversidad genética de la raza Landim. La misma posee adecuada diversidad genética por presentar más del 60 % de los individuos heterocigotos. La mayoría de los marcadores resultaron altamente informativos con PIC superior a 50 %, 11 de ellos alcanzaron más de 70 % de heterocigocidad y PIC, y 3 superaron el 80 %, que los convierten en excepcionalmente informativos para esta raza. Estos hallazgos se deben tener presente para perfeccionar la estrategia nacional de conservación y mejora de la raza, así como para futuros estudios moleculares con esta.

### Agradecimientos

Se agradece a los criadores del caprino Landim que permitieron obtener muestras de sus animales y aportaron información valiosa para realizar el muestreo adecuado; a la dirección del Instituto de Investigaciones Agrarias de Mozambique que facilitó el tiempo y el



and financing to carried out the study and to the staff from Laboratorio de Biología Molecular del Animal Breeding Consulting, S.L, de la Universidad de Córdoba, España for performing the laboratory analysis.

financiamiento para realizar el trabajo y al personal del Laboratorio de Biología Molecular del Animal Breeding Consulting, S.L, de la Universidad de Córdoba, España, por realizar los análisis de laboratorio.

#### Conflict of interest

There is not conflict of interest between the authors.

#### Conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses entre los autores

#### Author's contribution

A. Cavele: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

E. Pérez Pineda: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

N. Fonseca: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

J.L. Ramírez: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

D. Verdecia: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

María A. Martínez: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

J.V. Delgado: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

C.J. Barba: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

J. Grizelj: Conceptualization, investigation, formal analysis, writing – original draft.

#### Contribución de los autores

A. Cavele: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

E. Pérez Pineda: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

N. Fonseca: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original J.L. Ramírez: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

D. Verdecia: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

María A. Martínez: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

J.V. Delgado: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

C.J. Barba: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

J. Grizelj: Conceptualización, investigación, análisis formal, redacción – borrador original

### References

- Al-Atiyat, R.M., Alobre, M.M., Aljumaah, R.S. & Alshaiikh, MA. 2015. "Microsatellite based genetic diversity and population structure of three Saudi goat breeds". *Small Ruminant Research*, 130: 90-94, ISSN: 0921-4488. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.07.027>.
- Aranguren M.J., Portillo, R.M., Rincón, X., Amparo, M.M., Dickson, L.A. & D'aubetere, R. 2013. "Diversidad genética en la cabra criolla venezolana mediante análisis con microsatélites". *Revista Científica*, XXIII (3): 238-244, ISSN: 0798-2259.
- Arellano, H., Mascorro, G., Bribiesca, E., Hernández, G., De la Cruz, C. & López, S. 2020. "Morphostructural variability in the Pastoreña goat in different regions of the Mixteca of México". *Rev. FCA UNCUIYO*. 52(2): 360-375. ISSN 1853-8665.
- Bosman, L., Van Marle-Köster, E. & Visser, C. 2015. "Genetic diversity of South African dairy goats for genetic management and improvement". *Small Ruminant Research*, 123(2-3): 224-231, ISSN: 0921-4488. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.12.003>.
- Botstein, D., White, R.L., Skolmick, H. & Davis, R.W. 1980. "Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism". *American Journal of Human Genetics*, 32:314-331. ISSN: 1537-6605
- Bustamante, C. 2019. Determinación de la diversidad y estructura genética de la cabra criolla (*Capra hircus* Linnaeus) de los departamentos de Lima y Piura mediante el uso de microsatélites. Tesis para optar el título profesional de Biólogo con mención en Hidrobiología y Pesquería. Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Chacón, M.E., La O, A.M., Fonseca, F.N., Pérez Pineda, E., Velázquez, R.F., Coss, D.Y., Fonseca, J.Y., Delgado, J.V. & Martínez, M.A. 2017. Caracterización genética y conservación de la cabra criolla cubana. En: Biodiversidad Caprina Iberoamericana. Cuellar, C. Ed. Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia. Bogotá, Colombia, p. 75. ISBN 978-958-760-067-4.
- Chacón, M.E., Martínez, M.A., Pérez Pineda, E., Delgado, J.V., Fonseca, J.Y. & Yusel, C.D. 2018. Conservación de la cabra Criolla Cubana a partir de estudios de su diversidad genética. V Simposio Internacional de Producción Animal Guayaquil. 2018, Guayaquil, Ecuador.
- De Sousa, B.C., Martínez, M.A., Ginja, C., Santos-Silva, F., Carolino, M.I., Delgado, J.V. & Gama, L.T. 2011. "Genetic diversity and population structure in Portuguese goat breeds". *Livestock Science*, 135(2-3): 131–139, ISSN: 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.159>.
- Du, X., Cao, J., Han, X., Hao, H., Yu, M. & Zhang, G. 2017. "Genetic diversity and population structure among eight Chinese indigenous goat breeds in the Yellow River valley". *Small Ruminant Research*, 148: 87-92, ISSN: 0921-4488. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.12.034>.
- FAO. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9, 85 pp. ISBN: 978-92-5-107032-1. Rome, Italy.
- FAO. 2015. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Italy.

- Garrine, C., Kotze, A., Els, H. & Grobler, J. 2010. "Genetic characterization of the indigenous Landim and Pafuri goat breeds from Mozambique". African Journal of Agricultural Research, 5(22): 3130-3137, ISSN: 1991-637X. <https://doi.org/10.5897/AJAR>.
- Ginja, C., Gama, L.T., Martínez, M.A., Sevane, N., Martínez-Burrel, I., Lanari, M.R., Revidati, M.A. Arangueren-Méndez, J.A., Bedoti, D.O., Ribeiro, M.N. & Sponenberg, P. 2017. "Genetic diversity and patterns of population structure in Creole goats from the Americas". Animal Genetics, 48(3): 315-329, ISSN: 1365-2052. <https://doi.org/10.1111/age.12529>.
- Gómez, N.C. 2013. Caracterización morfológica y faneróptica del caprino apurimeño peruano. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Barcelona. España.
- Hussaint, T., Babar, M., Sadia, H., Shaheen, M., Nadeem, A. Ali, A. & Shah, S. 2013. "Microsatellite markers based genetic diversity analysis in Damani and Nachi goat breeds of Pakistan". Pakistan Veterinarian Journal, 33(4): 520-522, ISSN: 2074-7764.
- Jiménez, A.P., Bedoya, J., Serrano, C., Arcila, V., Pérez, V., Serrano, L.K., Ascanio, C.A., Sánchez, L.A. & Malpica, M.E. 2014. "Diversidad genética de la cabra santanderena mediante marcadores microsatélites". Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, 4: 105-107, ISSN: 2253-9727.
- Martínez, A.M. 2001. Caracterización genética del cerdo Ibérico mediante marcadores moleculares. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba. Córdoba. España.
- Murital, I., Afolayan, O., Bemji, M.N., Dadi, O., Landi, V., Martínez, M.A., Delgado, J.V., Adebambo, O.A., Aina, A.B.J. & Adebambo, A.O. 2015. "Genetic diversity and population structure of Nigerian indigenous goat using DNA microsatellite markers". Archivos de Zootecnia, 64 (246): 93-98. ISSN: 0004-0592.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided population. Proceedings of the National Academy of Science. USA. 70: 3321-3323.
- Nhacumbe, A., Cavele, A., Cala, A., Uzêda, R., Souza, B., Gondim, L., Andrade, M., Almeida, M., de Matos, C. & Maricoa, N. 2017. "Serological survey of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in cattle and goats from smallholder farms in Angónia, Tete Province, Mozambique". African Journal of Rural Development, 2(2): 303-311, ISSN: 2814-0346. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.263576>.
- Ott, J. 1992. "Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping". American Journal of Human Genetics, 51(2): 283-290, ISSN: 0002-9297.
- Raghavendra, C. 2016. Genetic characterization of Mahabubnagar goats based on microsatellite markers. Master Thesis. Narasimha Rao Telangana State University, India.
- Raymond, M & Rousset, F. 1996. "An exact test for population differentiation". Evolution, 49:1280-1283. ISSN:1558-5646.
- Silva, J.C., Andrade, M.H., Vera, A.H., Marina, D.A. Román, S.I., Landi, V. Martínez, M.A., Delgado, J.V. & Consorcio BioGoat. 2019. "Diversidad y estructura genética de una población de cabras criollas negras de tres municipios del estado de Querétaro, México". Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 10(4): 801-818, ISSN: 2007-1124. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i4.4908>.
- Skapetas, B. & Bampidis, V. 2016. "Goat production in the world: present situation and trends". Livestock Research for Rural Development, 28: 200, ISSN: 2521-9952.
- Sulabda, N., Susari, N., Heryani, N. & Puja, I. 2012. "Genetic diversity of Gembrong goat based on DNA microsatellite markers". Indonesian Journal of Animal and Veterinary Science, 17: 25-35, ISSN: 2722-421X.
- Vaiman, D., Schibler, L., Bourgeois, F., Oustry, A., Amigues, Y. & Cribiu, E.P. 1994. "A genetic linkage map of the male goat genome. Genetics, 144(1): 279-305. PMC1207502.
- Vahidi, S.M.F., Tarang, A.R., Naqvi, A.N., Falahati Anbaran, M., Boettcher, P. & Joost, S. 2014. "Investigation of the genetic diversity of domestic *Capra hircus* breeds reared within an early goat domestication area in Iran". Genetics Selection Evolution, 46: 1-12, ISSN: 1297-9686.
- Villarreal-Arellano, H.R., Fuentes-Mascorro, G., Ramírez-Bribiesca, J.E., Torres-Hernández, G., Ricardi-De-la-Cruz, C. & Vargas-López, S. 2020. "Morphostructural variability in the Pastoreña goat in different regions of the Mixteca of México". Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO, 52(2): 360-375, ISSN: 1853-8665.

**Recibido: June 16, 2022**

**Aceptado: September 15, 2022**