

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## **CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA RAÇA PELOCO (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*) POR MEIO DE MARCADORES DO TIPO ISSR**

Nathanna Emanuely Martins FIGUEIREDO<sup>1</sup>, Eva Clícia de Jesus ALMEIDA<sup>2</sup>,  
Claudine Gonçalves de OLIVEIRA<sup>3</sup>, Kelly Thainara Gacema FERNANDES<sup>2\*</sup>,  
Ronaldo Vasconcelos FARIAS FILHO<sup>2</sup>, Paulo Roberto Antunes de Mello  
AFFONSO<sup>4</sup>, Paulo Luiz Souza CARNEIRO<sup>4</sup>

\*autor para correspondência: kellygfernandes@gmail.com

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal do Vale do São Francisco, Senhor do Bonfim, Bahia, Brasil

<sup>4</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, Bahia, Brasil

**Abstract:** The Peloco is a Brazilian native breed of chicken whose main trait is the pattern of late warping. They are endowed with high phenotypic variability and rusticity, since they are created loose without proper management and exposed to elevated temperatures in the Northeast region of Brazil. Despite its peculiarities, the Peloco breed is endangered, mainly due to its low productivity compared to commercial strains. This work describes the genetic characterization of Peloco race using 11 ISSR primers. ISSR made a total of 136 loci, averaging 12.36 loci per primer and average expected heterozygosity was 0.237. The birds Peloco still keeping the original genetic diversity of the breed, however, are under threat of extinction, since the remaining populations have few individuals.

**Palavras-chave:** diversidade genética, galinha caipira, recurso genético

### **Introdução**

Os marcadores do tipo ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) são fragmentos de DNA de 100 a 3000 pb amplificados a partir de sequências de dinucleotídeos e trinucleotídeos repetidas. São dotados de alta reprodutibilidade e baixo custo, sendo

## CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

utilizados em estudos populacionais nas mais diversas espécies (Zietkiewicz et al., 1994; Dogan et al., 2007).

A raça Peloco é caracterizada pela ausência de penas depois da perda da penugem característica dos pintainhos e durante 30 a 70 dias as aves crescem sem desenvolver penas. São comumente criadas em sistema extensivo, o que indica uma adaptação a condições de criação com exposição a parasitas e a temperaturas bastante elevadas da região (Almeida, et al., 2013). As aves Peloco são dotadas de alta variabilidade fenotípica, o que sugere a existência de elevada diversidade genética, porém, apesar de suas peculiaridades, se encontra ameaçada de extinção, devido, principalmente, à sua baixa produtividade quando comparada a linhagens comerciais (Almeida et al., 2013). Desse modo, destaca-se a importância da realização de estudos sobre a diversidade funcional desses animais, sobretudo, com relação a regiões relacionadas à resistência a doenças e adaptação a condições adversas de clima, a fim de que sejam devidamente exploradas para a produção animal.

### Material e Métodos

As aves foram obtidas a partir de quatro populações. Uma população mantida no Laboratório Experimental de Avicultura da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Itapetinga (ITA), na Vila de Banco Central em Ilhéus (ILE), na Região do Curisco em Uruçuca (URU) e na Região do Quilombo em Itacaré (ITC). A extração de DNA foi realizada a partir de amostras de sangue oriundas de 108 aves da raça Peloco (31 pertencentes à população ITA, 31 da população ILE, 33 da população ITC e 13 da população URU) de acordo com o método fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (Sambrook et al., 1989). A reação de PCR-ISSR foi realizada utilizando-se 11 *primers* para amplificação do DNA genômico (UBC 811, 823, 835, 841, 843, 844, 859, 860, 864, 879 e 884). As reações foram realizadas no termociclador *2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems)* e cada

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

reação consistiu em um volume final de 25,0  $\mu$ L, contendo: 2,5  $\mu$ L de tampão 10X, 2,0  $\mu$ L de dNTP (2,5  $\mu$ M), 2,0  $\mu$ L de  $MgCl_2$ , 1,0  $\mu$ L de *primer* (20 $\mu$ mol), 15,0  $\mu$ L de água, 2,0  $\mu$ L de DNA (10 ng) e 0,5U de *taq* DNA polimerase *Biotools* (1 U/  $\mu$ L).

As frequências alélicas, a heterozigidade esperada ( $H_E$ ), a porcentagem de *loci* polimórficos, bem como a análise de variância molecular (AMOVA) foram obtidas por meio do *software GenAlEx*. Para obtenção das estatísticas F e agrupamento via UPGMA (*Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Average*) foi utilizado o *software TFGA* (Miller, 1997). A análise Bayesiana foi realizada por meio do *software Structure v. 2.3.3*.

### Resultados e Discussão

Dos 136 *loci* ISSR 65,99% foram polimórficos, valor superior ao que foi obtido por Eissa et al. (2014), que verificaram polimorfismo médio de 46,55% dos *loci* obtidos por meio 6 *primers* da série HB em estudo com codornas japonesas. Clementino et al. (2008), observaram 27 *loci* polimórficos de um total de 64 *loci* obtidos a partir de 10 *primers* ISSR, o que corresponde a 41,54%. O polimorfismo dentro de cada população variou de 56,62% para a população ITA a 76,47% para a população ILE (Tabela 1).

**Tabela 1-** Diversidade genética em populações da raça Peloco por meio de 11 *primers* ISSR

População	N	P(%)	$H_E$
ITA	31	56,618	0,203
ILE	31	76,471	0,269
ITC	33	68,382	0,229
URU	13	62,500	0,247
Média	108	65,992	0,237

N= tamanho da amostra; P (%) = percentual de polimorfismo;  $H_E$ = heterozigidade esperada corrigida de Nei (1978); ITA= População do Laboratório Experimental de Avicultura-UESB, Itapetinga; ILE= População da Vila de Banco Central, Ilhéus; ITC= População do Quilombo, Itacaré; URU= População do Curisco, Uruçuca.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Os valores de heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) corrigida de Nei variaram de 0,203 (na população ITA) a 0,269 (na população ILE), com média de 0,237. Essa baixa diversidade genética pode ser explicada pela natureza dominante dos marcadores do tipo ISSR e também pelo fato da raça Peloco encontrar-se em pequenos núcleos, o que pode levar a perda de diversidade genética. A população ITA, que apresentou o menor valor de  $H_E$ , é proveniente do núcleo de aves da raça Peloco mantido no Laboratório Experimental de Avicultura da UESB- Campus Itapetinga. O núcleo foi formado há aproximadamente 8 anos a partir de poucas aves, o que caracteriza efeito fundador e contribuiu para o aumento do número de indivíduos aparentados e, conseqüentemente, de homozigotos.

O nível de divergência molecular, feito por meio da AMOVA, revelou uma maior variação genética dentro das populações (78% da variação total), do que entre as populações (22%). Os valores foram significativos ( $p < 0,05$ ) para ambas as fontes de variação. O índice de estruturação genética ( $F_{ST}$ ) foi de 0,288 e significativo ( $p < 0,05$ ), indicando a existência de estruturação moderada entre as populações. A distância genética de Nei, variou de 0,073 a 0,239, com menor distância entre as populações de ITC e URU e maior distância entre as populações ILE e URU.

Esses resultados indicam que as frequências alélicas dessas populações tem sofrido influência de outros fatores que não a distância geográfica, visto que as populações ILE e URU são geograficamente mais próximas do que as demais, porém, geneticamente mais divergentes. O dendrograma e a inferência bayesiana revelaram a formação de 2 grupos: um grupo composto pelas populações de ITA e ILE e um segundo formado pelas populações de URU e ITC.

Embora marcadores dominantes como os do tipo ISSR sejam considerados menos informativos, o nosso estudo demonstrou sua eficiência na caracterização genética das aves da raça Peloco, com resultados condizentes aos obtidos por



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

outras técnicas. É importante ressaltar que os custos que envolvem a realização da técnica de ISSR são baixos quando comparados a outros métodos.

Além disso, esses marcadores podem ser utilizados em estudos preliminares de caracterização genética, em que a grande limitação é a falta de conhecimento prévio do genoma da espécie a ser estudada.

### Conclusão

As aves Peloco ainda conservam parte da diversidade genética original da raça, porém, encontram-se sob ameaça de extinção, uma vez que as populações ainda existentes possuem poucos indivíduos. Os resultados desse trabalho podem auxiliar na implantação de futuros programas de melhoramento genético da raça Peloco, visando melhorar a produção e promover a conservação desse importante recurso genético.

### Referências

- Almeida, E. C. J.; Carneiro, P. L. S., Wenceslau, A. A.; Farias Filho, R. V. e Malhado, C. H. M. 2013. Características de carcaça de galinha naturalizada Peloco comparada a linhagens de frango caipira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48:1517-1523.
- Clementino, C. S.; Martins, D. M.; Araújo Neto, P. R.; Britto, F. B.; Barbosa, F. J. V.; Lima, P. S. C. e Diniz, F. M. 2008. Variabilidade Fenotípica e Genotípica em Galinhas Caipiras (*Gallus gallus domesticus*): Resultados Preliminares. Circular Técnica No.46. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Embrapa, Teresina, Brasil.
- Dogan, B.; Duran, A. and Hakki, E. E. 2007. Phylogenetic analysis of *Jurinea* (Asteraceae) species from Turkey based on ISSR amplification. *Annales Botanici Fennici* 44:353-358.
- Eissa, E. A.; Farahat, G. S.; Mahmoud, B. Y. and El-Full, E. A. 2014. Productive traits and molecular genetics characterization (rapd and issr) of selected long shank length and control lines in the 6th generation of japanese quail. *Egyptian Journal of Genetics And Cytology* 43:301-325.
- Zietkiewicz, E.; Rafalski, A. and Labuda, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20:176-183.