

## Diversidade Genômica Na Raça de Galinha Canela Preta

Márcio Monteiro Nascimento<sup>1</sup>, Paulo Luiz Souza Carneiro<sup>2</sup>

**RESUMO:** Canela-Preta são galinhas caipiras naturalizadas durante a época da colonização do Brasil, encontradas no estado do Piauí, e possivelmente em outras regiões do Nordeste. São criadas em condições de clima quente, nos sistemas tradicionais, além de serem resistentes às doenças e parasitas. Isso, ressalta a importância da caracterização genética, fenotípica e produtiva desse grupo de aves. Dessa forma, objetivou-se identificar e caracterizar a diversidade genética na raça de galinhas nativas Canela Preta, com base em dados genômicos, como estratégia para a conservação e utilização desse recurso genético. Os genótipos dos animais foram processados inicialmente no *software* GenomeStudio - Illumina e o restante das análises foram realizadas no PLINK v. 1.9. Avaliou-se a diversidade genética dentro da população via heterozigotidades observada ( $H_O$ ) e esperada ( $H_E$ ); quatro coeficientes de endogamia; distâncias genéticas ( $D$ ); desequilíbrio de ligação e tamanho efetivo populacional. O grupo genético Canela Preta apresentou valores de heterozigotidade observada ( $H_O$ ) ligeiramente maior (0,39) que a heterozigotidade esperada (0,38). Os coeficientes de endogamia foram pequenos, apesar do baixo  $N_e$ . Os valores de desequilíbrio de ligação ( $DL$ ) foram mais elevados nas menores janelas, diminuindo com o aumento das janelas. O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) diminuiu ao longo das gerações, tendo na população mais recente apenas 34 aves Canela Preta. Esses resultados ajudarão no desenvolvimento de programas de conservação, visando manter a diversidade genética dessa raça nativa, bem como seu uso sustentável.

**Palavras-chave:** Conservação, *Gallus Gallus*, recurso genético, SNP

### Genomic Diversity in the Canela Preta Chicken Breed

**ABSTRACT:** Canela Preta are free-range chickens naturalized during the time of colonization in Brazil, in the state of Piauí and possibly in other regions of the Northeast. They are raised in warm climates, in traditional systems, and are resistant to diseases and parasites. This highlights the importance of genetic, phenotypic and productive characterization of this group of birds. Thus, the objective was to identify and characterize the genetic diversity in the Canela Preta native chicken breed, based on genomic data, as a strategy for the conservation and use of this genetic resource. The genotypes of the animals were initially processed in the GenomeStudio - Illumina software and the rest of the analyzes were performed in PLINK v. 1.9. Genetic diversity within the population was evaluated via observed ( $H_O$ ) and expected ( $H_E$ ) heterozygosity; four inbreeding coefficients; genetic distances ( $D$ ); linkage disequilibrium and effective population size. The Canela Preta genetic group presented values of observed heterozygosity ( $H_O$ ) slightly higher (0.39) than the expected heterozygosity (0.38). Inbreeding coefficients were small, despite the low  $N_e$ . Linkage disequilibrium ( $LD$ ) values were higher in the smallest windows, decreasing with increasing windows. The effective population size ( $N_e$ ) has decreased over the generations, with only 34 Canela Preta birds in the most recent population. These results will help in the development of conservation programs, aiming to maintain the genetic diversity of this native breed, as well as its sustainable use.

**Keywords:** Conservation *Gallus Gallus*, genetic resources, SNP

---

<sup>1</sup> Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). E-mail: monteiromarcio63@gmail.com;

<sup>2</sup> Professor Dr. pelo Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Jequié, Bahia. BA. E-mail: plscarneiro@gmail.com.

## INTRODUÇÃO

Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura, 2019), às galinhas apresentam o maior número de raças em risco de extinção, sendo no ano de 2018, de um total de 1.641 raças já conhecidas em todo o mundo, 40,04% se encaixam em algum risco de extinção, 59,96% em nenhum perigo, e 9,38% se encontram fora de risco. O desaparecimento desses recursos genéticos, é devido a erosão genética, ou seja, a diluição ou redução do germoplasma, principalmente, pelo cruzamento genético indiscriminado, bem como, pela rápida substituição das aves nativas e locais, por linhagens comerciais que possuem um alto desempenho (CASTILLO *et al.*, 2021). As aves nativas e locais são consideradas um importante recurso genético (ALMEIDA, 2016), pois apresentam boa termorregulação, contribuindo para que as mesmas, sejam mais adaptadas a ambientes com altas temperaturas, bem como rusticidade, fazendo com que possam sobreviver e se reproduzir constantemente (CEDRAZ *et al.*, 2017). Isso é devido ao seu pool genético, permitindo sobreviver em determinadas regiões, contribuindo significativamente para a manutenção da diversidade genética (MARIANTE e CAVALCANTE, 2000). Além das características adaptativas, essas aves constituem uma das principais fonte de alimento e renda para as famílias rurais. No Nordeste brasileiro, o grupo genético Canela Preta foi identificado no município de Curral Novo, localizado no estado do Piauí, e em municípios circunvizinhos. São criadas em comunidades rurais, indígenas e quilombolas e possivelmente em outros estados. Essas aves são dóceis, possuem características marcantes como a plumagem e coloração da canela predominantemente preta (CARVALHO *et al.*, 2020). São mantidas em pequenos núcleos de criação, uma vez que tem sido gradualmente substituída por animais melhorados, contribuindo para uma redução do seu germoplasma (CARVALHO *et al.*, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2019).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados dados de 22 galinhas da raça Canela preta, sendo 13 machos e 09 fêmeas. As aves foram obtidas do núcleo de criação do estado do Piauí, criadas em sistema semi-intensivo, e mantidas em unidades experimentais. Após 150 dias, as aves foram abatidas pelo método de deslocamento cervical, sendo coletado o sangue, por meio da veia ulnar, em tubos contendo o EDTA. A genotipagem foi realizada por meio do *Infinium iSelect Custom BeadChip Kit 7* (Illumina) que inclui ~50K SNP (53.313 marcadores). Os genótipos foram processados inicialmente no *software* GenomeStudio - Illumina, e as análises seguintes foram realizadas no *software* PLINK v. 1.9 (PURCELL *et al.* 2007). No controle de qualidade (CQ) apenas os SNPs situados nos cromossomos autossômicos, foram mantidos para as análises. Por meio do *software* PLINK avaliou-se a diversidade genética dentro da população via heterozigotidades observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), proporção de *loci* polimórficos (PP), distribuição das frequências alélicas e frequência do alelo menos frequente MAF). Além disso, quatro coeficientes de endogamia, sendo o primeiro fundamentado na diferença estabelecida entre o número de genótipos homozigotos observado e esperado ( $F_{HOMO}$ ), o segundo na relação padronizada de variância aditiva -1 ( $F_{hat1}$ ), o terceiro no excesso de homozigotidade ( $F_{hat2}$ ) e o quarto na correlação da união de gametas ( $F_{hat3}$ ). As distâncias genéticas (D), foram calculadas com base na proporção de *loci* IBS (*Identical by state*) compartilhados entre indivíduos da raça Canela Preta. O desequilíbrio de ligação (DL) foi estimado utilizando a medida  $r^2$  (HILL & ROBERTSON 1968). Os SNPs após o controle de qualidade, e não levando em conta o *pruning*, foram utilizados para calcular, tanto o desequilíbrio de ligação (DL) médio entre os pares de SNPs juntos, quanto os pares de marcadores. Para o cálculo do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), usou a fórmula abaixo sugerida por Corbin *et al.* (2012) a partir do desequilíbrio de ligação ajustado para o tamanho amostral utilizando o estimador sugerido por Sved (1971). Por fim, foi utilizado *software* R para a plotagem dos gráficos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizados 22 indivíduos da raça Canela Preta (CP), sendo genotipadas para ~50K SNP (53.313 marcadores). Após o controle de qualidade (CQ) e *pruning* do

DL, 39.538 marcadores foram mantidos para as demais análises. A proporção de loci polimórficos (PP), foi de 92,18%. O valor médio da heterozigosidade observada ( $H_o$ ) foi de 0,39, e a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) 0,38. Isso, pode estar relacionado, ao fato dessas aves serem criadas em núcleos de conservação, na qual, a variabilidade genética original deve ser mantida. A frequência do alelo menos frequente (MAF) dos SNPS polimórficos, apresentou uma média de 0,26. As aves nativas possuem baixo tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), e isso, às torna mais vulneráveis à deriva genética, ou seja, a oscilações aleatórias das frequências alélicas em determinados loci. Em relação aos coeficientes de endogamia baseado na diferença entre o número observado e esperado de genótipos homozigotos ( $F_{HOM}$ ), apresentou valor médio negativo (- 0,031). Da mesma forma, os coeficientes de endogamia  $F_{hat 1}$ ,  $F_{hat 2}$  e  $F_{hat 3}$ , apresentaram médias negativas de -0,030 indicando pouco acasalamento entre aves aparentadas. Isso evidencia que, apesar do pequeno  $N_e$  da raça, tem-se adotado manejo adequado de controle de acasalamento de aves aparentadas. A distância genética foi de 0,30 indicando que essas aves apresentam baixa proporção de *loci* IBS. O desequilíbrio de ligação médio entre marcadores adjacentes, apresentou um valor médio de 0,22. A distância entre marcadores adjacentes, valor de 22,26. Já o desequilíbrio de ligação médio entre os pares de marcadores, foi de 0,07 e a distância entre os pares de marcadores 44.876,12. Observou-se que maiores valores de desequilíbrio de ligação (DL) ocorrem nas menores janelas (Figura 1), sendo que os microssomos apresentaram os menores valores médios de DL, seguido pelos cromossomos intermediários, macrocromossomos e cromossomos autossômicos 1-28. O declínio do DL observados entre as classes de cromossomos a medida que se aumenta a distâncias físicas entre os marcadores é comum e pode ser utilizado para explicar o histórico de perda do  $N_e$  (Figura 2) ao longo das gerações e evidenciar o eventos de perda de diversidade, como a domesticação das galinhas, a formação das raças, a alta pressão de seleção das galinhas comerciais e baixos tamanhos dos núcleos de conservação das aves locais. Observou-se a diminuição do tamanho efetivo ao longo das gerações (Figura 2). O  $N_e$  estimado para a população ancestral (500 gerações atrás) foi de 1073 indivíduos, há 100 gerações 324, em 50 gerações passadas 191, na 10ª geração 56, e por fim, para população recente (5 gerações atrás) 34. A drástica redução do  $N_e$ , é decorrente a substituição das aves locais, por linhagens comerciais, na metade do século XX. Além disso, esse declínio também evidencia o histórico da perda de diversidade genética no decorrer das gerações, devido a domesticação das galinhas, formação de raças, bem como o intenso processo de seleção desse grupo, com o intuito de ter melhores índices produtivos.

## CONCLUSÕES

Os resultados apresentados demonstram que existe variabilidade, que pode ser explorada via seleção, através de programas de melhoramento participativo, e baixa endogamia, apesar dos baixos valores do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) ao longo das gerações. Em geral, esse estudo ajudará no desenvolvimento de programas de conservação, visando manter a diversidade genética dessa raça nativa, bem como seu uso sustentável.

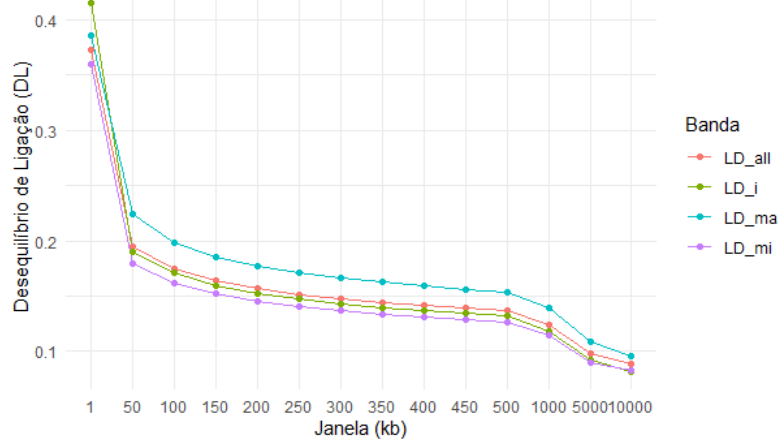
## REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, E. C. J. *et al.* Características físicas de ovos de galinhas nativas comparadas a linhagem de postura. **Archivos de zootecnia**, v. 68, n. 261, p. 82-87, 2019.
2. CARVALHO, D. A. *et al.* Diversity and Genetic Relationship of Free-Range Chickens from the Northeast Region of Brazil. **Animals**, v.10, p.1857, 2020.
3. CARVALHO, D. A. *et al.* Padrão racial fenotípico de galinhas brasileiras da raça Canela-Preta. **Archivos de zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 195-202, 2017.
4. CASTILLO, A. *et al.* Overview of native chicken breeds in italy: Conservation status and rearing systems in use. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 490, 2021.
5. CEDRAZ, Haniel. *et al.* Heat stress induces expression of HSP genes in genetically divergent chickens. **PLoS One**, v. 12, n. 10, p. e0186083, 2017.

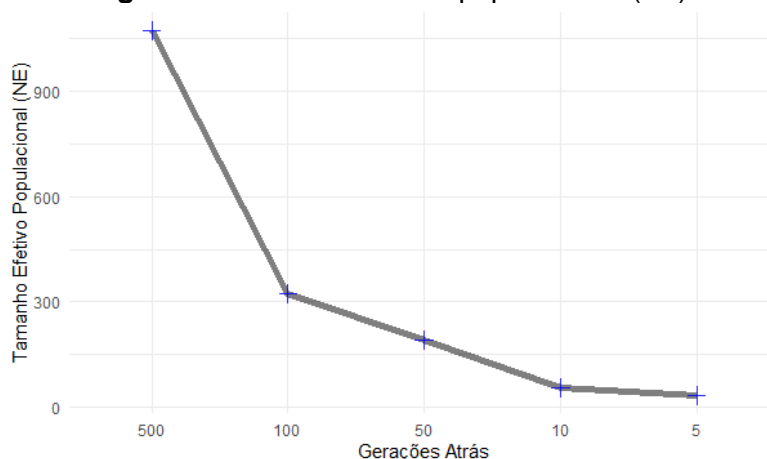
6. CORBIN, L. J. *et al.* Estimation of historical effective population size using linkage disequilibrium with marker data. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.129, n.4, 257-270, 2012.
7. FAO. Status and trends of Animal Genetic Resources. **Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture**. 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/my867en/my867en.pdf>>. Acesso em: 18 de Julho de 2022.
8. MARIANTE, A, S.; CAVALCANTE, N. 2006. **Animais do descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa-Assessoria de Comunicação Social: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 228 p.
9. HILL, W. G.; ROBERTSON, A. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v.38, n.6, 226-231, 1968.
10. PURCELL, S. *et al.* PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. **The American Journal of Human Genetics**, v.81, p.559-575, 2007.
11. SVED, J. A. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. **Theoretical Population Biology**, v.2, p. 125-141, 1971.

### Tabelas e Figuras

**FIGURA 1** - Decaimento do desequilíbrio de ligação (DL) nos cromossomos.



**Figura 2** - Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ).



### Agradecimentos

