

Diversidade Genética via marcadores SNP em galinhas Caneludo do Catolé

Alice Almeida Pereira Nunes¹, Paulo Luiz Souza Carneiro².

Resumo: Galinhas naturalizadas brasileiras apresentam adaptações ao ambiente, constituindo importantes recursos genéticos animais. A Caneludo do Catolé é formada por indivíduos robustos, pernaltos e com penas pretas e cinza-azulado com rusticidade, boa produtividade, alta resistência a doenças e condições edafoclimáticas, além da tenacidade em relação à alimentação. Para que as características e alelos não sejam perdidos, é necessária a conservação do recurso, que acontece através da caracterização racial, genética e produtiva, além da implantação e manutenção de núcleos de conservação. Este trabalho busca, via marcadores SNPs, identificar e caracterizar a diversidade genética na raça de galinha Caneludo do Catolé com base em avaliação genômica, como estratégia para a conservação e utilização desses recursos genéticos. Os resultados indicam que o baixo número de indivíduos e tamanho efetivo populacional implica na redução de frequências alélicas. A taxa de homozigotidade e os coeficientes de endogamia apontam para sucesso das estratégias utilizadas pelos núcleos de conservação. Além disso, a heterozigotidade observada e esperada mostram diversidade genética na população, tornando-a importante para a conservação de recursos genéticos e para a segurança alimentar.

Palavras-chave: Núcleos de Conservação; PLINK; Software; Variabilidade genética.

Genetic diversity via SNP markers in Caneludo do Catolé chickens

Abstract: Naturalized chickens proposed adaptation to the environment. Caneludo do Catolé is due to its high resistance to diseases and robust conditions, high productivity and food for rustic people. For traits and genes not to be conserved, conservation is necessary, which happens through the characterization and racial traits of production and maintenance of conservation nuclei. This genetic work, through SNP markers, identifies and characterizes the diversity in the search for the Caneludo do Catolé chicken breed based on genetic evaluation, as a strategy for the conservation and use of these genetic resources. The results indicate the low number of resources and size of the population effect in the reduction of allele frequencies. The homozygosity rate and the inbreeding coefficients indicated for the success of the strategies used by the conservation centers. Furthermore, the observed biological diversity, and for the preservation of food diversity in the genetic population, is important for the preservation of genetic resources and for food diversity.

Keywords: Conservation Nuclei; PLINK; Software; Genetic variability.

Introdução

As galinhas naturalizadas brasileiras são reservatórios de alelos de interesse relacionados a características como rusticidade, boa produtividade, alta resistência a doenças e condições edafoclimáticas e tenacidade em relação à alimentação (UGBO, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2013; POSSAMAI *et al.*, 2015; ALMEIDA, 2016, FIGUEIREDO, 2021). A raça Caneludo do Catolé é formada por aves robustas, pernaltas e com penas em tons de preto e cinza-azulado, constituindo importante recurso genético do nordeste brasileiro.

Ações são requeridas para evitar que raças sejam prejudicadas ou extintas, acarretando em perda de alelos ou combinações alélicas únicas, pois é ideal manter a variabilidade genética dentro das espécies para estarem preparadas para exigências dos sistemas de criação e do ambiente (ALBUQUERQUE *et al.*, 2002; FONTEQUE, 2014). Tal fator implica na necessidade de conservação dos recursos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2002) e as etapas desse processo são a caracterização racial, genética e produtiva (ALMEIDA, 2016), além da identificação e caracterização e implantação de núcleos de conservação, monitoramento, conservação *ex situ* de sêmen e embriões e caracterização genética de populações (ALBUQUERQUE *et al.*

¹ Licencianda em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). E-mail: aliciapnunes@hotmail.com;

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

2002). SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) são ótimas ferramentas para estudos de associações com patologias e desempenho, bem como para estudos de diversidade dentro e entre grupos genéticos. Dessa forma, objetivou-se identificar e caracterizar a diversidade genética na raça de galinha Caneludo do Catolé, via marcadores SNPs, com base em dados genômicos, como estratégia para a conservação e utilização desses recursos genéticos.

Materiais e Métodos

Foram utilizados dados de 46 galinhas da raça Caneludo do Catolé. As aves foram oriundas do Núcleo de Aves Naturalizadas do Setor de Avicultura da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Bahia, Brasil. Os genótipos foram inicialmente processados via software GenomeStudio pela empresa Illumina.

Para garantir o controle de qualidade (CQ), os SNPs analisados estavam situados apenas em cromossomos autossômicos, foi levada em consideração a sua posição de acordo com a versão mais recente do genoma da galinha e utilizados apenas aqueles que foram genotipados em mais de 90% da população. Foram excluídos SNPs com alelo de menor frequência (MAF) menor que 0,05, call rate para SNPs menores que 0,95 e ainda aqueles com desvio extremo de Equilíbrio de Hardy-Weinberg com $p < 10^{-6}$. Foi realizado o pruning de acordo com o desequilíbrio de ligação (LD) com o limite de 0,90 em janelas de 15kb.

Com o software PLINK, foram avaliados quatro coeficientes de endogamia. O primeiro coeficiente foi fundamentado na diferença entre o número observado e esperado de genótipos homozigotos (FHOM), a relação padronizada da variância aditiva -1 (Fhat1); o excesso de homozigosidade (Fhat2); e a correlação da união de gametas (Fhat3). As distâncias genéticas, por sua vez, foram calculadas com base na proporção de loci IBS (Identical by state) compartilhados entre indivíduos da raça, a partir do software PLINK. O mesmo software foi utilizado para calcular as estimativas de heterozigosidade observada (HO) e esperada (HE), proporção de loci polimórficos (PP), distribuição das frequências alélicas e menor frequência alélica (MAF).

Após o CQ e desconsiderando o pruning, todos os SNPs foram utilizados para calcular o LD médio entre pares de SNPs adjacentes e todos os pares de marcadores. Por fim, o N_e , ou tamanho efetivo populacional, e sua variação ao longo do tempo pôde ser estimada a partir da taxa de declínio no LD. Para melhor observação dos dados, o software R foi utilizado para a confecção dos gráficos.

Resultados e discussão

Nenhuma das aves foi eliminada das análises pós-critérios de CQ e nenhum marcador foi removido ao analisar o equilíbrio de Hardy-Weinberg, 2.974 marcadores foram excluídos após o pruning de LD e 6.746 marcadores foram excluídos devido à baixa MAF ($< 0,05$). As aves apresentaram maior número de SNPs no intervalo de MAF 0,31-0,35, e os menores nos intervalos 0,01-0,05, 0,06-0,10 e 0,11-0,15. A média de MAF para SNPs polimórficos foi de 0,27 e o total de marcadores analisados foi de 40.841.

Populações com número reduzido de indivíduos e baixo N_e são mais propensas à deriva genética, caso da Caneludo do Catolé, em que observou-se redução da frequência de alelos em determinados loci. O núcleo de conservação da raça totalizava apenas 50 indivíduos (FIGUEIREDO, 2021), portanto, uma pequena base genética. O pequeno número de reprodutores, e, ainda a sobreposição de gerações, facilitam o aumento nos níveis de endogamia (KHANYILE et al. 2015). Entretanto, FHOM foi estimado em -0,036 o que sugere que o número de homozigotos é menor que o esperado em EHW. Além disso, os outros três coeficientes endogâmicos calculados foram todos estimados em -0,037. Os baixos valores indicam que o impacto do baixo N_e está sendo amenizado pelas estratégias de controle de acasalamentos de indivíduos aparentados adotadas pelo núcleo.

A heterozigosidade esperada (HE) é 0,38 e a heterozigosidade observada (HO) 0,39, a proximidade indica pouca perda ou fixação de alelos (MOURA, 2015). O valor de HO superior ao de HE indica muitos indivíduos heterozigotos a mais que o esperado em EHW (RIZTYAN et al., 2011), apontando que mantiveram parte da diversidade genética original. Mesmo com pequeno núcleo, as estratégias demonstram sucesso em manter a diversidade. Além disso, as aves foram resgatadas e identificadas recentemente e são resultado da mistura de outras raças, fato que também aumenta a heterozigosidade.

Ao analisar o LD entre marcadores adjacentes, a média foi 0,21, mais alta que a média do LD entre todos os pares de SNPs (pairwise), que foi 0,05. Houve um decaimento acentuado na janela entre 1 e 50 kb em todas as classes, continuando em declínio até a janela de 10.000kb (Figura 1). A taxa de recombinação dos macrocromossomos permaneceram mais altos até a última janela, bem como os microcromossomos mantiveram comportamento inverso

A seleção além provocar mudanças fenotípicas, muda as frequências alélicas, aumentando as frequências dos loci relacionados às características que estão sendo selecionadas e provocando que os loci adjacentes entrem em desequilíbrio de ligação. O LD, em alguns casos, pode ser utilizado para reconstruir a história evolutiva e, ainda, está relacionado ao N_e e, conseqüentemente, à diversidade.

O LD permite estimar o N_e quando não existem dados genealógicos. Essa estimativa permite saber a história, identificar o nível de variabilidade, efeitos de deriva e os padrões de seleção daquela população. O N_e também é apontado como uma das causas de declínio no LD.

Estimou-se que cerca de 500 gerações atrás, possuía mais de 1000 animais, enquanto as últimas 5 possuíam apenas 34 aves (Figura 2). Declínio que coincide com o período de substituição das aves nativas pelas comerciais (BORTOLUZZI et al., 2018). O evento é preocupante, visto que a substituição ocorreu em busca de melhores índices produtivos, mas as aves nativas já estavam adaptadas às condições do ambiente e a perda da raça pode implicar na perda de rusticidade e resistência às temperaturas elevadas. A queda do N_e ao longo dos anos também evidencia o histórico de perda de diversidade ocorridos em virtude da domesticação das galinhas, formação das raças e, mais recentemente, a intensa seleção levando aos frangos comerciais.

Conclusões

As aves Caneludo do Catolé possuem combinações alélicas únicas, o que as torna importantes recursos genéticos e acentua a importância da sua conservação, havendo relevância, inclusive, para a segurança alimentar. Além disso, foi constatada variabilidade genética e baixos níveis de endogamia, embora exista um baixo tamanho efetivo populacional.

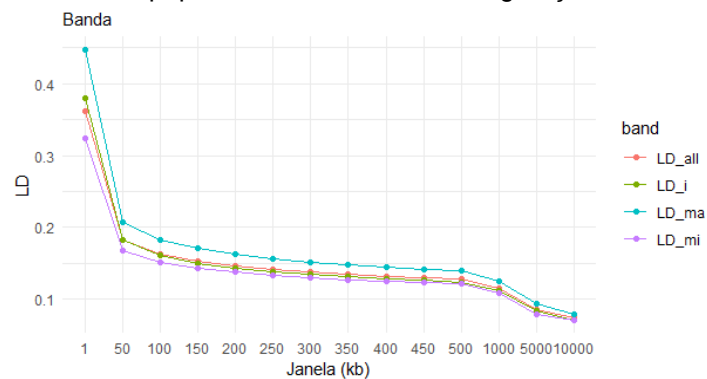
Referências Bibliográficas

1. ALBUQUERQUE, M. S. M.; EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. *Archivos de zootecnia*, v. 51, n. 193, p. 7, 2002.
2. ALMEIDA, E. C. de J. et al. Características de carcaça de galinha naturalizada Peloco comparada a linhagens de frango caipira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, p. 1517-1523, 2013.
3. ALMEIDA, E. C. J. Caracterização Fenotípica e Produtiva de Galinhas e Patos no Estado da Bahia. 2016. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal da Bahia, Bahia.
4. BORTOLUZZI, C.; CROOIJMANS, R. P. M. A.; BOSSE, M.; HIEMSTRA, S. P.; GROENEN, M. A. M.; MEGENS, H. –J. The effects of recent changes in breeding preferences on maintaining traditional Dutch chicken genomic diversity. *Heredity*, v.121, p.564-578, 2018.

5. FIGUEIREDO, N. E. M. Análise genômica e diversidade fenotípica de galinhas nativas do nordeste brasileiro. 147p. - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2021.
6. FONTEQUE, G. V. et al. Genetic polymorphism of fifteen microsatellite loci in Brazilian (blue-egg Caipira) chickens. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 34, n. 1, p. 98-102, 2014.
7. KHANYILE, K. S.; DZOMBA, E. F.; MUCHADEYI, F. C. Population genetic structure, linkage disequilibrium and effective population size of conserved and extensively raised village chicken populations of Southern Africa. Frontiers in Genetics, v.6, 2015.
8. MOURA, J. de O. et al. Diversidade genética em caprinos localmente adaptados no Brasil utilizando o Beadchip 50k. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA, v. 6, p. 92-97, 2015
9. NINOV, K.. Identificação de polimorfismos no gene da leptina e de seu receptor em duas linhagens de aves e associação com características de desempenho e carcaça. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
10. POSSAMAI, M. H. P., BATTILANA, J., PALUDO, E., HERKENHOFF, M. E., Pértile, F., & LIMA-ROSA, C. A. da V. (2015). Genotypic characterization of ten microsatellite loci in two Brazilian free range (Caipira) chicken lines. *Ciência Rural*, 45(5), 877–883. doi:10.1590/0103-8478cr20140132.
11. RIZTYAN, K. T.; SHIMOGIRI, T.; KAWABE, K.; OKAMOTO, S. Genetic diversity and population structure of Indonesian native chickens based on single nucleotide polymorphism markers. Poultry Science, v.90, n.11, p.2471-2478, 2011.
12. UGBO, Y. S. An assessment of biodiversity in morphological traits of Muscovy ducks in Nigeria using discriminant analysis. In: Proceedings of International Conference on Biology, Environment and Chemistry (ICBEC 2010). 2010.

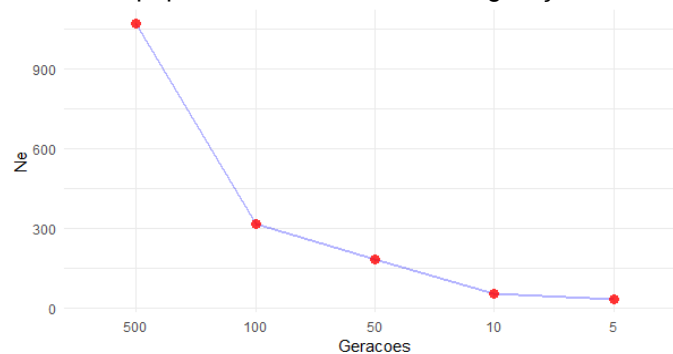
Tabelas e figuras

FIGURA 1 - Tamanho efetivo populacional no decorrer das gerações



Fonte: Elaborado pela autora.

FIGURA 2 - Tamanho efetivo populacional no decorrer das gerações



Fonte: Elaborado pela autora

Agradecimentos

