

CONSERVAÇÃO, USO E MELHORAMENTO DE GALINHAS CAIPIRAS



DÉBORA ARAÚJO DE CARVALHO
JOSÉ LINDENBERG ROCHA SARMENTO
MARCOS JACOB DE OLIVEIRA ALMEIDA
(ORGANIZADORES)

CONSERVAÇÃO, USO E MELHORAMENTO DE GALINHAS CAIPIRAS



DÉBORA ARAÚJO DE CARVALHO
JOSÉ LINDENBERG ROCHA SARMENTO
MARCOS JACOB DE OLIVEIRA ALMEIDA
(ORGANIZADORES)

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Natália Sandrini de Azevedo

Edição de Arte: Lorena Prestes

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernando da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof. Me. Heriberto Silva Nunes Bezerra – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Profª Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo

Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C755	<p>Conservação, uso e melhoramento de galinhas caipiras / Organizadores Débora Araújo de Carvalho, José Lindenberg Rocha Sarmento, Marcos Jacob de Oliveira Almeida. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-5706-003-2 DOI 10.22533/at.ed.032202704</p> <p>1. Galinhas – Criação – Brasil. 2. Aves – Genética. I. Carvalho, Débora Araújo de. II. Sarmento, José Lindenberg Rocha. III. Almeida, Marcos Jacob de Oliveira.</p> <p style="text-align: right;">CDD 636.51</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Como presidente da Rede Ibero-Americana para a Conservação da Biodiversidade e Desenvolvimento Sustentável dos Animais Domésticos Locais - Rede CONBIAND, há anos tenho interagido com um grupo interessante de pesquisadores piauienses muito ativos e sensibilizados para a conservação das raças locais do Nordeste brasileiro. Seu importante trabalho com as raças nativas de galinhas da região se destacou muito entre os 25 países que compõem nossa organização.

Hoje tenho a honra de ser convidado a prefaciar um livro resultante dos longos anos de pesquisa desse grande grupo, que reflete a sabedoria e a experiência adquiridas com os projetos de caracterização e conservação dessas raças aviárias.

O livro “**Conservação, Uso e Melhoramento de Galinhas Caipiras**”, começa revisando a importância científica das galinhas Caipiras no Brasil e no mundo. Em um interessante segundo capítulo, apresenta a análise demográfica dessas populações da perspectiva de sua definição e caracterização. O livro continua apresentando os métodos para selecionar os melhores reprodutores e matrizes são descritos no contexto das galinhas caipiras. No quarto capítulo, o gene da leptina é proposto como candidato à seleção dessas raças de galinhas, oferecendo conclusões interessantes e muito práticas. Continua com um estudo aprofundado sobre a caracterização genética de raças importantes como a Canela-Preta, uma raça com grandes perspectivas. O capítulo dedicado à apresentação das raças caipiras brasileiras e suas possíveis raças ancestrais da Península Ibérica é muito atraente. Em seguida um capítulo prático dedicado à extração de amostras de sangue, revisando as alternativas existentes. Este livro é ampliado com a descrição dos métodos para o uso de DNA mitocondrial no estudo da microevolução de populações de galinhas caipiras. Finalizando, os capítulos 9 e 10 enfocam a caracterização funcional dessas aves, respectivamente, pelas funcionalidades de ovos e carne.

Como comentário final, eu gostaria de recomendar a leitura deste texto interessante que, sem dúvida, estimulará a estudiosos das raças de galinhas locais.

Juan Vicente Delgado Bermejo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA E GENÉTICA DAS RAÇAS NATIVAS DE GALINHAS CAIPIRAS: UMA REVISÃO	
Débora Araújo de Carvalho José Lindenberg Rocha Sarmiento Marcos Jacob de Oliveira Almeida Abigail Araújo de Carvalho Artur Oliveira Rocha Maria Claudene Barros Fábio Barros Britto Elmary da Costa Fraga Darllan Alves Evangelista Lima Marcos David Figueiredo de Carvalho	
DOI 10.22533/at.ed.0322027041	
CAPÍTULO 2	10
PARÂMETROS GENÉTICOS POPULACIONAIS APLICADOS NA CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE RAÇAS NATIVAS	
Débora Araújo de Carvalho José Lindenberg Rocha Sarmiento Marcos Jacob de Oliveira Almeida Abigail Araújo de Carvalho Artur Oliveira Rocha Maria Claudene Barros Fábio Barros Britto Elmary da Costa Fraga Luciano Silva Sena Geice Ribeiro da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.0322027042	
CAPÍTULO 3	18
GALINHAS CAIPIRAS NATIVAS: SELEÇÃO DE INDIVÍDUOS GENETICAMENTE SUPERIORES	
Abigail Araújo de Carvalho Artur Oliveira Rocha Débora Araújo de Carvalho José Lindenberg Rocha Sarmiento Marcos Jacob de Oliveira Almeida Bruna Lima Barbosa Darllan Alves Evangelista Lima Marcos David Figueiredo de Carvalho Geandro Carvalho Castro Joselice da Silva Pereira	
DOI 10.22533/at.ed.0322027043	
CAPÍTULO 4	27
O GENE LEPTINA E SEU RECEPTOR NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE GALINHAS CAIPIRAS	
Artur Oliveira Rocha Débora Araújo de Carvalho José Lindenberg Rocha Sarmiento Darllan Alves Evangelista Lima Marcos Jacob de Oliveira Almeida Abigail Araújo de Carvalho Bruna Lima Barbosa	

Geice Ribeiro da Silva
Maria Histelle Sousa do Nascimento
Marcos David Figueiredo de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.0322027044

CAPÍTULO 5 37

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE GALINHAS NATIVAS

Débora Araújo de Carvalho
Cristina Moreira Bonafé
Maria Del Pilar Rodriguez-Rodriguez
José Lindenberg Rocha Sarmiento
Marcos Jacob de Oliveira Almeida
Abigail Araújo de Carvalho
Luiz Antonio Silva Figueiredo Filho
Manoel Braz da Silva Júnior
Bruna Lima Barbosa
Artur Oliveira Rocha
Marcos David Figueiredo de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.0322027045

CAPÍTULO 6 48

RAÇAS NATIVAS DE GALINHAS DO BRASIL E PAÍSES DA PENÍNSULA IBÉRICA

Débora Araújo de Carvalho
José Lindenberg Rocha Sarmiento
Marcos Jacob de Oliveira Almeida
Abigail Araújo de Carvalho
Artur Oliveira Rocha
Maria Claudene Barros
Elmary da Costa Fraga
Maria Histelle Sousa do Nascimento
Fábio Barros Britto
Marcos David Figueiredo de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.0322027046

CAPÍTULO 7 61

COLETA DE SANGUE E EXTRAÇÃO DO DNA DE AVES: UMA REVISÃO

Artur Oliveira Rocha
Débora Araújo de Carvalho
José Lindenberg Rocha Sarmiento
Abigail Araújo de Carvalho
Marcos Jacob de Oliveira Almeida
Bruna Lima Barbosa
Luciano Silva Sena
Geandro Carvalho Castro
Joselice da Silva Pereira
Marcos David Figueiredo de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.0322027047

CAPÍTULO 8 72

DESENHO E OTIMIZAÇÃO DE *PRIMERS* PARA ESTUDOS A PARTIR DO DNA MITOCONDRIAL DA ESPÉCIE *GALLUS GALLUS*

Darllan Alves Evangelista Lima
Artur Oliveira Rocha
Débora Araújo de Carvalho
José Lindenberg Rocha Sarmiento

Marcos Jacob de Oliveira Almeida
Abigail Araújo de Carvalho
Bruna Lima Barbosa
Manoel Braz da Silva Júnior
Maria Histelle Sousa do Nascimento
Luiz Antonio Silva Figueiredo Filho

DOI 10.22533/at.ed.0322027048

CAPÍTULO 9 80

ESTRUTURA, PADRÃO FENOTÍPICO, CONSTITUINTES NUTRICIONAIS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DE OVOS DE GALINHAS

Abigail Araújo de Carvalho
Débora Araújo de Carvalho
Marcos Jacob de Oliveira Almeida
Artur Oliveira Rocha
José Lindenberg Rocha Sarmiento
Bruna Lima Barbosa
Luciano Silva Sena
José Elivalto Guimarães Campelo
Marcos David Figueiredo de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.0322027049

CAPÍTULO 10 90

CURVA DE CRESCIMENTO E CARACTERÍSTICAS DE CARÇA EM AVES CAIPIRAS

Leandra Polliny Morais Machado
José Lindenberg Rocha Sarmiento
Antônio de Sousa Júnior
Tatiana Saraiva Torres
Luciano Silva Sena
Diego Helcias Cavalcante
Marcelo Richelly Alves de Oliveira
Laylson da Silva Borges
Débora Araújo de Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.03220270410

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 101

ÍNDICE REMISSIVO 102

DESENHO E OTIMIZAÇÃO DE *PRIMERS* PARA ESTUDOS A PARTIR DO DNA MITOCONDRIAL DA ESPÉCIE *GALLUS GALLUS*

Data de aceite: 19/03/2020

Darllan Alves Evangelista Lima

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro
Petrônio Portella
Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/4563031138991290>

Artur Oliveira Rocha

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro
Petrônio Portella
Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/8991807731249154>

Débora Araújo de Carvalho

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro
Petrônio Portella
Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/5713516699845140>

José Lindenberg Rocha Sarmiento

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro
Petrônio Portella
Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/1991742176699922>

Marcos Jacob de Oliveira Almeida

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Meio-Norte (Embrapa MN) Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/2068380243699918>

Abigail Araújo de Carvalho

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro
Petrônio Portella
Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/2914794424016683>

Bruna Lima Barbosa

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro
Petrônio Portella
Teresina, Piauí
<http://lattes.cnpq.br/1399649319998684>

Manoel Braz da Silva Júnior

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Maranhão, Campus São João dos
Patos
São João dos Patos, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/0090908144064939>

Maria Histelle Sousa do Nascimento

Universidade Estadual do Maranhão, Campus de
Caxias
Caxias, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/2651507116730705>

Luiz Antonio Silva Figueiredo Filho

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Maranhão, Campus Caxias
Caxias, Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3985156705338283>

RESUMO: Os marcadores moleculares do tipo DNA mitocondrial (mtDNA) vêm sendo utilizados em estudos filogenéticos, proporcionando conhecer a aproximação evolutiva das espécies. A região *D-loop* não codifica produtos gênicos. No entanto, apresenta uma grande quantidade de polimorfismos entre indivíduos, sendo a

região na qual se inicia o processo de duplicação do material genético, possibilitando uma maior suscetibilidade à ocorrência de mutações. Essa região do mtDNA é muito utilizada em estudos filogenéticos. Objetivou-se, com essa pesquisa, desenvolver *primers* a partir do genoma mitocondrial na região *D-loop* da espécie *Gallus gallus* e otimização dos mesmos, com intuito de disponibilizar essa ferramenta para acesso ao público científico e, assim, poder utilizar esse marcador com qualquer raça dentro da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: *D-Loop*, Galinhas caipiras, Marcadores Moleculares, mtDNA.

PRIMER DESIGN AND OPTIMIZATION FOR STUDIES FROM THE MITOCHONDRIAL DNA OF THE *GALLUS GALLUS* SPECIES

ABSTRACT: Molecular markers of the type mitochondrial DNA (mtDNA) have been used in phylogenetic studies providing knowledge of the evolutionary proximity of species. The *D-loop* region does not encode gene products, however it presents a large amount of polymorphisms between individuals, being the region where the process of duplication of genetic material begins, providing a greater susceptibility to the occurrence of mutations. This region of mtDNA is widely used in phylogenetic studies. The objective of this research was to develop *primers* from the mitochondrial genome in the *D-loop* region of the *Gallus gallus* species and their optimization, in order to make this tool available to the scientific public and thus be able to use this marker with any breed within the species.

KEYWORDS: *D-Loop*, Free-range chickens, Molecular Markers, mtDNA.

1 | INTRODUÇÃO

A avicultura tradicional sempre existiu no Brasil, voltada à produção de ovos e carne para a subsistência. Como consequência da Segunda Guerra Mundial, houve a escassez de alimentos. Nesse período, deu-se início à avicultura industrial, na qual as aves passaram a ser criadas em galpões em grandes quantidades, com a finalidade de produção de carne e ovos. Em virtude dessa demanda, foram desenvolvidas tecnologias que contribuíram para o aumento da produção, da redução da conversão alimentar, da mortalidade e da diminuição da idade de abate. (DAMBRÓS JUNIOR, 2010; FONTEQUE et al. 2014; CARVALHO et al., 2018).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de novas tecnologias na área da genética e biologia molecular foi primordial para o desenvolvimento de tecnologias do DNA recombinante, da reação em cadeia de polimerase (PCR) e do sequenciamento do DNA. Essas novas tecnologias foram úteis para a elaboração de marcadores utilizados nos estudos de recursos genéticos, cujo objetivo é facilitar a identificação e caracterização dos mesmos. Ainda há uma grande quantidade de questionamentos

sobre o uso adequado dessas tecnologias, principalmente na utilização de metodologias para a obtenção desses marcadores genéticos quanto às suas análises (FALEIRO,2007).

Os marcadores moleculares do tipo DNA mitocondrial (mtDNA) vêm sendo utilizados em estudos filogenéticos, proporcionando conhecer a aproximação evolutiva das espécies. A análise de marcadores mitocondriais é considerada ferramenta útil para a determinação da variabilidade genética. O estudo do DNA mitocondrial destaca-se como instrumento para a investigação molecular da variabilidade não nuclear, das variações genéticas dentro e entre espécies e das relações evolutivas, buscando o entendimento de vários aspectos biológicos e evolutivos de uma grande variedade de organismos (NIU et al., 2002).

O mtDNA é um dos marcadores mais utilizados nos animais e tem sido usado amplamente por mais de três décadas. É altamente variável em populações naturais, é de fácil amplificação porque aparece nos mais variados tipos de células e é ainda mais abundante que o DNA nuclear. Bem conservado em animais, não possui íntrons e possui regiões intergênicas muito curtas. A região controle (*alça-D*) é normalmente flanqueada por regiões altamente conservadas, como as que codificam o rRNA, em que os *primers* utilizados na PCR são facilmente projetados (GALTIER et al., 2009).

Estudos filogenéticos permitem a identificação e entendimento das relações evolutivas entre as espécies, sendo utilizados para identificar características similares e definir relações históricas. A utilização dos métodos de estudos filogenéticos contribui para a formação de árvores filogenéticas nas quais é possível observar o grau de proximidade evolutiva entre as espécies e/ou raças, sendo relevantes em estudos de galinhas de raças nativas.

2 | GALINHAS CAIPIRAS

A origem dessa espécie de aves data de cerca de 150 milhões de anos atrás. A galinha doméstica (*Gallus gallus domesticus*) surgiu a partir do processo de domesticação do *Gallus bankiva*, comumente conhecida como galinha vermelha do mato (*Red Jungle Fowl*), originárias do Sudeste da Ásia(CRAWFORD,1990).

As galinhas foram introduzidas no Brasil por Pedro Álvares Cabral quando chegou ao país, e levadas pelos colonizadores para várias regiões, a partir das quais passaram a ser criadas também pelos índios nativos. As galinhas caipiras são caracterizadas por ter alta variabilidade genética, serem rústicas e menos produtivas quando comparadas às galinhas industriais, que são melhoradas geneticamente (ALBINO et al.,2005; CARVALHO et al., 2016).

3 | CARACTERÍSTICAS DOS MARCADORES GENÉTICOS

Os marcadores moleculares têm a função de identificar regiões específicas com o objetivo de estudar, identificar e medir a variação existente entre os indivíduos de uma espécie. São utilizados para marcar alelos que sinalizam uma região de um cromossomo na qual serão localizados genes de interesse de difícil identificação (RAMALHO et al.,2008).

Os marcadores devem possuir boas características para maximizar sua utilidade. Dentre elas, as principais são ter alto grau de polimorfismo e uma boa distribuição ao longo do genoma. Para analisar o marcador, deve-se utilizar técnicas rápidas, práticas e reproduzíveis em outros laboratórios de forma confiável (MÉNDEZ et al.,2005). A técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) é a mais utilizada para identificar regiões de interesse do DNA. Esse método consiste na síntese *in vitro* de regiões específicas do DNA, simulando a replicação.

4 | DNA MITOCONDRIAL

O DNA mitocondrial é uma molécula de DNA extra cromossomal haploide, de herdabilidade uniparental materna. Constitui-se de uma dupla cadeia circular, que é dividida em cadeia pesada (H) e cadeia leve (L). Apresenta aproximadamente 16.569 pb (pares de base), sendo que somente 10% de sua totalidade é não codificante. A região codificante do mtDNA apresenta 37 genes, os quais correspondem a 13 polipeptídios, 2 moléculas de RNA ribossomal (rRNA) e 22 tipos de RNA transportador (tRNA). Já sua região não codificante corresponde à região denominada região controle ou *D-Loop*, a qual apresenta aproximadamente 1.122 pares de bases. Esta última é dividida em regiões hipervariáveis e é a responsável pela regulação da replicação e transcrição de todo o mtDNA (BLUTER,2010).

A região *D-loop* não codifica produtos gênicos e apresenta uma grande quantidade de polimorfismos entre indivíduos, sendo a região em que se inicia o processo de duplicação do material genético, proporcionando uma maior suscetibilidade à ocorrência de mutações. Essa variabilidade decorre da pobre atividade reparadora da polimerase do DNA mitocondrial, da ausência de histonas e da falta do mecanismo de reparo por excisão de nucleotídeos, fatores que levam este genoma a apresentar uma taxa de mutação de 5 a 10 vezes maior que o DNA nuclear (YAKES; VAN OUTEN, 1997).

Objetivou-se, com essa pesquisa, desenvolver *primers* a partir do genoma mitocondrial na região *D-loop* da espécie *Gallus gallus*, otimizar os mesmos, com intuito de disponibilizar essa ferramenta para acesso ao público científico e, assim, poder utilizar esse marcador com qualquer raça dentro da espécie.

5 | MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Amostragem e coleta do material biológico

Os procedimentos laboratoriais foram realizados no laboratório de Genética Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Piauí - UFPI. O projeto de pesquisa foi cadastrado no comitê de ética da (UFPI) sob o N° 399/17. Em seguida, foi realizada a coleta do material biológico (sangue) em um criatório de galinhas caipiras, no município de Teresina/PI. Foi coletado sangue da veia ulnar de 20 aves, sendo 10 galinhas Canela-Preta e 10 galinhas da linhagem comercial Pesadão.

Para a extração do DNA foi utilizado o Kit DNEASY Blood and Tissue da QIAGEN®. O procedimento para extração de DNA foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante.

A avaliação da qualidade da extração do DNA foi feita por eletroforese em gel de agarose a 1%. A solução formada foi aquecida em forno micro-ondas até iniciar a ebulição (aproximadamente 1 minuto, em potência média, para gel de 60 ml). O frasco foi agitado e retornou ao forno micro-ondas por 30 segundos – ou até que os cristais de agarose dissolvessem totalmente. Após a solidificação da solução no suporte da cuba para o gel, o mesmo foi colocado na cuba de eletroforese e coberto com tampão tris-borato-EDTA 0,5X.

Em uma superfície plana coberta com parafilme, foi pipetada 10ul de DNA com 5ul de tampão de corrida. A voltagem da fonte foi ajustada para 110 volts por 30 minutos. Após a corrida, as bandas foram visualizadas em sistema de foto documentação.

5.2 Desenho dos *primers*

para amplificação das sequências, foi desenhado um par de *primer* a partir da posição nucleotídica 16,750 a 506 pb, localizada na região controladora *D-loop* do mtDNA, envolvendo uma parte hipervariável dessa região (Número de acesso no Genbank: NC007236.1; NISHIBORI et al., 2005). A escolha por essa região do mtDNA se deu com base em sua utilização em diferentes trabalhos envolvendo algumas raças de galinhas, o que permitiria a imediata comparação das sequências geradas neste trabalho.

Para desenho dos *primers* foi acessado o site *GenBank*, no qual se copiou o genoma mitocondrial da espécie *Gallus gallus*. Utilizando o software Gene Runner 5.1, selecionou-se a opção “*New DNA Sequence*” na aba de ferramenta e colou-se o genoma. Depois, foi selecionada a opção “*Analysis*”, seguida da opção “*Oligo*”. Nessa última inseriu-se os dados da região de interesse de estudo, alterando as

temperaturas e as porcentagens das bases. Com um *enter*, os *primers* desenhados sugeridos pelo programa apareceram. Foram sugeridos três pares de *primers*. Cada um deles gerou um fragmento de 522pb. Em seguida as sequencias geradas foram enviadas a laboratório especializado para sintetização.

5.3 Otimização dos *primers*

A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi empregada para o procedimento de amplificação dos fragmentos. As reações de PCR seguiram o seguinte perfil: em um volume final de 16 µL, cada reação continha 30 ng de DNA; 1,0µL de tampão 10X (100 mMTrisHCl, pH 8,3, 500 mMKCl); 2,0 a 3,5µL (50 mM) de MgCl₂; 2 µL da mistura de dNTP (0,2 mMdedATP, dCTP, dGTP e dTTP); 0,6µM de cada iniciador; 1,0 unidade de Taq DNA polimerase; e água ultrapura para completar o volume das reações.

A PCR foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial de 5 minutos a 94°C, 35 ciclos de 94°C por 45 segundos para desnaturação, 45 segundos com temperatura variando de 55 a 62°C para hibridização, 50 segundos a 72°C para extensão. Ao final,foi efetivada uma etapa de extensão de 7 minutos a 72°C. A amplificação dos fragmentos de DNA foi confirmada pela corrida em gel de agarose a 2,0%, corado com brometo de etídio, com posterior visualização em transluminador UV.

6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o auxílio do software Gene Runner5.1, foram desenhado três *primers* através do genoma da espécie *Gallus gallus* mitocondrial, com suas sequências *forward* e *reverse*, como se observa na Tabela 1.

Primer	Sequências
DVMT-F	TGTTGTTCTCAACTACGGG
DVMT-R	GAGGTATGCATGGGATGT
DEBMT-F	GCCATTGTTGTTCTCAACTACG
DEBMT-R	TACGGTGGAAGGCAAGTAGG
DEBMT2-F	CCATTGTTGTTCTCAACTACGG
DEBMT2-R	TACGGTGGAAGGCAAGTAGG

Tabela 1-Sequências de oligonucleotídeos (*primers*) desenhados

-F = *primer forward*; -R = *primer reverse*

Vários testes foram realizados para alcançar a otimização dos *primers*, utilizando inicialmente um protocolo padrão já usado na rotina do laboratório. Testes com variações nas temperaturas de anelamento de 55° a 62°C e variações

na concentração de $MgCl_2$ de $2,0\mu L$ a $3,5\mu L$ foram realizados nos três *primers*. Cada par de *primer* teve resultados específicos, como demonstrado na Tabela 2.

PRIMER	Galinha Canela- Preta		Galinha Pesadão	
	Ta (°C)	$MgCl_2$ (μL)	Ta (°C)	$MgCl_2$ (μL)
DVMT	61	3,0	61	3,0
DEBMT	60	2,5	61	3,0
DEBMT2	61	3,0	60	2,5

Tabela 2 – Concentrações de $MgCl_2$ e temperaturas de anelamento ideais para otimização da PCR para cada par de *primer*.

Ta (°C) = temperatura de anelamento do *primer*; $MgCl_2$ (μL)= Cloreto de magnésio em microlitros.

As variações nas concentrações de $MgCl_2$ podem influenciar o resultado da PCR, pois ela afeta a eficiência da amplificação pela ação conjunta com a *Taq* polimerase. Esses índices podem dificultar, ainda, a visualização da intensidade dos fragmentos que aparecem no gel de agarose. As temperaturas de otimização variaram entre os *primers* e entre as raças. Essa variação pode ser justificada pelo fato dos *primers* terem sido desenhados em trechos hipervariáveis da região *D-loop*, que pode alternar entre raças. As temperaturas (principalmente de anelamento) e os tempos para amplificação também são afetados pela necessidade adequada da concentração de $MgCl_2$, que, por sua vez, também variou entre os grupos estudados.

7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Três pares de *primers* foram sugeridos a partir do genoma mitocondrial da espécie *Gallus gallus*. Eles amplificam a mesma região do genoma. Os *primers* propostos nessa pesquisa foram otimizados. Portanto, podem ser utilizados em futuros trabalhos para estudos filogenéticos da espécie *Gallus gallus*, sendo as sequências dos *primers* e os protocolos de otimização disponibilizados para o público científico, com o intuito de auxiliar pesquisas futuras.

REFERÊNCIAS

ALBINO, L. F. T. et al. **Criação de Frango e Galinha Caipira**: 2ª ed. Revisada e ampliada. Viçosa: MG. Aprenda fácil Editora, 208p. 2005.

BUTLER, J.M. **Mitochondrial DNA analysis**. In: BUTLER, J. M. Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. 2.ed.Elsevier, p. 376-389. 2010.

CARVALHO, D. A. et al. **Caracterização genética e estrutura populacional de galinhas crioulas Canela-Preta**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, [s.l.], v. 51, n. 11, p.1899-1906, nov. 2016.

CARVALHO, D. A. et al. **Genetic variability of twelve microsatellite loci in native Canela-Preta chickens.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, [s.l.], v. 70, n. 4, p.1275-1281, ago. 2018.

CRAWFORD, R. D. **Poultry Breeding and Genetics.** Developments in Animal and Veterinary Sciences. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1122 p., 1990.

DAMBRÓS JUNIOR, D. **A avicultura no Brasil.** EMBRAPA, 2010. Disponível em:http://www.cnpsa.embrapa.br/cias/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=15. Acesso em: 3 dez. 2019.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 102 p, 2007.

FONTEQUE, G. V. et al. **Genetic polymorphism of fifteen microsatellite loci in Brazilian (blue-egg Caipira) chickens.** Pesquisa Veterinária Brasileira, [s.l.], v. 34, n. 1, p.98-102, jan. 2014.

GALTIER, N. et al. **Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal.** Molecular Ecology, [s.l.], v. 18, n. 22, p.4541-4550, nov. 2009.

NIU, D. et al. **The origin and genetic diversity of Chinese native chicken breeds.** Biochemical Genetics, [s.l.], v. 40, n. 5/6, p. 163-174. Springer Science and Business Media LLC. 2002.

MÉNDEZ, A. J. et al. **Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión.** Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, v. 13, n. 1, p. 30-42, 2005.

NISHIBORI, M. et al. **Molecular evidence for hybridization of species in the genus Gallus except for Gallus varius.** Anim. Genet., [s.l.], v. 36, n. 5, p.367-375, 15 jun. 2005.

RAMALHO, M. A. P; SANTOS, J. B; PINTO, C. A. B. P. **Genética na Agropecuária.** 4. ed. Lavras: Editora UFLA, 464 p, 2008.

YAKES, F. M.; VAN HOUTEN, B. **Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress.** Proceedings Of The National Academy Of Sciences, [s.l.], v. 94, n. 2, p. 514-519, 21 jan. 1997.

ÍNDICE

A

Acasalamento 19, 20, 23, 24, 25

Avicultura 2, 3, 9, 20, 22, 28, 30, 41, 45, 46, 52, 59, 62, 63, 73, 79, 88, 99

C

Caipira 4, 5, 9, 17, 20, 26, 28, 30, 39, 41, 43, 45, 46, 49, 50, 59, 61, 62, 63, 71, 78, 79, 81, 82, 88, 98, 100

Conservação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22, 24, 33, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 48, 50, 59, 67, 79, 91, 92, 101

Conservation 2, 9, 11, 16, 17, 19, 25, 26, 38, 47, 49, 91

Crossing 19

Cruzamento 19, 21, 24, 25

D

Desempenho 22, 24, 35, 38, 43, 66, 71, 90, 91, 92, 98, 100

Diversidade 3, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 33, 42, 43, 44, 45, 46, 49, 50, 87

D-Loop 73, 75

E

Endogamia 19, 23, 25

Endogamy 19

F

Free-range chickens 11, 19, 28, 91

FRLP 28, 29

G

Galinha Nativas 91

Galinhas caipiras 1, 4, 5, 7, 8, 11, 16, 18, 20, 21, 22, 25, 27, 30, 33, 34, 41, 45, 46, 51, 59, 70, 73, 74, 76, 80, 82, 91, 92, 93, 101

Gallus gallus 4, 11, 15, 38, 49, 59, 64, 68, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 88, 89

Genética 6, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 24, 25, 30, 31, 33, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 59, 73, 74, 76, 78, 79, 81, 82, 85, 86, 92, 94, 96, 98, 101

Genética de populações 11, 12, 13, 16

Genetic Improvement 28, 62, 69, 91
Genetic Resources 2, 9, 19, 25, 49, 60
Genetic variability 8, 11, 25, 38, 79

L

LEP 28, 29, 30, 33
LEPR 28, 29, 30, 32, 33, 35

M

Marcadores moleculares 3, 6, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 38, 44, 62, 68, 72, 73, 74, 75, 79
Material Biológico 62, 63, 76
Mating 19
Melhoramento Genético 3, 4, 14, 22, 23, 26, 27, 30, 35, 39, 44, 61, 63, 91, 93, 95, 100, 101
Mercado consumidor 5, 22, 25, 39, 81, 88, 91, 92
Microsatellites 11, 16, 17, 38, 46
Microsatélites 3, 8, 9, 11, 14, 15, 16, 31, 34, 38, 44, 45, 46
Modelos não Lineares 91, 93, 94, 95, 97, 99
Morfometria 38
mtDNA 13, 14, 72, 73, 74, 75, 76

N

Native breeds 2, 11, 19, 28, 38, 49, 62
Native chicken 11, 38, 49, 79, 91
Nonlinear Models 91

O

Ovos caipira 81

P

PCR 15, 31, 35, 44, 62, 68, 70, 71, 73, 74, 75, 77, 78
Performance 35, 38, 91, 98, 99
Population genetics 11
Poultry 2, 8, 9, 17, 25, 26, 28, 33, 34, 35, 47, 71, 79, 81, 89, 100

Q

Qualidade de ovos 80, 81, 82, 88, 89

R

Raça Nativa 8, 25, 28, 33, 38, 43, 62, 97

Raças nativas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 48, 49, 50, 52, 59, 61, 62, 63, 74, 89, 101

Recursos genéticos 2, 6, 7, 11, 13, 15, 19, 20, 25, 38, 39, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 73, 79, 101

V

Variabilidade genética 3, 7, 8, 11, 12, 13, 21, 30, 31, 33, 38, 39, 43, 44, 46, 74, 82

 **Atena**
Editora

2 0 2 0