

# MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA A LINHAGEM BRASILEIRA DE GALINHA CAIPIRA PELOCO

## MICROSSTELITIES MARKERS IN PELOCO BRAZILIAN CHICKENS

Oliveira C.G.<sup>1\*</sup>, Almeida E.C.J.<sup>2</sup>, Figueiredo N.E.M.<sup>1</sup>, Pereira A.H.R.<sup>1</sup>, Gaiotto F.A.<sup>3</sup>,  
Farias-Filho R.V.<sup>1</sup>, Carneiro P.L.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-Bahia, Jequié-Bahia, Brasil. \*claudinegoncalves@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Universidade Federal da Bahia Salvador-Bahia, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz, Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Ilhéus-Bahia, Brasil

**Keywords:** Conservation; Genetic resources; SSR.

**Palavras chave:** Conservação; Recursos genéticos; SSR.

### Abstract

The brazilian chickens, known as “pelado” or “Peloco”, refers to chickens characterized by the absence of damages after the loss of fluff. For 30 to 70 days they grow without developing feathers, featuring dark meat color. The Peloco brazilian chickens is found in farms and backyards creations in Chapada Diamantina, South and Far South, Bahia, Brazil. Traditionally, this is created on extensive and appear adapted to this condition of creation, which are directly exposed to contamination by parasites and climate variations, and in particular, the high temperatures of the region. These populations are generally small, inbred and under natural and artificial selection. However, these populations are considered as a source of genetic resources, therefore, the knowledge of their genetic variability should be determined for purposes of conservation, being microsatellite markers the best tool for this type of studies. Thus, the present study aimed to transfer SSR markers from chickens for peloco brazilian chickens. Access to ADN was done by amplification of twelve microsatellite loci, other chickens strains designed for rednecks: LEI0234, LEI0248, LEI0221, LEI0214, LEI0192, LEI0217, LEI0254, LEI0194, LEI0212, ADL0 258 and MCW0081, MCW0183. Amplifications of microsatellite loci were made with some alterations, having nine primers with positive and three negative amplifications (LEI0248, LEI0234 and LEI0217). The viable alternative for reduce the costs of genetic analysis is transferability of SSR markers among related species.

### Resumo

A linhagem conhecida como Peloco, ou Pelado refere-se às galinhas caracterizadas pela ausência de penas depois da perda da penugem. Durante 30 a 70 dias elas crescem sem desenvolver penas, apresentando carne de coloração escura. A linhagem Peloco é encontrada em fazendas e criações de quintais na Chapada Diamantina e nas regiões Sul e Extremo Sul, Bahia, Brasil, criadas tradicionalmente em sistema extensivo e aparentam adaptadas a essa condição de criação, na qual são diretamente expostas às contaminações por parasitas e às variações climáticas, e em especial, às temperaturas elevadas da região. Essas populações são geralmente pequenas, endogâmicas e submetidas à seleção natural e artificial. Entretanto, essas populações são consideradas como fonte de recursos genéticos, portanto, o conhecimento de sua variabilidade genética deve ser determinada para fins de conservação, sendo os marcadores moleculares microsatélites (SSR) a melhor ferramenta para este tipo de estudos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo transferir marcadores SSR para linhagem peloco, a partir de marcadores previamente desenvolvidos para outras linhagens de galinhas caipiras. O acesso ao material genético foi feito através da amplificações de doze *loci* microsatélites, desenhados para outras linhagens galinhas caipiras: LEI0234, LEI0248, LEI0221, LEI0214, LEI0192, LEI0217, LEI0254, LEI0194, LEI0212, ADL0 258 e MCW0081, MCW018. As amplificações dos loci microsatélites foram feitas com algumas alterações, tendo nove *primers* com amplificações positivas e, três negativas: LEI0248, LEI0234 e LEI0217. A transferibilidade de marcadores SSR entre espécies relacionadas pode ser uma alternativa viável, reduzindo os custos das análises genéticas.

### Introdução

A maioria das raças de animais domésticos existentes no Brasil, dentre elas as galinhas caipiras atuais, originou-se a partir de raças trazidas pelos colonizadores portugueses logo após o descobrimento, sendo estas, submetidas

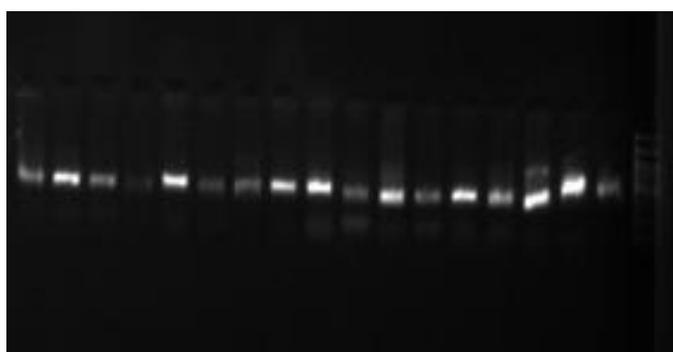
à seleção natural e artificial, em diferentes ambientes, desenvolvendo desta forma características específicas de adaptação a distintas condições, como rusticidade, prolificidade e resistência a endo- e ectoparasitas de diversas regiões brasileiras (Egito et al., 2002). A criação de galinhas caipiras, na maioria das vezes, é realizada por pequenos produtores de forma empírica, sem muitos recursos financeiros e tendo como principal objetivo o incremento da renda familiar. Considera-se a raça Peloco como um exemplo típico de criação de aves para fins de incremento da renda familiar, já que é criada atualmente em quintais de populações quilombolas no estado da Bahia, Brasil. Cientificamente, pouco se conhece da variabilidade genética das aves caipiras, porém, trabalhos recentes apontam para alta variabilidade genética destas aves. Estes grande polimorfismo gênico, muito do qual ainda não descrito para aves comerciais, torna-as um bom reservatório genético, já que inúmeras raças e variedade animal estão desaparecendo, ou sendo absorvido, ou trocado por outras raças, consideradas de maior produção (Lima-Rosa et al., 2004). Os recursos genéticos de um país constituem um patrimônio biológico e cultural único e devem-se identificar os valores de cada raça, buscando desenvolver raças nacionais. Desta forma, a conservação de raças naturalizadas é necessária na garantia da sustentabilidade e na manutenção dos recursos naturais em tempos de restrições ambientais. Assim, o objetivo desse trabalho é transferir *primers* de marcadores microssatélites (SSR) de linhagens de galinha, para a linhagem típica brasileira Peloco, a fim de serem usados para avaliar a diversidade genética em populações da raça Peloco.

### Material e métodos

As amostras de DNA foram extraídas de vinte animais mantidos no setor de avicultura da Universidade Estadual do Sudeste da Bahia, Campus de Itapetinga, Itapetinga, Bahia, Brasil, seguindo o protocolo descrito por Sambrook et. al, (1989) que foram quantificados e diluídos. Foram realizadas amplificações de PCR de doze *primers* microssatélites, desenhados para galinhas caipiras: LEI0234, LEI0248, LEI0221, LEI0214, LEI0192, LEI0217, LEI0254, LEI0194, LEI0212, ADL0 258 (McConnell et al; 1999), e MCW0081, MCW0183, descritos em Crooijmans et al. (1997), seguindo as condições iniciais padronizadas por cada autor e, corridas em géis de agarose a 1,2%.

### Resultados

As reações montadas com o protocolo publicado pelos autores não foram positivas. Desta forma, foi necessária a realização de pequenos ajustes nas condições de amplificação dos *primers* SSR para Peloco: desnaturação inicial a 94 ° C por 1 min, seguida por 35 ciclos de 94 ° C por 1 min, a temperatura de anelamento variável (45°-46°C) por 30s e 72 ° C por 30s e, um período de extensão de 3 min. Todas as reações de PCR foram realizadas em 25ul contendo: 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 0,25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM de cada primer, 0,25 mM de cada dNTP, 50ng de DNA e 1U Taq polimerase (biotoools) (figura 1). Dos doze *primers* testados, apenas 9 *primers* tiveram amplificações positivas e polimórficas.



**Figura 1.** Padrão de amplificação de loci microssatélites de Peloco (*Standard amplification of Peloco microsatellite loci*)

### Conclusões

Os dados revelaram que é possível transferir *primers* SSR de galinhas caipiras para a linhagem brasileira Peloco, sendo ainda capaz de detectar o polimorfismos genético. Polimorfismo genético são variações genéticas que aparecem como consequências de mutações, gerando a diversidade genética. Assim, estes *primers* são capazes de acessar tal variabilidade para a raça Peloco.

### **Bibliografía**

- Crooijmans, R. P. et al. New microsatellite marker in chicken optimized for automated fluorescent genotyping. *Animal Genetics*, 28: 427-437, 1997.
- Egito, A.A.; Mariante, A.S.; Albuquerque, M.S.M. Programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos Animais. *Archivos de Zootecnia*, 51 (193-194):. 40, 2002.
- Lima-Rosa, C. A. da V. Estudo da variabilidade dos genes B-F (MHC Classe I) e de um microsatélite associado em galinhas caipiras brasileiras. 2004. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2004.
- McConnell, S.K.J., Dawson, D.A., Wardle, A., Burke, T. The isolation and mapping of 19 tetranucleotide microsatellite markers in the chicken. *Animal Genetics*, 30 (3): 183-189, 1999.
- Sambrook, J.; Fritsch, E. F.; Maniatis, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2. ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.