

Carlos Alexandre Oelke
Organizador



SUINOCULTURA & AVICULTURA

do básico a zootecnia de precisão



editora científica

Copyright© 2021 por Editora Científica Digital

Copyright da Edição © 2021 Editora Científica Digital

Copyright do Texto © 2021 Os Autores



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

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

S948 Suinocultura e avicultura [livro eletrônico] : do básico a zootecnia de precisão / Organizador Carlos Alexandre Oelke. – Guarujá, SP: Científica Digital, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-87196-89-3

DOI 10.37885/978-65-87196-89-3

1. Avicultura. 2. Suinocultura. 3. Zootecnia. I. Oelke, Carlos Alexandre.

CDD 636

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Parecer e Revisão Por Pares

Os textos que compõem esta obra foram submetidos para avaliação do Conselho Editorial da Editora Científica Digital, bem como revisados por pares, sendo indicados para a publicação.

O conteúdo dos capítulos e seus dados e sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. É permitido o download e compartilhamento desta obra desde que no formato Acesso Livre (Open Access) com os créditos atribuídos aos respectivos autores, mas sem a possibilidade de alteração de nenhuma forma ou utilização para fins comerciais.



editora científica

EDITORA CIENTÍFICA DIGITAL LTDA

Guarujá - São Paulo - Brasil

www.editoracientifica.org - contato@editoracientifica.org

“

Caracterização genética de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de comunidades rurais do meio-norte do Brasil

- | Maurício Sérgio Ferreira Soares da **Silva Júnior**
UFPI
- | Alberto Alexandre de Sousa **Borges**
UFPI
- | Sárvia Rafaelly Nunes **Santos**
UEMA
- | Vanessa Gomes de **Moura**
UFPI
- | Ana Carolina Soares **Dias**
UFMA
- | Geice Ribeiro da **Silva**
UFPI
- | Adriana Mello de **Araújo**
EMBRAPA
- | José Williams Gomes de **Oliveira Filho**
IFPI

RESUMO

A criação de galinhas é fundamental na vida dos pequenos agricultores rurais do Brasil, principalmente porque são cruciais para a economia de subsistência. O presente estudo tem como objetivo analisar perfil genético de comunidades rurais localizadas em Campo Maior - PI e no aviário presente na EMBRAPA - Meio Norte, usando marcadores moleculares. Amostras de DNA foram coletadas de cerca de 52 indivíduos. Foram utilizados oito (8) *primers* ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) desenvolvidos pela Universidade da Colúmbia Britânica (UBC). A análise foi realizada com softwares para calcular os graus de diferenciação, similaridade e diversidade genética entre as populações. De maneira geral, os marcadores ISSR mostraram um alto polimorfismo e uma diferenciação moderada entre os grupos genéticos do Mercado Local de Campo Maior (ML) e a unidade testemunha (UT), com fixação de alguns genes na população, talvez provocada por seleção direcionada. As populações de galinhas do mercado local possuem indivíduos com menor variabilidade genética em comparação com a unidade testemunha, talvez devido ao acasalamento desordenado entre indivíduos localmente próximos. Usando os marcadores ISSR, para estudos de caracterização genética, as análises aqui realizadas apontam que os criadores e pesquisadores de galinhas do Piauí precisam ter um olhar mais cuidadoso dos cruzamentos estabelecidos na criação, pois isso pode levar à perda de diversidade genética e alelos cruciais para a adaptação ambiental dessa espécie.

Palavras-chave: Galinhas, ISSR, Diversidade Genética, Populações.

INTRODUÇÃO

As galinhas domésticas, *Gallus gallus domesticus*, também conhecidas como galinhas caipiras, ou “capoeiras”, fazem parte da ordem *Galliforme*, e família *Phasianidae*, difundidas em todo território mundial com um efetivo de cerca de 24 bilhões de cabeças (FUMIHITO *et al.*, 1996; PERRINS, 2003; FAO, 2009). Introduzida na época do descobrimento do Brasil, originária de quatro ramos genealógicos distintos, o americano, o mediterrâneo, o inglês e o asiático, por meio de práticas de manejo, adquiriu resistência a algumas doenças e se tornou adaptada ao clima local tornando-se importante fonte de renda do pequeno agricultor. Possuem hábitos diurnos e se alimentam principalmente de grãos e frutos, sendo conhecido como frango na fase juvenil, ou galo (macho) e galinha (fêmea) na fase adulta. É uma espécie panmítica de hierarquia comportamental agonística. (BARBOSA-FILHO *et al.* 2007; ROCHA, 2012).

A galinha é a principal fonte de proteína no mundo, e sua produção tradicional pode estar sendo prejudicada e gerando perda de diversidade (LEDUR *et al.*, 2007). No Brasil o número de galinhas poedeiras chega a marca de 165 milhões (IBGE, 2017). Tudo é aproveitado da galinha, a carne de frango e o ovo têm sido itens cada vez mais presentes na mesa da população brasileira, registrando, ano a ano, aumentos significativos no consumo, segundo da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2018).

A avicultura piauiense vem crescendo em um ritmo intenso com chegada de novas granjas no estado, concentrando cerca de 155.953 unidades de estabelecimento de avicultura, e mais de 10 milhões de aves, com isso mais que dobrou a produção de ovos (IBGE, 2017). Diante dessas características, a avicultura participa de forma fundamental da alimentação dos brasileiros, outro aspecto social destacável é o uso de mão-de-obra intensiva, que torna a avicultura a maior geradora de empregos de toda a agropecuária. Pois, não existe outra atividade na agricultura ou na produção animal que ocupe, direta e indiretamente, um contingente estimado em 4,5 milhões de pessoas, tornando-se um grande aliado do produtor rural (IBGE, 2017).

Devido à alta taxa de comercialização de aves, o melhoramento genético tradicional, baseado na teoria genética quantitativa, utiliza informações do fenótipo para estimar o valor genético dos indivíduos candidatos a seleção (DEKKERS, 1999). Ou seja, os criadores apenas selecionam as com perfil mais elevado características observadas nas galinhas e cruzam elas com a intenção de obter uma prole com as mesmas características, ou características melhores. Porém, é um trabalho laborioso que exige tempo e um alto custo na manutenção dos estoques, o que depende do grau de desenvolvimento do animal para a avaliação. Dessa forma, marcadores associados às características de produção que permitam uma seleção

precoce tem se tornado uma importante ferramenta nesse processo, o que tem permitido um avanço considerável no melhoramento genético animal (DE CARVALHO, 2016).

Diante disso, a aplicação de metodologias genômicas para melhoria da produção avícola ocorre por meio da inclusão de informações genotípicas em programas de melhoramento, que, de forma gradativa e cumulativa, visam melhorar a eficiência da seleção (EMBRAPA, 2014). O desenvolvimento da genética molecular e áreas afins tem possibilitado a identificação de regiões cromossômicas associadas à QTLs (*quantitative trait loci*), que controlam características quantitativas de genes que atuam especificamente no controle de característica de importância econômica. Deste modo, as informações moleculares poderão ser usadas como complemento em programas de melhoramento avícola, por meio da seleção assistida por marcadores.

Dos marcadores moleculares utilizados, os marcadores ISSR (Entre simples sequências repetidas - Inter Simple Sequence Repeat), também conhecidos como microssatélites ancorados, tem sido uma ferramenta útil na caracterização de diversos tipos de recursos genéticos, com potencial para auxiliar em programas de conservação e melhoramento genético de aves domésticas. Por serem marcadores que não demandam de conhecimento prévio do genoma, seu uso acaba tendo um baixo custo. Outra vantagem, é a melhor reprodutibilidade dos resultados (PAPLAUSKIENĖ et al 2006).

Portanto, um cenário diferente pode ser construído quando o avicultor familiar obtém direcionamentos a partir de técnicas dirigidas. Entendendo, por exemplo, como o cruzamento dirigido pode influenciar nas características econômicas, e como esse conhecimento pode ser adotado em seu plantel de galinhas caipiras com o objetivo de maximizar os resultados em seu projeto de avicultura. É nesse sentido que o presente trabalho propõe analisar a diversidade genética de galinhas *Gallus gallus domesticus*, criadas para fins comerciais, em três comunidades do estado do Piauí (Teresina, Paulistana e Campo-Maior) e três do Maranhão (Chapadinha, Itapecuru-Mirim e Brejo) visando caracterizar geneticamente via marcadores moleculares.

MÉTODOS

Amostragem da Pesquisa

Para o estudo, foram coletadas penas jovens da região peitoral de 24 galinhas oriundas da cidade de Campo Maior no estado do Piauí obtidas de criadores e/ou comerciantes do mercado dos trabalhadores rurais do município Brasil e 28 oriundas do criatório experimental da Embrapa Meio-Norte. Oriundas das comunidades do estado do Maranhão (Brejo-MA N = 5, Chapadinha-MA N = 5 e Itapecuru-Mirim-MA N = 5 e de alguns municípios piauienses

(Paulistana-PI N = 7 e Teresina-PI N = 6). O material biológico foi mantido em temperatura ambiente, dentro de envelopes plásticos hermeticamente fechados.

Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído de aproximadamente 3mm³ do bulbo de dez penas de cada galinha empregando o protocolo *HotSHOT* (TRUETT *et al.*, 2000, MONTERO-PAU, 2008). O procedimento seguiu com a adição de 50 µL de solução alcalina (NaOH 25 mM, EDTA 0,2 mM, pH=12) em tubo micro centrifuga de 200 µL. Em seguida a mistura foi submetida a 95°C, com o tempo de incubação de 10 minutos no termociclador Veriti (*Applied Biosystems*). Em seguida provocou-se choque térmico e adicionou-se em seguida 50 µL de tampão neutralizante (40 mM de Tris-HCL, pH=5), formando no final aproximadamente 100 µL de TE (pH~8,0) pronto para uso.

Amplificação do DNA genômico e genotipagem

A amplificação por PCR foi realizada empregando primers de ISSR desenvolvidos pelo *University of British Columbia*, Vancouver, Canadá (UBC 313, 822, 841, 845, 873, 884, 887 e 892). A reação de amplificação foi baseada no protocolo adaptado de PAPLAUSKIENĖ *et al.* (2006), que consiste na adição de tampão 1 X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM da mistura de dNTP, 0,3 µM de primer, 1 U Taq DNA polimerase e 3 µL de DNA extraído. Foram incluídos controles negativos para verificar a confiabilidade dos resultados obtidos. As amplificações do DNA foram realizadas no termociclador Veriti 384-well (*Applied Biosystems*), com uma fase inicial de desnaturação de 94°C por 1,5 min, seguida de 45 ciclos a 94°C por 40 segundos, com temperatura de anelamento de 36°C a 1 min e 72°C por 2 min. Em seguida o material foi submetido a uma fase de extensão final a 72°C por 5 min..

As amostras obtidas a partir da amplificação foram submetidas a eletroforese em gel de agarose 1%, coradas com GelRed 10 X (Biotium, EUA), com os fragmentos visualizados sob luz UV a fim de montar uma matriz de dados binários com identificação da presença (1) e ausência (0) dos amplicons. De forma a verificar o alcance dos fragmentos amplificados foi utilizado como referência o *ladder* de 1 kb.

Análises estatísticas

Para estimar os parâmetros de diversidade genética de Nei (h) e o Índice de Shannon (I) empregou-se o programa POPGENE v. 1.31 (YEH; YANG; BOYLE, 1999). Para inferir o Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) utilizou-se o programa GENES (CRUZ, 2006). Utilizando o programa ARLEQUIN 3.11 (EXCOFFIER *et al.*, 2005), foram realizadas as

Análises de Variância Molecular (AMOVA6–*Analysis of Molecular Variance*) que determinam a diferenciação entre as populações por meio dos valores estatísticos Φ , análogo ao Fst de Whight (1978).

A fim de determinar a relação genética entre as amostras de galinhas dos locais coletados, empregou-se o método Bayesiano, implementado pelo programa STRUCTURE v2.3.2 (PRITCHARD *et al.*, 2000). O programa foi executado a partir de 1.000.000 de repetições de cadeia de Markov de Monte Carlo (MCMC), com comprimento de queima de 500.000 interações com simulações de K indo de 1 a 8. Para estimar o número de K que mais se ajustou aos dados binários de ISSR, executou-se o programa da web HAVESTER STRUCTURE v.0.6.9 (EVANNO *et al.*, 2005). Em seguida foi calculada a média das matrizes de similaridade resultantes, referente aquelas geradas nas diferentes simulações implementado pelo programa CLUMPP v.1.1.2 (JAKOBSSON, 2007), com o resultado sendo utilizado no programa disponível na web, STRUCTURE PLOT v.2.0 (<http://omicsspeaks.com/strplot2/>), de forma a gerar o gráfico barplot final.

Para verificar se os dados convergiram para o mesmo padrão de agrupamento, com base na distância Euclidiana foi empregado a análise de coordenadas principais (PcoA) usando o pacote estatístico PAST (HAMMER *et al.*, 2001) e um método de partição iterativo implementado pelo software FLOCK, empregando todos os parâmetros na forma padrão, com simulações K de 2 a 8 (DUCHESNE; TURGEON, 2009). No caso, o melhor K será indicado pelo relatório platô realizado pelo próprio programa.

RESULTADOS

Dos oito primers ISSR testados, um total de 50 bandas foram amplificadas com consistência, com média geral de seis bandas com alcance de sete (UBC 892) a oito (UBC 873) fragmentos.

No geral, 82% dos marcadores apresentaram polimorfismo. Dividindo as amostras pelo local coletado, o índice de polimorfismo foi de 84% para a unidade testemunha (UT) e 80% para Mercado Local (ML), sendo o marcador UBC 813 com a menor taxa, e os marcadores UBC 845 e 822 com 100% de polimorfismo para as duas populações. O leve aumento de polimorfismo detectado no estoque amostral da unidade testemunha (UT) (Figura 1) reflete uma maior variedade genética explicado pela presença de diferentes subgrupos no criatório (Tabela 1). O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi de 0,279 para Mercado Local (ML) e 0,286 para unidade testemunha (UT), a diversidade genética de Nei (h) foi de 0,219 e 0,227, e o Índice de Shannon (I) 0,35 e 0,359, respectivamente. O índice de Shannon (I) (LEWONTIN, 1973) é adequado na análise de diversidade de dados dominantes, visto que não assume a ocorrência do Equilíbrio de Hardy–Weinberg (HWE).

Figura 1. Índices genéticos de diversidade e diferenciação. LP – Porcentagem de Locus Polimórficos, PIC – Conteúdo de informação polimórfica, h – Diversidade genética de Nei (NEI, 1973), I – Índice de Shannon (LEWONTIN, 1972).

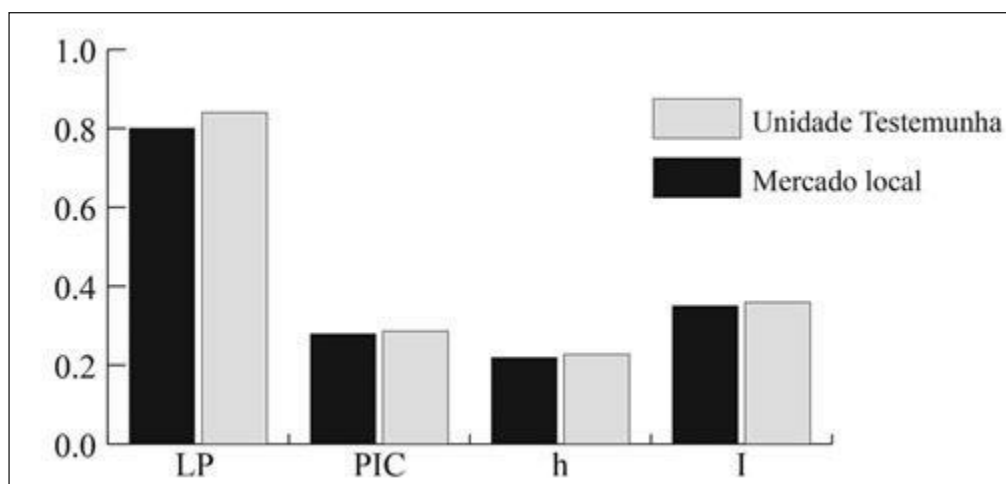


Tabela 1. Variabilidade de oito locis e estimativas de diversidade genética em frangos brasileiros. LP - Porcentagem de Locus Polimórficos, PIC - Conteúdo de informação polimórfica, h - Diversidade genética de Nei (NEI, 1973), I - Índice de Shannon (LEWONTIN, 1972), NL - Número de locos e DP - Poder discriminatório.

Primer	Geral				Mercado Local (ML)					Unidade Testemunha (UT)					Fst
	DP	PIC	h	I	NL	LP (%)	PIC	h	I	NL	LP (%)	PIC	h	I	
UBC845	0.463	0.350	0.362	0.542	6.000	100	0.339	0.329	0.497	6.000	100	0.362	0.386	0.570	-0.019
UBC873	0.381	0.253	0.284	0.447	8.000	75	0.243	0.129	0.230	6.000	100	0.262	0.200	0.321	0.268
UBC884	0.201	0.304	0.187	0.331	6.000	100	0.363	0.283	0.454	6.000	83	0.244	0.089	0.180	0.050
UBC887	0.201	0.304	0.187	0.331	6.000	100	0.363	0.283	0.454	6.000	83	0.244	0.089	0.180	0.050
UBC892	0.383	0.276	0.318	0.494	5.000	80	0.245	0.214	0.332	6.000	83	0.307	0.244	0.390	0.179
UBC313	0.235	0.184	0.215	0.370	6.000	0	0.000	0.000	0.000	6.000	100	0.369	0.345	0.527	0.188
UBC841	0.254	0.251	0.153	0.282	6.000	100	0.353	0.219	0.377	6.000	50	0.149	0.085	0.145	0.057
UBC822	0.398	0.350	0.362	0.542	6.000	100	0.339	0.329	0.497	6.000	100	0.362	0.386	0.570	-0.019
Média geral	0.315	0.283	0.260	0.418	6.125	80	0.279	0.219	0.350	6.000	84	0.286	0.227	0.359	0.216

Com os genótipos separados em Unidade Testemunha (EMBRAPA Meio-Norte) e Mercado local de Campo Maior, a AMOVA apresentou 78% de variação dentro das populações (Tabela 2), demonstrando uma variedade muito grande em ambas as populações. Já com relação à divergência entre as populações das áreas coletadas, houve uma moderada diferenciação ($F_{st} = 0,216$, p valor $< 0,05$), refletindo 22% de diferenciação entre as populações.

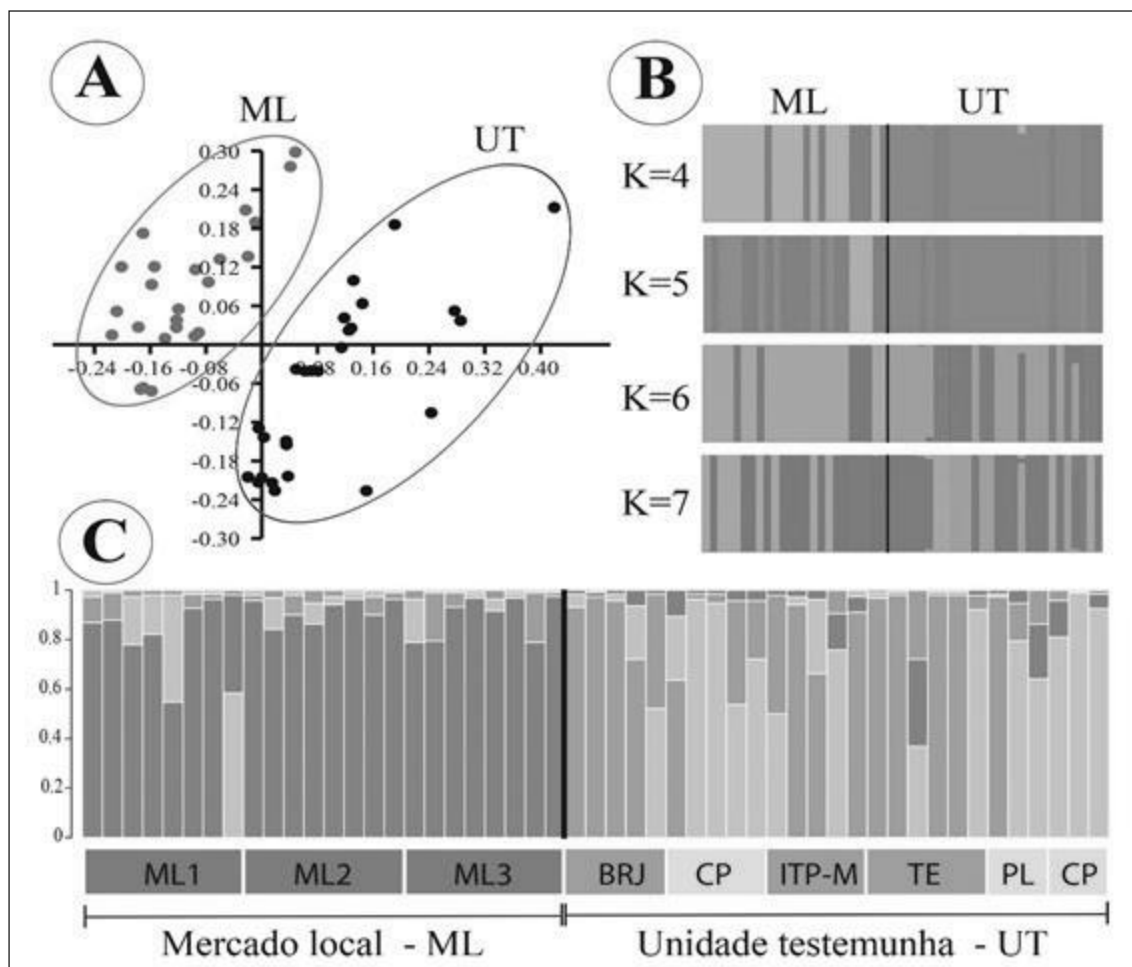
Tabela 2. Análise de Variância Molecular (AMOVA) obtida para duas populações de galinhas caipiras, usando 50 loci de marcadores ISSR.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Componentes de Variação	Variação (%) Φ Fst
Entre populações	47,268	1,60412	21,641530216
Dentro das populações	290,405	5,80810	78,35847
Total	337,673	7,41221	

Partindo do pressuposto de que as populações estejam em igual condição de equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W), por meio do método de análise Bayesiana, o programa *Structure* demonstrou a participação de três clusters (K=3) distintos no agrupamento dos genótipos (Figura 2C). As amostras coletadas em Mercado local de Campo Maior (ML) apresentaram predominância estatística do cluster de coloração verde e naquelas mantidas na unidade testemunha (UT), houve a predominância dos clusters amarelo e laranja, sendo, o primeiro comum entre os genótipos das localidades de Paulistana (PI) e Chapadinha (MA), e o último nas localidades de Brejo (MA), Itapecuru-Mirim (MA) e Teresina (PI).

Empregando o método iterativo de partição gerado pelo programa FLOCK, no qual não assume a condição de equilíbrio H-W, foi possível estimar apenas uma aproximação, sendo determinado que o melhor K está num valor maior e igual a quatro, isso equivale dizer que os resultados seriam mais conclusivos caso se utilizassem uma amostragem e/ou um número de marcadores maior (Figura 2B). Mesmo assim, é possível verificar nos gráficos barplot de ambos os softwares que os genótipos se arranjam basicamente em dois grupos distintos, corroborando com os resultados do PCoA gerado pelo programa *Past* (Figura 2A), evidenciando a diferenciação (FST= 0,216) estimada pelo programa Arlequin.

Figura 2. A – PcoA gerado pelo pacote estatístico PAST. B – Barplot gerado pelo programa FLOCK do K = 4 ao K = 7. C – Barplot gerado pelo programa Structure da simulação que melhor se ajustou aos dados (K=3). ML1, ML2 e ML3 – Criadores de galinha do Mercado Local (ML) (Piauí); BRJ – Brejo (Maranhão); CP – Chapadinha (Maranhão); ITP-M – Itapecuru-Mirim (Maranhão); PL – Paulistana (Piauí) e TE – Teresina (Piauí).



DISCUSSÃO

Os marcadores ISSR apresentaram alto grau de polimorfismo quando comparado a outros estudos usando os marcadores RAPD (SANTHOSH *et al.*, 2009). Os dados polimórficos são de extrema relevância entre análises genéticas de subpopulações, **sendo um dos estimadores que mede o grau de variabilidade das populações.** (HARTL; CLARK, 2010). Nos diferentes parâmetros referentes à diversidade genética estimados, assim como para o grau de polimorfismo, foi possível observar uma leve superioridade do plantel da unidade testemunha (UT). Este fato pode ser explicado pelo manejo adotado dentro da instituição de pesquisa para controlar a perda de diversidade em seu Núcleo de conservação, pela manutenção de genótipos de diferentes localidades., pela manutenção de genótipos de diferentes localidades..

Os dados genotípicos observados corroboram com a maioria das pesquisas com galinhas (MUCHADEYI *et al.*, 2007; CLEMENTINO, 2010), em que a variabilidade genética dentro das populações é geralmente maior que entre populações. Essa variabilidade também

pôde ser vista a nível morfométrico em um estudo anterior realizado por pesquisadores da Embrapa-Meio Norte, também com galinhas provenientes das localidades Chapadinha, Brejo e Itapecuru-Mirim, no qual foram avaliadas 22 características distintas (MENDES *et al.*, 2016).

A diferenciação entre populações observada nos resultados pode refletir prováveis fixações de alguns genes provocados pela seleção direcionada a algumas características produtivas ou por cruzamentos desordenados entre indivíduos próximos geneticamente (LEDUR, 2016). Sendo a reprodução ao acaso, trabalhos demonstram que existe dominância entre machos (FAVATI *et al.*, 2014), o que pode levar ao favorecimento de alguns alelos e, assim, ao aumento de índices de fixação (Fis, Fst, Fit) no plantel.

O resultado obtido a partir da análise Bayesiana corrobora mais uma vez com o estudo de morfometria realizado por Mendes *et al.* (2016) com amostras de algumas dessas mesmas localidades. Nesse caso são ilustrados também a contribuição de dois grupos distintos no plantel da unidade testemunha (UT). Outros autores também têm demonstrado a utilidade das inferências bayesianas para estudos a nível de caracterização genético-populacional de galinhas (ABEDE *et al.*, 2015; KUMAR *et al.*, 2015).

A partir dos marcadores ISSR foi possível caracterizar o perfil genético das populações, bem como a relação genética entre os genótipos presente nos locais de coleta. Demonstrou-se uma moderada diferenciação genética entre os locais de coleta analisados. Apesar da presença comprovada de subgrupos distintos, a população oriunda da unidade testemunha (UT), apresentou um pequeno aumento no grau de variabilidade genética em relação ao plantel do Mercado Local (ML). Dessa forma, evidencia-se a necessidade de um maior conhecimento do grau de diversidade genética da galinha caipira criada no Brasil, de forma a ser útil não só para a conservação genética desse importante recurso natural como para auxiliar na produção, de forma a potencializar sua comercialização no mercado interno e externo.

Os dados encontrados servirão como base para a realização de estudos mais aprofundados nas regiões coletadas, a fim de maior orientação zootécnica de criadores e pesquisadores, de modo a adotarem melhores estratégias de criação que auxiliem tanto na conservação como no melhoramento genético dos plantéis, evitando assim perda de diversidade e possíveis erosões genéticas (CLEMENTINO, 2010).

CONCLUSÃO

Os marcadores ISSR utilizados foram eficientes quanto à caracterização e avaliação da biodiversidade presente nas populações estudadas, bem como a estrutura e relação genética dos mesmos. A população oriunda da unidade testemunha (UT), demonstrou maior diversidade e variabilidade genética, além de refletir a distinção de dois grupos distintos dentro da população estudada. Percebe-se também que a população estudada do Mercado Local

(ML) (comercial de galinha caipira) apresentou similaridade interna alta, sendo importantes orientações para os produtores seguirem estratégias de conservação de diversidade para evitar a perda de alelos cruciais para a adaptação ambiental desse importante recurso natural.

AGRADECIMENTOS

Às instituições contribuintes neste projeto, como a CAPES no fomento à pesquisa, ao Instituto Federal do Piauí, à Universidade Federal do Piauí, e à EMBRAPA pelo apoio técnico e intelectual.

FINANCIAMENTO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

COMITE DE ÉTICA

EMBRAPA MEIO-NORTE 002/2016, sob a responsabilidade de Dra. Adriana Mello de Araújo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA EMBRAPA MEIO-NORTE, em reunião de 07/03/2016.

■ REFERÊNCIAS

1. ABPA-Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual de 2017**. 2018.
2. ABEBE, A.S.; MIKKO, S.; JOHANSSON, A.M. Genetic diversity of five local swedish chicken breeds detected by microsatellite markers. **Plos One**, v.10, p.1-13, 2015.
3. BARBOSA-FILHO, J. A. D; SILVA I. J. O; SILVA M.A. N; SILVA C. J. M. **Avaliação dos comportamentos de aves poedeiras utilizando sequência de imagens**. Engenharia Agrícola. 2007. p. 93-99
4. BARBOSA-VIEIRA, F. J; NASCIMENTO, M. P. S. B; DINIZ, F. M. **Sistema de alternativo de criação de galinhas caipiras**. EMPRAPA. Disponível em:http://www.cpamn.embrapa.br/publicacoes/new/sistemaproducao/sistemaproducao_pdf/sistemaproducao_4.pdf. Acesso em: 23 nov 2016.

5. BLANK, A. F. **Caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjeriço e alfavaca**. Brasília, Horticultura Brasileira 22 113-116., 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362004000100024. Acesso em: 30 nov. 2016.
6. CRUZ, C. D.. **Programa Genes**: estatística experimental e matrizes. UFV, 2006.
7. HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of population genetics**. 3 ed. Sunderland: Sinauer, 2010. 481p.
8. CLEMENTINO, C. S. **Caracterização genética de galinhas naturalizadas na região meio-norte do Brasil, com uso de microssatélites**. 2010. 93p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.
9. DEKKERS, J. C. M. Breeding int the 21 th century: application of molecular technology. Adv mt. anim. **Breed. Genet**, v. 13, p. 1-16, 1999.
10. DE CARVALHO, D. A. et al. **Caracterização genética e estrutura populacional de galinhas crioulas Canela-Preta**. Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2016.
11. DUCHESNE P, TURGEON J. FLOCK provides reliable solutions to the “number of populations” problem. **Journal of heredity advance access published**, p. 1-10, 2012.
12. EMBRAPA. Frango de Corte. 2014. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/frango_de_corte/arvore/CONT000g2g95k4602wx5ok0ghx3a9mlxjauh.html. Acesso em: 09 dez 2016.
13. ROCHA, B. R. A. **Estabelecimento de hierarquia social por meio de ordem de bicadas em Gallus gallus domesticus (Galliformes: Aves)**. 2012. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
14. EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J.. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.
15. MUCHADEYI, F.C.; EDING, H.; WOLLNY, C.B.A.; GROENEVELD, E.; MAKUZA, S.M.; SHAM-SELDIN, R.; SIMIANER, H.; WEIGEND, S. Absence of population substructuring in Zimbabwe chicken ecotypes inferred using microsatellite analysis. **Animal Genetics**, v.38, p.332-339, 2007.
16. EXCOFFIER, L.; LISCHER, E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.
17. FILHO, E. K. Melhoramento genético animal no Brasil: Fundamentos, história e importância. EMBRAPA, Nov. 1999. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/DOC075_000fnrfzsai02wyiv8065610d7p9we78.pdf. Acesso em: 30 nov 2016.
18. KOURY FILHO, W. **Mitos e realidades sobre consanguinidade ou endogamia**. São Paulo, out. 2002. Disponível em: <http://www.uel.br/pessoal/rogerio/genetica/textos/endocruzamento.pdf>. Acesso em: 01 dez 2016.
19. FAO. Food and Agriculture Organization. **The state of food insecurity in the world**. With the World Food Program of the United Nations. 2009.
20. FUMIHITO, A. et al. Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 13, p. 6792-6795, 1996.

21. HAMMER, Øyvind; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST - Paleontological statistics software package for education and data analysis, v. 2.2. **Palaeontologia Electronica**, v. 25, n. 07, 2001.
22. HOLSINGER, K. E.; LEWIS, P. O.; DEY, D. K. A Bayesian method for analysis of genetic population structure with dominant marker data. **Mol Ecol**, v. 11, n. 7, p. 1157-1164, 2002.
23. IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário** Nov. 2017. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pi&tema=censoagro>. Acesso em: 09 dez. 2016.
24. JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N. A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. **Bioinformatics**, v. 23, n. 14, p. 1801-1806, 2007.
25. KUMAR, V.; SHUKLA, S. K.; MATHEW, J.; SHARMA, D. Genetic diversity and population structure analysis between indian red jungle fowl and domestic chicken using microsatellite markers. **Animal biotechnology**, v.26, p.201-210, 2015.
26. LEDUR, C. M. et al. **O uso de marcadores moleculares na produção de aves**. Brasília: EMBRAPA, nov. 2007. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/uso_de_marcadores_moleculares_na_producao_de_aves_000fzflp8vo02wx5ok0cpoo6antcdx45.pdf. Acesso em: 30 nov 2016.
27. LEWONTIN, R. C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, v. 6, p. 381-398, 1972.
28. MENDES, R. R. et al. **Características fenotípicas de galinhas caipiras (Gallus gallus domesticus) criadas no Maranhão**. In: Embrapa Meio-Norte-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA MEIO-NORTE, 2., 2016, Teresina. Anais da II Jornada Científica da Embrapa Meio-Norte. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2016., 2016.
29. MONTERO-PAU, J.; GÓMEZ, A.; MUÑOZ, J.. Application of an inexpensive and high-throughput genomic DNA extraction method for the molecular ecology of zooplanktonic diapausing eggs. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 6, n. 6, p. 218-222, 2008.
30. NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics**. Columbia University Press, New York, 1987.
31. PAPLAUSKIENĖ, V. et al. The use of ISSR method for the assessment of bee genetic diversity. **Biologija**, n. 3, 2006.
32. PERRINS, C. M. **Firefly encyclopedia of birds**. Firefly Books, Buffalo, 640 p. 2003.
33. PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P.. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.
34. SANTHOSH, W. G. et al. Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. **Scientia Horticulturae**, v. 120, n. 3, p. 411-417, 2009.
35. TRUETT, G. E. et al. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). **Biotechniques**, v. 29, n. 1, p. 52-54, 2000.
36. YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. POPGENE v. 1.31. **Microsoft window-bases freeware for population genetic analysis**. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research. Canada Google Scholar, 1999.