

FREQUÊNCIA ALÉLICA E GENOTÍPICA DE POLIMORFISMO NO GENE RECEPTOR DA LEPTINA (LEPR) EM DUAS LINHAGENS DE AVES (*Gallus gallus*)

Fongaro, G.¹; Peri, E.¹; Tessmann, A. L.²; Ribeiro, J. B.²; Peixoto, J. O.²; Ledur, M. C.²

¹Graduanda do Curso de Ciências Biológicas, Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Bolsista na Embrapa CNPQ / PIBIC. E-mail: gislainefongaro@hotmail.com

²Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: gene candidato; marcador molecular; caracterização molecular.

Introdução

A caracterização molecular das linhagens de aves existentes, a relação genética entre elas, bem como o conhecimento de suas origens genéticas são importantes para obtenção de subsídios para programas de melhoramento, manejo e conservação das linhagens de aves utilizadas no Brasil.

Uma importante forma de caracterização genética é a caracterização das linhagens para genes candidatos conhecidos associados a características de interesse econômico. O gene *receptor da leptina* (LEPR) está associado à deposição de gordura em galinhas sendo, por esse motivo, considerado gene candidato (1). Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as frequências alélicas e genotípicas de um marcador no gene receptor da leptina em duas linhagens de aves (*Gallus gallus*).

Material e Métodos

No presente estudo foram utilizadas duas linhagens de aves sendo uma a linhagem de postura de ovos castanhos GG pertencente ao Banco de Germoplasma da Aves da Embrapa Suínos e Aves e outra a linhagem híbrida de corte Cobb 500. O sangue de 50 animais de cada linhagem foi coletado para a extração de DNA genômico com Kit DNAzol^R (Invitrogen). Posteriormente realizou-se quantificação do DNA por meio de espectrofotometria e diluiu-se o DNA para a concentração de uso: 25ng/μL.

Através da técnica já padronizada pelo Laboratório de Genética Animal – Embrapa Suínos e Aves realizou-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), tendo um volume final de 25μL, amplificando-se o fragmento do gene do Receptor da Leptina com o seguinte conjunto de primers: LEPR F: 5' TCTGGAGTGAATGGAGCACA 3' e LEPR R: 5' GCTACGCTCTGGGTTTTGTT 3'. As condições de amplificação foram as seguintes: 95°C por 6 minutos, seguido por 32 ciclos com as seguintes condições: 95°C por 1 minuto, 60°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, e uma etapa de extensão final a 72°C por 10 minutos.

Para a clivagem utilizou-se a enzima BsrGI, que reconhece e cliva o polimorfismo A>G; Na reação foram utilizados 12,5 μL do produto de PCR, 0,25 μL da enzima BsrGI (1U/μL), 2,0 μL de Buffer 10X e 5,5 μL de água ultra-pura. Os padrões de bandas possíveis e seus respectivos genótipos estão dispostos na Figura 1.

A reação foi incubada a temperatura de 60° C por 2 horas. Todo material da reação de clivagem foi submetido a eletroforese em gel de agarose 1% e visualizado por meio de luz UV. Os genótipos foram obtidos e posteriormente, calculou-se as frequências (alélica e genotípica), dos genótipos possíveis nessas duas linhagens industriais.

Resultados e Discussão

Foi possível amplificar o fragmento esperado de aproximadamente 940 pb do gene Receptor Leptina. Na Figura 1 está apresentado o padrão observado na técnica de PCR-RFLP.

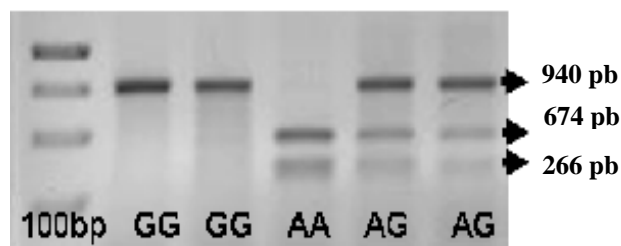


Figura 1. Padrão de bandas clivadas pela enzima BsrGI e seus respectivos genótipos.

As frequências alélicas e genotípicas estão apresentadas na Tabela 1. Verificou-se que os animais avaliados para o polimorfismo LEPR A>G da Linhagem GG apresentaram os três genótipos possíveis (AA, GG e AG), já a linhagem Cobb 500 não apresentou variação genotípica, estando o alelo G fixado.

Tabela 1. Frequência genotípica dos indivíduos genotipados para o Receptor da Leptina.

Linhagem	Frequência Alélica	Frequência Genotípica
GG	78% G 22% A	65% GG 7% AA 28% AG
Cobb 500	100% G 0% A	100% GG 0% AA 0% AG

O levantamento das frequências alélicas de genes candidatos é importante para se caracterizar geneticamente as linhagens em estudo a fim de auxiliar na manutenção da máxima variabilidade possível dentro de suas populações e o uso sustentável destes recursos genéticos animais. Uma vez que a diversidade genética é fundamental para o melhoramento genético de aves.

Conclusões

Existe variabilidade entre as linhagens para o marcador no gene LEPR, estando esse polimorfismo segregando na linhagem GG e fixado na linhagem comercial Cobb 500. A perspectiva é que esse trabalho se estenda a futuras análises caracterização genética utilizando diversas linhagens de galinha buscando evidenciar o potencial das linhagens nacionais no melhoramento genético.

Referências

- NINOV, K., LEDUR, M. C., ALVES, H. J., ROSÁRIO, M. F., NONES, K., COUTINHO, L. L. *Investigation of leptin gene in broiler and layer chicken lines. Scientiae Agrícola*, v.65, n.2, p.214-219, 2008.