

CAPÍTULO 3

Marcadores moleculares para características produtivas em frangos de corte

Jane de Oliveira Peixoto
Arlei Coldebella
Fátima Regina Ferreira Jaenisch
Alexandre Luis Tessmann
João Batista Ribeiro
Marcelo Batista Fornari
Jorge Augusto Petroli Marchesi
Karina Luzia Neis
Gislaine Fongaro
Edimara Peri
Mônica Corrêa Ledur

Introdução

O grande avanço na geração de conhecimentos sobre os genomas vem contribuindo para decifrar parte do controle genético de características de interesse econômico. A identificação de marcadores moleculares associados a essas características importantes, como as características produtivas, tem sido objeto de muitas pesquisas. Inúmeros marcadores estão em fase de desenvolvimento, principalmente em populações segregantes F₂, visando a implementação de informações genômicas em complemento aos métodos tradicionais de avaliação genética em programas de melhoramento. Contudo, os resultados obtidos em populações experimentais precisam ser validados em linhas puras, que são a base para formação dos rebanhos comerciais. Portanto, a validação, que é uma etapa importante para a incorporação da tecnologia dos marcadores na avaliação genética, foi o objeto dessa pesquisa.

Objetivos

- Validar em linha elite de frango corte marcadores nos genes ACTA1 (alfa actina 1), GHRL (grelina) e LEPR (receptor da leptina);
- Formar um banco de dados fenotípicos e de DNA de uma linha pura paterna de frango de corte.

Resultados e discussão

A população utilizada foi obtida pela expansão de uma linhagem paterna de frango de corte (TT) pertencente ao Programa de Melhoramento Genético de Aves da Embrapa Suínos e Aves. Foram utilizados pintos de um dia de idade, de ambos os sexos, provenientes de cinco incubações. Aos 42 dias de idade, 1.465 aves foram abatidas. Essa população apresenta banco de DNA genômico, registro de pedigree e banco fenotípico com 80 características de interesse para a avicultura, entre elas características de desempenho, carcaça e de integridade óssea.

Nesse estudo foram investigados marcadores nos genes ACTA1, GHRL e LEPR, identificados previamente na população segregante F2 da EM-BRAPA (NINOV et al., 2008 e PEIXOTO et al., 2008). Os marcadores ACTA1 e LEPR são SNPs e foram genotipados pela técnica de PCR-RFLP (polimorfismo no tamanho de fragmento de restrição) e o marcador GHRL é um INDEL e foi genotipado na própria amplificação.

As análises descritivas, de parâmetros genéticos (herdabilidades e correlações) e de associação entre o polimorfismo e as características fenotípicas foram realizadas utilizando-se o programa QxPak (PEREZ-ENCISO; MISZTAL, 2004), que utiliza procedimentos de máxima verossimilhança. De acordo com a observação dos desvios-padrão e dos valores mínimos e máximos para cada característica, existe variabilidade fenotípica considerável entre os indivíduos dessa população, apesar da seleção praticada dentro de linha desde 1992. Isso demonstra que a variabilidade se mantém dentro de linhagens, mesmo em populações intensamente selecionadas em programas de melhoramento genético. Esse fato também fica evidente com a existência de herdabilidades moderadas para muitas das características analisadas. Como exemplo, na Tabela 1, são apresentadas as herdabilidades e correlações genéticas entre as características de desempenho. Possivelmente, essa variabilidade fenotípica, causada por variações genômicas, permite identificar genes e marcadores associados às características de interesse, uma vez que a existência de variabilidade indica a segregação de alelos nas populações. Resultados importantes foram apresentados nas publicações geradas nesse projeto: Peixoto et al. (2010a) apresentou a avaliação genética das características de desempenho nessa população referência, concluindo que existe variabilidade genética considerável entre os indivíduos TT para as características de crescimento. Venturini et al. (2010) apresentou os parâmetros genéticos conversão alimentar e os rendimentos de coxa, sobrecoxa e peito. De acordo a observação de herdabilidades moderadas para os rendimentos dos cortes, concluiu-se que existe resposta à seleção para o maior rendimento desses cortes na população TT. Cruz et al. (2011) geraram estimativas de parâmetros genéticos para peso corporal, gordura abdominal e peso de peles.

Observou-se que a seleção para P42 poderá aumentar a deposição de gordura na carcaça e nas peles, o que não é desejável para a indústria, o mercado consumidor e para o ambiente.

Tabela 1. Herdabilidades e correlações genéticas entre as características de desempenho¹

Características	PNAS	P21	P35	P41	P42	PPSD	PCR
PNAS	0,66	0,38	0,20	0,18	0,18	0,18	0,16
P21		0,31	0,77	0,66	0,65	0,63	0,65
P35			0,28	0,93	0,92	0,91	0,92
P41				0,25	0,98	0,97	0,95
P42					0,24	0,99	0,97
PPSD						0,25	0,98
PCR							0,24

¹Herdabilidades na diagonal e correlações genéticas acima da diagonal.

PNAS - peso ao nascer, P21 - peso aos 21 dias de idade, P35 - peso aos 35 dias de idade, P41 - peso aos 41 dias de idade, P42 - peso aos 42 dias de idade; PPSD - peso pós sangria e depena, PCR - peso da carcaça resfriada.

A estimação dos parâmetros genéticos de uma população é fundamental para se obter informações sobre a natureza da ação dos genes envolvidos na herança dos caracteres e estabelecer a base para a escolha dos métodos de melhoramento genético mais convenientes. De acordo com Campos e Pereira (1999), a quantificação da variação genética aditiva das características, indicada pelas herdabilidades, e as associações genéticas entre as características, fornecidas nas correlações genéticas, permitem estabelecer estratégias de melhoramento animal e o monitoramento da variabilidade genética dos indivíduos de uma população. Além das contribuições no melhoramento, o conhecimento desses parâmetros populacionais pode subsidiar a interpretação de resultados de análises genômicas para identificação de regiões de interesse, principalmente, nas abordagens de análise de *loci* que controlam características quantitativas (QTLs) e de genes candidatos.

No estudo de validação dos genes candidatos, os três genótipos possíveis foram encontrados na população avaliada, indicando que os marcadores estão segregando satisfatoriamente na linha pura TT. Os padrões de fragmentos obtidos para os marcadores na eletroforese estão apresentados na Figura 1. As frequências gênicas e genotípicas são apresentadas na Tabela 2. A elevada heterozigotidade é uma excelente característica dos marcadores ACTA1 e GHR. Verificou-se que o alelo menos frequente foi o G do marcador LEPR (22,09%), sendo a frequência do homozigoto GG igual a 4,85%. Os alelos apresentaram boa segregação na população. Essas frequências garantem a precisão nas análises estatísticas e permitem que o valor aditivo de cada marcador possa ser calculado, uma vez que este é obtido por meio de contrastes entre os homozigotos.

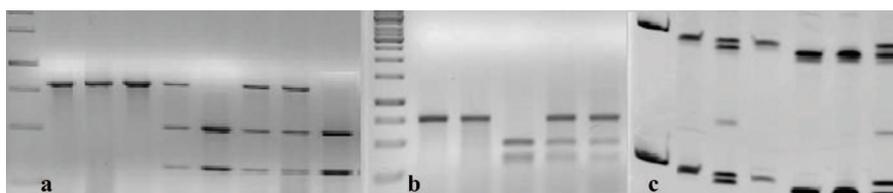


Figura 1. Padrões de fragmentos dos marcadores ACTA1(a), LEPR (b) e GHRL (c) e seus respectivos genótipos

Quanto à validação dos três marcadores estudados, com base na análise de associação, concluiu-se que: o polimorfismo no gene da grelina não apresenta associação com características de grande relevância nessa população; o marcador genético ACTA1 apresenta associação com a deposição de carne na sobrecoxa e no peito, que são características importantes na avicultura de corte (VENTURINI et al., 2011); o polimorfismo LEPR apresenta associação com características de crescimento e de carcaça em frangos de corte. Esses resultados estão apresentados nas publicações geradas nesse projeto (PEIXOTO et al., 2010b).

Tabela 2. Frequências gênicas e genotípicas dos marcadores ACTA1, GHRL e LEPR

Marcador	Frequência gênica (%)		Frequência genotípica (%)		
ACTA1	65,73 (G)	34,27 (C)	41,58 (GG)	48,30 (GC)	10,12 (CC)
GHRL ¹	59,06 (A)	40,94 (B)	34,74 (AA)	48,64 (AB)	16,62 (BB)
LEPR	77,91 (A)	22,09 (G)	60,68 (AA)	34,47 (AG)	4,85 (GG)

¹Alelos do marcador GHRL: a – alelo com a inserção e b – alelo com a deleção.

Tecnologia gerada

Insumo agropecuário: Desenvolvimento de uma população referência para validação de estudos genômicos e descoberta de genes em frango de corte

A população referência foi desenvolvida para a validação de resultados obtidos nas pesquisas em genômica de aves, principalmente, frango de corte. A população foi formada pelo acasalamento de 20 machos com 92 fêmeas. Aos 42 dias de idade, 1.465 aves de ambos os sexos foram abatidas e várias características fenotípicas mensuradas. Essa população apresenta banco de DNA genômico, registro de pedigree e banco fenotípico com características de interesse para a avicultura. Além disso, foram estimados seus parâmetros genéticos. De acordo com a observação dos desvios-padrão e a existência de herdabilidades moderadas para as características de desempenho e outras características de cortes de carcaça e peso de órgãos, existe variabilidade fenotípica considerável entre os indivíduos dessa população. Os dados dessa população referência poderão ser utilizados por instituições nacionais ou internacionais, mediante convênios e parcerias com a Embrapa Suínos e Aves, tanto para validação de marcadores como para descoberta de genes, sendo úteis para uso em programas de melhoramento genético e também para o avanço do conhecimento.

Principais publicações

CRUZ, V. A. R.; VENTURINI, G. C.; PEIXOTO, J. O.; LEDUR, M. C.; SCHMIDT, G. S.; MUNARI, D. P. Estimativas de parâmetros genéticos para peso corporal, gordura abdominal e peso de peles em linhagem pura de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA FACTA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2011, Santos, SP. **Anais...** Santos: FACTA, 2011. Trabalhos de Pesquisa José Maria Lamas da Silva. 1 CD-ROM.

PEIXOTO, J. O., SAATKAMP, M. G., TESSMANN, A.L., FIGUEIREDO, E. A. P., MUNARI, D. P., LEDUR, M. C. Avaliação genética de características de desempenho em população referência para validação de estudos genômicos em frango de corte. In: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 8., 2010, Maringá, PR. **Anais...** Maringá: SBMA, 2010a.

PEIXOTO, J. de O.; PERI, E.; NINOV, K.; JARDIN, S.N.; FONGARO, G.; COUTINHO, L.L.; LEDUR, M.C. Validação do marcador molecular LEPRI A>G para características de crescimento em linhagem paterna de frango de corte. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., 2010. Maringá, PR. **Anais...** Maringá: SBMA, 2010b. 1 CD-ROM.

VENTURINI, G. C.; GROSSI, D. A.; BUZANSKAS, M. E.; EL FARO, L.; LEDUR, M. C.; SCHMIDT, G. S.; MUNARI, D. P. Genetic evaluation of body weight, skin and carcass yield of broilers. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 9. 2010, Leipzig. Abstracts. Leipzig: Gesellschaft fur Tierzuchtwissenschaften, 2010. p. 256.

VENTURINI, G. C.; CRUZ, V. A. R.; SOUZA, C. G.; LEDUR, M. C.; PEIXOTO, J. O.; MUNARI, D. P. Validation of a molecular marker in the alpha-actin 1 gene for performance and carcass traits in broilers. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 57., 2011. **Resumos.** Águas de Lindóia: SBG, 2011. p.185.

Considerações finais

- Os marcadores moleculares LEPR e ACTA1 foram validados na linha pura TT. As associações evidenciadas indicam que esses marcadores apresentam potencial uso em programas de melhoramento de aves.
- Existe variabilidade genética considerável entre os indivíduos TT para as características analisadas, indicando o potencial dessa população para validar resultados em genômica aplicados a frango de corte.

Referências

- CAMPOS, E. J.; PEREIRA, J. C. C. Melhoramento genético das aves, In: PEREIRA, J, C, C, **Melhoramento genético aplicado a produção animal**. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 1999. p. 284-314.
- CRUZ, V. A. R.; VENTURINI, G. C.; PEIXOTO, J. O.; LEDUR, M. C.; SCHMIDT, G. S.; MUNARI, D. P. Estimativas de parâmetros genéticos para peso corporal, gordura abdominal e peso de peles em linhagem pura de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA FACTA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2011, Santos, SP. **Anais...** Santos: FACTA, 2011. Trabalhos de Pesquisa José Maria Lamas da Silva. 1 CD-ROM.
- NINOV, K.; LEDUR, M. C.; NONES, K.; COLDEBELLA, A.; BERTOL, T. M.; CAETANO, A. R.; COUTINHO, L. L. Polimorfismo de base única (SNP) no gene do receptor da leptina associado com características de rendimento e composição de carcaça de galinhas. In: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 7., 2008, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: SBMA, 2008.
- PEIXOTO, J. O.; JARDIM, S. N.; AMAZONAS, E. A.; ALVES, H. J.; COUTINHO, L. L.; LEDUR, M. C. Associação entre polimorfismo no gene da alfa actina e características produtivas em galinha. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2008, Santos, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2008.

PEIXOTO, J. O.; SAATKAMP, M. G.; TESSMANN, A. L.; FIGUEIREDO, E. A. P.; MUNARI, D. P.; LEDUR, M. C. Avaliação genética de características de desempenho em população referência para validação de estudos genômicos em frango de corte. In: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 8., 2010, Maringá, PR. **Anais...** Maringá: SBMA, 2010a.

PEIXOTO, J. de O.; PERI, E.; NINOV, K.; JARDIN, S. N.; FONGARO, G.; COUTINHO, L. L.; LEDUR, M. C. Validação do marcador molecular LEPRI A>G para características de crescimento em linhagem paterna de frango de corte. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., 2010. Maringá, PR. **Anais...** Maringá: SBMA, 2010b. 1 CD-ROM.

PÉREZ-ENCISO, M.; MISZTAL, I. Qxpk: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. **Bioinformatics**, v. 20, p. 2792-2798, 2004.

VENTURINI, G. C.; GROSSI, D. A.; BUZANSKAS, M. E.; EL FARO, L.; LEDUR, M. C.; SCHMIDT, G. S.; MUNARI, D. P. Genetic evaluation of body weight, skin and carcass yield of broilers. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 9. 2010, Leipzig. **Abstracts**. Leipzig: Gesellschaft fur Tierzuchtwissenschaften, 2010. p. 256.

VENTURINI, G. C.; CRUZ, V. A. R.; SOUZA, C. G.; LEDUR, M. C.; PEIXOTO, J. O.; MUNARI, D. P. Validation of a molecular marker in the alpha-actin 1 gene for performance and carcass traits in broilers. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 57., 2011. **Resumos**. Águas de Lindóia: SBG, 2011. p.185.