

CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DE LINHAGEM DE CORTE E POSTURA EMPREGANDO CHIP DE 60 k EM REGIÃO PLEIOTRÓPICA DO CROMOSSOMO 1

MF Rosário^{1*}, DB Attílio¹, RA Brassaloti¹, MC Ledur², LL Coutinho¹

¹ Departamento de Zootecnia - ESALQ/USP

² Embrapa Suínos e Aves

Piracicaba - SP - Brasil - millor@usp.br

Introdução

Um QTL pleiotrópico associado a 9 características foi mapeado por (3) no cromossomo 1 empregando apenas 26 microssatélites em animais F₂ (corte x postura). A saturação desta região genômica é de interesse para que o mapeamento fino e testes de associação possam ser implementados.

A partir do desenvolvimento do chip de 60 k pelo Consórcio Cobb-Vantress, USDA e Hendrix Genetics (1) tem sido possível cobrir todo o genoma da galinha com SNPs. Além disso, a caracterização das linhagens fundadoras empregando estes SNPs é um primeiro passo a fim de aprimorar a detecção de QTL e testes de associação.

Portanto, nosso objetivo foi caracterizar genotipicamente os animais das linhagens de corte e postura da população TCTC empregando o chip de 60 k em região pleiotrópica descrita por (3).

Material e Métodos

Foram genotipados 6 machos da linhagem de corte (TT) e 6 fêmeas da linhagem de postura (CC) utilizando-se o chip de 60 k. Estes animais foram os fundadores da população TCTC, desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves em parceria com a ESALQ/USP a fim de mapear QTL e genes candidatos.

O DNA de cada animal foi extraído seguindo protocolo do reagente DNAzol (tiocianato de guanidina), quantificado em fluorímetro Qubit 2.0 e diluído a 50 ng.µL⁻¹. As genotipagens seguiram os protocolos do equipamento Illumina HiScanSQ (http://support.illumina.com/documents/MyIllumina/05340b1f-c179-495d-b790-fa91ecbb6ff2/Inf_HD_Super_Assay_UG_11322427_RevC.pdf).

As análises dos genótipos obtidos foram conduzidas no programa GenomeStudio (http://medicine.yale.edu/keck/ycga/Images/GenomeStudio_GT_Module_v1.0_UG_11319113_RevA_tcm240-21464.pdf) em que foi selecionada apenas a região entre 67 e 71 Mb do cromossomo 1, onde o QTL pleiotrópico foi mapeado por (3).

Os parâmetros avaliados foram: genótipos perdidos, distância média entre SNPs (máximo e mínimo), *Minor Allele Frequency* (MAF – Menor Frequência Alélica) e tipo de SNP, ou seja, transversões (purina/pirimidina – A/C ou T/G) e transições (purina/purina – A/G ou pirimidina/pirimidina – C/T).

Resultados e Discussão

Este é o primeiro emprego do chip de 60 k no Brasil e a perspectiva é que esta iniciativa permita que estratégias genômicas baseadas no mapeamento fino e testes de

associação, cobrindo todo o genoma da galinha, possam ser efetivamente implementadas.

Ao todo foram obtidos 2244 genótipos (12 animais x 187 SNPs) dos quais 40 (1,78%) não foram detectados. Portanto, a taxa de sucesso na genotipagem foi de 98,22%.

Na região alvo (~ 4 Mb) foram identificados 187 SNPs, cuja distância média entre eles foi de 21,3 kb, com máxima de 41,0 kb e mínima de 1,8 kb.

Na linhagem TT, dos 187 SNPs, 20 (10,7%) apresentaram MAF=0 e 167 apresentaram MAF>0,05 (89,3%); já na linhagem CC, dos 187 SNPs, 74 (39,5%) apresentaram MAF=0 e 113 apresentaram MAF>0,05 (60,5%) (Tabela 1).

Os SNPs com MAF=0 foram considerados fixados, sendo que dos 20 identificados em TT, 11 (55%) também foram evidenciados em CC, porém com o mesmo genótipo em ambas as linhagens, não indicando alelos divergentes e específicos para cada linhagem.

O tipo de polimorfismo mais frequente foram as transversões (A/C + T/G) com ~ 87% e as transições (A/G + T/C) com ~ 13% (Tabela 1).

O maior número de SNPs com MAF=0 em CC (~ 4 vezes mais) frente à TT indica que CC possui mais alelos fixados e, conseqüentemente, menor variabilidade genotípica que TT. Este resultado coincide com os de (2) que, empregando 34 microssatélites posicionados nos cromossomos 1, 3 e 4, evidenciaram que CC apresentou menor PIC (0,39) e número alelos (3,12) em relação à TT (0,49 e 3,91).

Conclusão

O emprego do chip de 60 k permitiu a caracterização das linhagens de corte e postura fundadoras da população F₂ em região pleiotrópica do cromossomo 1. Assim, será possível selecionar os SNPs mais informativos para a genotipagem dos animais F₂ e implementar o mapeamento fino e testes de associação.

Agradecimentos

A FAPESP (2012/03941-8), ao CNPq (477468/2010-1 e 309310/2012-1) e ao PRODETAB/Embrapa pelo auxílio financeiro.

Bibliografia

1. Groenen MAM. et al. BMC Genomics 2011; 12: 274.
2. Rosário MF. et al. Scientia Agricola 2009; 66: 150-158.
3. Rosário MF. et al. Proceedings of ISAG 2012; 1. CD-ROM.

Tabela 1 – Número de SNPs identificados em função da *Minor Allele Frequency* (MAF) e tipo de SNP nas linhagens de corte (TT) e de postura (CC)

| Linhagem | MAF=0 | | | | Total | MAF>0,05 | | | | Total |
|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| | A/C ^a | T/G ^a | A/G ^b | T/C ^b | | A/C ^a | T/G ^a | A/G ^b | T/C ^b | |
| TT | 2 | 1 | 6 | 11 | 20 | 12 | 9 | 77 | 69 | 167 |
| CC | 7 | 3 | 30 | 34 | 74 | 7 | 7 | 53 | 46 | 113 |
| Total | 9 | 4 | 36 | 45 | 94 | 19 | 16 | 130 | 115 | 280 |

^atransversão (A/C ou T/G); ^btransição (A/G ou T/C)