

## *VII Simposio Brasileiro de Melhoramento Animal* *São Carlos, SP, 10 e 11 de julho de 2008*

### **Mapeamento fino de uma região associada a QTLs no cromossomo 1 da galinha<sup>1</sup>**

Clarissa Boschiero<sup>2</sup>, Kátia Nones<sup>3</sup>, Millor Fernandes do Rosário<sup>3</sup>, Mônica Corrêa Ledur<sup>4</sup>,  
Luiz Lehmann Coutinho<sup>3</sup>, Ana Silvia Alves Meira Tavares Moura<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Este projeto recebeu apoio financeiro do CNPq

<sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Departamento de Produção Animal, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, bolsista FAPESP (processo 06/54862-0), email: clarissaboschi@yahoo.com

<sup>3</sup>Laboratório de Biotecnologia Animal, Departamento de Zootecnia, ESALQ/USP, Piracicaba, SP, emails: nonesk@crop.cri.nz, mfrosari@esalq.usp.br e llcouthin@esalq.usp.br

<sup>4</sup>Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, email: mledur@cnpas.embrapa.br

<sup>5</sup>Departamento de Produção Animal, FMVZ/UNESP, Botucatu, SP, email: anamoura@fca.unesp.br

**Resumo** – O objetivo deste estudo foi realizar o mapeamento fino de uma região do cromossomo 1 da galinha, onde foram previamente mapeados QTLs para pesos vivos e de órgãos. Seis novos marcadores microssatélites foram adicionados à região-alvo previamente genotipada com dez marcadores. Foram analisados peso vivo aos 35 e 41 dias, pesos e rendimentos do coração e pulmões. Foram mapeados QTLs para todas as características, com exceção dos rendimentos, todos localizados em um único intervalo de marcadores, podendo se tratar de um QTL pleiotrópico ou então, de vários QTLs ligados.

**Palavras-chave:** galinha, mapeamento fino, marcadores, QTL, peso vivo

### **Fine mapping of a region associated to QTLs on chicken chromosome 1**

**Abstract** – The objective of this study was to fine map a region of chicken chromosome 1 where QTL were mapped for body and organs weight. Six new microssatellite markers were added to the target region, along with 10 markers previously genotyped. Body weight at 35 and 41 days, weights of heart and lungs and percentage of heart and lungs relative to body weight at 42 days were analyzed. QTLs were mapped for all the traits analyzed, with the exception of percentages of heart and lungs. All QTL were mapped to a single interval suggesting a single pleiotropic QTL or several linked QTL.

**Keywords:** chicken, body weight, fine mapping, marker, QTL

### **Introdução**

A galinha doméstica tornou-se uma fonte fundamental de proteína de alta qualidade para a população humana, através da sua carne e ovos; além disso, é utilizada como importante modelo biológico em estudos envolvendo diversas abordagens genômicas, dentre elas o mapeamento de QTLs (Carre et al. 2006). Com a identificação de numerosas regiões de QTLs (locos de características quantitativas) em animais de produção, o passo seguinte na busca pelos genes de efeito maior, associados às características de interesse

comercial, tem sido o mapeamento fino. O objetivo desta abordagem é a escolha de uma região-alvo onde está localizado o QTL, reduzindo o intervalo através do aumento do número de animais genotipados ou no número de marcadores.

No estudo realizado por Nones et al. (2006), em uma população  $F_2$  experimental de galinhas desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves, foram mapeados QTLs para peso aos 35 e 41 dias e pesos dos pulmões e coração numa região de 82,3 cM, entre os marcadores *ADL0234* e *LEI0071*, no cromossomo 1 (Figura 1B). O objetivo deste trabalho foi aumentar o número de marcadores microssatélites genotipados e refinar o mapeamento de QTLs desta região do cromossomo 1, previamente identificada por nosso grupo, buscando melhorar as estimativas, tanto das posições dos QTLs, quanto dos seus respectivos intervalos de confiança.

### Material e Métodos

A população experimental  $F_2$  foi desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves, a partir do cruzamento de sete machos de uma linhagem de corte e sete fêmeas de uma linhagem de postura. A geração  $F_2$  totalizou 2063 aves, produzidas em 17 incubações. Deste total, 653 animais pertencentes a sete famílias de irmãos completos foram utilizados neste estudo. As aves foram criadas como frangos de corte até os 42 dias de idade e abatidas. Amostras de sangue foram colhidas ao abate e armazenadas para extração de DNA.

A região-alvo do cromossomo 1 estudada foi definida a partir dos resultados de Nones et al. (2006) que mapearam QTLs para pesos vivos e pesos de órgãos entre os marcadores *ADL0234* e *LEI0071*, usando dez marcadores neste intervalo (Figura 1B), abrangendo uma distância de 82,3 cM. No presente estudo, os mesmos animais  $F_2$  pertencentes às sete famílias foram genotipados com seis novos marcadores nesta região (Figura 1C). Reações de PCR individuais foram realizadas para cada marcador com iniciadores marcados com fluorescência. As genotipagens foram realizadas utilizando o sequenciador MegaBACE (*GE Healthcare*). As características avaliadas foram: peso vivo aos 35 (PV35), peso vivo aos 41 dias de idade (PV41), peso vivo aos 42 dias (PV42), peso do coração (Pcor), peso do coração ajustado pela covariável peso aos 42 dias (Pcor aj), peso dos pulmões (Ppul) e peso dos pulmões ajustado (Ppul aj). Foram calculados os rendimentos do coração ( $R_{cor} = \text{peso do coração}/PV42*100$ ) e dos pulmões ( $R_{pul} = \text{peso dos pulmões}/PV42*100$ ).

Na construção do mapa de ligação foram utilizados os genótipos dos seis novos marcadores em conjunto com os genótipos de outros dez marcadores previamente obtidos por Nones et al. (2006). A análise de mapeamento de QTLs foi conduzida com o programa *QTL Express* (Seaton et al., 2002), que emprega o método de mapeamento por intervalo. O modelo estatístico para análise de intervalo incluiu os efeitos fixos de sexo, família e incubação. Foram utilizadas 10.000 permutações para o cálculo dos três níveis de significância (sugestivo, 5% e 1% no genoma), sugerido por Churchill e Doerge (1994), utilizando a correção de Bonferroni para múltiplos testes. A seqüência de análises consistiu em se testar primeiramente o efeito aditivo (a), em seguida os efeitos aditivos e de dominância (a + d), e por fim os efeitos aditivos, de dominância e *imprinting* (a + d + i). Os intervalos de confiança foram estimados pela opção *bootstrap with resampling* do programa *QTL Express*, que usa este método para calcular o intervalo de confiança empírico (95%) da posição do QTL. A variância fenotípica explicada pelo QTL foi obtida como a porcentagem de redução no quadrado médio do resíduo, depois de ajustados os efeitos fixos e a covariável, quando fosse o caso.

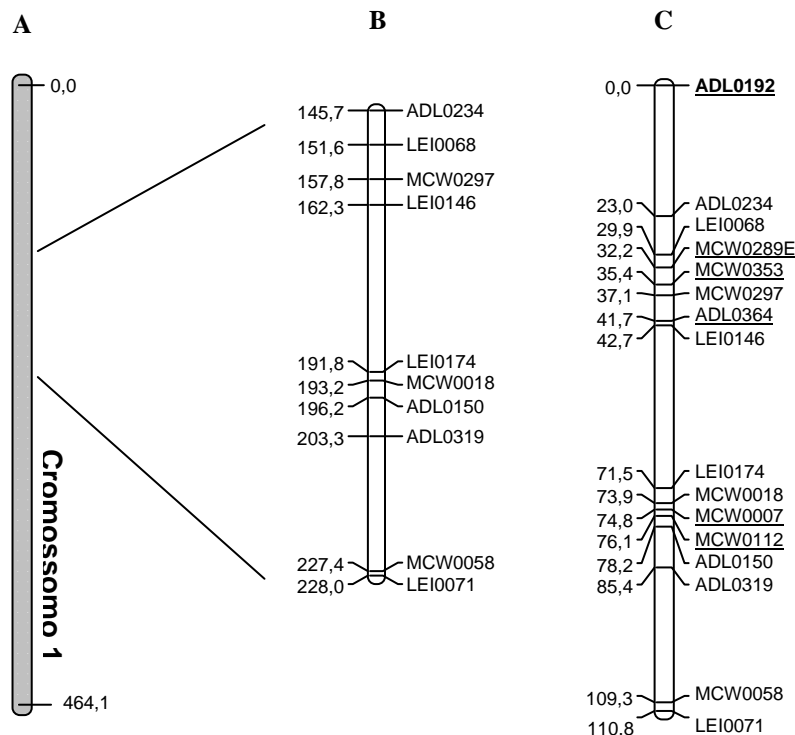


Figura 1 – A figura representa o mapa de ligação do cromossomo 1 obtido por Nones et al. (2006); B representa a região-alvo selecionada do mapa de ligação obtido pelos mesmos autores com seus respectivos marcadores e posições e C representa o mapa de ligação parcial obtido com a adição de seis marcadores (sublinhados).

### Resultados e Discussão

O mapa de ligação parcial do cromossomo 1 teve a extensão total de 110,8 cM com 16 marcadores (Figura 1C). O primeiro marcador neste mapa - *ADL0192* está posicionado a 155 cM no Mapa Consenso, e o último marcador foi o *LEI0071*, posicionado a 242 cM no Mapa Consenso. O espaçamento médio entre os marcadores foi de aproximadamente 7,4 cM, em comparação com 9,1 cM obtido por Nones et al. (2006) na mesma região (Figura 1B). A maior distância foi de 28,8 cM, entre os marcadores *LEI0146* e *LEI0174*, onde estão localizados o centrômero do cromossomo e o gene *IGF-1* (*insulin-like growth factor-I*), associado a diversas características metabólicas e relacionado ao crescimento. O menor espaçamento obtido foi de 0,9 cM entre os marcadores *MCW0018* e *MCW0007*.

Em um único intervalo (*LEI0146-LEI0174*), compreendendo 28,7 cM, foram mapeados QTLs para todas as características estudadas, com exceção dos rendimentos (Tabela 1), sugerindo um único QTL pleiotrópico, com efeito sobre várias características. Porém, a possibilidade de serem vários QTLs ligados nesta região não pode ser descartada, devendo ser testada com análises envolvendo múltiplas características simultaneamente. Nones et al. (2006) mapearam QTLs para as mesmas características, porém em diferentes posições. O QTL para Pcor foi mapeado neste intervalo, enquanto o QTL para Ppul foi mapeado entre *MCW0297* e *LEI0146*; já os QTLs associados à PV35 e PV41 foram mapeados entre *LEI0068* e *MCW0297*, intervalo próximo ao obtido neste estudo (Figura 1). Os intervalos de confiança dos QTLs mapeados variaram de 16,5 a 96 cM.

Na Tabela 1 também são apresentados os efeitos dos QTLs. Todos os QTLs mapeados apresentaram efeito aditivo positivo, indicando que os alelos que conferem maiores pesos vivos e pesos do coração e pulmões são originários da linhagem de corte. Os efeitos de dominância e efeito gamético dos QTLs não foram importantes. A proporção da variância fenotípica total na F<sub>2</sub> atribuída a um QTL variou de 1,11 a 4,31% (Tabela 1).

Tabela 1 - QTLs mapeados no intervalo entre *LEI0146* e *LEI0174* e seus respectivos valores de F, posições, intervalos de confiança (IC), efeitos aditivos (erro padrão) e proporção de variância fenotípica explicada pelo QTL.

Característica	Valor de F <sup>1</sup>	Posição (cM)	IC (cM)	Efeito aditivo (EP)	Variância fenotípica (%)
PV35	9,5 <sup>**</sup>	48	6 - 96	32,62 (6,82)	3,94
PV41	11,6 <sup>**</sup>	47	0 - 96	39,98 (8,82)	3,31
Pcor aj	5,9 <sup>+</sup>	44	23 - 110	0,215 (0,06)	1,55
Ppul aj	7,9 <sup>+</sup>	43	40 - 109	0,27 (0,09)	1,11
Pcor	10,3 <sup>**</sup>	48	23 - 100	0,422 (0,08)	4,31
Ppul	9,2 <sup>**</sup>	43	40 - 56,5	0,52 (0,11)	3,81

<sup>1</sup>Razão F: <sup>+</sup>ligação sugestiva; <sup>\*</sup>ligação significativa a 5% no genoma; <sup>\*\*</sup>ligação significativa a 1% no genoma. EP: erro padrão.

As próximas etapas serão: conduzir análises de meio-irmãos para detectar QTLs que expliquem diferenças dentro das famílias e a utilização de genes candidatos ou SNPs (*single nucleotide polymorphisms*), onde foram mapeados os QTLs, na tentativa de identificar os genes que expliquem parte do controle genético destas características.

### Conclusões

O método de mapeamento fino foi eficiente para confirmar QTLs previamente mapeados para pesos vivos e de órgãos, embora, na maioria dos casos, em posições diferentes. Todos os QTLs mapeados estão posicionados em um único intervalo de marcadores, podendo se tratar de um QTL pleiotrópico ou então, de vários QTLs ligados.

### Literatura Citada

- CARRE, W.; WANG, X.; PORTER, T.E. et al. Chicken genomics resource: sequencing and annotation of 35,407 ESTs from single and multiple tissue cDNA libraries and CAP3 assembly of a chicken gene index. **Physiological Genomics**, v.25, p.514-524, 2006.
- CHURCHILL, G.A.; DOERGE, R.W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v.138, p.963-971, 1994.
- NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C. et al. Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. **Animal Genetics**, v.37, n.2, p.95 – 100, 2006.
- SEATON, G.; HALEY, C.S., KNOTT, S.A. et al. QTL Express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. **Bioinformatics**, v.8, n.2, p.339-340, 2002.