

VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 01 e 02 de julho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

Validação do marcador molecular LEPR1 A>G para características de crescimento em linhagem paterna de frango de corte¹

Jane de Oliveira Peixoto², Edimara Peri⁵, Kerli Ninov⁴, Silvia Neto Jardim³, Gislaíne Fongaro⁵, Luiz Lehmann Coutinho⁴, Mônica Corrêa Ledur²

¹Pesquisa financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq (processo 481755/2007-1);

²Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil; e-mail: jane@cnpsa.embrapa.br

³Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil;

⁴Laboratório de Biotecnologia Animal – ESALQ-USP, Piracicaba, SP, Brasil

⁵Estudante de graduação, Bolsista PIBIC, Concórdia, SC, Brasil.

Resumo: Nesse estudo investigou-se a associação entre um polimorfismo no gene do receptor da leptina e características de crescimento em uma linha paterna de frango de corte. Foram analisados 412 animais de uma população específica para validação de marcadores moleculares desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves. Foram analisadas as seguintes características de crescimento: peso ao nascer, peso aos 21, 35, 41 e 42 dias de idade, peso pós sangria e depena e peso da carcaça resfriada. Utilizando-se o programa QxPak foi realizada a análise de associação entre os genótipos do SNP e as características fenotípicas por meio de um modelo misto onde foram incluídos o efeito infinitesimal, os efeitos fixos de sexo, incubação e do SNP e o erro aleatório. Efeitos aditivos e de dominância desse SNP foram estimados. Observou-se associação significativa do polimorfismo LEPR1 A>G com os pesos aos 35, 41 e 42 dias de idade, peso pós sangria e depena e peso da carcaça resfriada. Dessa forma, esse marcador apresenta potencial aplicação na seleção genética em programas de melhoramento de aves.

Palavras-chave: análise de associação, linhagem pura, polimorfismo

Validation of the LEPR1 A>G molecular marker for growing traits in a paternal broiler line

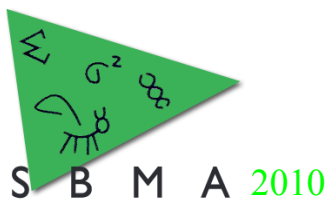
Abstract: The association between the LEPR1 A>G polymorphism in the leptin receptor gene and growing traits in a paternal broiler line was investigated. A total of 412 chickens from a specific population developed by Embrapa Suínos e Aves was analyzed for marker validation. The growing traits analyzed were: birth weight, weight at 21, 35, 41, 42 days, weight without feathers and blood, and carcass weight. Association analyses were performed using QxPak software with a mixed model including the infinitesimal effect, fixed effects of sex, hatch and SNP, and the random error. Additive and dominance effects of the SNP were also estimated. The polymorphism LEPR1 A>G was associated with weight at 35, 41, 42 days, weight without feathers and blood, and carcass weight. According to the results, this marker can potentially be used in marker assisted selection in poultry breeding programs.

Keywords: association analysis, polymorphism, pure line

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 tem sido objeto de muitas pesquisas. Inúmeros marcadores estão em fase de desenvolvimento, principalmente em populações segregantes F2. A finalidade desses estudos é a implementação de informações genômicas em complemento aos métodos tradicionais de avaliação genética em programas de melhoramento, por meio da seleção assistida. Contudo, os resultados obtidos em populações experimentais precisam ser validados em populações comerciais. Portanto, a validação é uma etapa importante para a incorporação da tecnologia dos marcadores na avaliação genética.

O gene da Leptina (LEP) e seu receptor (LEPR) vem sendo objeto de intensa investigação nos últimos anos nos animais domésticos (Ninov et al., 2008). Devido a importância metabólica das proteínas codificadas por esses genes, muitos estudos têm sido realizados com o intuito de buscar mutações em



VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 01 e 02 de julho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

suas seqüências nucleotídicas que possam ser utilizadas como marcadoras em produção animal (Soares e Guimarães, 2001).

Em estudos anteriores dessa linha de pesquisa foram identificados polimorfismos no gene do receptor da leptina (Ninov et al., 2006). Considerando-se a importância desse gene no crescimento e deposição de gordura, objetivou-se investigar a associação entre o marcador LEPR1 A>G e características de desempenho em uma linhagem pura paterna de frango de corte, visando a validação desse marcador molecular com potencial uso na seleção.

Material e Métodos

Os animais utilizados pertencem a uma população específica para estudos de validação de marcadores em populações comerciais, que foi obtida pela expansão da linhagem paterna TT de frango de corte desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves. Nesse estudo, foram analisadas as seguintes características de crescimento: peso ao nascer, pesos aos 21, 35, 41 e 42 dias de idade, peso pós sangria e depena e peso da carcaça resfriada.

Os *primers* para a amplificação da região de interesse no LEPR foram os mesmos usados por Ninov et al. (2007), sendo: Direto: 5' tctggagtgaatggagcaca 3' e Reverso: 5' gctacgctctgggtttgtt 3'. Utilizando esse conjunto de iniciadores amplificou-se uma região de 754 pb. O SNP (polimorfismo de nucleotídeo único) LEPR1 A>G foi identificado dentro do intron 8 do gene LEPR da galinha. Para diagnóstico desse SNP utilizou-se a técnica de PCR-RFLP usando a enzima de restrição *Hha* I que reconhece essa mutação. Um total de 412 animais foram genotipados para esse SNP.

As análises descritivas 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. A análise de associação foi realizada usando um modelo misto onde foram incluídos o efeito infinitesimal, os efeitos fixos de sexo, incubação e do SNP e o erro aleatório. Também foram estimados os efeitos aditivos e de dominância dos alelos do SNP.

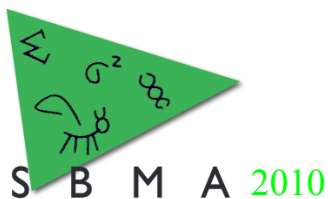
Resultados e Discussão

Verificou-se que 58,49% dos animais avaliados para o SNP LEPR1 A>G eram homozigotos AA, 36,17 % eram heterozigotos e 5,34 % eram homozigotos GG. Na análise de associação entre o SNP LEPR1 A>G e as características analisadas, o modelo que melhor se ajustou ao efeito do SNP foi o modelo aditivo-dominante. As estatísticas descritivas e análise de associação com características em estudo estão apresentadas na Tabela 1. O polimorfismo LEPR1 A>G apresentou associação significativa com os pesos aos 35, 41, 42 dias de idade, peso pós sangria e depena e peso da carcaça resfriada. Estas características apresentam elevada correlação genética entre si. Fica evidenciado que esse polimorfismo está associado ao crescimento após 35 dias de idades, não apresentando efeito nas idades anteriores.

Na Tabela 1, observa-se que, em magnitude, as estimativas dos efeitos de dominância foram superiores aos efeitos aditivos estimados para cada característica, indicando contribuição dos efeitos de dominância dos alelos desse locus.

Apesar do gene do receptor da leptina ser bastante estudado em bovinos e suínos, são poucos os estudos de associação entre esse gene e características de interesse em galinha. Ninov et al. (2008), em uma população divergente F2 (corte x postura), encontraram associação entre o polimorfismo LEPR 352 C>T e rendimento de carcaça, rendimento de peito, proteína bruta e teor de cinzas, somente nos machos. Wang et al. (2004) correlacionaram polimorfismos no LEPR com gordura abdominal e peso do fígado em uma população divergente para a deposição de gordura.

De acordo com os resultados na Tabela 1, pode-se inferir que o SNP LEPR1 A>G está associado ao crescimento em frango de corte, sendo que o alelo G apresenta efeito favorável para todas as características com associação significativa. Esse efeito observado pode ser causa direta da troca A por G. Isso pode ser verdadeiro desde que essa mutação ocorra em região funcionalmente importante desse gene. Sabe-se que, mesmo regiões de intron, regiões não expressas do gene, podem ser importantes para a regulação da expressão gênica. Outra possibilidade é que o efeito observado se deva ao desequilíbrio de ligação entre esse SNP e outra mutação que seja a verdadeira causa da variação. De qualquer forma, esse SNP pode ser usado como marcador genético. Para a validação definitiva deste SNP é necessário analisar



VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 01 e 02 de julho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

maior número de animais e avaliar seus efeitos em outras características de interesse, além de testar outros efeitos importantes como a interação com sexo.

Tabela 1 Número de animais (N), média e desvios padrão (dp), Mínimo (Min), Máximo (Max), efeitos aditivos (a) e dominância (d) seguidos de seus respectivos erros padrão (ep) para as características analisadas.

Característica	N	Media \pm dp (g)	Min (g)	Max (g)	P-value	a \pm ep (g)	d \pm ep (g)
PNAS	410	47,6 \pm 3,6	37,4	59,3	0,85	–	–
P21	405	735,6 \pm 96,3	440,0	998,0	0,08	–	–
P35	411	1740,9 \pm 204,6	1040,0	2300,0	0,02	42,5 \pm 18,4	59,9 \pm 22,5
P41	408	2182,4 \pm 251,3	1332,0	2822,0	0,02	55,1 \pm 21,4	69,2 \pm 26,2
P42	412	2176,2 \pm 257,3	1276,0	2836,0	0,007	63,9 \pm 21,3	72,5 \pm 26,2
PSD	410	2006,6 \pm 246,3	1155,0	2658,0	0,005	61,7 \pm 20,4	71,5 \pm 25,0
PCR	408	1596,1 \pm 202,0	850,0	2146,0	0,005	52,9 \pm 17,6	63,9 \pm 21,6

PNAS = peso ao nascimento, 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, PSD = peso pós sangria e depena e PCR = peso da carcaça resfriada.

Conclusões

O polimorfismo LEPR1 A>G apresenta associação com o crescimento em frango de corte. Essa associação evidenciada numa linha pura indica que esse marcador apresenta potencial uso em programas de melhoramento de aves.

Literatura citada

- NINOV, K.; LEDUR, M. C.; NONES, K.; CAETANO, A. R.; COLDEBELLA, A.; BERTOL, T. M.; COUTINHO, L. L. Mining of polymorphisms in the leptin receptor gene in two chicken lines and their association with performance and carcass traits. In: International Conference on Animal Genetics, ISAG, 30, Section C, Porto Seguro, BA, 2006.
- NINOV, K.; LEDUR, M. C.; NONES, K.; COLDEBELLA, A.; BERTOL, T. M.; CAETANO, A. R.; COUTINHO, L. L.. Associação de polimorfismo de base única (SNP) no íntron 8 do gene do receptor da leptina em galinhas com rendimento de órgãos. In: 44 Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 2007, Jaboticabal. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2007.
- 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.
- PÉREZ-ENCISO, M.; MISZTAL, I. Qxpk: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. *Bioinformatics*, v.20, p.2792-2798, 2004.
- SOARES, M.A.M e GUIMARÃES, S. E. F. O papel da leptina e de seus receptores no metabolismo da gordura. II Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína, 05 de novembro à 06 de dezembro de 2001 - Via Internet.
- WANG, Y., LI, H. GU, Z.L., ZHAO, J.G., WANG, Q.G., WANG, Y.X. Correlation analysis between single nucleotide polymorphism of the leptin receptor intron 8 and fatness traits in chickens. *Yi Chuan Xiu Bao*, v31, n3, p265, 2004.