

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Arquitetura genética de características quantitativas associadas ao
desempenho e ao rendimento de carcaça na galinha doméstica**

Millor Fernandes do Rosário

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas**

**Piracicaba
2007**

**Millor Fernandes do Rosário
Engenheiro Agrônomo**

Arquitetura genética de características quantitativas associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça na galinha doméstica

**Orientador:
Prof. Dr. ANTONIO AUGUSTO FRANCO GARCIA
Co-orientador:
Prof. Dr. LUIZ LEHMANN COUTINHO**

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas**

**Piracicaba
2007**

*À minha mãe **Sonia** e ao meu irmão **Gustavo**, por todo incentivo e apoio, amor e dedicação, que me possibilitaram chegar até aqui,*

DEDICO

*Ao legado de **Luiz Vicente de Souza Queiroz**, por ter semeado a ESALQ em terras piracicabanas,*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos e me permitir alcançar meus objetivos.

À minha eterna “Gloriosa” - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), por todo conhecimento e oportunidades me oferecidos durante minha graduação e pós-graduação.

Ao prof. Dr. Antonio Augusto Franco Garcia, do Departamento de Genética, ESALQ/USP, pela orientação e por ter-me proporcionado fazer ciência diferenciada e nunca me abater diante das dificuldades e oposições.

Ao prof. Dr. Luiz Lehmann Coutinho, do Departamento de Zootecnia, ESALQ/USP, pela co-orientação durante todas as etapas deste trabalho.

À pesquisadora Dra. Mônica Côrrea Ledur, da EMBRAPA Suínos e Aves, pela disponibilidade do material genético e fenotípico e pelas sugestões.

À profa. Dra. Ana Silvia Alves Meira Tavares Moura, do Departamento de Produção Animal, FMVZ/UNESP, pelas contribuições.

Aos profs. Drs. Antonio Augusto Domingos Coelho e Vicente José Maria Savino, do Departamento de Genética, ESALQ/USP, por serem eternamente meus verdadeiros mentores intelectuais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudo e recursos que me possibilitaram divulgar este trabalho em diversos eventos científicos.

A toda equipe do Laboratório de Biotecnologia Animal, do Departamento de Zootecnia, ESALQ/USP, em especial aos mestres Raquel de Rocha Lello Campos, Marcel Ambo e Clarissa Boschiero, por me acolherem de braços abertos durante a realização deste trabalho.

A toda equipe do **Laboratório de Análises Genético-Estatísticas**, do Departamento de Genética, ESALQ/USP, em especial aos doutorandos Gabriel Rodrigues Alves Margarido e Rodrigo Gazaffi, pelo imprescindível incentivo e apoio durante as análises deste trabalho.

Ao Dr. **Marco Aurélio Neves da Silva**, pela inestimável amizade e pelos primeiros ensinamentos.

Às Dras. **Helena Javiel Alves e Érika Cristina Jorge**, pela amizade e por todo apoio e incentivo.

Aos **técnicos** da empresa GE Healthcare, em especial à Adriane Novaes, ao Robson Naveto e ao Melko Serak, pela manutenção do genotipador “MegaBucha”.

Aos **docentes e funcionários** dos Departamentos de Genética e Zootecnia, ESALQ/USP, pelos ensinamentos e apoio me oferecidos.

E a **todos** que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

SOBRE RISCO

Preocupação não é doença, mas sinal de saúde. Quem não está preocupado, não está arriscando o bastante.

SOBRE MOBILIDADE

Evite fixar raízes. Elas tolhem seus movimentos.

SOBRE INTUIÇÃO

Só se pode confiar num palpite que possa ser explicado.

SOBRE ESPERANÇA

Quando o barco começa a afundar, não reze. Abandone-o.

SOBRE PADRÕES

Até começar a parecer ordem, o caos não é perigoso.

(Max Gunther, em Os Axiomas de Zurique, 18ª ed. Rio de Janeiro: Record, 2007. 155p.)

“A Oposição que você tiver vivenciado no passado será útil para o seu Futuro.”

(Michael J. Losier, em A Lei da Atração: o Segredo colocado em prática, Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2007. 190p.)

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
Referências.....	18
2 CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DE DUAS LINHAGENS BRASILEIRAS DE GALINHA E SEUS CRUZAMENTOS RECÍPROCOS COM RELAÇÃO AO POTENCIAL PARA MAPEAR QTLs.....	24
Resumo.....	24
Abstract.....	24
2.1 Introdução.....	25
2.2 Desenvolvimento.....	26
2.2.1 Material e Métodos.....	26
2.2.2 Resultados e Discussão.....	29
2.3 Conclusões.....	35
Referências.....	36
3 COMPARAÇÃO DE MAPAS GENÉTICOS ENTRE CRUZAMENTOS RECÍPROCOS E O MAPA CONSENSO DA GALINHA DOMÉSTICA.....	39
Resumo.....	39
Abstract.....	39
3.1 Introdução.....	40
3.2 Desenvolvimento.....	42
3.2.1 Material e Métodos.....	42
3.2.2 Resultados.....	45
3.2.3 Discussão.....	57

3.3 Conclusões.....	59
Referências.....	60
4 MAPEAMENTO POR INTERVALO COMPOSTO DE CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS AO DESEMPENHO E AO RENDIMENTO DE CARÇA NA GALINHA DOMÉSTICA.....	66
Resumo.....	66
Abstract.....	66
4.1 Introdução.....	67
4.2 Desenvolvimento.....	69
4.2.1 Material e Métodos.....	69
4.2.2 Resultados e Discussão.....	74
4.3 Conclusões.....	87
Referências.....	88
ANEXOS.....	95

RESUMO

Arquitetura genética de características quantitativas associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça na galinha doméstica

Estudar a arquitetura genética de uma dada característica quantitativa significa descrever os fatores genéticos e ambientais que a afetam, bem como o valor dos efeitos genéticos de cada loco e suas interações. O presente trabalho teve por objetivo geral estudar a arquitetura genética de características quantitativas associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça de uma população experimental oriunda do cruzamento entre uma linhagem de postura (CC) e uma de corte (TT) genotipada para marcadores microssatélites que foram associados ao peso vivo aos 42 dias na população recíproca TCTC nos cromossomos 1, 3 e 4. Para tanto, foram propostos três objetivos específicos: 1) caracterizar genotipicamente as duas populações referências (TCTC e CTCT); 2) construir mapas de ligação para a população CTCT; 3) mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça na população CTCT, utilizando o Mapeamento por Intervalo Composto (CIM). Os resultados evidenciaram que as duas linhagens parentais (CC e TT) possibilitaram a criação de gerações recíprocas F_1 com elevados valores do conteúdo de informação polimórfica e heterozigosidade observada, resultado do satisfatório número de alelos verificado. Isto implica que as populações recíprocas F_2 , derivadas de ambas as gerações F_1 , são apropriadas para mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça. Adicionalmente, os mapas de ligação da população CTCT são similares ao de sua população recíproca TCTC e ao Mapa Consenso da galinha doméstica. A estimação de intervalos de confiança para as distâncias entre locos permitiu melhor entendimento das diferenças obtidas tanto no tamanho dos cromossomos quanto na ordem dos locos. Finalmente, foram observadas vantagens com o uso do CIM nas estimativas de número de QTLs mapeados e em suas posições. As regiões onde os QTLs foram mapeados neste estudo corroboram algumas daquelas da população recíproca TCTC, mas por outro lado sugerem que outras regiões do genoma dos cromossomos 1, 3 e 4 podem controlar tais características. Foram definidas duas regiões ainda não descritas na literatura no cromossomo 4: uma associada ao ganho de peso (*MCW0240-LEI0063*) e outra ao consumo de ração (*LEI0085-MCW0174*) 35-41 dias. Os resultados deste estudo podem ser explorados através do mapeamento fino, buscas *in silico* por genes candidatos por posição e validação em populações comerciais, a fim de implementar a seleção assistida por marcadores em programas de melhoramento genético avícolas.

Palavras-chave: Avicultura; *Gallus gallus domesticus*; Mapa genético; Mapeamento por intervalo composto; QTL

ABSTRACT

Genetic architecture of quantitative traits associated with performance and carcass yield in domestic fowl

Understanding the genetic architecture means to describe the genetic and environment factors that affect a quantitative trait, together with the estimation of individual genetic effects and its interactions. The aim of this work was to understand the genetic architecture of quantitative traits associated with performance and carcass yield of a chicken reference population created from crosses between a layer line (CC) and a broiler line (TT) genotyped for microsatellite markers that were associated with body weight at 42 days in its reciprocal cross on chromosomes 1, 3 and 4. Three specific topics were presented: 1) to characterize genotypically two reference populations (TCTC and CTCT); 2) to construct linkage maps in the CTCT population and 3) to map QTL associated with performance and carcass yield in CTCT population, using Composite Interval Mapping (CIM). The results showed that the two parental lines (CC and TT) created reciprocal F₁ generations with suitable polymorphic information content values and observed heterozygosity, as result of the satisfactory number of alleles. This implies that the reciprocal F₂ populations, derived from both F₁ generations, are appropriated to map QTL associated with performance and carcass yield. The linkage maps from CTCT population were similar to its reciprocal population and to the Chicken Consensus Linkage Map. Estimating confidence intervals for distances between loci allowed the elucidation of the causes for differences both on chromosome sizes and on order loci. Finally, there were advantages in using CIM, mainly on QTL number and location. The regions where QTLs were mapped in this study not only corroborated some results from TCTC reciprocal population, but also suggested that other genome regions on chromosomes 1, 3 and 4 may control such traits. On chromosome 4 two regions were defined that were not previously described in the literature: one associated with weight gain (*MCW0240-LEI0063*) and another one with feed intake (*LEI0085-MCW0174*) at 35-41 days. The results of this study can be explored through fine mapping, searches *in silico* for candidate genes and by validation in commercial populations, in order to implement marker assisted selection in poultry breeding programs.

Key-words: Composite interval mapping; *Gallus gallus domesticus*; Linkage map; Poultry; QTL

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 - Esquema simplificado do delineamento das duas populações F_2 de galinha, oriundas de cruzamentos recíprocos entre uma linhagem de postura (CC) e uma linhagem de corte (TT), desenvolvidas para mapear QTLs associados ao desempenho e à carcaça..... 27
- Figura 2.2 - Tamanho dos alelos (em pares de bases - pb) e suas respectivas frequências para todos os locos das linhagens CC e TT e o teste de aderência às proporções esperadas de Hardy-Weinberg (PEHW)..... 31
- Figura 2.3 – Médias \pm erros-padrão do conteúdo de informação polimórfica (PIC), heterozigiosidade observada (Het_{obs}), heterozigiosidade esperada (Het_{exp}), em porcentagem (escala da esquerda) e número de alelos por loco (escala da direita) para as linhagens CC e TT e suas gerações recíprocas F_1 (F_1 CT e F_1 TC) considerando-se todos os locos..... 33
- Figura 3.1 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, NONES et al., 2005), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 1 (GGA1A)..... 52
- Figura 3.2 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, NONES et al., 2005), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 1 (GGA1B)..... 54
- Figura 3.3 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, NONES et al., 2005), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 3 (GGA3)..... 55

Figura 3.4 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, NONES et al., 2005), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 4 (GGA4).....	56
Figura 4.1 – Mapeamento de QTLs para peso vivo 35, 41 e 42 dias (pv35, 41 e 42) e ganho de peso eclosão-35 dias (gpn35) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4).....	77
Figura 4.2 – Mapeamento de QTLs para ganho de peso eclosão-41 e 42 dias (gpn41 e 42), ganho de peso 35-41 dias (gp3541) e consumo de ração (cr3541) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4).....	78
Figura 4.3 – Mapeamento de QTLs para conversão alimentar 35-41 dias (ca3541), rendimentos de asas (rend_asa), de dorso (rend_costa) e de pernas (rend_coxa) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4).....	79
Figura 4.4 – Mapeamento de QTLs para rendimentos de peito (rend_peito) e de carcaça (rend_carcaca) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4).....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Informações obtidas para os cromossomos 1 (GGA1A e GGA1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4) da galinha: número de animais, de alelos e de meioses informativas para cada loco; distâncias entre locos adjacentes (cM) com respectivos intervalos de confiança (IC _{95%}) usando <i>bootstrap</i>	48
Tabela 4.1 – Descrição fenotípica das características estudadas.....	74
Tabela 4.2 - Descrição dos QTLs mapeados com o método de mapeamento por intervalo composto nos cromossomos 1 (1A e 1B), 3 e 4 da galinha doméstica.....	83

1 INTRODUÇÃO

A carne de frango, por apresentar excelente valor nutricional e valor econômico relativamente menor quando comparada a de outras espécies animais, como bovinos e suínos, tem sofrido significativos incrementos em sua produção mundial. Entre 2004 e 2006, esse incremento foi da ordem de 4,9% de acordo com as estimativas do *United States Department of Agriculture* (USDA, 2007). O Brasil tem se destacado no cenário mundial avícola desde 2004, quando assumiu a primeira posição no *ranking* de exportações. As estatísticas da União Brasileira de Avicultura e da Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (UBA, 2007; UBA/ABEF, 2007) mostraram que a produção brasileira sofreu um incremento de 9,9%, passando de 8,49 milhões de toneladas, em 2004, para 9,33 milhões de toneladas, em 2006. As exportações apresentaram um incremento de 9,8%, passando de 2,4 para 2,7 milhões de toneladas neste mesmo período. O consumo também apresentou incremento de mesma ordem, sendo consumidas 6,0 e 6,6 milhões de toneladas, em 2004 e 2006, respectivamente, o que correspondeu a um consumo *per capita* de 33,8 e 36,9 kg por habitante neste mesmo período.

Este excelente desempenho caracteriza nosso país como referência mundial no setor produtivo avícola. Os elevados índices produtivos têm sido alcançados graças aos avanços nas áreas da genética, nutrição, ambiência, manejo, equipamentos e instalações (HUNTON, 1990). Entretanto, os trabalhos de Havenstein; Ferket e Qureshi (2003a, b) demonstraram uma maior contribuição da genética em relação à nutrição. Estes autores avaliaram uma linhagem comercial de 2001 (Ross 308) e uma linhagem controle de 1957 (*Athens-Canadian Randombred Control*) alimentadas com dietas industriais representativas dos anos de 1957 e 2001 sobre o desempenho e carcaça e concluíram que a seleção genética foi responsável por 85 a 90% dos ganhos, e a nutrição correspondeu de 10 a 15% das mudanças ocorridas nestes 45 anos para as duas linhagens avaliadas.

O melhoramento clássico, aliado à Genética Quantitativa, fornece estimativas de parâmetros, tais como médias, variâncias genéticas e ambientais, herdabilidades, ganhos com seleção e correlações genéticas, o que apenas possibilita saber a magnitude desses parâmetros para todos os genes simultaneamente, não sendo possível identificar suas causas individualmente. É comum ainda no processo de melhoramento que a seleção não seja feita para cada característica isoladamente, pois a correlação genética entre características faz com que a seleção das mesmas não ocorra de forma independente. Especificamente para frangos de corte, as características de

desempenho são positivamente correlacionadas com as características de carcaça (VAN KAAM et al., 1999a, b) e estas duas, por sua vez, são correlacionadas negativamente com as características de reprodução e sanidade (PITCOVSKI et al., 1987; YONASH et al., 1996). As causas dessa correlação são atribuídas à pleiotropia e/ou à ligação genética (FALCONER; MACKAY, 1996). Acrescentar a esse sistema informações dos marcadores moleculares poderia, sem dúvida, levar a um melhor entendimento desses processos.

Além de sua inegável importância econômica mundial, a galinha doméstica (*Gallus gallus domesticus*) tem sido uma espécie modelo para o desenvolvimento de estudos nas áreas da genômica, transcriptômica e proteômica animal, o que certamente tem contribuído como ferramenta complementar aos resultados já obtidos através do melhoramento genético clássico, baseado exclusivamente no fenótipo (ANDERSSON; GEORGES, 2004; BURT, 2002; DEKKERS; HOSPITAL, 2002; DOERGE, 2002; GEORGES, 2007; JORGE et al., 2007). Portanto, os experimentos que têm empregado a abordagem direta do genoma da galinha, tais como a obtenção de marcadores moleculares, construção de mapas de ligação, mapeamento de QTLs (*Quantitative Trait Loci*), estudos envolvendo expressão gênica e de proteínas, têm contribuído para a compreensão da arquitetura genética de características quantitativas de interesse econômico para a avicultura (MACKAY, 2001).

A arquitetura genética consiste em uma descrição de todos os fatores genéticos e ambientais que afetam uma determinada característica quantitativa, conjuntamente com o valor de seus efeitos individuais e dos valores das interações entre os fatores. Para isso, são feitas associações entre o genótipo e fenótipo, com estimativas do número, posições no genoma, frequências e efeitos dos locos que controlam características quantitativas (QTLs), bem como das interações dos alelos de QTLs dentro (dominância) e entre (epistasia) locos, efeitos pleiotrópicos entre QTLs e interações entre QTLs e ambiente (ZENG; KAO; BASTEN, 1999). Um exemplo de estudo da arquitetura genética na galinha doméstica foi dado por Deeb e Lamont (2002), que estudando o crescimento e a composição corporal de frangos, sugeriram que um grande número de genes com pequenos efeitos epistáticos e um pequeno número de genes com efeitos maiores estão envolvidos na determinação do fenótipo para crescimento e composição corporal, respectivamente. Hocking (2005) revisou os QTLs mapeados em galinhas e Abasht; Dekkers e Lamont (2006), compilando resultados de 50 artigos científicos, relataram 697 QTLs mapeados para as características relacionadas ao peso corporal, composição corporal e consumo de ração

(383), à produção e qualidade de ovos (83), à resistência a doenças (143), a parâmetros metabólicos (50) e ao comportamento (38). Atualizações podem ser obtidas em *Chicken Quantitative Trait Loci database* - *ChickenQTLdb* (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/chicken.html>).

Vários são os métodos estatísticos disponíveis para mapear QTLs. Os mais simples baseiam-se na análise de marcas individuais, utilizando modelos de regressão linear, análises de variância, teste *t* ou métodos baseados em verossimilhança (SOLLER; BRODY; GENIZI, 1976; WELLER, 1986; EDWARDS et al., 1987). Porém, o viés que essas análises apresentam e o baixo poder dos testes de hipóteses levaram ao desenvolvimento de outros métodos, como o Mapeamento por Intervalo (LANDER; BOTSTEIN, 1989), o Mapeamento por Intervalo Composto (ZENG, 1993; 1994; JANSEN; STAM, 1994), o Mapeamento por Intervalo Composto estendido para múltiplas características (JIANG; ZENG, 1995), métodos baseados em inferência bayesiana (SATAGOPAN et al., 1996; HEALTH, 1997; SILLANPAA; ARJAS, 1998; YI; XU, 2001) e o Mapeamento de Múltiplos Intervalos (KAO; ZENG, 1997; KAO; ZENG; TEASDALE, 1999).

Nos estudos sobre mapeamento de QTLs na galinha doméstica, o método comumente empregado tem sido o Mapeamento por Intervalo (LANDER; BOTSTEIN, 1989) usando aproximação de mínimos quadrados estendido para populações *outbred* (HALEY; KNOTT; ELSEN, 1994). Tal abordagem foi implementada pelo programa computacional QTL EXPRESS (SEATON et al., 2002 – <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>) e que vem sendo usado na quase totalidade dos trabalhos publicados. Trata-se de um programa de fácil utilização, permitindo implementar o teste de permutação para a obtenção dos níveis de significância (CHURCHILL; DOERGE, 1994) e a reamostragem pelo método *bootstrap* para a determinação dos intervalos de confiança das distâncias (VISSCHER; THOMPSON; HALEY, 1996). Porém, esta abordagem possui algumas limitações, como por exemplo: uso de apenas efeitos fixos no modelo; não permite incluir cofatores e realizar o Mapeamento por Intervalo Composto; só realiza análises univariadas.

Pelo fato de a genômica avícola mundial ter sido fortemente impulsionada a partir da década de 1990, o Brasil, em 1999, através da parceria entre a EMBRAPA Suínos e Aves e a Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, desenvolveu duas populações referência para mapeamento de QTLs e genes associados a características de desempenho e carcaça. Estas populações, em esquema F_2 , foram denominadas de CTCT e TCTC,

pois se originaram de cruzamentos recíprocos entre uma linhagem de postura (CC) e outra de corte (TT). Para a população TCTC, mapas de ligação já foram construídos e QTLs mapeados para características de desempenho e de carcaça nos cromossomos 1 (NONES, 2004; NONES et al., 2006), 2 e 4 (BARON, 2004), 3 e 5 (RUY, 2004), 11 e 13 (BOSCHIERO, 2006), 19, 23, 24, 26, 27 e 28 (AMBO, 2007), 9, 10, 12, 14, 15, 16, 17 e 18 (CAMPOS, 2007). Entretanto, para a população CTCT os trabalhos ainda são poucos, envolvendo apenas etapas preliminares de genotipagem (ROSÁRIO et al., 2005a, b; 2006a; 2007e), mapeamento de QTLs empregando a análise de marcas simples (ROSÁRIO et al., 2006b, c), busca *in silico* por genes associados ao desempenho (ROSÁRIO et al., 2007a), descrição fenotípica (ROSÁRIO et al., 2007b) e mapeamento por intervalo (ROSÁRIO et al., 2007c, d) assumindo o Mapa Consenso publicado por Schmid et al. (2005). A motivação para que optássemos por desenvolver este trabalho na população CTCT residiu no fato de que na população recíproca TCTC, os diversos trabalhos conduzidos nos cromossomos 1, 3 e 4, e que perfazem 29,2% do genoma da galinha (SCHMID et al., 2005), já tinham associado diversos marcadores microssatélites, na etapa de genotipagem seletiva, com o peso vivo aos 42 dias, característica esta que apresenta alta correlação com outras de crescimento. Portanto, este trabalho baseou-se nestas mesmas regiões onde QTLs poderiam ser mapeados em TCTC, possibilitando mapear QTLs ainda não descritos na literatura em CTCT e também permitir a validação dos QTLs mapeados em TCTC.

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo geral estudar a arquitetura genética de características quantitativas associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça na galinha doméstica nos cromossomos 1, 3 e 4. Para isso, três objetivos específicos foram propostos: 1) caracterizar genotipicamente as duas populações referências (TCTC e CTCT); 2) construir mapas de ligação para a população CTCT e 3) mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça para a população CTCT, utilizando o Mapeamento por Intervalo Composto. Os resultados serão apresentados a seguir nos três capítulos que foram produzidos.

O passo imediato deste trabalho será a extensão do mapeamento por intervalo composto univariado para múltiplas características (JIANG; ZENG, 1995), permitindo, desta forma, estudar as origens das correlações (ligação ou pleiotropia) entre características associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça. Certamente, este passo será de fundamental importância para o melhor entendimento da arquitetura genética destas características na galinha doméstica.

Referências

- ABASHT, B.; DEKKERS, J.C.M.; LAMONT, S.J. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.2079-2096, 2006.
- AMBO, M. **Mapeamento de locos de características quantitativas (QTLs) associados a desempenho nos cromossomos 19, 23, 24, 26, 27 e 28 de *Gallus gallus***. 2007. 82p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- ANDERSSON, L.; GEORGES, M. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. **Nature Reviews Genetics**, London, v.5, p.202-212, 2004.
- BARON, E.E. **Identificação de QTLs nos cromossomos 2 e 4 que controlam características de desempenho e carcaça em aves (*Gallus gallus*)**. 2004. 96p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- BOSCHIERO, C. **Mapeamento de locos de características quantitativas associados a desempenho e carcaça nos cromossomos 11 e 13 de *Gallus gallus***. 2006. 88p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.
- BURT, D.W. Applications of biotechnology in the poultry industry. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v.58, p.5-13, 2002.
- CAMPOS, R.L.R. **Mapeamento de QTL nos cromossomos 9, 10, 12, 14, 15, 16, 17 e 18 da galinha doméstica (*Gallus gallus*) que influenciam características de desempenho**. 2007. 80p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- CHURCHILL, G.A.; DOERGE, R.W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, Baltimore, v.138, p.963-971, 1994.
- DEEB, N.; LAMONT, S.J. Genetic architecture of growth and body composition in unique chicken populations. **Journal of Heredity**, Cary, v.93, p.107-117, 2002.
- DEKKERS, J.C.M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, London, v.3, p.22-32, 2002.
- DOERGE, R.W. Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. **Nature Reviews Genetics**, London, v.3, p.43-52, 2002.
- EDWARDS, M.D.; STUBER, C.W.; WENDEL, J.F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. **Genetics**, Baltimore, v.116, p.113-125, 1987.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4 ed. Longman: New York. 1996. 464 p.

GEORGES, M. Mapping, fine mapping, and molecular dissection of quantitative trait loci in domestic animals. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, Palo Alto, v.8, p.131-162, 2007.

HALEY, C.S.; KNOTT, S.A.; ELSSEN J.M. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1195–207, 1994.

HAVENSTEIN, G.B.; FERKET, P.R; QURESHI, M.A. Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, Savoy, v.82, p.1509–1518, 2003b.

HAVENSTEIN, G.B.; FERKET, P.R; QURESHI, M.A. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, Savoy, v.82, p.1500–1508, 2003a.

HEALTH, S.C. Markov chain Monte Carlo segregation and linkage analysis for oligogenic models. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.61, p.748-760, 1997.

HOCKING, P.M. Review of QTL mapping results in chickens. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v.61, p.215-226, 2005.

HUNTON, P. Industrial breeding and selection. In: CRAWFORD, R.D. (Ed.). **Poultry breeding and genetics**. New York: Elsevier Science, 1990. p.985-1028.

JANSEN, R.C.; STAM, P. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1447-1455, 1994.

JIANG, C.; ZENG, Z.-B. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v.140, p.1111-1127, 1995.

JORGE, E.C.; FIGUEIRA, A.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L. Contributions and perspectives of chicken genomics in Brazil: from biological model to export commodity. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v.63, p.597-610, 2007.

KAO, C.-H.; ZENG, Z.-B. General formulae for obtaining the MLEs and the asymptotic variance-covariance matrix in mapping quantitative trait loci when using the EM algorithm. **Biometrics**, Oxford, v.53, p.653-665, 1997.

KAO, C.-H.; ZENG, Z.-B.; TEASDALE, R. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v.152, p.1023-1216, 1999.

LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Baltimore, v.121, p.185-199, 1989.

MACKAY, T.F.C. The genetic architecture of quantitative traits. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.35, p.303-339, 2001.

NONES, K. **Mapeamento de QTLs no cromossomo 1 de *Gallus gallus* que influenciam características de desempenho e carcaça.** 2004. 110p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; MELO, C.M.R.; MOURA, A.S.A.M.T.; ZANELLA, E.L.; BURT, D.W.; COUTINHO, L.L. Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. **Animal Genetics**, Oxford, v.37, p.95-100, 2006.

PITCOVSKI, J.; HELLER, E.D.; CAHANER, A.; PELEG, B.A. Selection for early responsiveness of chicken to *Escherichia coli* and Newcastle disease virus. **Poultry Science**, Savoy, v.66, p.1276-1282, 1987.

ROSÁRIO, M.F.; GARCIA, A.A.F.; LEDUR, M.C.; COUTINHO, L.L. Parâmetros genéticos estimados em população experimental de frangos para mapeamento de QTL (*quantitative trait loci*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005a, Goiânia. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2005a. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; BOSCHIERO, C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L., GARCIA, A.A.F. Mapeamento de QTLs para características de desempenho em galinhas. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 20., 2007b, Porto Alegre. **Memórias...** Porto Alegre: ALA/UBA/FIERGS, 2007c. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; BOSCHIERO, C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L.; GARCIA, A.A.F. Redução de acasalamentos não informativos através de simulação em população experimental de aves para mapeamento de *locus* que controlam características quantitativas. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 51., 2005b, Águas de Lindóia. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBG, 2005b. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; BARON, E.E.; NONES, K.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; RUY, D.C.; COUTINHO, L.L.; GARCIA, A.A.F. Genetic diversity parameters in two experimental chicken populations designed for mapping quantitative trait loci. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006a, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: WCGALP, 2006a. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L., GARCIA, A.A.F. Identificação de marcadores potencialmente associados a QTLs para características de rendimentos de carcaça em população experimental de galinhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006b, João Pessoa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2006b. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L., GARCIA, A.A.F. Genotypic characterization of two Brazilian chicken lines and their reciprocal crosses designed to map QTLs. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, 2007e. In press.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L.; GARCIA, A.A.F. Identification of markers potentially associated to QTLs for performance traits in a Brazilian chicken F₂ resource population. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON ANIMAL GENETICS, 30., 2006c, Porto Seguro. **Proceedings...** Belo Horizonte: CBRA, 2006c. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L.; GARCIA, A.A.F. Busca *in silico* por genes associados ao desempenho de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007a, Santos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola...** Campinas: FACTA, Sup.9, 2007a. p.161.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L.; GARCIA, A.A.F. Descrição fenotípica das características de desempenho da população CTCT delineada para mapeamento de QTLs em galinha. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007b, Santos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola...** Campinas: FACTA, Sup.9, 2007b. p.162.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; NONES, K.; COUTINHO, L.L., GARCIA, A.A.F. Mapeamento de QTLs para características associadas a distúrbios metabólicos no cromossomo 1 da galinha. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 53., 2007d, Águas de Lindóia. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBG, 2007d. 1 CD-ROM.

RUY, D.C. **Mapeamento de QTL para desempenho e características de carcaça, nos cromossomos 3 e 5 de *Gallus gallus***. 2004. 122p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SATAGOPAN, J.M.; YANDELL, B.S.; NEWTON, M.A.; OSBORN, T.C. A Bayesian approach to detect quantitative trait loci using Markov Chain Monte Carlo. **Genetics**, Baltimore, v.144, p.805-816, 1996.

SCHMID, M.; NANDA, I.; HOEHN, H.; SCHARTL, M.; HAAF, T.; BUERSTEDDE, J.M.; ARAKAWA, H.; CALDWELL, R.B.; WEIGEND, S.; BURT, D.W.; SMITH, J.; GRIFFIN, D.K.; MASABANDA, J.S.; GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VIGNAL, A.; FILLON, V.; MORISSON, M.; PITEL, F.; VIGNOLES, M.; GARRIGUES, A.; GELLIN, J.; RODIONOV, A.V.; GALKINA, S.A.; LUKINA, N.A.; BEN-ARI, G.; BLUM, S.; HILLEL, J.; TWITO, T.; LAVI, U.; DAVID, L.; FELDMAN, M.W.; DELANY, M.E.; CONLEY, C.A.; FOWLER, V.M.; HEDGES, S.B.; GODBOUT, R.; KATYAL, S.; SMITH, C.; HUDSON, Q.; SINCLAIR, A.; MIZUNOU, S. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.109, p.415-479, 2005.

SEATON, G.; HALEY, C.S.; KNOTT, S.A.; KEARSEY, M.; VISSCHER, P.M. QTL EXPRESS: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. **Bioinformatics**, Oxford, v.18, p.339-340, 2002.

SILLANPAA, M.J.; ARJAS, E. Bayesian mapping of multiple quantitative trait loci from incomplete inbred line cross data. **Genetics**, Baltimore, v.148, p.1373-1388, 1998.

SOLLER, M.; BRODY, T.; GENIZI, A. On the power of experimental design for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.47, p.35-39, 1976.

UBA - União Brasileira de Avicultura. **Relatório anual 2004**. Disponível em: <<http://www.uba.org.br/>> Acesso em: 25 de out. 2007.

UBA/ABEF - União Brasileira de Avicultura / Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos. **Relatório anual 2006-2007**. Disponível em: <http://www.uba.org.br/ubanews_files/relatorio_uba_06_07_baixa_1.pdf> Acesso em: 25 de out. 2007.

USDA - United States Department of Agriculture. **Meat, livestock, poultry, and eggs analysis**. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/dlp/livestock_poultry.asp> Acesso em: 20 de out. 2007.

VAN KAAM, J.B.C.H.M.; GROENEN, M.A.M.; BOVENHUIS, H.; VEENENDAAL, A.; VEREIJKEN, A.L.J.; VAN ARENDONK, J.A.M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting growth and feed efficiency. **Poultry Science**, Savoy, v.78, p.15-23, 1999a.

VAN KAAM, J.B.C.H.M.; GROENEN, M.A.M.; BOVENHUIS, H.; VEENENDAAL, A.; VEREIJKEN, A.L.J.; VAN ARENDONK, J.A.M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. **Poultry Science**, Savoy, v.78, p.1091-1099, 1999b.

VISSCHER, P.M.; THOMPSON, R.; HALEY, C.S. Confidence intervals for QTL locations using bootstrapping. **Genetics**, Baltimore, v.143, p.1013-1020, 1996.

WELLER, J.I. Maximum likelihood techniques for the mapping and analysis of quantitative trait loci with the aid of genetic markers. **Biometrics**, Oxford, v.42, p.627-640, 1986.

YI, S.B.; XU, S. Bayesian mapping of quantitative trait loci under complicated mating designs. **Genetics**, Baltimore, v.157, p.1759-1771, 2001.

YONASH, N.; LEITNER, G.; WAIMAN, R.; HELLER, E.D.; CAHANER, A. Genetic differences and heritability of antibody response to *Escherichia coli* vaccination in young meat-type chicks. **Poultry Science**, Savoy, v.75, p.683-690, 1996.

ZENG, Z.-B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1457-1468, 1994.

ZENG, Z.-B. Theoretical basis of separation of multiple linked gene effects on mapping quantitative trait loci. **Proceedings of the National Academy of Sciences in the United States of America**, Washington, v.90, p.10972-10976, 1993.

ZENG, Z.-B.; KAO, C.-H.; BASTEN, C.J. Estimating the genetic architecture of quantitative traits. **Genetical Research**, Cambridge, v.74, p.279-289, 1999.

2 CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DE DUAS LINHAGENS BRASILEIRAS DE GALINHA E SEUS CRUZAMENTOS RECÍPROCOS COM RELAÇÃO AO POTENCIAL PARA MAPEAR QTLs

Resumo

O objetivo deste estudo foi caracterizar genotipicamente duas linhagens brasileiras de galinhas e suas gerações recíprocas F_1 , usadas para desenvolver duas populações F_2 visando realizar mapeamento de QTLs associados ao desempenho e à carcaça. Os parâmetros genéticos avaliados foram: conteúdo de informação polimórfica (PIC), heterozigosidades observada e esperada e número de alelos por loco. Um total de 83 animais foi usado, sendo 14 de uma linhagem de postura (CC) e 14 de uma linhagem de corte (TT), e 55 de suas gerações recíprocas F_1 (CT e TC). Estes animais foram obtidos no Centro Nacional de Pesquisa em Suínos e Aves (EMBRAPA), Brasil e tiveram seus genótipos obtidos a partir de 34 marcadores microssatélites localizados nos cromossomos 1 (13), 3 (12) e 4 (9). As duas linhagens exibiram um total de 163 alelos, dos quais 31 (31,1%) e 44 (33,0%) foram oriundos exclusivamente de CC e TT, respectivamente, com frequências alélicas que variaram de 0,03 a 0,82. A heterozigosidade observada foi maior (0,68-0,71) em ambas as gerações F_1 do que em suas linhagens fundadoras devido ao desequilíbrio de ligação. Finalmente, as duas linhagens parentais possibilitaram a obtenção de gerações recíprocas F_1 com valores elevados de PIC (0,50-0,52) e heterozigosidade observada, bem como com um número satisfatório de alelos por loco (4,06-4,32). Isto implica que as populações F_2 derivadas destas gerações F_1 são apropriadas ao mapeamento QTLs associados ao desempenho e rendimento de carcaça.

Palavras-chave: Diversidade genética; Heterozigosidade; Número de alelos; PIC

Abstract

The objective of this study was to report the genetic characterization of two Brazilian chicken lines and their reciprocal F_1 generations. Both were used to create two F_2 populations designed to map QTL for performance and carcass traits. The evaluated parameters were polymorphic information content (PIC), observed and expected heterozygosities and number of alleles at microsatellite loci. A total of 83 chickens were used: 14 from a layer line (CC), 14 from a broiler line (TT), and 55 from their reciprocal F_1 generations. These animals were developed at the National Research Center for Swine and Poultry (EMBRAPA), Brazil. Genotypes were obtained from 34 microsatellite loci on chromosomes 1 (13), 3 (12) and 4 (9). We found that the two lines showed 163 different alleles, being 31 (31.1%) and 44 (33.0%) alleles unique in CC and TT lines, respectively, and with allelic frequencies ranging from 0.03 to 0.82. The observed heterozygosity was higher (0.68-0.71) in both F_1 generations than in their founder lines due to linkage disequilibrium. The two chicken lines used as founders allowed obtaining F_1 reciprocal generations with high values of PIC (0.50-0.52) and observed heterozygosity, as well as satisfactory number of alleles per locus (4.06-4.32). This implies that the F_2 populations derived from those F_1 generations are suitable to map QTL for performance and carcass traits.

Key-words: Genetic diversity; Heterozygosity; Number of alleles; PIC

2.1 Introdução

Os estudos sobre a genômica avícola têm sido realizados para compreender a arquitetura genética de características quantitativas. Estratégias, tais como, mapeamento de QTLs e de eQTLs, busca por polimorfismos em genes candidatos, bibliotecas de DNA e do miRNA, análise de *microarrays* e o completo seqüenciamento do genoma têm sido desenvolvidas para caracterizar o genoma da galinha. Os resultados de todas estas estratégias têm sido integrados com os daqueles de outros genomas, tais como o de humanos e o de camundongo, para mapear genes que controlam características econômicas na galinha doméstica (LAMONT, 2006; JORGE et al., 2007).

Três populações referência da galinha foram desenvolvidas para realizar estudos relacionados à obtenção de marcadores microssatélites, construção de mapas de ligação e mapeamento de QTLs. A população *Compton* era constituída por 56 animais obtidos através de retrocruzamentos entre duas linhagens endogâmicas de *White Leghorn* que diferiam para resistência à salmonela (BUMSTAED; PALYGA, 1992). A população *East Lansing* consistia de 52 animais obtidos através de retrocruzamentos entre uma linhagem parcialmente endogâmica de *Jungle Fowl* e uma linhagem altamente endogâmica de *White Leghorn* (CRITTENDEN et al., 1993). E a população da *Wageningen University* era constituída por 456 animais F₂ derivados do cruzamento entre duas linhagens de fêmeas de corte oriundas de *White Plymouth Rock* (GROENEN et al., 1998). Descrição de outras populações referência da galinha pode ser encontrada em uma revisão sobre QTLs publicada por Abasht; Dekkers e Lamont (2006).

No Brasil, em 1999, esforços do Centro Nacional de Pesquisa em Suínos e Aves (EMBRAPA) e da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo permitiram a obtenção de duas populações F₂ de galinhas desenvolvidas com o intuito de mapear QTLs e identificar genes candidatos associados ao desempenho e à carcaça. Estas populações foram nomeadas CTCT e TCTC porque foram desenvolvidas a partir de cruzamentos recíprocos entre uma linhagem de postura (CC) e uma linhagem de corte (TT). A geração F₂ de cada população foi constituída por aproximadamente 2100 animais obtidos ao longo de 17 incubações durante oito meses. A descrição fenotípica destas populações foi feita por Zanella et al. (2000) e Ledur e Bertani (2002).

A galinha se enquadra nas populações parcialmente endogâmicas (*outbred*), onde a detecção de QTLs é feita dentro da população e baseada na variação genética. Assim, o poder

para a detecção de QTLs é reduzido quando comparado às populações endogâmicas (*inbred*) (LYNCH; WALSH, 1998). Realizando uma varredura do genoma das populações *outbred* com locos microssatélites e estimando parâmetros genéticos, tais como o conteúdo de informação de polimórfica (PIC) e a heterozigosidade, é possível determinar a informatividade de tais locos. Baseado no PIC e na heterozigosidade dos parentais, famílias e marcadores altamente informativos podem ser selecionados para gerar progênes altamente informativas (HILLEL, 1997; ZHU et al., 2001). Conseqüentemente, os custos da etapa de genotipagem são reduzidos e um maior poder para detecção de QTLs pode ser obtido.

Além disso, a informação dos genótipos dos parentais e de suas progênes é necessária para construir mapas de ligação e determinar as fases de ligação entre marcadores nas famílias segregantes. Os mapas de ligação e as fases de ligação são componentes essenciais para o uso apropriado e eficiente dos métodos de mapeamento de QTLs, tais como o mapeamento por intervalo e por intervalo composto.

Existem poucos trabalhos na literatura onde se encontre uma descrição detalhada das populações experimentais de galinha usadas para mapear QTLs. Embora esta descrição possa variar entre as populações, devido ao *background* genético, esta informação pode ajudar na seleção inicial de marcadores e de famílias mais informativas em novos estudos de QTLs.

Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar genotipicamente duas linhagens brasileiras de galinhas e suas gerações recíprocas F_1 com relação ao potencial para mapear QTLs baseando-se no grau de informatividade de locos microssatélites dos cromossomos 1, 3 e 4.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

Linhagens parentais e suas gerações recíprocas F_1

CC é uma linhagem de postura, cujo programa de seleção se procedeu dentro da linhagem por oito gerações para melhorar produção de ovos, peso do ovo, conversão alimentar, viabilidade, maturidade sexual, fertilidade, eclodibilidade, qualidade do ovo e redução do peso corporal. TT é uma linhagem de corte cujo programa de seleção também se procedeu dentro da linhagem só que por apenas seis gerações visando melhorar peso corporal, conversão alimentar, rendimentos da carcaça e do peito, viabilidade, fertilidade, eclodibilidade, redução da gordura abdominal e de síndromes metabólicas (ascite e morte súbita).

As linhagens diferiram em seus *background* genéticos. A linhagem CC originou-se da raça *White Leghorn* enquanto que a linhagem TT originou-se das raças *White Plymouth Rock*, *New Hampshire* e *White Cornish*. Os detalhes do programa de melhoramento genético da EMBRAPA, onde estas linhagens foram obtidas, estão em Figueiredo et al. (2003a, b).

As duas populações F_2 experimentais (CTCT e TCTC) foram desenvolvidas através de cruzamentos recíprocos entre a linhagem de postura (CC) e a linhagem de corte (TT). Isto buscou produzir populações segregantes para os alelos dos possíveis QTLs associados ao desempenho e à carcaça. Sete machos CC foram cruzados com sete fêmeas TT, gerando aproximadamente 50 animais F_1 CT. Reciprocamente, sete machos TT foram cruzados com sete fêmeas CC, gerando aproximadamente 50 animais F_1 TC. Um total de sete machos e 21 fêmeas, correspondendo à proporção de um macho para três fêmeas de cada família da geração F_1 foi selecionado para serem os parentais das populações F_2 , onde cada macho F_1 foi acasalado com três fêmeas F_1 não aparentadas. Cada fêmea F_1 produziu aproximadamente 100 animais F_2 (ZANELLA et al., 2000). A Figura 2.1 mostra um esquema do delineamento destas populações.

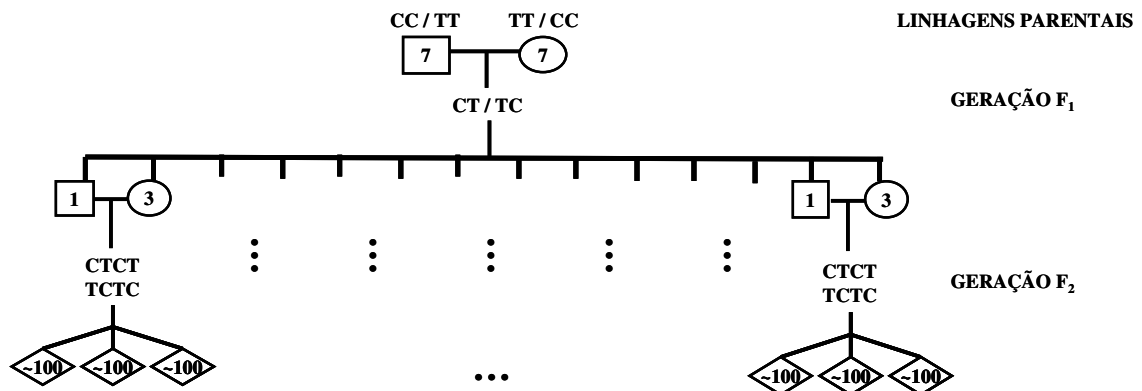


Figura 2.1 – Esquema simplificado do delineamento das duas populações F_2 de galinha, oriundas de cruzamentos recíprocos entre uma linhagem de postura (CC) e uma linhagem de corte (TT), desenvolvidas para mapear QTLs associados ao desempenho e à carcaça

No presente estudo, foram utilizados os dados das linhagens parentais CC (14) e TT (14) e suas gerações recíprocas F_1 (28 TC e 27 CT). Salientamos que uma fêmea F_1 CT morreu antes que seu sangue fosse coletado.

Análise do DNA, genotipagem e pedigree

O DNA genômico das linhagens parentais e de suas gerações recíprocas F₁ foi extraído a partir de amostras de sangue empregando o reagente DNAZOL[®] (INVITROGEN). Foram utilizados 34 marcadores microssatélites cobrindo os cromossomos 1, 3 e 4, em um total de 665 cM, o que corresponde a 15,83% do genoma da galinha (SCHMID et al., 2005). Maiores detalhes sobre o protocolo de extração de DNA, vide o ANEXO A.

O DNA genômico foi amplificado usando protocolos de PCR otimizados por Rosário et al. (2005). Detalhes sobre os marcadores e os protocolos da PCR podem ser obtidos no ANEXO B. Os produtos de PCR de até quatro marcadores foram misturados de acordo com o tamanho e a fluorescência do alelo e genotipados em equipamento MEGABACE[®] (GE HEALTHCARE). O tamanho dos fragmentos (alelos) foi determinado empregando-se o programa GENETIC PROFILER[®] (GE HEALTHCARE) usando como padrão interno de peso molecular ETROX-400[®] (GE HEALTHCARE).

Os genótipos das linhagens parentais (CC e TT e) foram usados para checar o pedigree dentro da população usando o programa computacional PEDCHECK (<http://bioinfo.cs.technion.ac.il/superlink-online/makeped/pedcheck.shtml>) (FISHELSON; GEIGER, 2002).

Estimação dos parâmetros genéticos

As frequências alélicas e os testes de aderência às proporções esperadas de Hardy-Weinberg, usando o método da cadeia de Markov ($P < 0,05$) para cada loco com alelos múltiplos (GUO; THOMPSON, 1992), foram obtidos através do programa computacional GENEPOP (RAYMOND; ROUSSET, 1995). Os parâmetros da cadeia de Markov foram: número de desmemorização (1000), número de grupos (100) e número das iterações por grupo (1000).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi calculado usando a fórmula, $PIC = 1 - \sum_{i=1}^j P_i^2 - 2 \sum_{i=j+1}^j \sum_{j=1}^{i-1} P_i^2 P_j^2$ onde os P_i e P_j são as frequências do i -ésimo e do j -ésimo alelo em um loco com l alelos da população, respectivamente (BOTSTEIN et al., 1980).

A heterozigosidade observada (Het_{obs}) foi calculada com base na fórmula $Het_{obs} = \left(\sum_{i=1}^N Z_j \right) / N$, onde Z_j é a contagem de animais heterozigóticos no loco j , e N é o número total de animais. A heterozigosidade esperada (Het_{exp}) não viesada de Nei, assumindo-se

as proporções esperadas de Hardy-Weinberg, foram obtidas usando a fórmula

$$Het_{esp} = \frac{2N}{2N-1} \left(1 - \sum_{j=1}^l P_j^2 \right),$$

onde P_j é a frequência do j -ésimo alelo do i -ésimo loco com l

alelos na população e N é o número total de animais (NEI, 1987).

O PIC e as heterozigosidades foram estimados para cada loco usando-se o programa computacional CERVUS (MARSHALL et al., 1998; SLATE; MARSHALL; PEMBERTON, 2000; KALINOWSKI; TAPER; MARSHALL, 2007) no modo de análise de frequência alélica com correção de Bonferroni para múltiplos testes. Os resultados de PIC e heterozigosidades foram apresentados com base na média aritmética para todos os locos.

2.2.2 Resultados e Discussão

Duas linhagens brasileiras de galinha e suas gerações recíprocas F_1 foram caracterizadas através da informatividade de locos microssatélites localizados nos cromossomos 1, 3 e 4. Ambas as linhagens e suas gerações recíprocas F_1 apresentaram diversidade genética de acordo com todos os parâmetros genéticos estimados. Em um estudo anterior, Rosário et al. (2006) encontraram que F_1 TC tinha apresentado uma ligeira superioridade na diversidade genética em relação à F_1 CT quando estes autores empregaram somente 22 marcadores microssatélites e não estimaram os erros-padrão dos parâmetros genéticos PIC e heterozigosidades. Neste estudo, a informatividade daqueles 22 mais 12 novos marcadores microssatélites foi obtida, além da estimativa dos erros-padrão para todos os parâmetros genéticos. Assim, verificou-se que ambas as gerações F_1 foram idênticas, o que está de acordo, uma vez que elas foram obtidas das mesmas linhagens parentais, diferindo somente no esquema de cruzamentos recíprocos. Outros estudos foram conduzidos para avaliar a diversidade genética de galinhas usando marcadores microssatélites (VANHALA et al., 1998; KAISER et al., 2000; ROMANOV; WEIGEND, 2001; HILLEL et al., 2003). No general, estes estudos têm estabelecido a relação entre *Red Jungle Fowl* como sendo o principal progenitor da galinha doméstica.

De acordo com Lynch e Walsh (1998), algumas medidas da informatividade do marcador, tais como PIC e heterozigosidade, aumentam em função do número de alelos por loco, considerando-se a mesma frequência alélica. Por exemplo, aumentando-se de 2 a 8 alelos por loco, o PIC aumenta de 0,40 a 0,80 e a heterozigosidade aumenta de 0,45 a 0,80. De acordo com a Figura 2.2, os 34 marcadores microssatélites empregados neste estudo exibiram um total de 163

alelos em ambas as linhagens. Na linhagem CC 106 alelos ($3,12 \pm 0,19$ por loco) foram encontrados enquanto que na linhagem TT foram 133 alelos ($3,92 \pm 0,26$ por loco). O número de alelos por loco variou de 1 (*MCW0277*) a 7 (*LEI0076*) para a linhagem CC e de 2 (*LEI0062*, *MCW0058*, *LEI0043*, *MCW0083* e *MCW0116*) a 7 (*LEI0107*, *MCW0169* e *MCW0240*) para a linhagem TT. As frequências alélicas variaram de 0,03 a 0,93 para ambas as linhagens. Os resultados mostraram que 4 (11,7%) e 6 (17,6%) locos não aderiram às proporções esperadas de Hardy-Weinberg para as linhagens CC e TT, respectivamente. Dos 163 alelos, um total de 31 (31,1%) e 44 (33,0%) alelos tiveram como origem exclusiva a linhagem CC e TT, respectivamente, e suas frequências alélicas variaram de 0,03 a 0,82.

Para reduzir a possibilidade de erros de genotipagem quando se comparou os alelos deste estudo com a base de dados do *Animal Sciences Group at AceBrowser of Wageningen University and Research Center*, foi considerado um intervalo ± 2 pares de bases. Por exemplo, um alelo qualquer inicialmente com 100 pares de bases, pôde ser assumido estar entre 98 a 102 pares de bases, pois erros de genotipagem são muito comuns quando se emprega marcadores microssatélites, já que eles detectam polimorfismos de no mínimo dinucleotídeos, o que é uma vantagem deste tipo de marcador frente a outros, como por exemplo, AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* – Polimorfismo no Comprimento de Fragmento Amplificado) e RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* – Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso). Aquela base de dados foi escolhida porque contém os dados para os mesmos locos aqui utilizados só que referentes às populações relatadas por Groenen et al. (2000), comumente utilizadas no mapeamento de QTLs. De acordo com o critério adotado para a comparação, foi encontrado um maior número médio de alelos por loco: 15,2% (CC) e 44,6% (TT) em relação àquela base de dados para os mesmos locos. Este resultado foi surpreendente porque se esperava que o número médio de alelos por loco nas linhagens TT e CC fosse menor do que essa base de dados, a qual foi constituída somente por genótipos das gerações segregantes (retrocruzamentos e F_2), onde sabidamente o número de alelos pode ser maior em relação às suas linhagens parentais, as quais não foram consideradas nesta base de dados. Uma possível explicação para este fato, é que, embora tenham sido utilizados os mesmos marcadores microssatélites daquela base de dados, estes marcadores foram desenvolvidos em populações que apresentavam similar, mas não o mesmo *background* genético (*Red Jungle Fowl*, *White Leghorn* e *White Plymouth Rock*) que neste estudo (GROENEN et al., 2000). Adicionalmente, as linhagens usadas para desenvolver

estas populações foram selecionadas para finalidades diferentes, com algumas sendo linhagens com alto grau de endogamia, o que poderia ter conduzido à fixação de alguns alelos e à perda de outros.

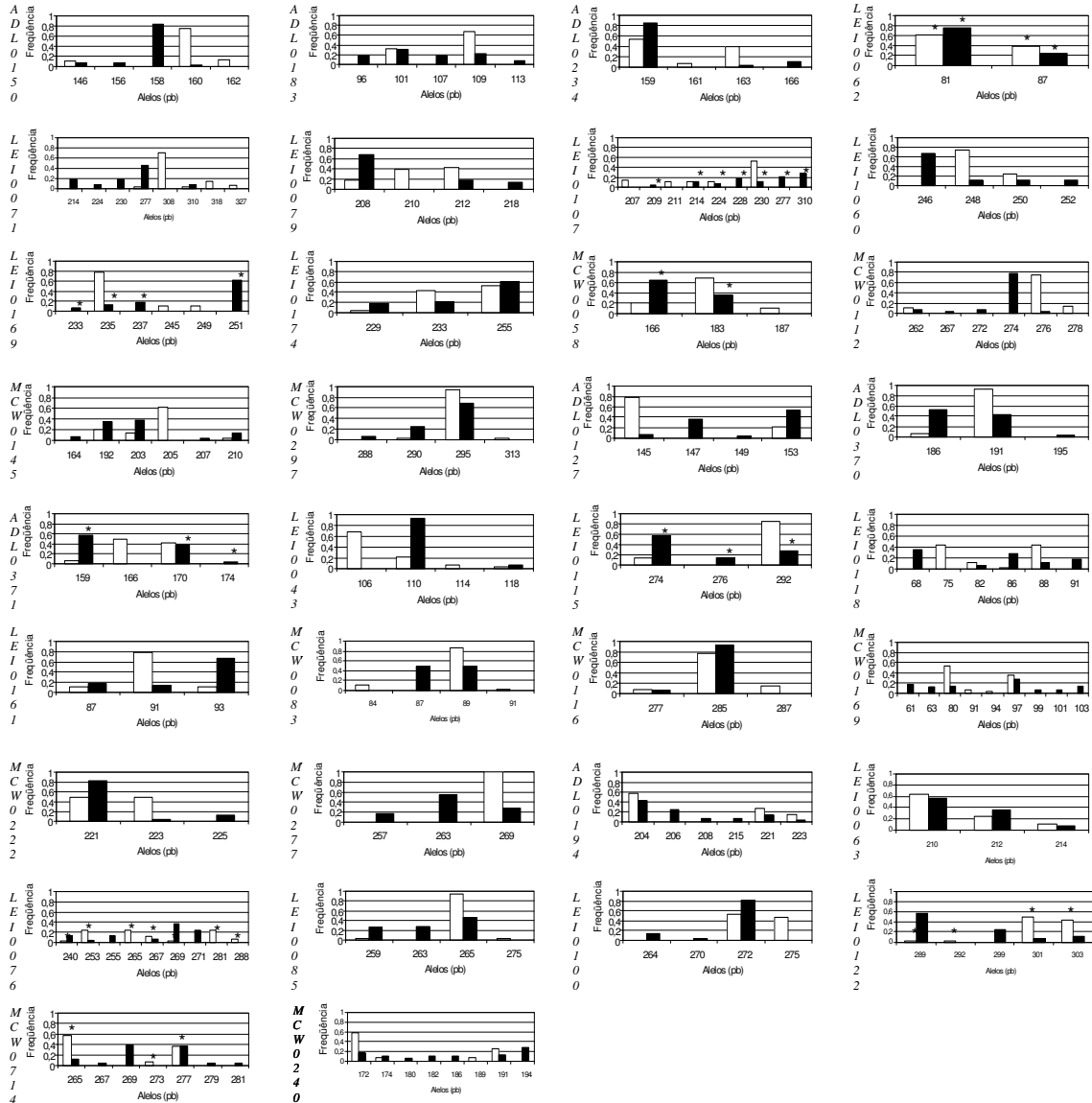


Figura 2.2 – Tamanho dos alelos (em pares de bases - pb) e suas respectivas freqüências para todos os locos das linhagens CC e TT e o teste de aderência às proporções esperadas de Hardy-Weinberg (PEHW). Barras brancas e pretas correspondem à CC e TT, respectivamente. *significativo de acordo com o método da cadeia de Markov para PEHW ($P < 0,05$)

Embora a atual galinha doméstica que é criada comercialmente para a produção de carne e de ovos seja descendente de espécies de *Red Jungle Fowl* (AL-NASSER et al., 2007), diferenças entre frequências alélicas foram encontradas como consequência dos programas de melhoramento genéticos avícolas (VANHALA et al., 1998). Na linhagem TT, as raças *New Hampshire* e *White Cornish* também constituíram o *background* genético, o que pode ser uma explicação para as discrepâncias no número de alelos por loco verificadas entre as linhagens TT e CC e a base de dados do *Animal Sciences Group*. Esta porcentagem extra de alelos nestas linhagens parentais, provavelmente, fornece o suporte para mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça e que ainda não tenham sido relatados na literatura.

Os valores médios de PIC, heterozigosidades observada e esperada e número de alelos por loco para CC, TT, F₁ CT e F₁ TC são apresentados na Figura 2.3. A variação dos valores médios para as linhagens e suas gerações recíprocas F₁ foram: 0,39-0,52, 0,48-0,71, 0,46-0,59 e 3,12-4,32 para PIC, heterozigosidades observada e esperada e número de alelos por loco, respectivamente. No general, estes quatro parâmetros genéticos apresentaram tendências similares, onde a linhagem CC apresentou as menores médias ($P < 0,05$), exceto para a heterozigosidade observada.

Portanto, a linhagem CC apresentou a menor diversidade genética neste estudo. Este resultado pode ser explicado porque esta linhagem foi selecionada por oito gerações para características relacionadas à produção de ovos, enquanto que a linhagem TT foi selecionada somente por seis gerações para características relacionadas à produção de carne. Além disso, devem-se considerar os diferentes *background* genéticos que constituíram cada linhagem. A fixação de mais alelos em CC do que em TT pode ser devida aos ciclos de seleção, durante os quais, alguns alelos em CC foram perdidos a mais. Conseqüentemente, esta linhagem apresentou os menores valores de PIC e heterozigosidade esperada. Os resultados aqui apresentados suportam esta hipótese. CC apresentou o menor número médio de alelos por loco em relação à TT. A heterozigosidade observada não diferiu entre CC e TT. Considerando-se a diferença no número de alelos, isto foi resultado de um maior número de locos que não se aderiram às proporções esperadas de Hardy-Weinberg em TT (*LEI0062*, *LEI0107*, *LEI0169*, *MCW0058*, *ADL0371* e *LEI0115*) do que em CC (*LEI0062*, *LEI0076*, *LEI0122* e *MCW0174*) (Figura 2.2).

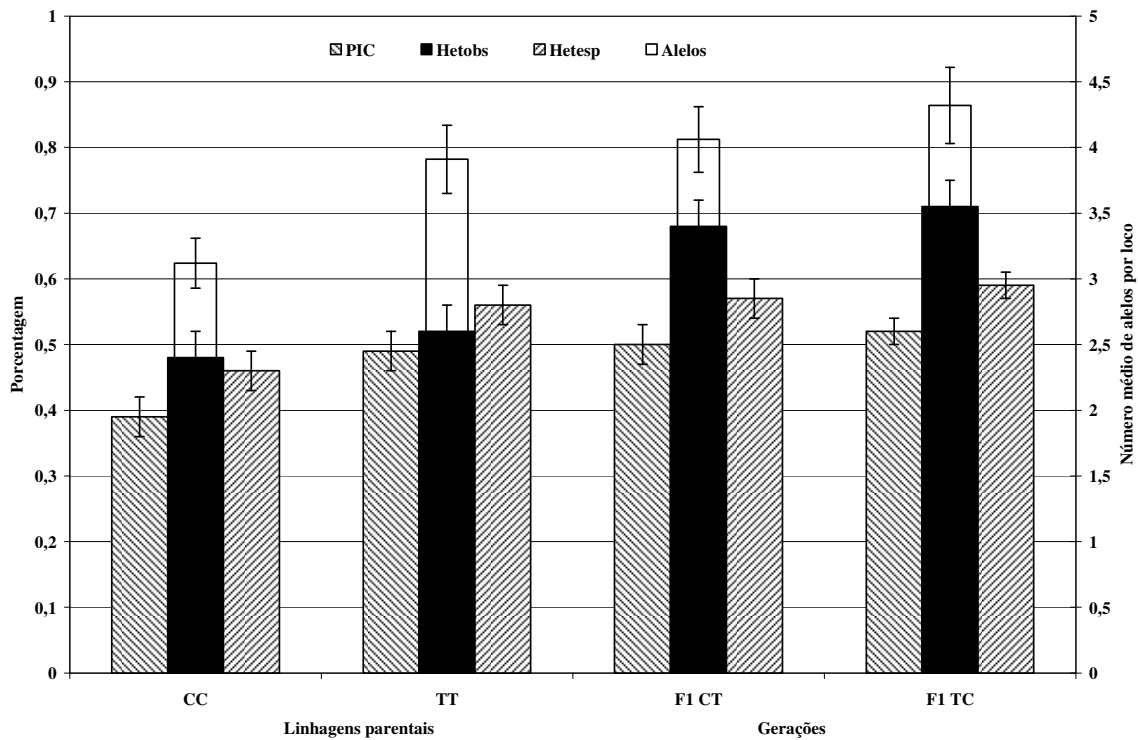


Figura 2.3 – Médias \pm erros-padrão do conteúdo de informação polimórfica (PIC), heterozigosidade observada (Het_{obs}), heterozigosidade esperada (Het_{exp}), em porcentagem (escala da esquerda) e número de alelos por loco (escala da direita) para as linhagens CC e TT e suas gerações recíprocas F₁ (F₁ CT e F₁ TC) considerando-se todos os locos

Em F₁ TC (20,3%) e em F₁ CT (19,3%) a heterozigosidade observada foi maior do que a heterozigosidade esperada, baseando-se nas proporções esperadas de Hardy-Weinberg (Figura 2.3). Nossos resultados foram discordantes dos de Vanhala et al. (1998), que encontraram heterozigosidades observada e esperada variando de 0,304 a 0,670 e de 0,378 a 0,671, respectivamente, para oito raças e linhagens de galinha. Esperava-se que as heterozigosidades fossem mais elevadas do que às destes autores, visto que nossas gerações F₁ foram obtidas de cruzamentos recíprocos entre duas linhagens parentais divergentes que poderiam ter incrementado o valor destes parâmetros genéticos em relação aos resultados daqueles autores. As duas linhagens (CC e TT) submetidas previamente aos constantes e intensivos programas artificiais de seleção para características diferentes, provavelmente foram conduzidas à fixação de diferentes alelos. De fato, foram encontrados 31 (31,1%) e 44 (33,0%) alelos que tinham como origem exclusiva a linhagem CC e TT, respectivamente. Conseqüentemente, o desequilíbrio de

ligação foi maximizado ao longo dos locos, o que deve ter causado esta divergência entre heterozigosidades observada e esperada. As diferenças entre as linhas parentais e suas gerações recíprocas F_1 podem ser também devido à deriva genética, causada pelo erro de amostragem, resultante do pequeno número de machos e fêmeas CC e TT selecionados para gerar os F_1 CT e TC. Estes fatos podem ter contribuído para que ambas as gerações recíprocas F_1 tenham apresentado maior heterozigosidade observada do que suas linhagens fundadoras.

Embora a comparação dos resultados de diferentes estudos desta natureza seja difícil porque cada um utiliza populações específicas, geradas a partir de variadas linhagens que são genotipadas com diferentes tipos e número de marcadores moleculares, tentou-se comparar os resultados aqui apresentados com a literatura. Assim, os resultados (Figura 2.3) foram similares àqueles apresentados por Crooijmans et al. (1996) que relataram PIC médio de 0,45, heterozigosidade média esperada de 0,52 e número médio de alelos por loco 3,6 em linhas de macho e de fêmea de uma linhagem de corte quando utilizaram 17 marcadores microssatélites. Vanhala et al. (1998) encontraram número médio de 5,7 alelos por loco em uma linhagem comercial de corte quando analisaram somente nove marcadores microssatélites enquanto Kaiser et al. (2000), empregando 57 marcadores microssatélites, determinaram que o número médio de alelos por loco foi de 2,85 em duas populações de frangos de corte de duas companhias de melhoramento genético.

A discrepância entre as heterozigosidades observada e esperada com os valores elevados de PIC em ambas as gerações F_1 (Figura 2.3) é muito interessante porque para mapear QTLs é requerida a detecção de recombinação entre locos do marcador para construir mapas de ligação e também entre os alelos dos marcadores e alelos dos possíveis QTL para mapear efetivamente os QTLs. Tais resultados podem abrir a possibilidade de aumentar o poder de detecção de QTLs através da seleção de marcadores informativos (LYNCH; WALSH, 1998) e de famílias F_1 informativas (ZHU et al., 2001). Além disso, estes resultados serão úteis para comparar a informatividade de marcadores microssatélites com outros estudos de genética de populações e de mapeamento de QTLs. Também, poderão ser selecionados os marcadores e as famílias F_1 mais informativas levando-se em conta a informação de todos os parâmetros genéticos estimados, possibilitando, dessa forma, reduzir os custos da etapa de genotipagem e aumentar o poder de detecção de QTLs.

2.3 Conclusões

As duas linhagens de galinhas usadas como parentais possibilitaram o desenvolvimento de gerações F_1 recíprocas com elevados valores de PIC e heterozigosidade observada, resultado do satisfatório número de alelos verificado. Isto implica que as populações recíprocas F_2 derivadas de ambas as gerações F_1 são apropriadas para mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça.

Referências

- ABASHT, B.; DEKKERS, J.C.M.; LAMONT, S.J. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.2079-2096, 2006.
- AL-NASSER, A.; AL-KHALAIFA, H.; AL-SAFFAR, A.; KHALIL, F.; ALBAHOUH, M.; RAGHEB, G.; AL-HADDAD, A.; MASHALY, M. Overview of chicken taxonomy and domestication. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v.63, p.285-300, 2007.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic-linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.32, p.314-331, 1980.
- BUMSTEAD, N.; PALYGA, J. A preliminary linkage map of the chicken genome. **Genomics**, San Diego, v.13, p.690-697, 1992.
- CRITTENDEN, L.B.; PROVENCHER, L.; SANTANGELO, L.; LEVIN, I.; ABPLANALP, H.; BRILES, R.W.; BRILES, W.E.; DODGSON, J.B. Characterization of a red jungle fowl by white leghorn backcross reference population for molecular mapping of the chicken genome. **Poultry Science**, Savoy, v.72, p.334-348, 1993.
- CROOIJMANS, R.P.M.A.; GROEN, A.F.; VAN KAMPEN, A.J.A.; VAN DER BEEK, S.; VAN DER POEL, J.J.; GROENEN, M.A. Microsatellite polymorphism in commercial broiler and layer lines estimated using pooled blood samples. **Poultry Science**, Savoy, v.75, p.904-909, 1996.
- FIGUEIREDO, E.A.P.; ROSA, P.S.; SCHEUERMANN, G.N.; JAENISCH, F.R.F.; SCHMIDT, G.S.; LEDUR, M.C.; BRENTANO, L.; COSTA, C.A.F. Genetic gain in body weight, feed conversion and carcass traits in White Plymouth Rock broiler strain Embrapa 021. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., 2003a, Porto Alegre. **Proceedings...** Porto Alegre: WAAP, 2003a. 1 CD-ROM.
- FIGUEIREDO, E.A.P.; SCHMIDT, G.S.; LEDUR, M.C.; AVILA, V.S.; BRUM, P.A.R.; FIORENTIN, L.; JAENISCH, F.R.F. 2003 Genetic gain in egg production and egg weight in White Leghorn Embrapa 011. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., 2003b, Porto Alegre. **Proceedings...** Porto Alegre: WAAP, 2003b. 1 CD-ROM.
- FISHELSON, M.; GEIGER, D. 2002 Exact genetic linkage computations for general pedigrees. **Bioinformatics**, Oxford, v.18, p.S189-S198, 2002.
- GROENEN, M.A.M.; CHENG, H.H.; BUMSTEAD, N.; BENKEL, B.F.; BRILES, W.E.; BURKE, T.; BURT, D.W.; CRITTENDEN, L.B.; DODGSON, J.; HILLEL, J.; LAMONT, S.J.; DE LEON, A.P.; SOLLER, M.; TAKAHASHI, H.; VIGNAL, A. A consensus linkage map of the chicken genome. **Genome Research**, Woodbury, v.10, p.137-147, 2000.
- GROENEN, M.A.M.; CROOUMANS, R.P.M.A.; VEENENDAAL, A.; CHENG, H.H.; SIWEK, M.; VAN DER POEL, J.J. A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome. **Genomics**, San Diego, v.49, p.265-274, 1998.

GUO, S.W.; THOMPSON, E.A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, Oxford, v.48, p.361-372, 1992.

HILLEL, J. Map-based quantitative trait locus identification. **Poultry Science**, Savoy, v.76, p.1115-1120, 1997.

HILLEL, J.; GROENEN, M.A.; TIXIER-BOICHARD, M.; KOROL, A.B.; DAVID, L.; KIRZHNER, V.M.; BURKE, T.; BARRE-DIRIE, A.; CROOIJMANS, R.P.; ELO, K.; FELDMAN, M.W.; FREIDLIN, P.J.; MAKI-TANILA, A.; OORTWIJN, M.; THOMSON, P.; VIGNAL, A.; WIMMERS, K.; WEIGEND, S. Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. **Genetics Selection Evolution**, Les Ulis, v.35, p.533-557, 2003.

JORGE, E.C.; FIGUEIRA, A.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L. Contributions and perspectives of chicken genomics in Brazil: from biological model to export commodity. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v.63, p.597-610, 2007.

KAISER, M.G.; YONASH, N.; CAHANER, A.; LAMONT, S.J. Microsatellite polymorphism between and within broiler populations. **Poultry Science**, Savoy, v.79, p.626-628, 2000.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, Oxford, v.16, p.1099-1006, 2007.

LAMONT, S.J. Perspectives in chicken genetics and genomics. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.2048-2049, 2006.

LEDUR, M.C.; BERTANI, G.R. Análise genômica na avicultura: Resultados e perspectivas. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 4., 2002, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: SMBA, 2002, 1 CD-ROM.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 980p.

MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUUK, L.E.B.; PEMBERTON, J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, Oxford, v.7, p.639-655, 1998.

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press, 1987. 512p.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal of Heredity**, Cary, v.86, p.248-249, 1995.

ROMANOV, M.N.; WEIGEND, S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers. **Poultry Science**, Savoy, v.80, p.1057-1063, 2001.

ROSÁRIO, M.F.; GARCIA, A.A.F.; LEDUR, M.C.; COUTINHO, L.L. Parâmetros genéticos estimados em população experimental de frangos para mapeamento de QTL (*quantitative trait loci*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; BARON, E.E.; NONES, K.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; RUY, D.C.; COUTINHO, L.L.; GARCIA, A.A.F. Genetic diversity parameters in two experimental chicken populations designed for mapping quantitative trait loci. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: WCGALP, 2006. 1 CD-ROM.

SCHMID, M.; NANDA, I.; HOEHN, H.; SCHARTL, M.; HAAF, T.; BUERSTEDDE, J.M.; ARAKAWA, H.; CALDWELL, R.B.; WEIGEND, S.; BURT, D.W.; SMITH, J.; GRIFFIN, D.K.; MASABANDA, J.S.; GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VIGNAL, A.; FILLON, V.; MORISSON, M.; PITEL, F.; VIGNOLES, M.; GARRIGUES, A.; GELLIN, J.; RODIONOV, A.V.; GALKINA, S.A.; LUKINA, N.A.; BEN-ARI, G.; BLUM, S.; HILLEL, J.; TWITO, T.; LAVI, U.; DAVID, L.; FELDMAN, M.W.; DELANY, M.E.; CONLEY, C.A.; FOWLER, V.M.; HEDGES, S.B.; GODBOUT, R.; KATYAL, S.; SMITH, C.; HUDSON, Q.; SINCLAIR, A.; MIZUNOU, S. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.109, p.415–479, 2005.

SLATE, J.; MARSHALL, T.C.; PEMBERTON, J.M. A retrospective assessment of the accuracy of the paternity inference program CERVUS. **Molecular Ecology**, Oxford, v.9, p.801-808, 2000.

VANHALA, T.; TUISKULA-HAAVISTO, M.; ELO, K.; VILKKI, J.; MAKI-TANILA, A. Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers. **Poultry Science**, Savoy, v.77, p.783-790, 1998.

ZANELLA, E.L.; LEDUR, M.C.; SCHMIDT, G.S.; JAENISCH, F.R.F.; COUTINHO, L.L. Development of a new reference population for QTL detection in poultry. In: POULTRY SCIENCE ANNUAL MEETING, 89., 2000, Montreal. **Abstracts...** Montreal: WPSA, v.79, Sup.1, 2000. p.61.

ZHU, J.J.; LILLEHOJ, H.S.; CHENG, H.H.; POLLOCK, D.; SADJADI, M.; EMARA, M.G. Screening for highly heterozygous chickens in outbred commercial broiler lines to increase detection power for mapping quantitative trait loci. **Poultry Science**, Savoy, v.80, p.6-12, 2001.

3 COMPARAÇÃO DE MAPAS GENÉTICOS ENTRE CRUZAMENTOS RECÍPROCOS E O MAPA CONSENSO DA GALINHA DOMÉSTICA

Resumo

Diversos fatores influenciam a construção e comparação de mapas genéticos da galinha doméstica. Podem ser citados o delineamento da população experimental (retrocruzamento, F_2), o *background* genético e o tamanho destas populações, o número e espaçamento entre marcadores moleculares, o número de meioses informativas de fase conhecida, o padrão de segregação dos locos e o número de genótipos perdidos. O objetivo deste trabalho foi construir e comparar mapas de ligação dos cromossomos 1, 3 e 4 da população referência CTCT, com os da população recíproca TCTC e com os do Mapa Consenso. Isso foi feito através da estimação das ordens e distâncias entre locos microssatélites, sendo proposta uma abordagem baseada em reamostragens *bootstrap* para obtenção dos intervalos de confiança destas distâncias. Para isso, procedimentos utilizando o programa computacional CRIMAP, *scripts* em ambiente LINUX e códigos próprios no programa computacional R foram implementados. Os mapas de ligação da população CTCT mostraram-se muito similares aos de sua população recíproca TCTC e aos do Mapa Consenso da galinha, tanto para as ordens como para as distâncias entre locos. A estimação de intervalos de confiança para as distâncias entre locos permitiu a elucidação das diferenças tanto no tamanho dos cromossomos quanto na ordem dos mesmos. A abordagem empregada neste estudo pode ser útil para integração dos diversos mapas da galinha, permitindo a realização de meta-análises.

Palavras-chave: *Bootstrap*; Intervalo de confiança; Marcadores microssatélites; QTL

Abstract

Several factors influence the construction of chicken genetic maps. Some of them include experimental population design (backcross, F_2), genetic background and size of these populations, number and distance between molecular markers, informative number of meioses of known phase, segregation pattern of the loci and number of missing genotypes. The aim of this work was to construct and compare linkage maps on chromosomes 1, 3 and 4 using CTCT population with those from TCTC reciprocal population and from Consensus Linkage Map. This was made through the estimation of orders and distances between microsatellite loci, being proposed an approach based on bootstrap resamplings to calculate confidence intervals for these distances. Procedures using CRIMAP software, scripts in LINUX environment and codes wrote in R software were implemented. Linkage maps from CTCT population revealed to be very similar to those from its reciprocal population and from Consensus Linkage Map for both orders and distances. Estimating confidence intervals for distances between loci allowed the elucidation of the differences both on chromosome sizes and order loci. The approach used in this study may be useful to integrate several chicken linkage maps, allowing also meta-analysis approaches.

Key-words: *Bootstrap*; Confidence interval; Microsatellite markers; QTL

3.1 Introdução

O primeiro mapa de ligação para a espécie *Gallus gallus domesticus* foi construído por Serebrovsky e Petrov (1930), que relataram a formação de quatro grupos de ligação contendo 12 genes ligados e quatro outros genes não ligados. Um segundo mapa, contendo 18 genes alocados em cinco grupos de ligação, foi publicado por Hutt (1936). Estes mapas foram subseqüentemente expandidos pelas revisões de Hutt e Lamoreux (1940), que estenderam para seis os grupos de ligação, e também por Hutt (1949; 1960; 1964), Etches e Hawes (1973) e Somes Jr. (1973; 1978). Neste último trabalho, o mapa já consistia de 10 grupos de ligação, quatro dos quais eram micro cromossomos. Bitgood e Somes Jr. (1993) atualizaram o mapa de ligação da galinha, onde estavam incluídos 137 locos identificados através de polimorfismos morfológicos e bioquímicos, mutações e quebras cromossômicas. Em comum, todos estes mapas foram construídos com base em marcadores morfológicos, que ocorrem em poucas coerções, obtendo-se, portanto, mapas pouco saturados.

A maior saturação dos mapas de ligação só foi conseguida com o advento dos marcadores moleculares. Assim, o primeiro mapa de ligação para a galinha doméstica, baseado somente em marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism* – Polimorfismo no Comprimento de Fragmento de Restrição), foi obtido por Bumstead e Palyga (1992), que utilizaram a população referência *Compton*. Tal população foi constituída por 56 animais oriundos de retrocruzamentos entre duas linhagens endogâmicas de *White Leghorn* que diferiam para resistência à salmonela. Este mapa continha 100 locos em 18 grupos de ligação, totalizando 585 cM. Levin et al. (1994) construíram o segundo mapa de ligação, baseado em marcadores RFLP e RAPD, utilizando a população referência *East Lansing* que era constituída por 52 animais oriundos de retrocruzamentos entre uma linhagem parcialmente endogâmica de *Jungle Fowl* e uma linhagem altamente endogâmica de *White Leghorn*. Este mapa continha 98 locos em 19 grupos de ligação compreendendo 590 cM. Groenen et al. (1998) publicaram o terceiro mapa de ligação, baseado somente em marcadores microssatélites e AFLP, utilizando a população referência da *Wageningen University* (Holanda) que era constituída por 456 animais F₂ derivados do cruzamento entre duas linhagens de fêmeas de corte oriundas de *White Plymouth Rock*. Este mapa continha 430 locos em 28 grupos de ligação que cobriam um total de 3062 cM.

Posteriormente, Groenen et al. (2000) integraram estes três mapas de ligação, denominando-o de Mapa Consenso da Galinha, o qual continha 1889 locos, dos quais 350

localizavam-se dentro de seqüências expressas e 235 representavam genes identificados ou seqüências que apresentavam alta similaridade a genes conhecidos em outras espécies. Este mapa totalizou 50 grupos de ligação que cobriam 3800 cM. Atualizações do Mapa Consenso foram feitas por Schmid et al. (2000, 2005), que compilando as informações disponíveis em artigos e bancos de dados sobre o genoma da galinha, incluíram 372 locos, totalizando 4200 cM distribuídos por 53 grupos de ligação. Mais recentemente, o completo seqüenciamento do genoma da galinha foi publicado por Hillier et al. (2004), e mapas de ligação também têm sido construídos com base em locos SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism* – Polimorfismo de Nucleotídeo Único) para a galinha (Wong et al., 2004; Rao et al., 2007). Já existem 1397577 SNPs associados a 33566 genes, segundo a *Chicken Variation Database* (Wang et al., 2005).

Pelo fato de a galinha doméstica ser oriunda de apenas uma espécie (*Red Jungle Fowl*, *Gallus gallus domesticus*), as explicações possíveis para as diferenças encontradas por vários autores nas estimativas das posições de locos e genes, além do tamanho do genoma, referem-se ao *background* genético das populações utilizadas, ao delineamento da população experimental (retrocruzamento, F₂), ao tamanho da população, ao número e espaçamento entre marcadores moleculares, ao número de meioses informativas de fase conhecida, ao padrão de segregação dos locos e ao número de genótipos perdidos. Tais fatores tornam relativamente difíceis as comparações entre os diversos mapas de ligação da galinha.

Para facilitar a integração e comparação destes mapas, o uso de medidas de acurácia, como o intervalo de confiança das distâncias entre locos, pode ser de grande valia. Dessa forma, seria possível ter evidências para julgar se as diferenças verificadas entre os mapas seriam devido ao acaso ou não. Com base nos intervalos de confiança, também seria mais fácil comparar o mapa da galinha com os mapas de outras espécies, tais como humanos e camundongos, possivelmente facilitando a realização de buscas *in silico*, envolvendo a Genômica Comparativa, em função da similaridade e sintonia existente entre estes genomas. Entretanto, os programas computacionais disponíveis para a construção de mapas em populações não endogâmicas (*outbred*), como é o caso da galinha, não disponibilizam opções que permitam a estimação destes intervalos. Além disso, não é possível determinar se as estimativas multiponto das distâncias seguem alguma distribuição de probabilidade conhecida.

A genômica avícola passou a ser impulsionada a partir da década de 1990. O Brasil, em 1999, através da parceria entre a EMBRAPA Suínos e Aves e a Universidade de São

Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, desenvolveu duas novas populações referência para mapeamento de QTLs e genes associados a características de desempenho e carcaça. Estas populações, em esquema F_2 , foram denominadas de CTCT e TCTC, pois se originaram de cruzamentos recíprocos entre uma linhagem de postura (CC) e outra de corte (TT). Para a população TCTC, mapas de ligação já foram construídos para características os cromossomos 1 (NONES et al, 2005; 2006), 3 (RUY, 2004) e 4 (BARON, 2004). Entretanto, para a população CTCT ainda não foram construídos mapas de ligação.

O objetivo deste trabalho foi construir e comparar mapas de ligação dos cromossomos 1, 3 e 4 da nova população referência CTCT, com os da população recíproca TCTC e com os do Mapa Consenso. Isso foi feito através da estimação das ordens e distâncias entre locos microsatélites, sendo proposta uma abordagem baseada em reamostragens *bootstrap* para obtenção dos intervalos de confiança destas distâncias.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

População experimental

A população CTCT foi obtida através do cruzamento entre sete machos de uma linhagem de postura (CC) e sete fêmeas de uma linhagem de corte (TT). O *background* genético de CC era a raça *White Leghorn*, enquanto que de TT eram as raças *New Hampshire*, *White Plymouth Rock* e *White Cornish*. Maiores detalhes sobre estas linhagens podem ser obtidas em Rosário et al. (2007).

Estes cruzamentos produziram a geração F_1 (CT) constituída por sete famílias de irmãos completos. De cada família F_1 foram selecionados um macho e três fêmeas F_1 . Cada macho F_1 foi cruzado com outras três fêmeas F_1 não aparentadas. Assim, a geração F_2 constituiu-se de 21 famílias de irmãos completos (sete famílias de meios irmãos paternos) que produziram aproximadamente 100 animais F_2 cada uma.

Destas 21 famílias, foram selecionadas as quatro que apresentaram a melhor combinação dos parâmetros genéticos nos animais F_1 s: número de classes genotípicas, número de alelos e padrão de segregação das classes genotípicas a serem obtidas em F_2 , demonstrando serem as famílias mais informativas genotipicamente para 34 marcadores microsatélites localizados nos

cromossomos 1, 3 e 4. Estes marcadores também foram utilizados na etapa de genotipagem dos animais F₂ provenientes destas quatro famílias.

DNA, primers e genotipagem

O DNA genômico de 360 animais F₂ e seus respectivos pais e avós foi extraído usando o reagente DNAZOL[®] (INVITROGEN). Vide o ANEXO A para detalhes sobre o protocolo de extração de DNA. Inicialmente, foram selecionados 26 locos microssatélites distribuídos em 3 cromossomos (1, 3 e 4), de acordo com Baron et al. (2003), Nones et al. (2003a, b) e Ruy et al. (2003). Esta seleção baseou-se no fato de que estes marcadores já possuíam associação com a característica peso vivo aos 42 dias na população TCTC, de acordo com a metodologia denominada genotipagem seletiva, descrita por Darvasi e Soller (1992), Muranty e Goffinet (1997) e van Gestel et al. (2000). Foram ainda incluídos oito locos com o objetivo de reduzir as distâncias entre locos, possibilitando uma maior saturação das regiões estudadas. Um total de 34 locos microssatélites foi utilizado, sendo 13, 12 e 9 localizados nos cromossomos 1, 3 e 4, respectivamente. Estes locos cobriram um total de 665 cM, o que corresponde a 15,8% do genoma da galinha, segundo Schmid et al. (2005).

O DNA genômico foi amplificado de acordo com os protocolos descritos por Rosário et al. (2005). No ANEXO B podem ser obtidos detalhes sobre os marcadores e os protocolos da PCR. Os produtos de PCR de três a quatro marcadores foram combinados de acordo com a fluorescência e tamanho do fragmento esperado usando como padrão interno de peso molecular ETROX-400[®] (GE HEALTHCARE) para determinação dos genótipos em equipamento MEGABACE[®] (GE HEALTHCARE) com o auxílio do programa computacional GENETIC PROFILER[®] (GE HEALTHCARE).

Pedigree, meioses informativas e padrão de segregação

Todos os genótipos dos animais F₂ obtidos foram conferidos com seus respectivos ascendentes, evitando-se, dessa forma, possíveis erros de genotipagem antes de iniciar as análises. O programa PEDCHECK (<http://bioinfo.cs.technion.ac.il/superlink-online/makeped/pedcheck.shtml>) foi utilizado para este propósito (FISHELSON; GEIGER, 2002).

O número de duplas e triplas recombinações foi obtido através da função *CHROMPIC* do programa computacional CRIMAP (GREEN; FALLS; CROOKS, 1990) e quando constatados possíveis erros de genotipagem, os genótipos foram reconferidos e corrigidos quando necessário.

Estes genótipos foram utilizados na obtenção do número de meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*, também através do programa computacional CRIMAP e pela análise do padrão de segregação para cada loco dentro de cada família através do teste do chi-quadrado (SAS, 2007), empregando-se a correção de Bonferroni para um nível conjunto de 0,05 de probabilidade de erro tipo I. Os padrões de segregação foram classificados em quatro tipos: A (1:1:1:1), B (1:2:1), C (1:1) e D (não segrega).

Construção do mapa de ligação

As ordens lineares entre locos foram obtidas utilizando-se o *rank* dos locos de acordo com o número de meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*. A ordem mais provável foi determinada com base nas verossimilhanças das diferentes ordens, verificando-se qual foi a ordem de maior verossimilhança (ordem mais provável). A distância entre locos foi estimada a partir de estimativas multiponto da fração de recombinação, as quais foram posteriormente convertidas em distâncias, de acordo com a função de Kosambi (KOSAMBI, 1944). Para processar todas as análises foram utilizadas as funções *TWOPOINT*, *BUILD*, *ALL*, *FLIPS2* e *CHROMPIC* do programa computacional CRIMAP, com $LOD = 3$, obtendo-se um mapa único ao final (média dos dois sexos). O primeiro loco de cada cromossomo teve sua posição definida em função do Mapa Consenso da Galinha (SCHMID et al., 2005).

Estimação dos intervalos de confiança das distâncias

O procedimento adotado para a estimação dos intervalos de confiança das distâncias entre os locos microssatélites baseou-se no método de reamostragem *bootstrap* (EFRON; TIBSHIRANI, 1993) e foi feito em três etapas:

i) a partir da população segregante, foram geradas 10000 amostras aleatórias independentes (amostras *bootstrap*), todas do mesmo tamanho do conjunto dos dados originais. Tais amostras foram feitas com reposição dos indivíduos, de acordo com Efron e Tibshirani (1993). Essa etapa foi implementada através do programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2003);

ii) para cada amostra *bootstrap* foi construído o mapa de ligação para cada cromossomo usando o programa computacional CRIMAP, na função *FIXED*, pois a ordem entre os locos microsatélites foi assumida como conhecida e fixa, de acordo com os resultados obtidos durante a construção do mapa de ligação. Nesta etapa, foram produzidos *scripts* em linguagem SHELL para processamento da análise de cada amostra *bootstrap*, usando o programa computacional CRIMAP em ambiente LINUX. Esses mapas foram armazenados numa matriz de 10000 colunas. Posteriormente, as estimativas *bootstrap* das frações de recombinação foram usadas para a obtenção das distribuições empíricas dessa estatística;

iii) de acordo com as distribuições empíricas, os intervalos de confiança foram obtidos pelo método dos percentis (LIU, 1998). Foram selecionados, para cada distribuição, os percentis 2,5 e 97,5, ou seja, dos 10000 valores obtidos para as amostras *bootstrap*, foram determinados aqueles que limitaram 2,5% dos dados em cada extremo da distribuição. Desse modo, delimitando-se os 95% valores centrais, foram obtidos os intervalos de confiança 95% para as distâncias.

3.2.2 Resultados

Mapa de ligação da população CTCT

Foram construídos mapas de ligação para dois grupos de ligação do cromossomo 1 (GGA1A e GGA1B) e para os cromossomos 3 (GGA3) e 4 (GGA4) da população CTCT com intervalos de confiança associados às distâncias entre locos. Pelo fato de que cada estimativa da distância entre locos possuir um limite inferior (percentil 2,5) e superior (percentil 97,5) para seu intervalo de confiança, foi possível construir mapas com a menor e a maior distância entre locos, respectivamente, o que foi representado graficamente nas Figuras 3.1 a 3.4. O cromossomo 1 foi dividido em dois grupos de ligação porque os marcadores *LEI0071* e *LEI0160* não mostraram ligação significativa ($LOD \geq 3$). Estes mapas serão utilizados numa etapa seguinte para mapeamento de QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça, procurando validar QTLs já mapeados na população recíproca TCTC e também compará-los com os QTLs já descritos em Abasht; Dekkers e Lamont (2006).

Para GGA1A o número médio de animais genotipados por loco foi de 342,5 (95,1%) exibindo, em média, 3,5 alelos e 192,8 meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*. O padrão de segregação nas quatro famílias selecionadas mostrou que 17,9%, 35,7%, 17,9% e 28,5% dos locos exibiram tipo de segregação A, B, C e D, respectivamente; nenhum loco

apresentou distorção de segregação. As distâncias entre locos adjacentes variaram de 1 cM (*ADL0150-MCW0112*) a 28,9 cM (*MCW297-LEI0174*) e a amplitude média dos intervalos de confiança por loco foi de 12,0 cM (1,8-39,0) (Tabela 3.1). Quando o limite inferior e superior foram somados, forneceram o menor (42,6 cM) e maior (121,3 cM) grupos de ligação possíveis, ou seja, 47,1% e 50,7% menor e maior, respectivamente, em relação ao estimado originalmente (80,5 cM) (Figura 3.1).

Ainda na Tabela 3.1 observou-se que o número médio de animais genotipados por loco foi de 343,1 (95,3%) que exibiram, em média, 5,0 alelos e 541,6 meioses informativas de fase conhecida *a posteriori* no GGA1B. Neste grupo de ligação, pode ser observado que 58,3%, 8,4%, 33,3% e 0% dos locos exibiram segregação do tipo A, B, C e D, respectivamente, nas quatro famílias selecionadas e apenas um loco apresentou distorção de segregação (*LEI0079*). As distâncias entre locos adjacentes variaram de 12,3 cM (*ADL0183-MCW0145*) a 55,1 cM (*LEI0160-LEI0169*) e a amplitude média dos intervalos de confiança por loco foi de 11,5 cM (5,6-34,9). Os limites inferiores dos intervalos de confiança, quando somados forneceram, o menor grupo de ligação possível (123,3 cM), ou seja, 19,0% menor do que o mapa estimado originalmente (152,3 cM). Por outro lado, o maior mapa possível, oriundo da soma dos limites superiores, apresentou 193,0 cM, o que corresponde a um mapa 26,7% maior que o mapa original (152,3 cM) (Figura 3.2).

O número médio de animais genotipados por loco no GGA3 foi de 346,1 (96,1%) que, em média, apresentaram 3,5 alelos e 351,4 meioses informativas de fase conhecida *a posteriori* (Tabela 3.1). Neste cromossomo, os tipos de segregação exibidos pelos locos nas quatro famílias foram A (20,8%), B (12,6%), C (50,0%) e D (16,6%), onde três locos apresentaram distorção de segregação (*LEI0043*, *ADL0370* e *LEI0118*). As distâncias entre locos adjacentes variaram de 2,9 cM (*LEI0118-MCW0277*) a 100,0 cM (*ADL0127-MCW0116*) e a amplitude média dos intervalos de confiança por loco foi de 11,6 cM (2,9-32,9). O menor (207,7 cM) e maior (346,9 cM) mapas possíveis de serem obtidos através da soma dos limites inferiores e superiores, respectivamente, corresponderam a 28,2% menor e 19,9% maior do que o mapa estimado originalmente (289,2 cM) (Figura 3.3).

Finalmente, para GGA4 o número médio de animais genotipados por loco foi de 342,0 (95,0%) apresentando, em média, 4,4 alelos e 371,0 meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*. O padrão de segregação nas quatro famílias mais informativas mostrou que 36,1%,

13,9%, 36,1% e 13,9% dos locos exibiram o tipo de segregação A, B, C e D, respectivamente, onde nenhum loco apresentou distorção de segregação. As distâncias entre locos adjacentes variaram de 7,1 cM (*LEI0063-LEI0085*) a 33,8 cM (*LEI0122-LEI0062*) e a amplitude média dos intervalos de confiança por loco foi de 12,3 cM (5,8-26,8) (Tabela 3.1). Na Figura 3.4 pode ser observado que quando somados, os limites inferiores (118,5 cM) e superiores (229,8 cM) forneceram o menor e o maior mapas possíveis, ou seja, 30,0% menor e 35,69% maior, respectivamente, que o mapa estimado originalmente (169,4 cM).

Tabela 3.1 - Informações obtidas para os cromossomos 1 (GGA1A e GGA1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4) da galinha: número de animais, de alelos e de meioses informativas para cada loco; distâncias entre locos adjacentes (cM) com respectivos intervalos de confiança (IC_{95%}) usando *bootstrap*

(continua)

Locos	Nº efetivo de animais genotipados (%) ¹	Nº total de alelos	Nº meioses informativas de fase conhecida <i>a posteriori</i>	Padrão de segregação nas famílias ²				Distância - cM (IC _{95%})	Amplitude do IC _{95%} - cM
				1	2	3	4		
GGA1A									
<i>ADL0234</i>	329 (91,3)	2	155	B	C	D	D	21,0 (2,0;41,0)	39,0
<i>MCW0297</i>	355 (98,6)	3	89	D	C	D	D	28,9 (17,6;43,1)	25,5
<i>LEI0174</i>	351 (97,5)	3	437	A	A	C	D	2,8 (1,3;4,6)	3,3
<i>ADL0150</i>	327 (90,8)	5	248	C	A	B	B	1,0 (0,2;2,0)	1,8
<i>MCW0112</i>	336 (93,3)	5	334	A	A	B	B	20,6 (16,5;25,1)	8,6
<i>MCW0058</i>	353 (98,0)	3	87	C	D	B	D	6,2 (3,4;9,4)	6,0
<i>LEI0071</i>	347 (96,3)	4	0	B	B	B	B		
GGA1B									
<i>LEI0160</i>	345 (95,8)	4	345	C	C	C	C	55,1 (42,5;77,4)	34,9
<i>LEI0169</i>	340 (94,4)	5	502	B	A	A	B	36,7 (31,3;43,1)	11,8
<i>LEI0079</i>	344 (95,5)	4	601	A*	C	A	A	32,0 (27,0;37,7)	10,1
<i>LEI0107</i>	345 (95,8)	7	690	A	A	A	A	16,2 (13,0;19,6)	6,6

Tabela 3.1 - Informações obtidas para os cromossomos 1 (GGA1A e GGA1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4) da galinha: número de animais, de alelos e de meioses informativas para cada loco; distâncias entre locos adjacentes (cM) com respectivos intervalos de confiança (IC_{95%}) usando *bootstrap*

(continuação)

Locos	Nº efetivo de animais genotipados (%) ¹	Nº total de alelos	Nº meioses informativas de fase conhecida <i>a posteriori</i>	Padrão de segregação nas famílias ²				Distância - cM (IC _{95%})	Amplitude do IC _{95%} - cM
				1	2	3	4		
<i>ADL0183</i>	345 (95,8)	5	518	A	A	C	C	12,3 (9,6;15,2)	5,6
<i>MCW0145</i>	340 (94,4)	5	594	A	A	C	A		
<i>LEI0043</i>	356 (98,8)	4	248	GGA3				13,7 (9,2;18,8)	9,6
<i>MCW0169</i>	342 (95,0)	7	684	C	C	D	C*		
<i>MCW0083</i>	345 (95,8)	3	257	A	A	A	C	26,8 (20,3;34,7)	14,4
<i>ADL0370</i>	348 (96,6)	2	173	C	D	C	C	34,6 (25,4;45,5)	20,1
<i>MCW0222</i>	340 (94,4)	3	253	C*	C	B	B	19,0 (14,3;24,5)	10,2
<i>LEI0161</i>	325 (90,2)	3	330	C	B	D	D	28,2 (21,4;36,9)	15,5
<i>LEI0115</i>	348 (96,6)	3	172	B	A	C	C	26,3 (20,3;33,3)	13,0
<i>ADL0371</i>	351 (97,5)	3	439	D	C	D	C	5,8 (2,9;9,1)	6,2
<i>LEI0118</i>	351 (97,5)	6	702	B	A	C	A	28,9 (24,2;34,2)	10,0
<i>MCW0277</i>	351 (97,5)	3	440	A	A	B*	A	2,9 (1,6;4,5)	2,9
				C	C	C	C	3,0 (0,9;5,4)	4,5

Tabela 3.1 - Informações obtidas para os cromossomos 1 (GGA1A e GGA1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4) da galinha: número de animais, de alelos e de meioses informativas para cada loco; distâncias entre locos adjacentes (cM) com respectivos intervalos de confiança (IC_{95%}) usando *bootstrap*

Locos	Nº efetivo de animais genotipados (%) ¹	Nº total de alelos	Nº meioses informativas de fase conhecida <i>a posteriori</i>	Padrão de segregação nas famílias ²				Distância - cM (IC _{95%})	Amplitude do IC _{95%} - cM
				1	2	3	4		
<i>ADL0127</i>	345 (95,8)	3	345	C	A	C	C	100,0 (67,1;100,0)	32,9
<i>MCW0116</i>	352 (97,7)	2	174	D	C	C	D		
<i>LEI0100</i>	330 (91,6)	3	163	GGA4				28,7 (23,0;36,0)	13,0
<i>ADL0194</i>	346 (96,1)	5	519	C	C	A	A		
<i>LEI0122</i>	351 (97,5)	4	524	A	B	A	A	33,8 (27,6;41,3)	13,7
<i>LEI0062</i>	353 (98,0)	2	264	C	C	D	C		
<i>LEI0076</i>	343 (95,2)	7	686	A	A	A	A	21,1 (16,6;25,9)	9,3
<i>MCW0240</i>	337 (93,6)	7	510	C	C	A	A		
<i>LEI0063</i>	353 (98,0)	3	89	D	D	B	C	11,4 (8,6;14,4)	5,8
<i>LEI0085</i>	325 (90,2)	4	325	C	A	D	C		
<i>MCW0174</i>	340 (94,4)	5	259	C	D	B	A	7,1 (0,1;24,8)	24,7
								23,2 (7,1;33,9)	26,8

¹nº de animais amostrados = 360.

²A: segrega na proporção 1:1:1:1, B: segrega na proporção 1:2:1, C: segrega na proporção 1:1 e D: não segrega; *distorção pelo teste do χ^2 com correção de Bonferroni (P < 0,05).

(conclusão)

Comparação dos mapas CTCT x TCTC e CTCT x Consenso

Foram comparados os mapas de ligação da população CTCT com os de sua população recíproca TCTC (BARON, 2004; RUY, 2004; NONES et al., 2005) e também com os do Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005) através da ordem dos locos, do comprimento do cromossomo, das distâncias entre locos adjacentes e seus respectivos intervalos de confiança. Salienta-se que a galinha doméstica tem sido uma espécie modelo para diversos estudos, tais como construção de mapas de ligação, mapeamento de QTLs e de genes. No nosso conhecimento, nenhuma espécie animal, vegetal ou de microrganismo incluiu no mapa de ligação as estimativas dos intervalos de confiança da distância entre locos adjacentes. Isso certamente facilitou a comparação entre os mapas.

Para GGA1A, as ordens dos locos dos três mapas foram iguais. O comprimento original deste grupo de ligação para CTCT (80,5 cM) foi ligeiramente menor do que para TCTC (82,3 cM), e maior do que o Consenso (60,0 cM). Comparando-se as distâncias entre locos adjacentes, verificou-se que a primeira e a última distâncias foram maiores em CTCT do que em TCTC e as duas primeiras e as duas últimas distâncias foram maiores em CTCT do que no Consenso. De forma geral, nota-se claramente que tais variações situaram-se dentro de valores razoavelmente próximos, praticamente esperados devido a variações ao acaso. As distâncias intermediárias apresentaram-se menores em CTCT do que em TCTC e também no Consenso. Foi verificado que entre CTCT e TCTC os intervalos 1, 2, 3 e 6, que foram comparáveis, se sobrepuseram, enquanto que entre CTCT e Consenso todos os intervalos se sobrepuseram, exceto os intervalos 3 (*LEI0174-ADL0150*) e 6 (*MCW0058-LEI0071*) (Figura 3.1).

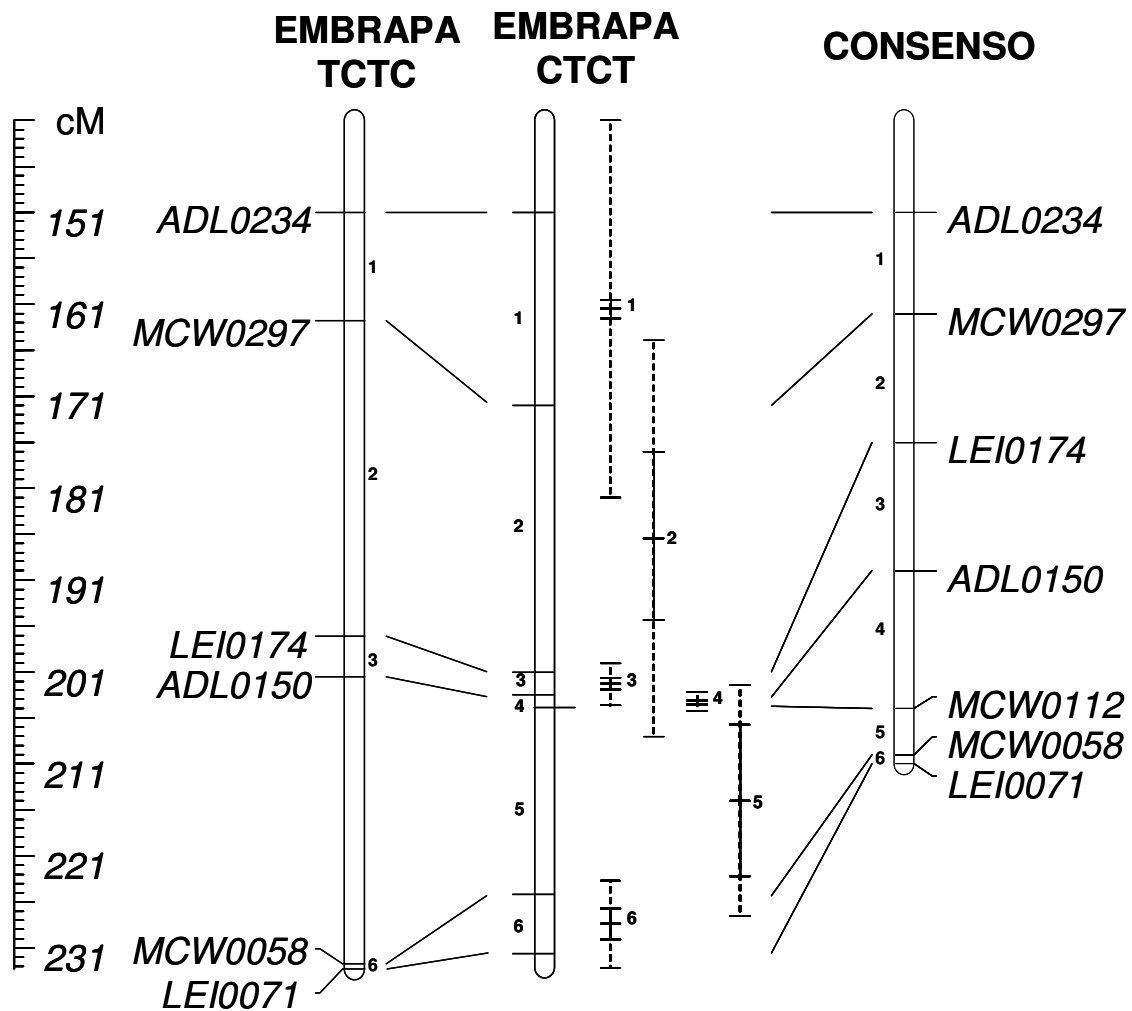


Figura 3.1 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, NONES et al., 2005), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 1 (GGA1A). À direita do mapa CTCT encontram-se os intervalos de confiança *bootstrap*: linhas cheias correspondem aos intervalos constituídos somente com os limites inferiores (percentil 2,5); linhas tracejadas, aos intervalos considerando-se apenas os limites superiores (percentil 97,5). O loco *ADL0234* tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso

Para GGA1B (Figura 3.2) foi constatada uma inversão da ordem entre os locos *ADL0183* e *LEI0079* entre CTCT e TCTC. Pelo fato de ter havido sobreposição entre os intervalos 2 a 5 de CTCT, pode ser que a verdadeira ordem entre tais locos seja diferente, explicando esta inversão. Nota-se ainda que é bem possível que também ocorram sobreposições, caso os intervalos de confiança de TCTC e do Consenso sejam construídos. As demais ordens apresentaram-se iguais. Já entre CTCT e Consenso todas as ordens foram iguais. O comprimento original deste grupo de

ligação para CTCT (152,3 cM) foi ligeiramente maior do que para TCTC (134,6 cM) e também para o Consenso (146,0 cM), mas ainda dentro da margem de variação indicada pelos intervalos. Comparando-se as distâncias entre locos adjacentes, observou-se que as duas primeiras e as duas últimas foram menores e maiores, respectivamente, em CTCT do que em TCTC. Comparando-se CTCT e o Consenso, nota-se que as distâncias foram variadas, sendo a primeira menor e a última maior em relação ao Consenso, mas com intervalos de confiança contemplando as distâncias deste último. Constatou-se ainda que entre CTCT e TCTC apenas o intervalo 1, que foi comparável, cobriu o intervalo englobando a distância estimada em TCTC; entre CTCT e o Consenso todos os intervalos cobriram as distâncias estimadas deste último.

As ordens dos locos apresentaram-se iguais em CTCT e TCTC, e em CTCT e Consenso foi verificada uma única inversão entre os locos *MCW0277* e *ALD0127* em GGA3 (Figura 3.3). Tais locos estão muito próximos, sendo, portanto, difíceis de ordenar. Observando os intervalos de confiança 8, 9 e 10, nota-se que é perfeitamente possível que tais diferenças tenham ocorrido devido ao acaso. O comprimento original deste cromossomo para CTCT (289,0 cM) foi maior do que para TCTC (168,1 cM), quando se comparou até o loco *ADL0127* (189,0 cM), visto que o loco *MCW0116* não foi genotipado em TCTC. Adicionalmente, constatou-se que CTCT foi ligeiramente menor (289,2 cM) que o Consenso (301,0 cM) quando incluímos o loco *MCW0116*. Mais uma vez, essa variação de tamanho foi explicada quando se consideraram os intervalos de confiança. Comparando-se as distâncias entre locos adjacentes, houve pequenas variações quando CTCT e TCTC foram comparadas, todas explicáveis pelas variações nos intervalos de confiança. Entre CTCT e Consenso, as distâncias foram mais variáveis em termos médios, mas sempre dentro da margem de variação dos intervalos de confiança. Já entre CTCT e TCTC, para os intervalos 1, 5, 8, 9 e 10, que foram comparáveis, observou-se pequenas variações em tamanho quando os intervalos de confiança foram considerados. Entre CTCT e Consenso, os intervalos foram bastante semelhantes quando se consideraram os intervalos de confiança (Figura 3.3).

Por último, para GGA4 as ordens dos locos se apresentaram iguais, em todas as comparações. O comprimento original deste cromossomo para CTCT (169,4 cM) foi ligeiramente menor que TCTC (182,4 cM) e ligeiramente maior que o Consenso (154,0 cM), muito embora perfeitamente consistente quando se consideraram os intervalos de confiança. Comparando-se as distâncias entre locos adjacentes, verificou-se que os resultados foram bastante próximos quando de acordo com os intervalos de confiança (Figura 3.4).

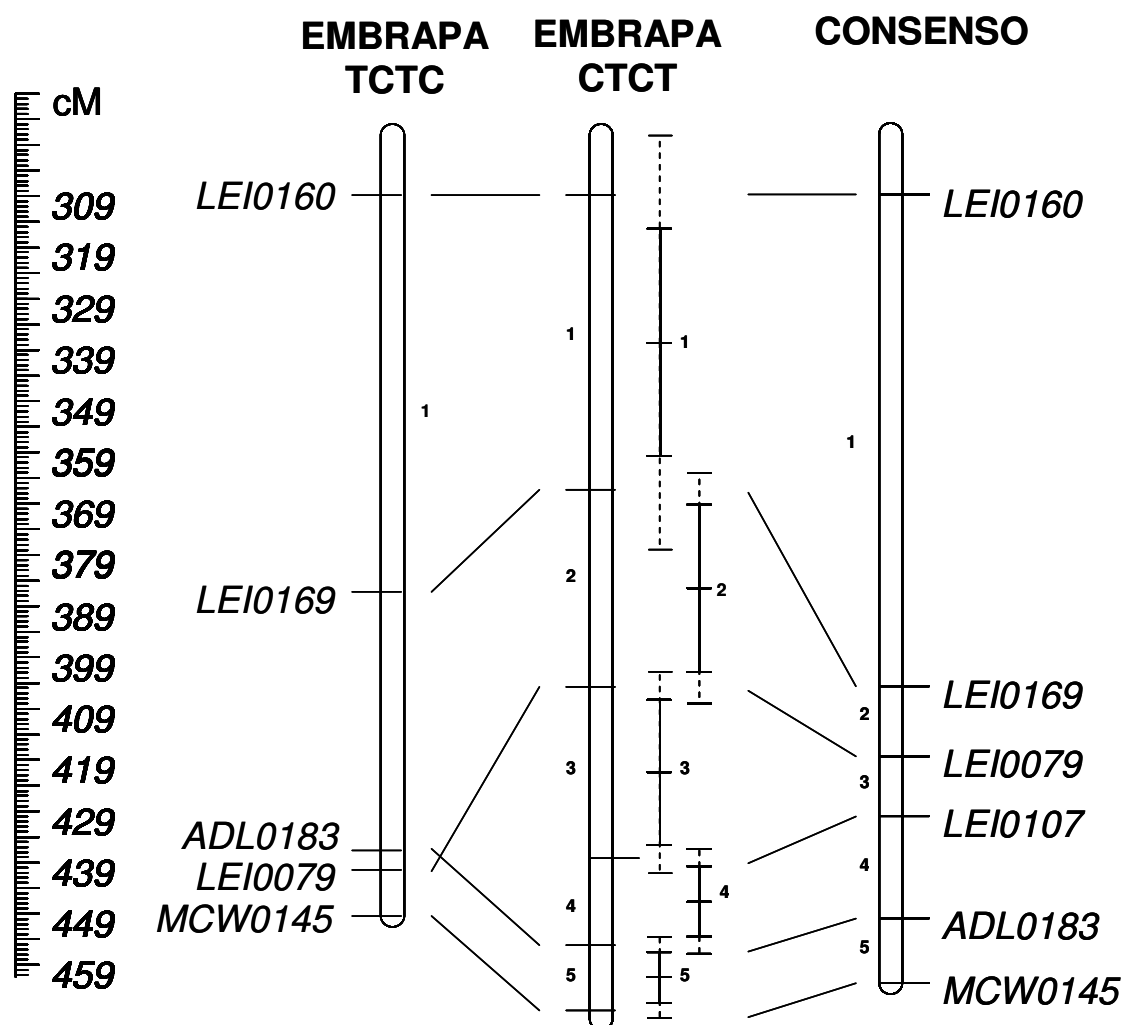


Figura 3.2 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, NONES et al., 2005), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 1 (GGA1B). À direita do mapa CTCT encontram-se os intervalos de confiança *bootstrap*: linhas cheias correspondem aos intervalos constituídos somente com os limites inferiores (percentil 2,5); linhas tracejadas, aos intervalos considerando apenas os limites superiores (percentil 97,5). O loco *LEI0160* tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso

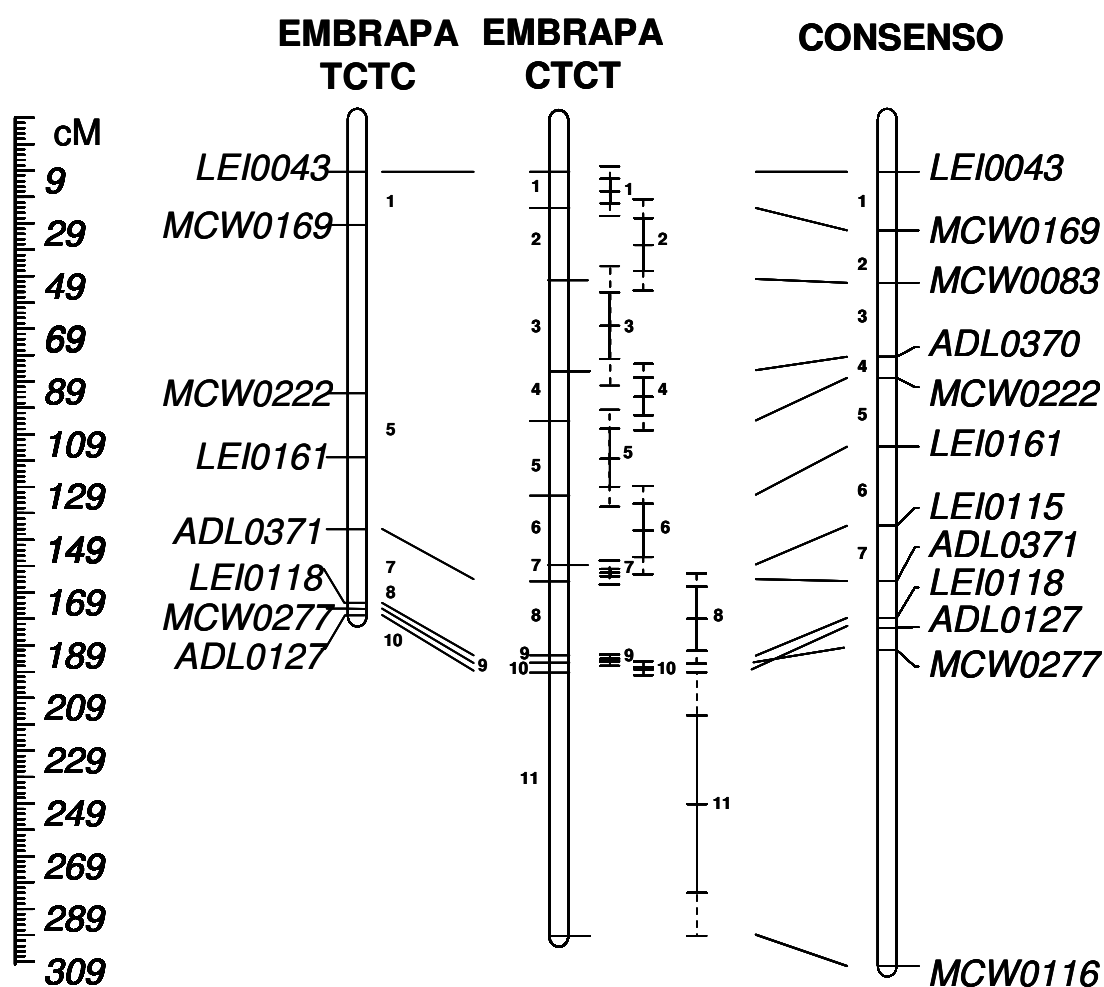


Figura 3.3 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, RUY, 2004), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 3 (GGA3). À direita do mapa CTCT encontram-se os intervalos de confiança *bootstrap*: linhas cheias correspondem aos intervalos constituídos somente com os limites inferiores (percentil 2,5); linhas tracejadas, aos intervalos considerando apenas os limites superiores (percentil 97,5). O loco *LEI0043* tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso

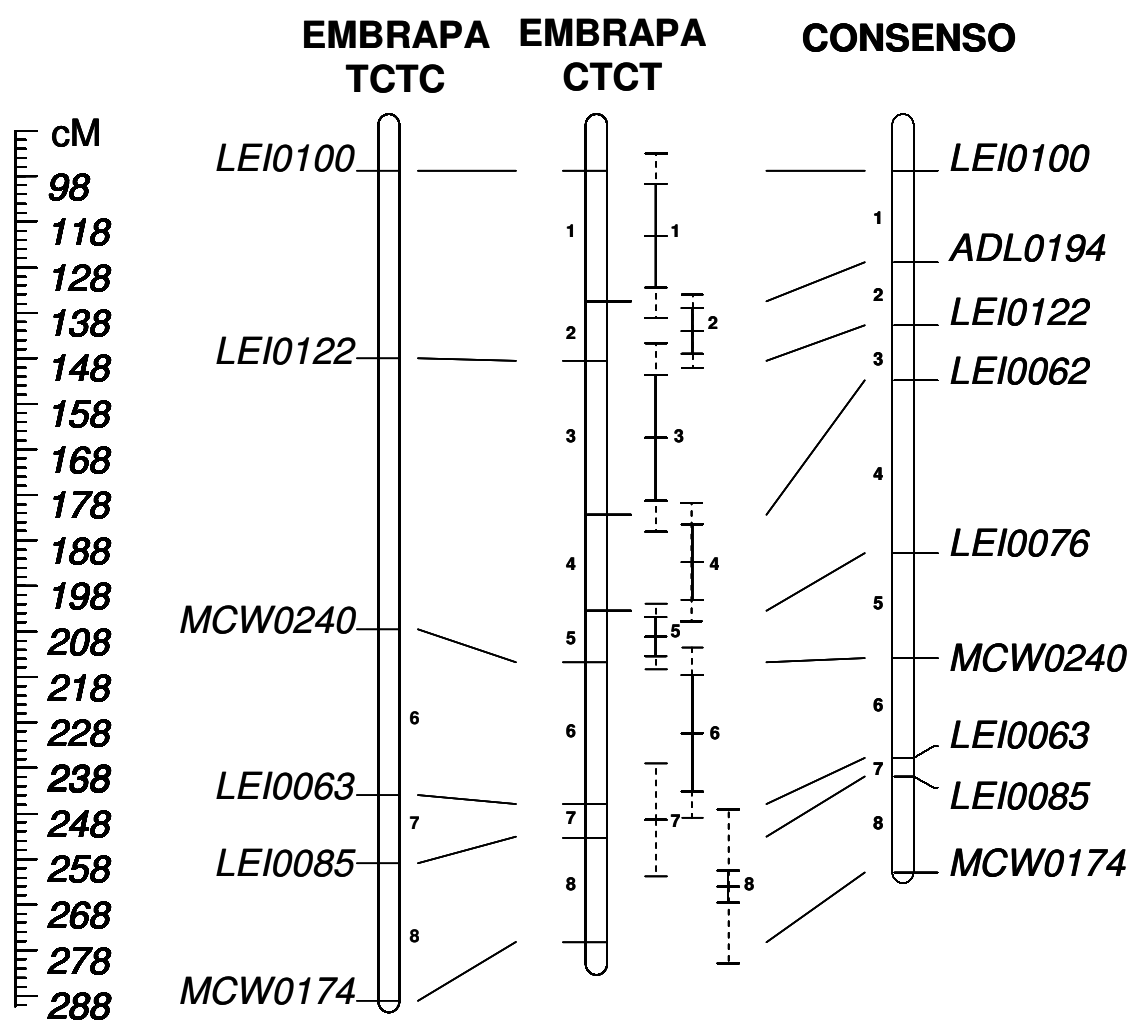


Figura 3.4 - Mapas de ligação da população recíproca TCTC (à esquerda, BARON, 2004), CTCT (ao centro) e Consenso (à direita, SCHMID et al., 2005) para o cromossomo 4 (GGA4). À direita do mapa CTCT encontram-se os intervalos de confiança *bootstrap*: linhas cheias correspondem aos intervalos constituídos somente com os limites inferiores (percentil 2,5); linhas tracejadas, aos intervalos considerando apenas os limites superiores (percentil 97,5). O loco *LEI0100* tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso

3.2.3 Discussão

Este trabalho foi motivado por dois fatores: (1) a ausência de um mapa de ligação para a população estudada (CTCT) e (2) a comparação entre os mapas de ligação de CTCT, TCTC e Consenso, baseada tanto no comprimento original dos cromossomos estudados como na ordem dos locos. Com a inclusão dos intervalos de confiança das distâncias entre locos, tal comparação pôde ser feita de forma completa, associando-se possíveis variações do acaso.

De maneira geral, verificou-se uma relação direta entre o número total de alelos e de meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*, e o padrão de segregação dos locos nas quatro famílias. Assim, quanto maior o número total de alelos por loco, mais meioses informativas de fase conhecida *a posteriori* foram verificadas para locos de padrão de segregação 1:1:1:1 nas quatro famílias selecionadas e, quanto menor o número total de alelos por loco, menos meioses informativas de fase conhecida *a posteriori* foram verificadas para locos de padrão de segregação 1:2:1, 1:1 ou aqueles que não segregaram nas quatro famílias selecionadas. Apesar de o padrão de segregação 1:2:1, inicialmente parecer informativo, há um confundimento da origem do alelo dos F₂ em relação aos seus ascendentes, impossibilitando determinar a sua origem nas linhagens parentais, o que o caracteriza como menos informativo.

Por outro lado, foi constatada uma relação indireta entre a amplitude do intervalo de confiança e o padrão de segregação nas quatro famílias. Portanto, os intervalos de confiança mais amplos foram verificados entre os locos que foram menos informativos (segregação 1:1 ou que não segregaram) predominantes nas quatro famílias selecionadas. Já os intervalos de confiança mais estreitos foram verificados entre os locos que apresentaram segregação 1:1:1:1, 1:2:1 ou 1:1 predominantes entre as quatro famílias.

As maiores amplitudes dos intervalos de confiança foram observadas entre os locos *ADL0234* e *MCW297* (39,0 cM), *LEI01060* e *LEI0169* e entre *ADL0127* e *MCW0116* (32,9 cM). Os dois primeiros intervalos podem ser explicados pelo fato de os locos apresentarem uma combinação entre número de meioses informativas de fase conhecida *a posteriori* e padrão de segregação menos informativa nas quatro famílias e também pelo fato de se restringir a segmentos do cromossomo 1 que, segundo Schmid et al. (2005), apresenta um total de 585 cM. Acredita-se que o adensamento deste intervalo com marcadores moleculares poderia fornecer menor amplitude dos intervalos estimados. Já o terceiro intervalo pode ser explicado pelo fato de os locos não estarem efetivamente ligados de acordo com os dados deste estudo, se for

considerado um $LOD > 3$. Entretanto, o *MCW0116* foi mantido no *framework*, baseando-se em sua proximidade de posição com a encontrada no Mapa Consenso da Galinha (SCHMID et al., 2005).

Portanto, a precisão na estimação dos intervalos de confiança teve como causas: (1) a informatividade intra e inter locos para o número de meioses informativas *a posteriori* e (2) o padrão de segregação dos locos, considerando-se estas duas causas nas quatro famílias simultaneamente. Os estudos sobre mapas de ligação e mapeamento de QTLs em galinhas (*outbred*) baseiam-se na estrutura de famílias (HALEY; KNOTT; ELSEN, 1994), o que diminui sensivelmente o poder estatístico tanto para construir mapas de ligação quanto para mapear QTLs em relação às espécies *inbred*, pois nem todos os alelos (dos marcadores e dos QTLs) estão fixados nas linhagens parentais.

Hipoteticamente, um conjunto de dados moleculares onde não houvesse dados perdidos, erros de genotipagem e distorção de segregação seria o ideal para a construção de mapas de ligação. Entretanto, isto é praticamente impossível. Em nosso estudo, a média geral de dados perdidos foi de aproximadamente 4,7% e apenas quatro locos apresentaram distorção de segregação. Buetow (1991) demonstrou, a partir de estudos de simulação em humanos, que 1% de erro de genotipagem não detectada pode conduzir à incorreta ordem dos locos e à inflação do comprimento do mapa. Outro estudo, baseado em simulações, foi conduzido por Hackett e Broadfoot (2003) que investigaram os efeitos de erros de genotipagem, dados perdidos e distorção de segregação na construção de mapas de ligação. Estes autores encontraram que dados perdidos e/ou erros de genotipagem reduzem a proporção da ordem correta dos locos e isto diminui as distâncias entre locos; também verificaram que a presença de dados perdidos conduz a um menor comprimento do mapa para locos mais espaçados, e a distorção de segregação tem pouco efeito sobre a construção de mapas de ligação. Dessa forma, os mapas de ligação aqui apresentados podem ser considerados como uma boa estimativa dos mapas verdadeiros.

A obtenção de mapas de ligação estimados de maneira apropriada é um primeiro passo para que estudos detalhados, tais como o mapeamento de QTLs (ABASHT; DEKKERS; LAMONT, 2006) e de genes (SIEGEL et al., 2006) possam ser conduzidos. A integração do mapa da galinha com outras espécies de aves tem sido feita: com codornas (KAYANG et al., 2006; SASAZAKI et al., 2006) e com perus (REED et al., 2005, 2006; CHAVES et al., 2006). Todos estes estudos certamente têm contribuído para a dissecação da arquitetura genética de

características quantitativas, permitindo que a associação entre o genótipo e fenótipo seja feita através do número, posições no genoma, frequências e efeitos dos locos que controlam características quantitativas (ZENG; KAO; BASTEN, 1999).

Apesar de a estimação de intervalos de confiança ter possibilitado uma comparação mais criteriosa entre os mapas genéticos da galinha neste estudo, somente a comparação que combine o mapa físico com a seqüência do genoma (HILLIER et al., 2004) poderá efetivamente elucidar as diferenças no tamanho dos cromossomos, ordem e distâncias entre locos que são encontradas em diversos estudos. Entretanto, a construção de mapas físicos para a galinha baseados em BACs (*Bacterial Artificial Chromosome* – Cromossomo Artificial de Bactéria) ainda não permitiu uma completa cobertura do genoma. Os trabalhos preliminares de Aerts et al. (2003) e Ren et al. (2003) representaram um grande progresso para o alinhamento entre os mapas físicos e de ligação através de um grande número de ligações entre BACs e marcadores moleculares. Mas Wallis et al. (2004) relataram que os BACs só permitiram cobrir 95% do genoma da galinha e que o restante deverá ser coberto pelo desenvolvimento e mapeamento de SNPs no Mapa Consenso da Galinha. Portanto, acredita-se que os resultados aqui apresentados contribuam para o melhor entendimento de parte do genoma da galinha doméstica. Sua extensão para os demais cromossomos poderá contribuir na comparação e integração entre os diversos mapas de ligação que têm sido obtidos, possibilitando, inclusive, meta-análises relacionadas à construção de mapas de ligação e ao mapeamento de QTLs.

3.3 Conclusões

Os mapas de ligação da população CTCT são similares aos de sua população recíproca TCTC e aos do Mapa Consenso da galinha doméstica. A estimação de intervalos de confiança para as distâncias entre locos permitiu a elucidação das diferenças tanto no tamanho dos cromossomos quanto na ordem dos locos verificadas nas comparações entre estes mapas.

Referências

ABASHT, B.; DEKKERS, J.C.M.; LAMONT, S.J. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.2079-2096, 2006.

AERTS, J.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; CORNELISSEN, S.; HEMMATIAN, K.; VEENENDAAL, T.; JAADAR, A.; VAN DER POEL, J.; FILLON, V.; VIGNAL, A.; GROENEN, M. Integration of chicken genomic resources to enable whole-genome sequencing. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.102, p.297–303, 2003.

BARON, E.E. **Identificação de QTLs nos cromossomos 2 e 4 que controlam características de desempenho e carcaça em aves (*Gallus gallus*)**. 2004. 96p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

BARON, E.E.; RUY, D.C.; NONES, K.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; COUTINHO, L.L. Identificação de QTL para peso corporal em aves (*Gallus gallus*) no cromossomo 4. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49., Águas de Lindóia, 2003. **Anais...** Ribeirão Preto: SBG, 2003. 1 CD-ROM.

BITGOOD, J.J.; SOMES JR., R.G. Gene map of the chicken (*Gallus gallus* or *G. domesticus*). In: O’Brien, S. (Ed.). **Genetic Maps**. New York: Cold Spring Harbor, 1993. p.4332-4342.

BUETOW, K.H. Influence of aberrant observations on high-resolution linkage analysis outcomes. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.49, p.985–994, 1991.

BUMSTEAD, N.; PALYGA, J. A preliminary linkage map of the chicken genome. **Genomics**, San Diego, v.13, p.690-697, 1992.

CHAVES, L.D.; KNUTSON, T.P.; KRUEH, S.B.; REED, K.M. Using the chicken genome sequence in the development and mapping of genetic markers in the turkey (*Meleagris gallopavo*). **Animal Genetics**, Oxford, v.37, p.130-138, 2006.

DARVASI, A.; SOLLER, M. Selective genotyping for determination of linkage between a marker locus and quantitative trait locus. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.85, p.353-359, 1992.

EFRON, B.; TIBSHIRANI, R.J. **An introduction to the bootstrap**. New York: Chapman & Hall, 1993. 436p.

ETCHES, R.J.; HAWES, R.O. A summary of linkage relationships and a revised linkage map of the chicken. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v.15, p.553-570, 1973.

FISHELSON, M.; GEIGER, D. 2002 Exact genetic linkage computations for general pedigrees. **Bioinformatics**, Oxford, v.18, p.S189-S198, 2002.

GREEN, P.; FALLS, K.; CROOKS, S. **Documentation for CRI-MAP, version 2.4**. Washington University School of Medicine, Saint Louis. 1990. Disponível em: <<http://linkage.rockefeller.edu/soft/crimap/>> Acesso em: 15 de ago. 2007.

GROENEN, M.A.M.; CHENG, H.H.; BUMSTEAD, N.; BENKEL, B.F.; BRILES, W.E.; BURKE, T.; BURT, D.W.; CRITTENDEN, L.B.; DODGSON, J.; HILLEL, J.; LAMONT, S.J.; LEON, A.P.; SOLLER, M.; TAKAHASHI, H.; VIGNAL, A. A consensus linkage map of chicken genome. **Genome Research**, Cambridge, v.10, n.1, p.137-147, 2000.

GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VEENENDAAL, A.; CHENG, H.H.; SIWEK, M.; VAN DER POEL, J.J. A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome. **Genomics**, San Diego, v.49, p.265-274, 1998.

HACKETT, C.A.; BROADFOOT, L.B. Effects of genotyping errors, missing values and segregation distortion in molecular marker data on the construction of linkage maps. **Heredity**, London, v.90, p.33-38, 2003.

HALEY, C.S.; KNOTT, S.A.; ELSSEN, J.M. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1195-207, 1994.

HILLIER, L.W.; MILLER, W.; BIRNEY, E.; WARREN, W.; HARDISON, R.C.; PONTING, C.P.; BORK, P.; BURT, D.W.; GROENEN, M.A.M.; DELANY, M.E.; DODGSON, J.B.; CHINWALLA, A.T.; CLIFTEN, P.F.; CLIFTON, S.W.; DELEHAUNTY, K.D.; FRONICK, C.; FULTON, R.S.; GRAVES, T.A.; KREMITZKI, C.; LAYMAN, D.; MAGRINI, V.; MCPHERSON, J.D.; MINER, T.L.; MINX, P.; NASH, W.E.; NHAN, M.N.; NELSON, J.O.; ODDY, L.G.; POHL, C.S.; RANDALL-MAHER, J.; SMITH, S.M.; WALLIS, J.W.; YANG, S.P.; ROMANOV, M.N.; RONDELLI, C.M.; PATON, B.; SMITH, J.; MORRICE, D.; DANIELS, L.; TEMPEST, H.G.; ROBERTSON, L.; MASABANDA, J.S.; GRIFFIN, D.K.; VIGNAL, A.; FILLON, V.; JACOBSON, L.; KERJE, S.; ANDERSSON, L.; CROOIJMANS, R.P.M.; AERTS, J.; VAN DER POEL, J.J.; ELLEGREN, H.; CALDWELL, R.B.; HUBBARD, S.J.; GRAFHAM, D.V.; KIERZEK, A.M.; MCLAREN, S.R.; OVERTON, I.M.; ARAKAWA, H.; BEATTIE, K.J.; BEZZUBOV, Y.; BOARDMAN, P.E.; BONFIELD, J.K.; CRONING, M.D.R.; DAVIES, R.M.; FRANCIS, M.D.; HUMPHRAY, S.J.; SCOTT, C.E.; TAYLOR, R.G.; TICKLE, C.; BROWN, W.R.A.; ROGERS, J.; BUERSTEDDE, J.M.; WILSON, S.A.; STUBBS, L.; OVCHARENKO, I.; GORDON, L.; LUCAS, S.; MILLER, M.M.; INOKO, H.; SHIINA, T.; KAUFMAN, J.; SALOMONSEN, J.; SKJOEDT, K.; WONG, G.K.S.; WANG, J.; LIU, B.; WANG, J.; YU, J.; YANG, H.M.; NEFEDOV, M.; KORIABINE, M.; DEJONG, P.J.; GOODSTADT, L.; WEBBER, C.; DICKENS, N.J.; LETUNIC, I.; SUYAMA, M.; TORRENTS, D.; VON MERING, C.; ZDOBNOV, E.M.; MAKOVA, K.; NEKRUTENKO, A.; ELNITSKI, L.; ESWARA, P.; KING, D.C.; YANG, S.; TYEKUCHEVA, S.; RADAKRISHNAN, A.; HARRIS, R.S.; CHIAROMONTE, F.; TAYLOR, J.; HE, J.B.; RIJNKELS, M.; GRIFFITHS-JONES, S.; URETA-VIDAL, A.; HOFFMAN, M.M.; SEVERIN, J.; SEARLE, S.M.J.; LAW, A.S.; SPEED, D.; WADDINGTON, D.; CHENG, Z.; TUZUN, E.; EICHLER, E.; BAO, Z.R.; FLICEK, P.; SHTEYNBERG, D.D.; BRENT, M.R.; BYE, J.M.; HUCKLE, E.J.; CHATTERJI, S.; DEWEY, C.; PACHTER, L.; KOURANOV, A.; MOURELATOS, Z.; HATZIGEORGIOU, A.G.; PATERSON, A.H.; IVARIE, R.; BRANDSTROM, M.; AXELSSON, E.; BACKSTROM, N.; BERLIN, S.; WEBSTER, M.T.; POURQUIE, O.; REYMOND, A.; UCLA, C.;

ANTONARAKIS, S.E.; LONG, M.Y.; EMERSON, J.J.; BETRAN, E.; DUPANLOUP, I.; KAESSMANN, H.; HINRICHS, A.S.; BEJERANO, G.; FUREY, T.S.; HARTE, R.A.; RANEY, B.; SIEPEL, A.; KENT, W.J.; HAUSSLER, D.; EYRAS, E.; CASTELO, R.; ABRIL, J.F.; CASTELLANO, S.; CAMARA, F.; PARRA, G.; GUIGO, R.; BOURQUE, G.; TESLER, G.; PEVZNER, P.A.; SMIT, A.; FULTON, L.A.; MARDIS, E.R.; WILSON, R.K. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. **Nature**, London, v.432, p.695-716, 2004.

HUTT, F.B. **Animal genetics**. New York: Ronald, 1964. 546p.

HUTT, F.B. **Genetics of the fowl**. New York: McGraw-Hill Book, 1949. 590p.

HUTT, F.B. Genetics of the fowl. VI. A tentative chromosome map. In: _____. **Neue Forschungen in Tierzucht und Abstammungslehre (Duerst Festschrift)**, 1936. p.105-112.

HUTT, F.B. New loci in the sex chromosome of the fowl. **Heredity**, London, v.15. p.97-110, 1960.

HUTT, F.B.; LAMOREUX, W.F. Genetics of the fowl. II. A linkage map for six chromosomes. **Journal of Heredity**, Cary, v.31, p.23 1-235, 1940.

KAYANG, B.B.; FILLON, V.; INOUE-MURAYAMA, M.; MIWA, M.; LEROUX, S.; FÈVE, K.; MONVOISIN, J.L.; PITEL, F.; VIGNOLES, M.; MOUILHAYRAT, C.; BEAUMONT, C.; ITO, S.; MINVIELLE, F.; VIGNAL, A. Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. **BMC Genomics**, London, v.7, 2006. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2164-7-101.pdf>> Acesso em 14 de set. 2007.

LEVIN, I.; SANTAGELO, L.; CHENG, H.; CRITTENDEN, L.B.; DODGSON, J.B. An autosomal genetic linkage map of the chicken. **Journal of Heredity**, Cary, v.85, p.79-85, 1994.

LIU, B.H. **Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis**. Boca Raton: CRC, 1998. 648p.

MURANTY, H.; GOFFINET, B. Selective genotyping for location and estimation of the effect of a quantitative trait locus. **Biometrics**, Washington, v.53, p.629-643, 1997.

NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; COUTINHO, L.L. Identificação de QTLs associados a peso corporal no cromossomo 1. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2003a, Campinas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola...** Campinas: FACTA, Sup.5, 2003a. p.109.

NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; MELO, C.M.R.; MOURA, A.S.A.M.T.; ZANELLA, E.L.; BURT, D.W.; COUTINHO, L.L. Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. **Animal Genetics**, Oxford, v.37, p.95-100, 2006.

NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L. Genetic linkage map of chicken chromosome from a Brazilian resource population. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, p.12-17, 2005.

NONES, K.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; COUTINHO, L.L. Identification of potential QTLs in a cross between broiler and layer lines by selective genotyping. In: PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, 11., San Diego, 2003b. **Abstracts...** San Diego: PAGC, 2003b. p.599.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Disponível em: <<http://www.R-project.org>> Acesso em 25 de set. 2007.

RAO, Y.; SHEN, X.; MENGNA, X.; CHEGLONG, L.; NIE, Q.; ZHANG, D.; ZHANG, X. SNP mapping of QTL affecting growth and fatness on chicken GGA1. **Genetics Selection Evolution**, Les Ulis, v.39, p.569-582, 2007.

REED, K.M.; CHAVES, L.D.; HALL, M.K.; KNUTSON, T.P.; HARRY, D.E. A comparative genetic map of the turkey genome. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.111, p.118-127, 2005.

REED, K.M.; CHAVES, L.D.; KNUTSON, T.P.; KRUEH, S.B.; ASHWELL, C.M.; BURT, D.W. Integration of microsatellite-based genetic maps for the turkey (*Meleagris gallopavo*). **Genome**, Ottawa, v.49, p.1308-1318, 2006.

REN, C.; LEE, M.K.; YAN, B.; DING, K.; COX, B.; ROMANOV, M.N.; PRICE, J.A.; DODGSON, J.B.; ZHANG, H.B. A BAC-based physical map of the chicken genome. **Genome Research**, Woodbury, v.3, p.2754-2758, 2003.

ROSÁRIO, M.F.; GARCIA, A.A.F.; LEDUR, M.C.; COUTINHO, L.L. Parâmetros genéticos estimados em população experimental de frangos para mapeamento de QTL (*quantitative trait loci*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L., GARCIA, A.A.F. Genotypic characterization of two Brazilian chicken lines and their reciprocal crosses designed to map QTLs. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, 2007. In press.

RUY, D.C. **Mapeamento de QTL para desempenho e características de carcaça, nos cromossomos 3 e 5 de *Gallus gallus***. 2004. 122p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

RUY, D.C.; NONES, K.; BARON, E.E.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; COUTINHO, L.L. Identificação de QTL influenciando o peso corporal no cromossomo 3 de aves (*Gallus gallus*). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49., Águas de Lindóia, 2003. **Anais...** Ribeirão Preto: SBG, 2003. 1 CD-ROM.

SAS – Statistical Analyses System. **SAS OnlineDoc®**, version 9.13, Cary: SAS Institute. 2007. 1 CD-ROM.

SASAZAKI, S.; HINENOYA, T.; LIN, B.; FUJIWARA, A.; MANNEN, H. A comparative map of macrochromosomes between chicken and Japanese quail based on orthologous genes. **Animal Genetics**, Oxford, v.37, p.316-320, 2006.

SCHMID, M.; NANDA, I.; GUTTENBACH, M.; STEINLEIN, C.; HOEHN, M.; SCHARTL, M.; HAAAF, T.; WEIGEND, S.; FRIES, R.; BUERSTEDDE, J.-M.; WIMMERS, K.; BURT, D.W.; SMITH, J.; A'HARA, S.; LAW, A.; GRIFFIN, D.K.; BUMSTEAD, N.; KAUFMAN, J.; THOMSON, P.A.; BURKE, T.; GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VIGNAL, A.; FILLON, V.; MORISSON, M.; PITEL, F.; TIXIER-BOICHARD, M.; LADJALI-MOHAMMEDI, K.; HILLEL, J.; MÄKI-TANILA, A.; CHENG, H.H.; DELANY, M.E.; BURNSIDE, J.; MIZUNO, S. (2000) First report on chicken genes and chromosomes 2000. **Cytogenetics and Cell Genetics**, Basel, v.90, p.169-218, 2000.

SCHMID, M.; NANDA, I.; HOEHN, H.; SCHARTL, M.; HAAAF, T.; BUERSTEDDE, J.M.; ARAKAWA, H.; CALDWELL, R.B.; WEIGEND, S.; BURT, D.W.; SMITH, J.; GRIFFIN, D.K.; MASABANDA, J.S.; GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VIGNAL, A.; FILLON, V.; MORISSON, M.; PITEL, F.; VIGNOLES, M.; GARRIGUES, A.; GELLIN, J.; RODIONOV, A.V.; GALKINA, S.A.; LUKINA, N.A.; BEN-ARI, G.; BLUM, S.; HILLEL, J.; TWITO, T.; LAVI, U.; DAVID, L.; FELDMAN, M.W.; DELANY, M.E.; CONLEY, C.A.; FOWLER, V.M.; HEDGES, S.B.; GODBOUT, R.; KATYAL, S.; SMITH, C.; HUDSON, Q.; SINCLAIR, A.; MIZUNO, S. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.109, p.415–479, 2005.

SEREBROVSKY, A.S.; PETROV, S.G. On the composition of the plan of the chromosomes of the domestic hen. **Zhurnal experimental'noy biologii**, Moscow, v.6, p.157- 180, 1930.

SIEGEL, P.B.; DODGSON, J.B.; ANDERSSON, L. Progress from chicken genetics to the chicken genome. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.2050-2060, 2006.

SOMES JR., R.G. Linkage relationships in domestic fowl. **Journal of Heredity**, Cary, v.64, p.217-221, 1973.

SOMES JR., R.G. New linkage groups and revised chromosome map of the domestic fowl. **Journal of Heredity**, Cary, v.69, p.401-403, 1978.

VAN GESTEL, S.; HOUWING-DUISTERMAAT, J.J.; ADOLFSSON, R.; VAN DUIJN, C.M.; VAN BROECKHOVEN, C. Power of selective genotyping in genetic association analyses of quantitative traits. **Behavior Genetics**, New York, v.30, p.141-146, 2000.

WALLIS, J.W.; AERTS, J.; GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; LAYMAN, D.; GRAVES, T.A.; SCHEER, D.E.; KREMITZKI, C.; FEDELE, M.J.; MUDD, N.K.; CARDENAS, M.; HIGGINBOTHAM, J.; CARTER, J.; MCGRANE, R.; GAIGE, T.; MEAD, K.; WALKER, J.; ALBRACHT, D.; DAVITO, J.; YANG, S.P.; LEONG, S.; CHINWALLA, A.; SEKHON, M.; WYLIE, K.; DODGSON, J.; ROMANOV, M.N.; CHENG, H.; DE JONG, P.J.; OSOEGAWA, K.; NEFEDOV, M.; ZHANG, H.B.; MCPHERSON, J.D.; KRZYWINSKI, M.; SCHEIN, J.; HILLIER, L.; MARDIS, E.R.; WILSON, R.K.; WARREN, W.C. A physical map of the chicken genome. **Nature**, London, v.432, p.761-764, 2004.

WANG, J.; HE, X.M.; RUAN, J.; DAI, M.T.; CHEN, J.; ZHANG, Y.; HU, Y.F.; YE, C.; LI, S.T.; CONG, L.J.; FANG, L.; LIU, B.; LI, S.G.; WANG, J.; BURT, D.W.; WONG, G.K.S.; YU, J.; YANG, H.M.; WANG, J. ChickVD: a sequence variation database for the chicken genome. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.33, p. D438-D441 Sup. SI, 2005.

WONG, G.K.S.; LIU, B.; WANG, J.; ZHANG, Y.; YANG, X.; ZHANG, Z.J.; MENG, Q.S.; ZHOU, J.; LI, D.W.; ZHANG, J.J.; NI, P.X.; LI, S.G.; RAN, L.H.; LI, H.; ZHANG, J.G.; LI, R.Q.; LI, S.T.; ZHENG, H.K.; LIN, W.; LI, G.Y.; WANG, X.L.; ZHAO, W.M.; LI, J.; YE, C.; DAI, M.T.; RUAN, J.; ZHOU, Y.; LI, Y.Z.; HE, X.M.; ZHANG, Y.Z.; WANG, J.; HUANG, X.G.; TONG, W.; CHEN, J.; YE, J.; CHEN, C.; WEI, N.; LI, G.Q.; DONG, L.; LAN, F.D.; SUN, Y.Q.; ZHANG, Z.P.; YANG, Z.; YU, Y.P.; HUANG, Y.Q.; HE, D.D.; XI, Y.; WEI, D.; QI, Q.H.; LI, W.J.; SHI, J.P.; WANG, M.H.; XIE, F.; WANG, J.J.; ZHANG, X.W.; WANG, P.; ZHAO, Y.Q.; LI, N.; YANG, N.; DONG, W.; HU, S.N.; ZENG, C.Q.; ZHENG, W.M.; HAO, B.L.; HILLIER, L.W.; YANG, S.P.; WARREN, W.C.; WILSON, R.K.; BRANDSTROM, M.; ELLEGREN, H.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VAN DER POEL, J.J.; BOVENHUIS, H.; GROENEN, M.A.M.; OVCHARENKO, I.; GORDON, L.; STUBBS, L.; LUCAS, S.; GLAVINA, T.; AERTS, A.; KAISER, P.; ROTHWELL, L.; YOUNG, J.R.; ROGERS, S.; WALKER, B.A.; VAN HATEREN, A.; KAUFMAN, J.; BUMSTEAD, N.; LAMONT, S.J.; ZHOU, H.J.; HOCKING, P.M.; MORRICE, D.; DE KONING, D.J.; LAW, A.; BARTLEY, N.; BURT, D.W.; HUNT, H.; CHENG, H.H.; GUNNARSSON, U.; WAHLBERG, P.; ANDERSSON, L.; KINDLUND, E.; TAMMI, M.T.; ANDERSSON, B.; WEBBER, C.; PONTING, C.P.; OVERTON, I.M.; BOARDMAN, P.E.; TANG, H.Z.; HUBBARD, S.J.; WILSON, S.A.; YU, J.; WANG, J.; YANG, H.M. A genetic variation map for chicken with 2.8 million single-nucleotide polymorphisms. **Nature**, London, v.432, p.717-722, 2004.

ZENG, Z.-B.; KAO, C.-H.; BASTEN, C.J. Estimating the genetic architecture of quantitative traits. **Genetical Research**, Cambridge, v.74, p.279-289, 1999.

4 MAPEAMENTO POR INTERVALO COMPOSTO DE CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS AO DESEMPENHO E AO RENDIMENTO DE CARÇA NA GALINHA DOMÉSTICA

Resumo

O mapeamento por intervalo (IM) estendido a populações *outbred* tem sido amplamente empregado para mapear QTLs na galinha doméstica. Entretanto, tal método possui várias limitações, que foram contornadas com o Mapeamento por Intervalo Composto (CIM). Este trabalho objetivou mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça nos cromossomos 1, 3 e 4 da população CTCT empregando o CIM e comparando-o com o IM. Foram empregados procedimentos para modelagem dos fenótipos com efeito fixo ou aleatório de incubação, além de códigos próprios do programa computacional R para implementar tais métodos. Verificou-se que a inclusão do efeito de incubação como aleatório no modelo permitiu melhores ajustes. Quando se comparou o IM usando o modelo fixo (15 QTLs) com o IM com modelo misto (13 QTLs) notou-se que os resultados foram muito semelhantes. O CIM permitiu mapear um total de 22 QTLs, o que permitiu inferir que este método possui maior poder estatístico do que o IM com modelo fixo ou misto. Resultados interessantes foram também observados no cromossomo 4, onde foram mapeados dois QTLs simultaneamente para peso vivo aos 35 e aos 42 dias e ganho de peso da eclosão aos 35 e 41 dias, além de terem sido observadas duas regiões com QTLs ainda não descritas na literatura: uma associada ao ganho de peso (*MCW0240-LEI0063*) e outra ao consumo de ração (*LEI0085-MCW0174*) 35-41 dias.

Palavras-chave: Cofatores; Mapeamento por intervalo; Modelo misto; QTL

Abstract

Interval mapping (IM) extended for outbred populations has been widely used to map QTL in the domestic fowl. However, this method has several limitations that were solved with the development of Composite Interval Mapping (CIM). This work aimed to map QTL associated with performance and carcass yield on chromosomes 1, 3 and 4 from CTCT population using CIM and comparing the results with those obtained with IM (fixed or mixed models). Procedures were used to model the traits with fixed and random effects and also codes were developed under R software to implement CIM and IM. The inclusion of hatch as random effect allowed traits to be modelled more suitably. However, when comparing the fixed IM (15 QTL) with the mixed IM (13 QTL) the results were very similar. CIM resulted in a total of 22 QTL, which makes it possible to infer that this method has more statistical power than IM using fixed or mixed models. Interesting results were also observed on chromosome 4, where two QTL were simultaneously mapped for body weight at 35 and 42 days and weight gain from post-hatch to 35 and 41 days. There were defined two regions that have not been previously described in the literature: one associated with weight gain (*MCW0240-LEI0063*) and another with feed intake (*LEI0085-MCW0174*) 35-41 days.

Key-words: Cofactors; Interval mapping; Mixed model; QTL

4.1 Introdução

A maior parte das características de interesse econômico na avicultura, como por exemplo, peso corporal e conversão alimentar, apresenta uma herança multifatorial, indicando que elas são controladas e influenciadas por vários locos gênicos (QTLs), sofrendo grande efeito ambiental (BARTON; KEIGHTLEY, 2002). O mapeamento de QTLs com o uso de marcadores genéticos permite inferir a arquitetura genética de características quantitativas (LIU, 1998; ERICKSON et al., 2004). Tal mapeamento baseia-se nos mapas de ligação, sendo que para a galinha doméstica há o Mapa Consenso, que foi recentemente atualizado por Schmid et al. (2005).

A galinha doméstica (*Gallus gallus domesticus*) é uma espécie *outbred*, onde o poder de detecção de QTLs é reduzido quando comparado às espécies com disponibilidade de linhagens homozigóticas, pois nem todos os locos são completamente informativos, uma vez que não estão fixados nas linhagens que dão origem às populações especificamente delineadas para mapear QTLs. Vários autores têm proposto estratégias que facilitem o mapeamento de QTLs em populações *outbred*: utilização de populações constituídas por meios-irmãos (KNOTT; ELSÉN; HALEY, 1996; DE KONING et al., 1998); irmãos completos (VAN DER BEEK; VAN ARENDONK, 1993; ALFONSO; HALEY, 1998); utilização da genotipagem seletiva, onde apenas os animais pertencentes aos extremos da curva de distribuição normal de fenótipos são genotipados (RUY et al., 2005). Todas elas visam maximizar o chamado desequilíbrio de ligação, permitindo a construção de mapas de ligação e o mapeamento de QTLs.

A arquitetura genética de características de interesse econômico na galinha doméstica foi realizada por Deeb e Lamont (2002) baseada apenas no fenótipo. Abasht; Dekkers e Lamont (2006), compilando resultados de 50 artigos científicos, relataram 697 QTLs mapeados para características relacionadas ao peso corporal, composição corporal e consumo de ração (383), à produção e qualidade de ovos (83), à resistência a doenças (143), a parâmetros metabólicos (50) e ao comportamento (38). Este número de QTLs mapeados tem possibilitado uma melhor compreensão da arquitetura genética das características de interesse econômico para a avicultura, pois tem definido regiões no genoma da galinha que controlam tais características. Especificamente para os cromossomos 1, 3 e 4 já foram mapeados 113, 62 e 84 QTLs, respectivamente, de acordo com a *Chicken Quantitative Trait Loci database - ChickenQTLdb* (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/chicken.html>).

Os estudos sobre mapeamento de QTLs na galinha doméstica vêm empregando, na quase totalidade, o Mapeamento por Intervalo (IM) (LANDER; BOTSTEIN, 1989), estendido para populações *outbred* (HALEY; KNOTT; ELSEN, 1994) e implementado pelo programa computacional QTL EXPRESS (SEATON et al., 2002 – <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>). No entanto, tal método apresenta varias limitações, que foram contornadas com o desenvolvimento de métodos mais elaborados, tais como o Mapeamento por Intervalo Composto (CIM) (ZENG, 1993; 1994; JANSEN; STAM, 1994) e o Mapeamento por Múltiplos Intervalos (MIM) (KAO; ZENG, 1997; KAO; ZENG; TEASDALE, 1999). Contudo, tais métodos não foram implementados pelo programa computacional QTL EXPRESS e, dessa forma, não vêm sendo usados rotineiramente para mapeamento de QTLs na galinha doméstica.

O CIM permite aumentar a acurácia do mapeamento de QTLs, principalmente quando há dois ou mais QTLs localizados no mesmo cromossomo. Este método se baseia em duas etapas básicas: *i*) seleção de cofatores (marcadores) através de regressão múltipla com determinada característica fenotípica; *ii*) os cofatores selecionados são introduzidos no modelo de mapeamento por intervalo. Pretende-se com esta estratégia isolar os efeitos de outros possíveis QTLs fora do intervalo considerado para mapeamento (ZENG, 1993; 1994). Este método vem sendo amplamente utilizado para mapear QTLs em muitas espécies de plantas onde é possível obter linhagens endogâmicas (*inbred*). Para populações *outbred*, Hayashi; Awata e Yasue (2002) discutiram as vantagens do CIM com base em simulação de dados. Para dados reais, os trabalhos que podem ser citados são de Rodriguez-Zas et al. (2002) em gado leiteiro, sendo que os autores simplificaram o delineamento da população experimental, não refletindo por completo a situação real e de Knott et al. (1998) em suínos.

A população TCTC, desenvolvida no Brasil pela EMBRAPA Suínos e Aves e Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” teve vários QTLs associados ao desempenho e à carcaça nos cromossomos 1 (NONES, 2004; NONES et al., 2006), 3 (RUY, 2004) e 4 (BARON, 2004). Tal população possui uma população recíproca, CTCT, para a qual os estudos se iniciaram com este trabalho, o qual se concentrou nas mesmas regiões onde marcadores microssatélites foram associados à característica peso vivo 42 dias em TCTC na etapa de genotipagem seletiva. Esta característica é geralmente correlacionada com outras de crescimento. Dessa forma, além de mapear novos QTLs, será possível validá-los com os resultados obtidos em TCTC.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi mapear QTLs associados ao desempenho e ao rendimento de carcaça nos cromossomos 1, 3 e 4 da população CTCT empregando os métodos de mapeamento por intervalo e mapeamento por intervalo composto, procurando validar àqueles já mapeados em TCTC.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Material e Métodos

População experimental

A população F₂ CTCT foi gerada através do cruzamento entre duas linhagens desenvolvidas na EMBRAPA Suínos e Aves: uma de postura (CC) e outra de corte (TT) para mapear QTLs associados ao desempenho e à carcaça. Sete machos CC foram cruzados com sete fêmeas TT (1:1) produzindo a geração F₁ CT de onde também foram selecionados um macho e três fêmeas de cada progênie. Cada macho F₁ foi cruzado com três fêmeas F₁ não aparentadas, produzindo a geração F₂ CTCT, em um total de aproximadamente 2100 progênies F₂ ao longo de 17 incubações em oito meses. Das 21 famílias F₁ de irmãos completos, foram selecionadas as quatro que apresentaram a melhor combinação dos parâmetros genéticos nos animais F₁s: número de classes genotípicas, número de alelos e padrão de segregação das classes genotípicas a serem obtidas em F₂, demonstrando serem as famílias mais informativas e que tiveram suas progênies F₂ genotipadas, em um total de 360 (90 de cada família) (ROSÁRIO et al., 2007a).

Análise de DNA

O DNA genômico dos animais das linhagens parentais e gerações F₁ e F₂ foi extraído utilizando-se o reagente DNAZOL[®] (INVITROGEN). Para detalhes sobre o protocolo de extração de DNA, vide o ANEXO A. Posteriormente o DNA foi amplificado com 34 marcadores microsatélites distribuídos ao longo dos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4), cobrindo 665 cM, o que corresponde a 15,8% do genoma da galinha, segundo Schmid et al. (2005). Dos 34 locos, 26 já possuíam associação com a característica peso vivo aos 42 dias na população recíproca TCTC, de acordo com a metodologia denominada genotipagem seletiva (DARVASI; SOLLER, 1992) empregada por Baron et al. (2003), Nones et al. (2003a, b) e Ruy et al. (2003). Foram ainda incluídos oito locos com o objetivo de reduzir as distâncias entre marcadores, possibilitando uma maior saturação das regiões estudadas.

O DNA genômico foi amplificado de acordo com os protocolos descritos por Rosário et al. (2005a). Os detalhes sobre os marcadores e os protocolos de amplificação por PCR estão no ANEXO B. Os produtos de PCR de três a quatro marcadores foram combinados, de acordo com a fluorescência e tamanho do fragmento esperado, com o padrão interno de peso molecular ETROX-400[®] (GE HEALTHCARE) para determinação dos genótipos em equipamento MEGABACE[®] (GE HEALTHCARE) com o auxílio do programa computacional GENETIC PROFILER[®] (GE HEALTHCARE).

Características fenotípicas

Foram avaliadas as características: peso vivo (g) aos 35, 41 e 42 dias de idade; ganho de peso (g) da eclosão aos 35, 41 e 42 dias de idade; ganho de peso (g), consumo de ração (g) e conversão alimentar (valor absoluto) dos 35 a 41 dias. O peso vivo aos 35 dias foi utilizado como covariável para a análise das três últimas características. Aos 42 dias de idade, as aves foram abatidas no Abatedouro Experimental de Suruvi, pertencente à EMBRAPA Suínos e Aves, Concórdia/SC, de acordo com as normas sanitárias e de bem-estar animal para a obtenção dos pesos das partes após resfriamento: asas, pernas (coxas e sobrecoxas), peito (com pele e osso) e dorso. O peso da carcaça eviscerada (sem pés, cabeça, pescoço e gordura abdominal) foi obtido através da soma das partes. Para mapear QTLs, tais medidas foram convertidas em rendimentos, os quais foram calculados dividindo-se o peso das partes pelo seu respectivo peso vivo aos 42 dias de idade e multiplicados por 100 (%). Foram calculadas estatísticas descritas para todas as características.

Com o intuito de selecionar o modelo linear que melhor se adequava ao conjunto de dados fenotípicos, estes dados foram analisados com o programa computacional SAS[®] (SAS, 2007), considerando-se o seguinte modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + F_i + S_j + F \times S_{ij} + I_k + F \times I_{ik} + S \times I_{ik} + e_{ijkl}$$

em que y_{ijkl} : valor fenotípico no l -ésimo animal da i -ésima família de irmãos completos, j -ésimo sexo e k -ésima incubação; μ : média do modelo; F_i : efeito fixo da i -ésima família de irmãos completos; S_j : efeito fixo do j -ésimo sexo; $F \times S_{ij}$: interação entre a i -ésima família de irmãos

completos e o j -ésimo sexo; I_k : efeito aleatório da k -ésima incubação; $F \times I_{ik}$: interação entre a i -ésima família de irmãos completos e a k -ésima incubação; $S \times I_{ik}$: interação entre o j -ésimo sexo e a k -ésima incubação; e_{ijkl} : erro aleatório. Para I_k e e_{ijkl} foram consideradas as matrizes de co(variância) $\mathbf{G}\sigma^2$ e $\mathbf{R}\sigma^2$, respectivamente, as quais foram modeladas de acordo com duas estruturas: componentes de variância (VC) e auto-regressiva de primeira ordem (AR1). A melhor estrutura foi selecionada com base no Critério de Informação de Akaike (AKAIKE, 1974) e no Critério de Informação Bayesiana (SCHWARZ, 1978). O efeito I_k também foi considerado como fixo à semelhança do programa computacional QTL EXPRESS.

Após a avaliação dos modelos, foi selecionado para análise dos dados fenotípicos e obtenção dos valores ajustados para se procederem o mapeamento de QTLs aquele contendo apenas os efeitos F_i , S_j e I_k , além da média e do erro. Para a matriz \mathbf{G} a estrutura de co(variância) selecionada foi AR1 e para a matriz \mathbf{R} foi VC.

Mapas de ligação

Inicialmente os dados genotípicos foram utilizados para verificar o número de duplas e triplas recombinações através da função *CHROMPIC* do programa computacional CRIMAP (GREEN; FALLS; CROOKS, 1990) e quando constatados possíveis erros de genotipagem, os genótipos foram reconferidos e corrigidos quando necessário. Os dados genotípicos conferidos pela genealogia foram utilizados na obtenção do número de meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*, através do programa computacional CRIMAP, e na análise do padrão de segregação para cada loco dentro de cada família através do teste do chi-quadrado, empregando-se a correção de Bonferroni para $P < 0,05$.

As ordens lineares entre locos foram obtidas utilizando-se o *rank* dos locos de acordo com o número de meioses informativas de fase conhecida *a posteriori*. A ordem mais provável foi determinada com base nas verossimilhanças das diferentes ordens, verificando-se qual a ordem de maior verossimilhança e, portanto, a mais provável. A distância entre locos foi estimada a partir de estimativas multiponto da fração de recombinação, as quais foram posteriormente convertidas em distâncias, de acordo com a função de Kosambi (KOSAMBI, 1944). Para processar todas as análises foram utilizadas as funções *TWOPOINT*, *BUILD*, *ALL*, *FLIPS2* e *CHROMPIC* do programa computacional CRIMAP com $LOD = 3$, considerando-se um mapa

médio de ambos os sexos. A posição do primeiro loco em cada um dos cromossomos foi dada em função de sua respectiva posição no Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005).

Obtenção dos preditores genéticos

Inicialmente foram calculadas combinações lineares das probabilidades condicionais dos diferentes genótipos dos QTLs (QQ , Qq , qQ e qq) dados os genótipos dos marcadores moleculares (HALEY; KNOTT; ELSEN, 1994). Estes coeficientes foram obtidos através do programa computacional QTL EXPRESS (SEATON et al., 2002) a cada centiMorgan do genoma estudado. Estes coeficientes (preditores genéticos) correspondem aos efeitos aditivo (a) e de dominância (d): $a = prob(\omega_{11}|P) - prob(\omega_{22}|P)$ e $d = prob(\omega_{12}|P) + prob(\omega_{21}|P)$, em que $prob(\omega_i|P)$ é a probabilidade da combinação de origem da linhagem i (i é assumida ser $11 = CC$, $12 = CT$, $21 = TC$ e $22 = TT$) para um QTL em uma dada posição, condicional aos genótipos observados nos marcadores moleculares, em um dado animal e em seus respectivos pais e avós.

Seleção dos cofatores

A seleção do número de cofatores, isto é, marcadores com algum efeito no fenótipo, foi feita univariadamente através do procedimento de regressão múltipla tipo *FOWARD*, que se baseia na entrada seqüencial de cofatores até exceder o nível de significância estipulado *a priori*, o qual foi assumido 5% neste estudo. Evidentemente, o número de cofatores selecionado para cada característica fenotípica foi diferente. Para tanto foi usado o programa computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2003). O número de cofatores selecionados para cada característica foi: seis (peso vivo 42 dias e ganho de peso eclosão-42 dias), quatro (peso vivo 35 dias, ganho de peso eclosão-35 e 41 dias e rendimento de dorso), três (peso vivo 41 dias e consumo de ração 35-41 dias), dois (ganho de peso 35-41 dias e rendimento de pernas), um (conversão alimentar 35-41 dias, rendimento de asas e rendimento de peito) e zero (rendimento de carcaça).

Mapeamento de QTLs

Foram empregados três modelos de mapeamento de QTLs:

- i) Mapeamento por Intervalo (IM) (LANDER; BOTSTEIN, 1989), considerando o efeito de incubação como fixo (HALEY, KNOTT; ELSEN, 1994), da forma como implementado pelo programa computacional QTL EXPRESS;
- ii) IM considerando o efeito de incubação como aleatório e estrutura de co(variância) AR1;
- iii) Mapeamento por Intervalo Composto (CIM) (ZENG, 1994), considerando o efeito de incubação como aleatório e estrutura de co(variância) AR1.

Para os modelos *i*) e *ii*), tem-se:

$$\hat{y}_j = \mu + \beta_a x_{aj} + \beta_d x_{dj} + e_j$$

em que \hat{y}_j : valor predito para cada característica fenotípica no *j*-ésimo animal, considerando o efeito de incubação como fixo (modelo *i*) e aleatório (modelo *ii*); μ : média do modelo; β_a : coeficiente de regressão do efeito aditivo; x_{aj} : preditor genético para o efeito aditivo; β_d : coeficiente de regressão do efeito de dominância; x_{dj} : preditor genético para o efeito de dominância; e_j : erro aleatório.

Para o modelo *iii*), tem-se:

$$\hat{y}_j = \mu + \beta_a x_{aj} + \beta_d x_{dj} + \sum_{k \neq i, i+1} \beta_k x_{jk} + e_j$$

em que os termos têm os mesmos significados que no modelo *ii*), exceto β_k : coeficiente de regressão parcial do fenótipo \hat{y} com o *k*-ésimo marcador, x_{jk} : variável indicadora do genótipo do *k*-ésimo marcador no *j*-ésimo animal (cofatores selecionados); e_j : erro aleatório. Para este modelo foi considerado um *window size* de 10 cM (ZENG, 1994).

A hipótese de nulidade assumiu a não existência de QTL associado à determinada característica. Empregou-se o *LOD* (*log of the odds* – razão de chances) nas análises para definir

o nível sugestivo ($LOD = 2$) e significativo ($LOD = 3$) no genoma. Todas as análises foram implementadas pelo programa computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2003). No caso do modelo *i*) também foi empregado o programa computacional QTL EXPRESS e os resultados foram idênticos, validando os códigos desenvolvidos.

4.2.2 Resultados e Discussão

Características fenotípicas

Na Tabela 4.1 são apresentadas as estatísticas descritivas para as 14 características estudadas. A variabilidade fenotípica verificada pode ser explicada pelo fato de se tratarem de animais F_2 , oriundos de cruzamentos em linhagens selecionadas divergentemente para postura (CC) e corte (TT). Também não foram observados dados discrepantes – *outliers*.

A média de peso vivo aos 42 dias é inferior às médias obtidas para linhagens comerciais (CHAPMAN; JOHNSON; McFARLAND, 2003; REDDISH; LIPBURN, 2004), mas por outro lado é similar à média de uma população experimental F_0 cujas linhagens fundadoras divergiam para peso vivo (ZEREHDARAN et al., 2004).

Tabela 4.1 – Descrição fenotípica das características estudadas

Característica ¹	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
peso vivo 35 dias (PV35)	860,29	139,45	420,00	1360,00
peso vivo 41 dias (PV41)	1098,99	184,03	583,00	1736,00
peso vivo 42 dias (PV42)	1054,22	181,55	444,00	1696,00
ganho de peso eclosão 35 dias (GPE35)	814,77	137,99	376,50	1308,50
ganho de peso eclosão 41 dias (GPE41)	1053,47	182,49	539,50	1684,50
ganho de peso eclosão 42 dias (GPE42)	1008,69	180,04	400,00	1644,50
ganho de peso 35-41 dias (GP3541)	238,69	63,02	59,00	420,00
consumo de ração 35-41 dias (CR3541)	621,89	128,36	291,00	1056,00
conversão alimentar 35-41 dias (CA3541)	2,69	0,64	1,24	9,61
rendimento de asas (RA)	8,18	0,68	7,28	17,57
rendimento de dorso (RD)	19,35	1,39	11,67	35,14
rendimento de pernas (RPER)	21,72	1,74	19,27	46,85
rendimento de peito (RPEI)	16,32	1,74	7,67	33,56
rendimento de carcaça (RC)	65,40	2,36	55,49	81,56

¹ pesos, ganhos de pesos e consumo de ração expressos em gramas; rendimentos expressos em porcentagem; conversão alimentar expressa em valor absoluto.

Mapeamento por intervalo (IM) – modelos fixo e misto

Os resultados do IM, considerando-se o efeito de incubação como fixo e aleatório, puderam ser comparados através da visualização das Figuras 4.1 a 4.4. Foi mapeado um total de 14 QTLs sugestivos e 14 QTLs significativos. Do total de QTLs sugestivos, sete foram associados às seguintes características: PV35 (GGA3) e 41 (GGA1A), GPE35 (GGA3) e 41 (GGA1A), CR3541 (GGA1B), CA3541 (GGA1B) e RD (GGA3), quando se considerou a incubação como efeito fixo. Outros sete QTLs foram associados às seguintes características: PV35 (GGA3), GPE35 (GGA3), GP3541 (GGA4), CR3541 (GGA1B e GGA4), CA3541 (GGA1B) e RPEI (GGA3), quando se considerou a incubação como efeito aleatório. Por outro lado, do total de QTLs significativos, oito foram associados às seguintes características, exclusivamente no GGA4: PV35, 41 e 42, GPE35, 31 e 42, GP3541 e CR3541, quando se considerou a incubação como efeito fixo. Outros seis QTLs foram associados às seguintes características, também exclusivamente no GGA4: PV35, 41 e 42, GPE35, 41 e 42, quando se considerou a incubação como efeito aleatório. Ressalta-se que por se tratarem de características de crescimento e altamente correlacionadas, os resultados apresentaram-se similares principalmente entre pesos vivos e ganhos de pesos.

De maneira geral, as curvas obtidas com o IM, considerando-se a incubação como efeito fixo ou aleatório, mostraram comportamentos similares ao longo de todos os cromossomos estudados. As pequenas diferenças encontradas para PV41 e GPE41, em GGA1A, podem ser interpretadas como sendo similares também. Entretanto, exceções ocorreram para GP3541 com um QTL significativo mapeado com o modelo fixo enquanto que este QTL foi apenas sugestivo com o modelo misto; e para CR3541 foi mapeado um QTL sugestivo apenas com o modelo fixo a cerca de 425 cM do GG1B. No GGA4 quando se empregou o modelo fixo foi mapeado um QTL significativo a cerca de 220 cM e com o modelo misto apenas foi mapeado um QTL sugestivo a cerca de 260 cM. Este resultado do GGA4 é muito interessante porque o QTL significativo trata-se de um falso positivo, pois quando se empregou o mapeamento por intervalo composto, o QTL sugestivo do modelo aleatório foi confirmado, demonstrando uma vantagem do modelo aleatório frente ao fixo. Nota-se que para estas características as medidas foram tomadas em tempos adjacentes, e que, conseqüentemente, tendem a apresentar maior correlação quando comparadas com as medidas tomadas em tempos mais distantes. Dessa forma, não é correto assumir na análise de variância que os erros são independentemente distribuídos, com média zero e variância

$I\sigma^2$, e por essa razão foi efetivo neste estudo usar o conceito de medidas repetidas no tempo e modelar a estrutura de co(variância) conforme Littell et al. (1996), mesmo não tendo sido mapeados maior número de QTLs com o IM misto. Poucos são os trabalhos publicados na área animal que tratam da aplicação do conceito de medidas repetidas, merecendo destaque Allen; Burton e Holt (1983), Simianer (1986) e Mansour; Jensen e Johnson (1991); especificamente em aves, podem ser citados os trabalhos Heier et al. (1999), Choy; Brinks e Bourdon (2002), Rosário et al. (2005b; 2007b). Em análises de QTLs não é de nosso conhecimento a presença de trabalhos que modelaram a estrutura de co(variância) do conjunto de dados fenotípicos para o mapeamento de QTLs em galinhas. O mapeamento de QTLs envolvendo dados longitudinais foi feito por Macgregor et al. (2000) com simulação de dados e em dados reais de gado leiteiro por Rodriguez-Zas et al. (2002).

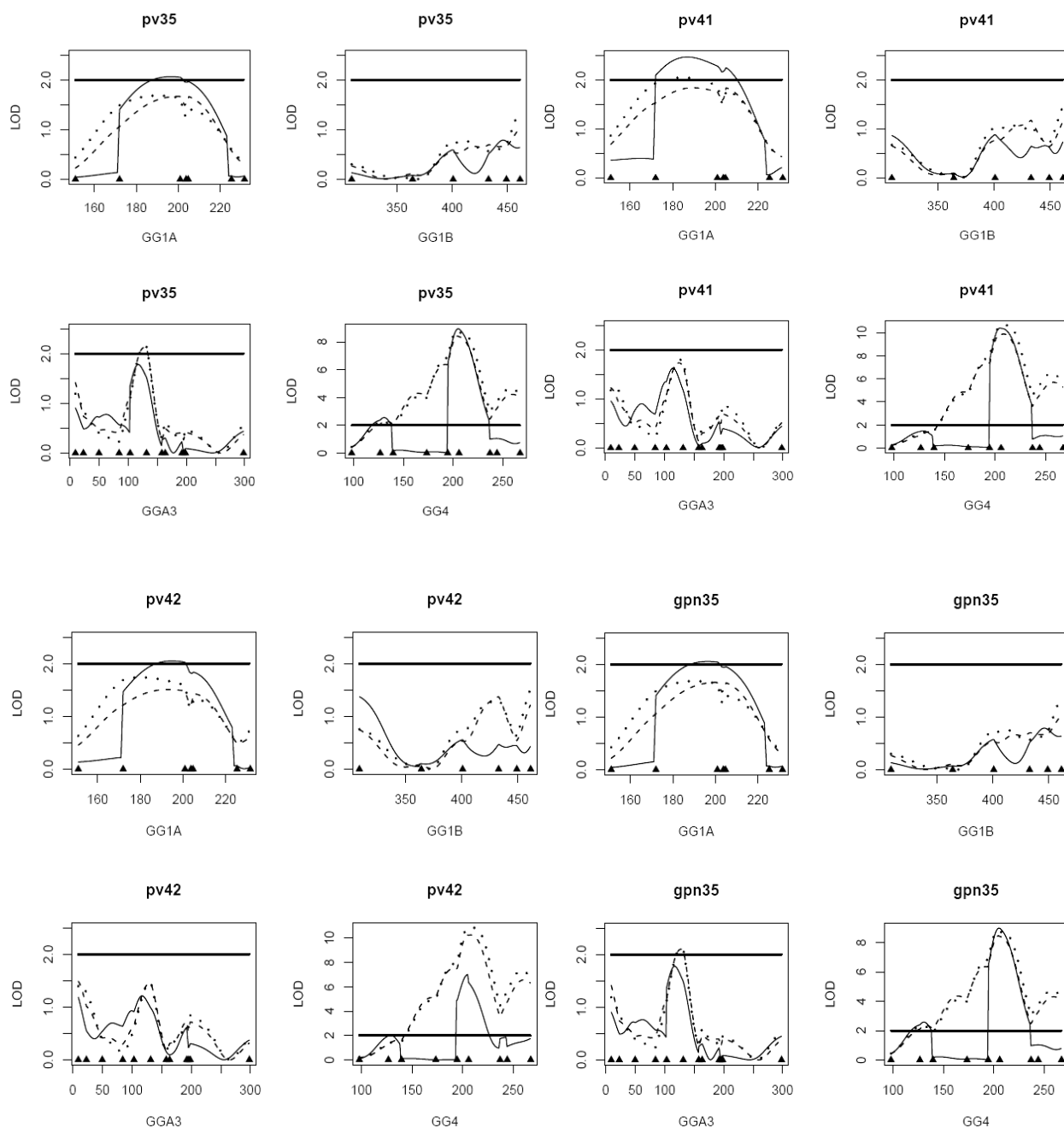


Figura 4.1 – Mapeamento de QTLs para peso vivo 35, 41 e 42 dias (pv35, 41 e 42) e ganho de peso eclosão-35 dias (gpn35) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4). O eixo X corresponde à posição no genoma (cM) dos marcadores microssatélites, representados pelos triângulos (Δ), onde o primeiro loco tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005) e o eixo Y corresponde ao *LOD score* com níveis sugestivo ($2 < LOD < 3$) e significativo ($LOD > 3$) no genoma. Mapeamento por intervalo composto: linha cheia; mapeamento por intervalo com modelo fixo: linha bolinha; mapeamento por intervalo com modelo misto: linha tracejada

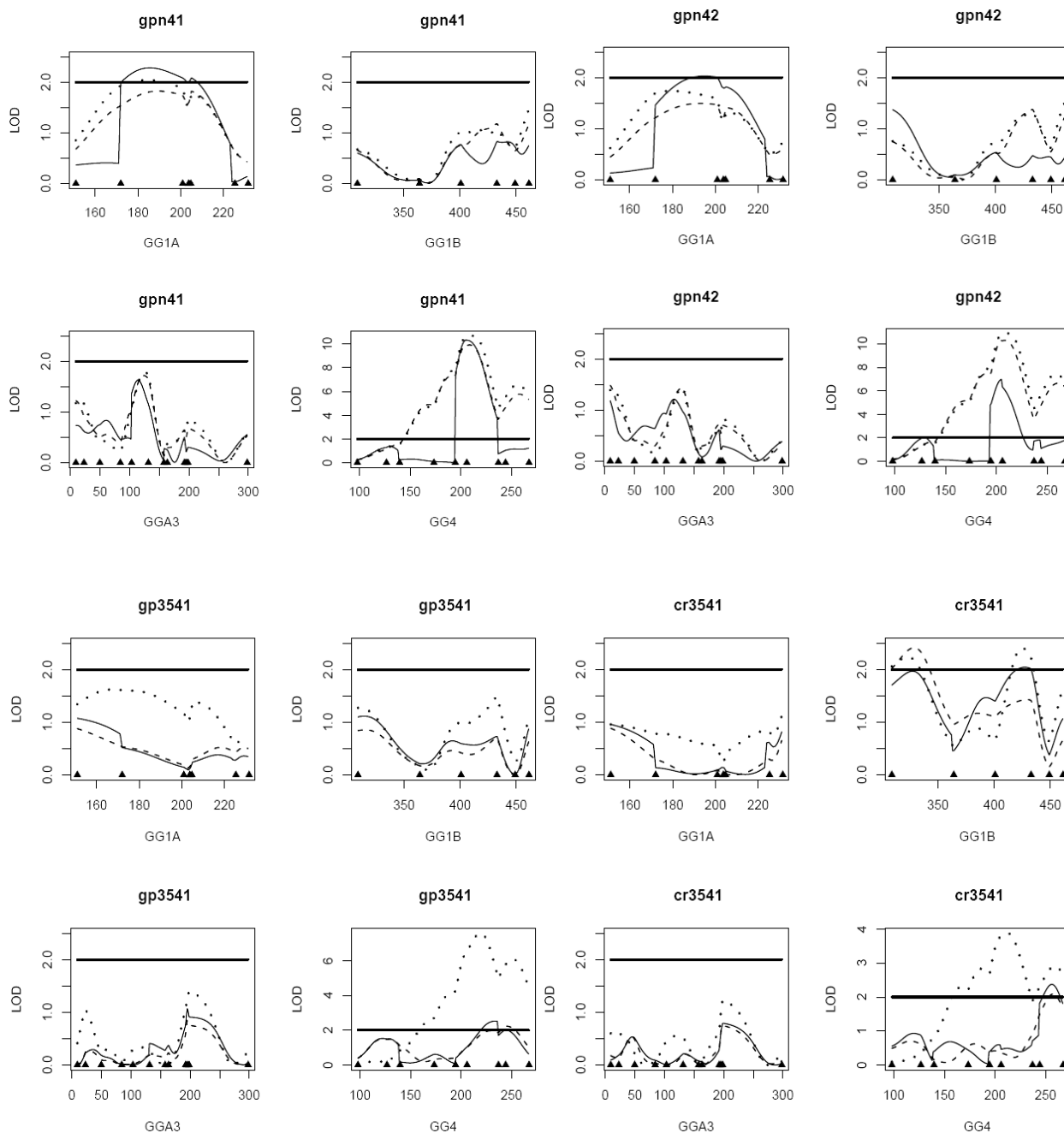


Figura 4.2 – Mapeamento de QTLs para ganho de peso eclosão-41 e 42 dias (gpn41 e 42), ganho de peso 35-41 dias (gp3541) e consumo de ração (cr3541) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4). O eixo X corresponde à posição no genoma (cM) dos marcadores microssatélites, representados pelos triângulos (Δ), onde o primeiro loco tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005) e o eixo Y corresponde ao *LOD score* com níveis sugestivo ($2 < LOD < 3$) e significativo ($LOD > 3$) no genoma. Mapeamento por intervalo composto: linha cheia; mapeamento por intervalo com modelo fixo: linha bolinha; mapeamento por intervalo com modelo misto: linha tracejada

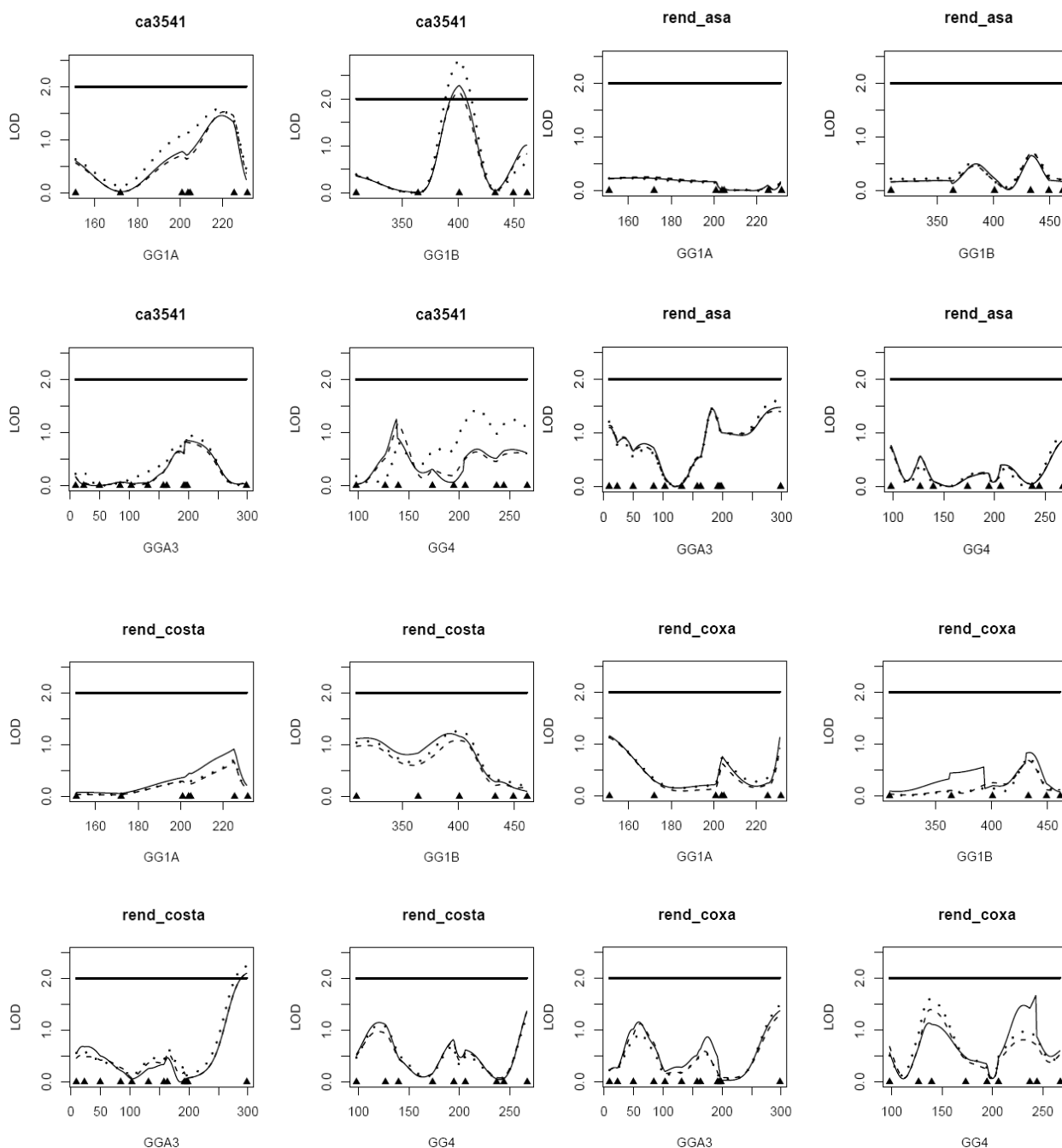


Figura 4.3 – Mapeamento de QTLs para conversão alimentar 35-41 dias (ca3541), rendimentos de asas (rend_asa), de dorso (rend_costa) e de pernas (rend_coxa) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4). O eixo X corresponde à posição no genoma (cM) dos marcadores microssatélites, representados pelos triângulos (Δ), onde o primeiro loco tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005) e o eixo Y corresponde ao *LOD score* com níveis sugestivo ($2 < LOD < 3$) e significativo ($LOD > 3$) no genoma. Mapeamento por intervalo composto: linha cheia; mapeamento por intervalo com modelo fixo: linha bolinha; mapeamento por intervalo com modelo misto: linha tracejada

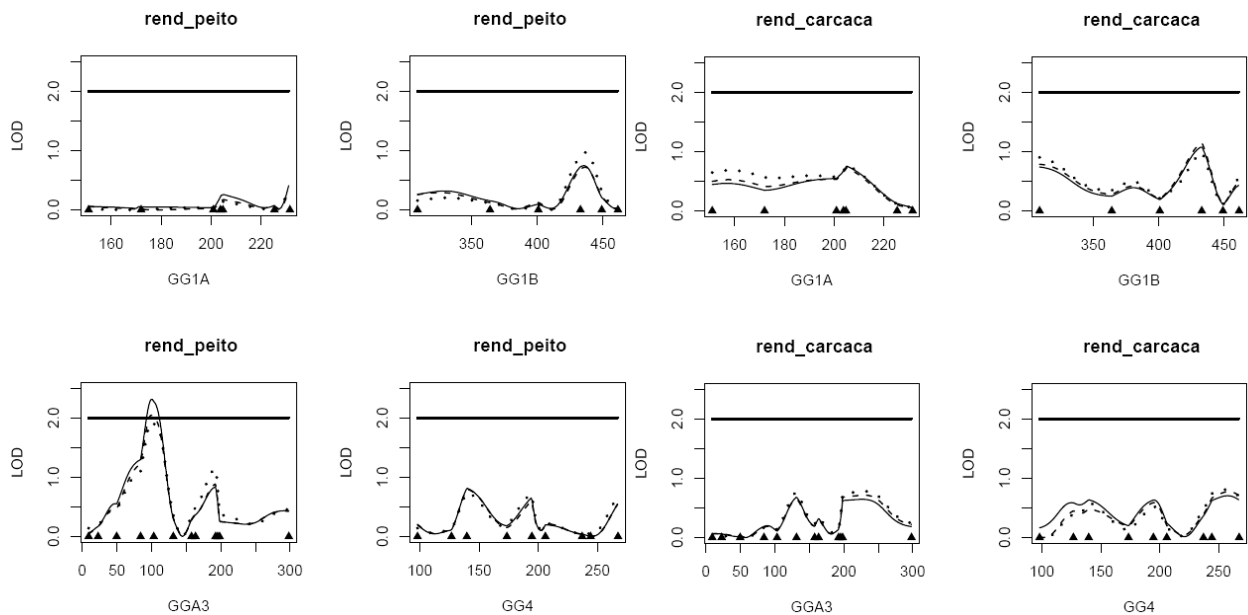


Figura 4.4 – Mapeamento de QTLs para rendimentos de peito (*rend_peito*) e de carcaça (*rend_carcaca*) nos cromossomos 1 (GGA1A e 1B), 3 (GGA3) e 4 (GGA4). O eixo X corresponde à posição no genoma (cM) dos marcadores microssatélites, representados pelos triângulos (Δ), onde o primeiro loco tem sua posição definida conforme o Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005) e o eixo Y corresponde ao *LOD score* com níveis sugestivo ($2 < LOD < 3$) e significativo ($LOD > 3$) no genoma. Mapeamento por intervalo composto: linha cheia; mapeamento por intervalo com modelo fixo: linha bolinha; mapeamento por intervalo com modelo misto: linha tracejada

Mapeamento por intervalo composto (CIM)

Com o uso do CIM e estrutura de co(variância) AR1 para o efeito de incubação, foram mapeados 22 QTLs, sendo 16 sugestivos e seis significativos. Ressalta-se que usando o IM foram mapeados 15 QTLs (efeito fixo de incubação) e 13 QTLs (efeito aleatório de incubação). Portanto, o CIM foi capaz de mapear 46,6% e 69,2% mais QTLs do que nos outros casos (Figuras 4.1 a 4.4). Isso era esperado, uma vez que o CIM tem maior poder estatístico que o IM (ZENG, 1993; 1994). Adicionalmente, de modo geral, este método permitiu maior resolução de mapeamento, ou seja, as curvas obtidas evidenciaram picos mais distintos e maiores valores de *LOD*. Dessa forma, com base no maior número de QTLs mapeados com o CIM podemos concluir que este método é mais eficiente para localizar QTLs na galinha doméstica, fato este que também ocorre para muitas espécies vegetais. Notou-se ainda que no cromossomo 4 (GGA4) para PV35 e 42 e GPE35 e 42 dois QTLs foram mapeados simultaneamente, o que não foi evidenciado quando se

empregou o IM. Isso deve trazer grandes vantagens para o mapeamento de QTLs em espécies *outbred*.

Seguindo a forma como foram definidos os preditores genéticos, valores positivos e negativos para o efeito aditivo, indicaram que o alelo favorável originou-se da linhagem de postura (CC) e corte (TT), respectivamente. Neste estudo, 21 efeitos aditivos negativos foram verificados nas características estudadas e apenas um foi positivo, o que é plenamente coerente, visto que a linhagem de corte foi selecionada por seis gerações para crescimento. Portanto, se o objetivo for aumentar a média de todas as características, exceto CR e CA3541, deve-se identificar e selecionar alelos da linhagem TT. Os alelos favoráveis à redução na média do CR e da CA3541 devem ser identificados e selecionados na linhagem CC. O único valor positivo verificado correspondeu ao RD, o que significa que se o objetivo for reduzir a média desta característica, deve-se identificar e selecionar alelos da linhagem CC (Tabela 4.2).

Pela Tabela 4.2, no cromossomo GGA1A foram mapeados seis QTLs sugestivos localizados entre 186 e 196 cM associados às seguintes características: PV35, 41 e 42 e GPE35, 41 e 42 com efeitos aditivos entre -24,73 e -40,73 g e de dominâncias entre -1,48 e 8,94 g. Estes QTLs explicaram, em média, 2,17% da variação fenotípica. No cromossomo GGA1B foram mapeados apenas dois QTLs: um associado ao CR3541 (427 cM) com efeitos aditivo e de dominância de -12,55 g e 27,95 g, respectivamente e outro associado à CA3541 (401 cM) com efeitos aditivo e de dominância de -0,12 e -0,13, respectivamente. Estes QTLs explicaram, em média, 2,18% da variação fenotípica. Já no cromossomo GGA3 também foram mapeados apenas dois QTLs sugestivos associados ao RD (298 cM) e RPEI (101 cM), com efeitos aditivo e de dominância de 0,55% e -1,44%, respectivamente, para o primeiro rendimento e de -1,42% e -6,55%, respectivamente, para o segundo rendimento. Estes QTLs explicaram, em média, 2,53% da variação fenotípica.

Os resultados mais interessantes deste estudo foram constatados no cromossomo GGA4 (Tabela 4.2), já que foram mapeados simultaneamente dois QTLs e definidas duas regiões ainda não descritas na literatura. Foi mapeado um total de 12 QTLs, sendo seis deles sugestivos e outros seis significativos. Os QTLs sugestivos foram associados ao PV35 (131 cM) e 42 (129 cM), GPE35 (131 cM) e 42 (129 cM) e GP3541 (234 cM) com efeitos aditivos variando entre -12,73 g e -0,53 g e de dominâncias variando entre -3,38 e 48,91 g. Também foi mapeado um QTL sugestivo associado ao CR3541 a 256 cM com efeito aditivo de -7,45 g e de dominância de

-45,13 g. Estes QTLs sugestivos explicaram, em média, 2,41% da variação fenotípica. Os QTLs significativos de nosso trabalho foram mapeados apenas neste cromossomo e eles foram associados ao PV35, 41 e 42 e ao GPE35, 41 e 42, com efeitos aditivos entre -71,17 g e -51,36 g e de dominâncias entre -4,53 g e 8,15 g localizados a 205 cM. Estes QTLs sugestivos explicaram, em média, 10,19% da variação fenotípica. Nesse cromossomo foi possível mapear simultaneamente dois QTLs (um sugestivo e outro significativo) associados ao PV35 e 42 e ao GPE35 e 42, o que não foi possível com o IM. Também existe uma evidência desses QTLs associados ao PV41 e ao GPE41. No nosso conhecimento, tais resultados são inéditos na ciência avícola, uma vez que o CIM nunca foi efetivamente implementado e aplicado a dados reais. Alguns exemplos que podem ser citados da aplicação do CIM em populações *outbred* foram dados por Hayashi; Awata e Yassue (2002), usando simulação. Knott et al. (1998) mapearam QTLs associados ao crescimento e à gordura em suínos baseando-se no CIM, porém com cofatores selecionados fora do cromossomo considerado para o mapeamento e Rodriguez-Zas et al. (2002) recomendaram o uso do CIM em gado leiteiro, ressaltando-se que estes autores simplificaram o delineamento populacional real para que se enquadrasse em populações *inbred*. Maqbool et al. (2007), mapeando QTLs associados ao crescimento de híbridos interespecíficos de cervos, empregaram o módulo *JZMAPQTL* (JIANG; ZENG, 1995) do programa computacional QTL CARTOGRAPHER (BASTEN; WEIR; ZENG, 1995-2003) e concluíram que poucos locos com grande efeito pleiotrópico podem ser os responsáveis pelas diferenças no crescimento da população estudada.

Tabela 4.2 - Descrição dos QTLs mapeados com o método de mapeamento por intervalo composto nos cromossomos 1 (1A e 1B), 3 e 4 da galinha doméstica

(continua)

Característica	GGA ¹	Posição (cM) ²	Marcadores flanqueadores	LOD ³	A (EP) ⁴	D (EP) ⁵	R ² (%) ⁶
peso vivo 35 dias (g)	1A	196	MCW0297- LEI0174	2,06 [†]	-24,82 (8,16)	-1,01 (13,52)	2,06
	4	131	ADL0194-LEI0122	2,55 [†]	-8,20 (9,36)	41,62 (13,10)	2,68
	4	205	LEI0076-MCW0240	8,94 [*]	-51,36 (7,94)	7,84 (12,00)	10,40
peso vivo 41 dias (g)	1A	187	MCW0297- LEI0174	2,46 [†]	-40,73 (12,26)	3,13 (23,25)	2,57
	4	205	LEI0076-MCW0240	10,40 [*]	-71,17 (10,11)	4,43 (15,29)	12,08
peso vivo 42 dias (g)	1A	195	MCW0297- LEI0174	2,04 [†]	-30,69 (10,44)	8,94 (17,53)	2,04
	4	129	ADL0194-LEI0122	2,02 [†]	-0,53 (11,75)	48,91 (16,49)	2,01
	4	205	LEI0076-MCW0240	7,01 [*]	-65,42 (11,60)	-4,53 (15,44)	8,13
ganho de peso eclosão-35 dias (g)	1A	196	MCW0297- LEI0174	2,05 [†]	-24,73 (8,15)	-1,18 (13,51)	2,05
	4	131	ADL0194-LEI0122	2,58 [†]	-8,71 (9,35)	41,53 (13,08)	2,71
	4	205	LEI0076-MCW0240	8,98 [*]	-51,43 (7,93)	8,15 (11,99)	10,45
ganho de peso eclosão-41 dias (g)	1A	186	MCW0297- LEI0174	2,28 [†]	-39,71 (12,41)	-1,48 (23,90)	2,33
	4	205	LEI0076-MCW0240	10,34 [*]	-70,45 (10,07)	4,97 (15,21)	12,00
ganho de peso eclosão-42 dias (g)	1A	195	MCW0297- LEI0174	2,02 [†]	-30,53 (10,43)	8,75 (17,52)	2,01
	4	129	ADL0194-LEI0122	2,02 [†]	-1,04 (11,74)	48,74 (16,48)	2,01
	4	205	LEI0076-MCW0240	6,97 [*]	-65,23 (11,59)	-4,14 (15,43)	8,09
ganho de peso 35-41 dias (g)	4	234	MCW0240-LEI0063	2,52 [†]	-12,73 (3,92)	-3,38 (6,25)	2,64
consumo de ração 35-41 dias (g)	1B	427	LEI0079-LEI0107	2,04 [†]	-12,55 (7,59)	27,95 (11,52)	2,02
	4	256	LEI0085-MCW0174	2,37 [†]	-7,45 (9,80)	-45,13 (14,27)	2,45

Tabela 4.2 - Descrição dos QTLs mapeados com o método de mapeamento por intervalo composto nos cromossomos 1 (1A e 1B), 3 e 4 da galinha doméstica

(conclusão)

Característica	GGA ¹	Posição (cM) ²	Marcadores flanqueadores	LOD ³	A (EP) ⁴	D (EP) ⁵	R ² (%) ⁶
conversão alimentar 35-41 dias (g)	1B	401	<i>LEI0079-LEI0107</i>	2,28 [†]	-0,12 (0,04)	-0,13 (0,06)	2,34
rendimento dorso (%)	3	298	<i>ADL0127-MCW0116</i>	2,09 [†]	0,55 (0,18)	-1,44 (1,46)	2,11
rendimento peito (%)	3	101	<i>ADL0370-MCW0222</i>	2,76 [†]	-1,42 (1,16)	-6,55 (2,02)	2,95

¹ cromossomo de *Gallus gallus*.

² posição do primeiro loco em cada cromossomo dada em função do Mapa Consenso (SCHMID et al., 2005).

³ QTL sugestivo (†) e QTL significativo (*) no genoma.

⁴ efeito aditivo (erro-padrão); valores negativos e positivos correspondem à origem do alelo na linhagem de corte (TT) e linhagem de postura (CC), respectivamente.

⁵ efeito de dominância (erro-padrão).

⁶ porcentagem da variância fenotípica explicada pelo QTL.

Como o presente estudo se concentrou em regiões preliminarmente associadas a QTLs na etapa de genotipagem seletiva da população recíproca TCTC (Baron et al., 2003; Nones et al., 2003a, b; Ruy et al., 2003), verificou-se que de forma geral foi possível mapear QTLs nestas mesmas regiões da população CTCT. Entretanto, não foi possível validar todos os QTLs já mapeados em TCTC, sugerindo que outras posições do genoma podem controlar características associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça em CTCT. Portanto, estudos adicionais são necessários. Hocking (2005), em uma revisão sobre QTLs em galinha, menciona a necessidade de uma meta-análise dos dados oriundos das diversas populações, mas por outro lado relata que cada população tem sua peculiaridade, o que torna ainda mais difícil esta comparação de resultados. Os intervalos de confiança associados aos QTLs já mapeados, em muitos casos, são amplos demais, abrangendo, em alguns casos, a quase totalidade do comprimento do cromossomo estudado. Como os picos das curvas deste trabalho usando o CIM foram mais estreitos em relação ao IM, é possível afirmar que menores intervalos de confiança (não estimados) foram obtidos, facilitando eventuais comparações.

Adicionalmente, os resultados aqui apresentados mostraram-se consistentes com a literatura. No cromossomo 1, nossos QTLs sugestivos para PV41 e 42 dias concordaram com Nones (2004), pois abrangiram a posição do marcador *MCW0297*. Além destes QTLs, esta

autora, quando empregou o delineamento de irmãos completos, mapeou sete QTLs significativos no genoma, associados ao PV35, 41 e 42 a 153 cM, ao peso da carcaça a 154 cM e ao peso das asas a 156 cM, cujos marcadores flanqueadores foram *LEI0068-MCW0297*. Para CR3541 ela mapeou um QTL a 197 cM (*ADL0150-ALD0319*) e para peso do peito a 210 cM (*ADL0319-MCW0058*). Os QTLs sugestivos mapeados por ela foram associados ao PV35, 41 e 42 a 256 (*LEI0138-MCW0068*) e 404 (*LEI0079-MCW0145*) cM, sendo que os resultados aqui apresentados não concordaram com este último. Outros QTLs foram mapeados para PV41 e 42 a 210 (*ADL0319-MCW0058*) e 404 cM, para peso da carcaça a 211 e 404 cM, para peso de pernas a 169 (*LEI0146-LEI0174*) e a 404 cM, para peso de peito a 405 cM e para peso de asas a 406 cM. O QTL para peso de pernas (169 cM) não foi mapeado em nossa população.

No cromossomo 3, nossos resultados não validaram nenhum QTL mapeado por Ruy (2004) que, empregando o delineamento de irmãos completos, verificou sete QTLs significativos no genoma associados ao PV35, 41 e 42 e ao GPE35, 41 e 42 todos localizados a 129 cM (*LEI0161-LEI0029*) e para peso de asas a 172 cM (*ADL0371-LEI0118*). Esta autora mapeou apenas um QTL sugestivo associado ao peso de pernas localizado a 167 cM (*ADL0371-LEI0118*). Por fim, os resultados mais expressivos deste estudo foram verificados no cromossomo 4 discordando de Baron (2004) que, empregando o delineamento de irmãos completos, mapeou apenas um QTL significativo no genoma associado ao peso do peito a 236 cM (*LEI0085-MCW0174*), sendo que nesta mesma região foi mapeado um QTL sugestivo para GP3541 neste trabalho.

Quando se comparou os resultados aqui apresentados com os contidos na *Chicken Quantitative Trait Loci database* - *ChickenQTLdb* (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/chicken.html>), que se baseia na compilação dos trabalhos feita por Abasht; Dekkers e Lamont (2006), 17 associações entre os mesmos marcadores flanqueadores foram confirmadas. Destas associações, duas foram constatadas no cromossomo GGA1A para *MCW0297* que foi associado ao peso vivo (McELROY et al., 2006; LIU et al., 2007) e para *LEI0174* associado ao peso vivo (TATSUDA; FUJINAKA, 2001). Em GGA1B, foram observadas três associações: entre *LEI0079* e peso vivo (SEWALEN et al., 2002; LUI et al., 2007) e rendimento de carcaça (VAN KAAM et al., 1999a; LUI et al., 2007) e entre *LEI0107* e peso vivo (KERJE et al., 2003). O maior número (sete) de associações foi constatado em GGA3: entre *ADL0127* e características relacionadas à tibia (SCHREIWEIS; HESTER;

MOODY, 2005), entre *MCW0116* e peso vivo (JENNE et al., 2005), entre *ADL0370* e peso vivo (McELROY et al., 2006; ZHOU et al., 2006) e porcentagem de carne branca (McELROY et al., 2006) e entre *MCW0222* e porcentagem de peito (PARK et al., 2006) e peso vivo (JACOBSSON et al., 2005). Por fim, no GGA4 foram observadas cinco associações: entre *ADL0194* e peso vivo (RABIE et al., 2005), entre *LEI0122* e peso vivo (RABIE et al., 2005) e consumo de ração (VAN KAAM et al., 1999b) e entre *LEI0076* e peso vivo (JACOBSSON et al., 2005) e rendimento de peito (PARK et al., 2006). Ressalta-se que os QTLs sugestivos localizados no GGA4 associados ao ganho de peso (*MCW0240-LEI0063*) e ao consumo de ração (*LEI0085-MCW0174*) 35-41 dias não foram verificados em *ChickenQTLdb*, o que sugere duas regiões ainda não descritas na literatura contendo genes responsáveis pelo controle destas características.

No nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho que implementa o mapeamento por intervalo composto na galinha doméstica, utilizando dados fenotípicos reais e levando-se em consideração a estrutura de família de irmãos completos, bem como modelo misto com diferentes estruturas de co(variância). O fato de termos desenvolvido programa computacional próprio, permitiu tal facilidade.

No caso das regiões onde QTLs sugestivos foram mapeados, estudos adicionais devem ser conduzidos, por exemplo, através do aumento do número de famílias genotipadas e da saturação dos intervalos com marcadores moleculares. Para as regiões do GGA4 onde QTLs significativos foram mapeados, pode ser interessante realizar o mapeamento fino (*fine mapping*) e buscas *in silico* por genes posicionados nestas regiões, a fim de que estudos de genes candidatos sejam conduzidos, como por exemplo, os trabalhos realizados por FENG et al. (1997), FANG et al. (2007). Outra abordagem que pode ser citada, baseia-se na chamada Genômica Genética, que reúne resultados do mapeamento de QTLs e de expressão gênica, através de *microarrays*, para identificar no genoma locos que controlam a expressão gênica (JANSEN; NAP, 2001). Estes locos são denominados de eQTLs (*expression QTL* – QTLs expressos) e exemplos desta abordagem na galinha doméstica foram publicados por Cabrera et al. (2006) e de Koning; Cabrera e Haley (2007).

Os resultados deste estudo poderão permitir a integração das informações obtidas nas populações CTCT e TCTC, tanto para a construção de um mapa de ligação quanto para as análises de mapeamento de QTLs, com maior poder estatístico. Esta análise conjunta possibilitará também a investigação do chamado efeito de *imprinting*, que é a expressão diferencial de genes

de acordo com origem parental (SOLTER, 1988) e é caracterizado pela modificação epigenética de um alelo específico de genes herdados maternal ou paternalmente (ANDERSON; SPENCER, 1999; REIK; WALTER, 2001; SPENCER; DORN; LOFARO, 2006). Também será possível investigar os efeitos ligados ao sexo (KIRKPATRICK; HALL, 2004; HALL; KIRKPATRICK, 2006).

Finalmente, a integração dos resultados aqui apresentados pode ser facilitada pela disponibilidade de bancos de dados, como por exemplo, o NCBI – *National Center for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), onde é possível ter acesso a informações sobre marcadores moleculares, mapas de ligação e de genes, expressão gênica e proteômica (COGBURN et al., 2007). O Laboratório de Biotecnologia Animal, Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, tem desenvolvido pesquisas nas áreas da genômica, transcriptômica e proteômica empregando as linhagens CC e TT e como modelo animal, na tentativa de compreender a arquitetura genética de características de crescimento. Acredita-se que a integração dos resultados oriundos dessas diversas abordagens do genoma da galinha doméstica permitirá, no futuro, que a seleção assistida por marcadores seja efetivamente implementada em programas de melhoramento genético avícolas.

4.3 Conclusões

Existem diferenças entre a posição, a resolução e o número de QTLs mapeados quando se emprega os métodos de Mapeamento por Intervalo e Mapeamento por Intervalo Composto de características associadas ao desempenho e ao rendimento de carcaça nos cromossomos 1, 3 e 4 da população CTCT. As regiões onde os QTLs foram mapeados neste estudo corroboram algumas daquelas da população recíproca TCTC, mas por outro lado, sugerem que outras regiões do genoma podem controlar tais características. Foram definidas duas regiões ainda não descritas na literatura no cromossomo 4: uma associada ao ganho de peso (*MCW0240-LEI0063*) e outra ao consumo de ração (*LEI0085-MCW0174*) 35-41 dias.

Referências

ABASHT, B.; DEKKERS, J.C.M.; LAMONT, S.J. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.2079-2096, 2006.

AKAIKE, H. A new look at the statistical-model identification. **IEEE Transaction on Automatic Control**, New York, v.19, p.716-723, 1974.

ALFONSO, L.; HALEY, C.S. Power of different F_2 schemes for QTL detection in livestock. **Animal Science**, Oxford, v.66, p.1-8, 1998.

ALLEN, O.B.; BURTON, J.H.; HOLT, J.D. Analysis of repeated measurements from animal experiments using polynomial regression. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.57, p.765-770, 1983.

ANDERSON, R.J.E.; SPENCER, H.G. Population models of genomic imprinting. I. Differential viability in the sexes and the analogy with genetic dominance. **Genetics**, Baltimore, v.153, p.1949-1958, 1999.

BARON, E.E. **Identificação de QTLs nos cromossomos 2 e 4 que controlam características de desempenho e carcaça em aves (*Gallus gallus*)**. 2004. 96p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

BARON, E.E.; RUY, D.C.; NONES, K.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; COUTINHO, L.L. Identificação de QTL para peso corporal em aves (*Gallus gallus*) no cromossomo 4. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49., Águas de Lindóia, 2003. **Anais...** Ribeirão Preto: SBG, 2003. 1 CD-ROM.

BARTON, H.N.; KEIGHTLEY, P.D. Understanding quantitative genetic variation. **Nature Reviews Genetics**, London, v.3, p.11-21, 2002.

BASTEN, C.J.; WEIR, B.S.; ZENG, Z.-B. **QTL Cartographer: a reference manual and tutorial for QTL mapping**. Raleigh: North Carolina State University, 1995-2003. 177p.

CABRERA, C.P.; DUNN, I.; FELLI, M.; WILSON, P.; BURT, D.W.; WADDINGTON, D.; TALBOT, R.; HOCKING, P.M.; LAW, A.; HALEY, C.S.; KNOTT, S.; DE KONING, D.J. Application of genetical genomics to a marked QTL in poultry. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: WCGALP, 2006. 1 CD-ROM.

CHAPMAN, H.D.; JOHNSON, Z.B.; McFARLAND, J.L. Improvements in the performance of commercial broiler in the USA: analysis for the years 1997 to 2001. **Poultry Science**, Savoy, v.82, p.50-53, 2003.

- CHOY, Y.H.; BRINKS, J.S.; BOURDON, R.M. Repeated-measure animal models to estimate genetic components of mature weight, hip height, and body condition score. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.80, p.2071-2077, 2002.
- COGBURN, L.A.; PORTER, T.E.; DUCLOS, M.J.; SIMON, J.; BURGESS, S.C.; ZHU, J.J.; CHENG, H.H.; DODGSON, J.B.; BURNSIDE, J. Functional genomics of the chicken – a model organism. **Poultry Science**, Savoy, v.86, p.2059–209476, 2007.
- DARVASI, A.; SOLLER, M. Selective genotyping for determination of linkage between a marker locus and quantitative trait locus. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.85, p.353-359, 1992.
- DE KONING, D.J.; CABRERA, C.P.; HALEY, C.S. Genetical genomics: combining gene expression with marker genotypes in poultry. **Poultry Science**, Savoy, v.86, p.1501–1509, 2007.
- DE KONING, D.J.; VISSCHER, P.M.; KNOTT, S.A.; HALEY, C.S. A strategy for QTL detection in half-sib populations. **Animal Science**, Oxford, v.67, p.257-268, 1998.
- DEEB, N.; LAMONT, S.J. Genetic architecture of growth and body composition in unique chicken populations. **Journal of Heredity**, Cary, v.93, p.107-117, 2002.
- ERICKSON, D.L.; FENSTER, C.B.; STENOIEN, H.K.; PRICES, D. Quantitative trait locus analyses and the study of evolutionary process. **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, p.2505-2522, 2004.
- FANG, M.; NIE, Q.; LUO, C.; ZHANG, D.; ZHANG, X. An 8bp indel in exon 1 of ghrelin gene associated with chicken growth. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v.32, p.216-225, 2007.
- FENG, X.P.; KUHNLEIN, U.; AGGREY, S.E.; GAVORA, J.S.; ZADWORNYY, D. Trait association of genetic markers in the growth hormone receptor genes in a White Leghorn strain. **Poultry Science**, Savoy, v.76, p.1770-1775, 1997.
- GREEN, P.; FALLS, K.; CROOKS, S. **Documentation for CRI-MAP, version 2.4**. Washington University School of Medicine, St Louis. 1990. Disponível em: <<http://linkage.rockefeller.edu/soft/crimap/>> Acesso em: 15 de ago. 2007.
- HALEY, C.S.; KNOTT, S.A.; ELSSEN J.M. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1195–207, 1994.
- HALL, D.W.; KIRKPATRICK, M. Reinforcement and sex linkage. **Evolution**, Lawrence, v.60, p.908-921, 2006.
- HAYASHI, T.; AWATA, T.; YASSUE, H. On the efficiency of composite interval mapping in an outbred population. **Genes & Genetic Systems**, Shizuoka, v.77, p.209-217, 2002.

HEIER, B.T.; JARP, J.; KALDHUSDAL, M.I.; SCHALLER, G.; FORUS, I.B. A longitudinal field study of mortality and Marek's disease in Norwegian and imported White Leghorns. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.40, p.207-219, 1999.

HOCKING, P.M. Review of QTL mapping results in chickens. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v.61, p.215-226, 2005.

JACOBSSON, L.; PARK, H.B.; WAHLBERG, P.; FREDRIKSSON, R.; PEREZ-ENCISO, M.; SIEGEL, P.B.; ANDERSSON, L. Many QTLs with minor additive effects are associated with a large difference in growth between two selection lines in chickens. **Genetical Research**, New York, v.6, p.115-125, 2005.

JANSEN, R.C.; NAP, J.P. Genetical genomics: the added value from segregation. **Trends in Genetics**, London, v.17, p.388-391, 2001.

JANSEN, R.C.; STAM, P. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1447-1455, 1994.

JENNE, D.G.J.; VEREIJKEN, A.L.J.; BOVENHUIS, H.; CROOIJMANS, R.M.P.A.; VAN DER POEL, J.J.; GROENEN, M.A.M. Confirmation of quantitative trait loci affecting fatness in chickens. **Genetics Selection Evolution**, Les Ulis, v.37, p.215-228, 2005.

JIANG, C.; ZENG, Z.-B. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v.140, p.1111-1127, 1995.

KAO, C.-H.; ZENG, Z.-B. General formulae for obtaining the MLEs and the asymptotic variance-covariance matrix in mapping quantitative trait loci when using the EM algorithm. **Biometrics**, v.53, p.653-665, 1997.

KAO, C.-H.; ZENG, Z.-B.; TEASDALE, R. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v.152, p.1023-1216, 1999.

KERJE, S.; CARLBORG, O.; JACOBSSON, L.; SCHUTZ, K.; HARTMANN, C.; JENSEN, P.; ANDERSSON, L. The twofold difference in adult size between the red junglefowl and White Leghorn chickens is largely explained by a limited number of QTLs. **Animal Genetics**, Oxford, v.34, p.264-274, 2003.

KIRKPATRICK, M.; HALL D.W. Sexual selection and sex linkage. **Evolution**, Lawrence, v.58, p.683-691, 2004.

KNOTT, S.A.; ELSEN, J.M.; HALEY, C.S. Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.93, p.71-80, 1996.

- KNOTT, S.A.; MARKLUND, L.; IS S. HALEY, C.S.; ANDERSSON, K.; DAVIES, W.; ELLEGREN, H.; FREDHOLM, M.; HANSSON, I.; HOYHEIM, B.; LUNDSTRÖM, K.; MOLLER, M.; ANDERSSON, L. Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. **Genetics**, Baltimore, v.149, p.1069–1080, 1998.
- KOSAMBI, D.D. The estimation of map distance from recombination values. **Annals of Eugenics**, New York, v.12, p.172-175, 1944.
- LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Baltimore, v.121, p.185-199, 1989.
- LITTELL, R.C.; MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D. **SAS® system for mixed models**. Cary: SAS Institute, 1996. 633p.
- LIU, B.H. **Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis**. Boca Raton: CRC, 1998. 648p.
- LIU, X.; LI, H.; WANG, S.; HU, X.; GAO, Y.; WANG, Q.; LI, N.; WANG, Y.; ZHANG, H. Mapping quantitative trait loci affecting body weight and abdominal fat weight on chicken chromosome one. **Poultry Science**, Savoy, v.86, p.1084–1089, 2007.
- MACGREGOR, S.; KNOTT, S.A.; WHITE, I.; VISSCHER, P.M. Quantitative trait locus analysis of longitudinal quantitative trait data in complex pedigrees. **Genetics**, Baltimore, v.171, p.1365–1376, 2005.
- MANSOUR, H.; JENSEN, E.L.; JOHNSON, L.P. Analysis of covariance structure of repeated measurements in Holstein conformation traits. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.2757-2766, 1991.
- MAQBOOL, N.J.; TATE, M.L.; DODDS, K.G.; ANDERSON, R.M.; McEWAN, K.M.; MATHIAS, H.C.; MCEWAN, J.C.; HALL, R.J. A QTL study of growth and body shape in the inter-species hybrid of Pere David's deer (*Elaphurus davidianus*) and red deer (*Cervus elaphus*). **Animal Genetics**, Oxford, v.38, p.270-276, 2007.
- McELROY, J.P.; KIM, J.J.; HARRY, D.E.; BROWN, S.R.; DEKKERS, J.C.M.; LAMONT S.J. Identification of trait loci affecting white meat percentage and other growth and carcass traits in commercial broiler chickens. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.593-605, 2006.
- NONES, K. **Mapeamento de QTLs no cromossomo 1 de *Gallus gallus* que influenciam características de desempenho e carcaça**. 2004. 110p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; COUTINHO, L.L. Identificação de QTLs associados a peso corporal no cromossomo 1. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2003a, Campinas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola...** Campinas: FACTA, Sup.5, 2003a. p.109.

NONES, K.; LEDUR, M.C.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; MELO, C.M.R.; MOURA, A.S.A.M.T.; ZANELLA, E.L.; BURT, D.W.; COUTINHO, L.L. Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. **Animal Genetics**, Oxford, v.37, p.95-100, 2006.

NONES, K.; RUY, D.C.; BARON, E.E.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; COUTINHO, L.L. Identification of potential QTLs in a cross between broiler and layer lines by selective genotyping. In: PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, 11., San Diego, 2003b. **Abstracts...** San Diego: PAGC, 2003b. p.599.

PARK, H.B.; JACOBSSON, L.; WAHLBERG, P.; SIEGEL, P.B.; ANDERSSON, L. QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. **Physiological Genomics**, Bethesda, v.25, p.216-223, 2006.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Disponível em: <<http://www.R-project.org>> Acesso em 25 de set. 2007.

RABIE, T.S.; CROOIJMANS, R.P.; BOVENHUIS, H.; VEREIJKEN, A.L.; VEENENDAAL, T.; VAN DER POEL, J.J.; VAN ARENDONK, J.A.; PAKDEL, A.; GROENEN, M.A. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting susceptibility in chicken to develop pulmonary hypertension syndrome. **Animal Genetics**, Oxford, v. 36, p.468-476, 2005.

REDDISH; J.M.; LIPBURN, M.S. A comparison of growth and development patterns in diverse genotypes of broilers. 1. Male broiler growth. **Poultry Science**, Savoy, v.83, p.1067-1071, 2004.

REIK, W.; WALTER, J. Genomic imprinting: Parental influence on the genome. **Nature Reviews Genetics**, London, v.2, p.21-32, 2001.

RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; SOUTHEY, B.R.; HEYEN, D.W.; LEWIN, H.A. Detection of quantitative trait loci influencing dairy traits using a model for longitudinal data. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.85, p.2681-2691, 2002.

RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; SOUTHEY, B.R.; HEYEN, D.W.; LEWIN, H.A. Interval and composite interval mapping of somatic cell score, yield, and components of milk in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.85, p.3081-3091, 2002.

ROSÁRIO, M.F.; GARCIA, A.A.F.; LEDUR, M.C.; COUTINHO, L.L. Parâmetros genéticos estimados em população experimental de frangos para mapeamento de QTL (*quantitative trait loci*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2005a. 1 CD-ROM.

ROSÁRIO, M.F.; SILVA, M.A.N.; COELHO, A.A.D.; SAVINO, V.J.M. Estimating and predicting feed conversion in broiler chickens by modeling covariance structure. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v.6, p.508-514, 2007b.

ROSÁRIO, M.F.; LEDUR, M.C.; MOURA, A.S.A.M.T.; COUTINHO, L.L., GARCIA, A.A.F. Genotypic characterization of two Brazilian chicken lines and their reciprocal crosses designed to map QTLs. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, 2007a. In Press.

ROSÁRIO, M.F.; SILVA, M.A.N.; SAVINO, V.J.M.; COELHO A.A.D.; MORAES, M.C. Avaliação do desempenho zootécnico de genótipos de frangos de corte utilizando-se a análise de medidas repetidas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, p.2253-2264, Sup.5, 2005b.

RUY, D.C. **Mapeamento de QTL para desempenho e características de carcaça, nos cromossomos 3 e 5 de *Gallus gallus***. 2004. 122p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

RUY, D.C.; NONES, K.; BARON, E.E.; LEDUR, M.C.; CAMPOS, R.L.R.; AMBO, M.; COUTINHO, L.L. Identificação de QTL influenciando o peso corporal no cromossomo 3 de aves (*Gallus gallus*). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49., Águas de Lindóia, 2003. **Anais...** Ribeirão Preto: SBG, 2003. 1 CD-ROM.

RUY, D.C.; NONES, K.; BARON, E.E.; LEDUR, M.C.; DE MELO, C.M.R.; AMBO, M.; CAMPOS, R.D.L.; COUTINHO, L.L. Strategic marker selection to detect quantitative trait loci in chicken. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, p.111-116, 2005.

SAS – Statistical Analyses System. **SAS OnlineDoc®**, version 9.13, Cary: SAS Institute. 2007. 1 CD-ROM.

SCHMID, M.; NANDA, I.; HOEHN, H.; SCHARTL, M.; HAAF, T.; BUERSTEDDE, J.M.; ARAKAWA, H.; CALDWELL, R.B.; WEIGEND, S.; BURT, D.W.; SMITH, J.; GRIFFIN, D.K.; MASABANDA, J.S.; GROENEN, M.A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; VIGNAL, A.; FILLON, V.; MORISSON, M.; PITEL, F.; VIGNOLES, M.; GARRIGUES, A.; GELLIN, J.; RODIONOV, A.V.; GALKINA, S.A.; LUKINA, N.A.; BEN-ARI, G.; BLUM, S.; HILLEL, J.; TWITO, T.; LAVI, U.; DAVID, L.; FELDMAN, M.W.; DELANY, M.E.; CONLEY, C.A.; FOWLER, V.M.; HEDGES, S.B.; GODBOUT, R.; KATYAL, S.; SMITH, C.; HUDSON, Q.; SINCLAIR, A.; MIZUNOU, S. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.109, p.415–479, 2005.

SCHREIWEIS, M.A.; HESTER, P.Y.; MOODY, D.E. Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F₂ resource population of chickens. **Genetics Selection Evolution**, Les Ulis, v.37, p.677-698, 2005.

SCHWARZ, G. Estimating the dimension of a model. **Annals of Statistics**, Hayward, v.6, p.461-464, 1978.

SEATON, G.; HALEY, C.S.; KNOTT, S.A.; KEARSEY, M.; VISSCHER, P.M. QTL EXPRESS: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. **Bioinformatics**, Oxford, v.18, p.339-340, 2002.

SEWALEM, A.; MORRICE, D.M.; LAW, A.; WINDSOR, D.; HALEY, C.S.; IKEOBI, C.O.N.; BURT, D.W.; HOCKING, P.M. Mapping of quantitative trait loci for body weight at three, six, and nine weeks of age in a broiler layer cross. **Poultry Science**, Savoy, v.81, p.1775-1781, 2002.

SIMIANER, H. A general approach to the use of multiple traits with repeated measurements in estimation of breeding values. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.15, p.315-324, 1986.

SOLTER D. Differential imprinting and expression of maternal and paternal genomes. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.22, p.127-146, 2004, 1988.

SPENCER, H.G.; DORN, T.; LOFARO, T. Population models of genomic imprinting. II. Maternal and fertility selection. **Genetics**, Baltimore, v.173, p.2391-2398, 2006.

TATSUDA, K.; FUJINAKA, K. Genetic mapping of the QTL affecting body weight in chickens using a F₂ family. **British Poultry Science**, Hants, v.42, p.333-337, 2001.

VAN DER BEEK, S.; VAN ARENDONK, J.A.M. Criteria to optimize designs for detection and estimation of linkage between marker loci from segregating populations containing several families. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.86, p.269-280, 1993.

VAN KAAM, J.B.C.H.M.; GROENEN, M.A.M.; BOVENHUIS, H.; VEENENDAAL, A.; VEREIJKEN, A.L.J.; VAN ARENDONK, J.A.M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting growth and feed efficiency. **Poultry Science**, Savoy, v.78, p.15-23, 1999b.

VAN KAAM, J.B.C.H.M.; GROENEN, M.A.M.; BOVENHUIS, H.; VEENENDAAL, A.; VEREIJKEN, A.L.J.; VAN ARENDONK, J.A.M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. **Poultry Science**, Savoy, v.78, p.1091-1099, 1999a.

ZENG, Z.-B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v.136, p.1457-1468, 1994.

ZENG, Z.-B. Theoretical basis of separation of multiple linked gene effects on mapping quantitative trait loci. **Proceedings of the National Academy of Sciences in the United States of America**, Washington, v.90, p.10972-10976, 1993.

ZEREHDARAN, S.; VEREIJKEN, A.L.J.; VAN ARENDONK, J.A.M.; VAN DER WAAIJ, E.H. Estimation of genetic parameters for fat deposition and carcass traits in broiler. **Poultry Science**, Savoy, v.83, p.521-525, 2004.

ZHOU, J.; DEEB, N.; ASHWELL, C.M.; LAMONT, S.J. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken I. Growth and average daily gain. **Poultry Science**, Savoy, v.85, p.1700-1711, 2006.

ANEXOS

ANEXO A – Protocolo de extração de DNA usando DNAZOL[®] (INVITROGEN)

1. Pipetar 5 μ L de sangue em EDTA 10% em tubo de 1,5 mL
2. Adicionar 1 mL de DNAZOL[®]
3. Adicionar mais 250 μ L de etanol absoluto e inverter os tubos várias vezes
4. Capturar o DNA com a ponteira de uma pipeta
5. Descartar o líquido e voltar o *pellet* de DNA no mesmo tubo
6. Lavar com 500 μ L de etanol 95%, agitando bastante
7. Centrifugar a 4000 rpm por 10 minutos
8. Descartar o sobrenadante
9. Repetir a lavagem com etanol 95% (passos 6 a 8)
10. Depois de descartar o sobrenadante, secar os tubos por 10 minutos em temperatura ambiente
11. Ressuspender o *pellet* com 150 μ L de água ultrapura.

ANEXO B - Detalhes dos 34 marcadores microsatélites utilizados e de suas respectivas otimizações de amplificação por PCR¹

(continua)

Marcador	Seqüência do marcador	Tamanho (pb)	TA (°C) ²	Marcador F+R (µL) ³	MgCl ₂ (µL) ⁴	Taq (µL) ⁵
Cromossomo 1A						
<i>ADL0234</i>	F: CTGGACGCGTGAAAAAGTTC R: CCCTGGGGCTCCCTCAGCAC	134-194	66	1,20	0,60	0,20
<i>MCW0297</i>	F: TGCCAAACATGACCTCCAGTC R: ACTTCACTGCAGGGTGGTGAG	288-303	66	1,00	0,60	0,20
<i>LEI0174</i>	F: ATCATAACATGTTCTAGGGCTG R: AAAGGGCATTCCCGCATGAG	230-263	57	1,00	1,20	0,20
<i>ADL0150</i>	F: ATGCCAAGCATTACAGAAGC R: CCTGCAGCACCTTTATCTCT	130-190	57	1,20	0,90	0,20
<i>MCW0112</i>	F: ATCTCTCTGCCCATGTTTCAG R: GATCACTAAGGTCCCTTCAA	260-279	61	1,20	1,80	0,60
<i>MCW0058</i>	F: GGGCACACAGAGTGGACACCA R: TAGCATTCTCCAATGACTCCGG	158-286	65	1,20	1,20	0,20
<i>LEI0071</i>	F: TCAGGTTAGTCTGACCATTGC R: TGAGTGAAGATTGCTAATGGA	281-330	55	1,00	1,20	0,20
Cromossomo 1B						
<i>LEI0160</i>	F: CAAAGTAATCATCTTGTGCTA R: CATTGCAGCGCATTGAGCAG	248-254	58	1,20	1,20	0,20
<i>LEI0169</i>	F: TTGCTTGTTTGGCTGCCTTTAG R: ACAGTGTAGCATGGACAACAG	236-253	59	1,20	1,20	0,20
<i>LEI0079</i>	F: AGGCTCTCGAATGAATGCATC R: TCATTATCCTTGTGTGAAACTG	200-234	58	0,30	1,20	0,20
<i>LEI0107</i>	F: GCTGCTCAGAAGCATCTGTGC R: ATCATTGCTACACCATGGTTC	208-230	57	1,20	1,50	0,60
<i>ADL0183</i>	F: TTGTGAAGTGGATAAGATGA R: ACAGAAATGGAAAGCGAGAC	72-132	51	1,20	1,80	0,90
<i>MCW0145</i>	F: ACTTTATTCTCAAATTTGGCT R: AAACACAATGGCAACGGAAAC	160-220	58	0,30	1,20	0,20
Cromossomo 3						
<i>LEI0043</i>	F: CTTCCATGGCAGCTCAGCCT R: ATCACTCGCGGCCATTCCGGC	106-120	57	1,20	1,50	0,20
<i>MCW0169</i>	F: GATCCCACTTGTTAAGAAGTG R: CCTGACTTACTGAGCTTGA	64-124	53	1,00	0,60	0,20
<i>MCW0083</i>	F: GCCTTTACCCATCTTACTGT R: TACATTTCAGAAGGAATGTTGC	66-93	50	1,50	2,10	1,20
<i>ADL0370</i>	F: ACAGATATCAAACCTTCCAAG R: AATATCTATGCTGAAATGTG	160-200	47	1,20	1,80	0,90
<i>MCW0222</i>	F: GCAGTTACATTGAAATGATTCC R: TTCTCAAAACACCTAGAAGAC	221-225	55	1,20	1,20	0,60
<i>LEI0161</i>	F: CAGCCTTTTCAAGCTTGCTGC R: GTTCACTTTAGACATGAATCG	90-100	62	1,20	0,60	0,20
<i>LEI0115</i>	F: CTTACCACCAGTGTGTTCTGT R: TAATACTGCCCTAGATTATGTC	272-292	58	1,20	1,50	0,60
<i>ADL0371</i>	F: AAATAGGTTCTCCCAATCAC R: AATCATGGAAGACTGCTTTC	130-190	50	1,50	1,80	0,90
<i>LEI0118</i>	F: AAGACCAATGGGAGCAAATCC R: GGCTAAACAGCCATTTGTACC	67-91	62	1,20	1,20	0,20
<i>MCW0277</i>	F: ACAAGTAGAACTTGGTGAGTG R: GAACTGATAACTAGCAGGTAG	257-269	61	1,20	1,20	0,60
<i>ADL0127</i>	F: GAACCAGCAATTATATTAATA R: TTAACACAAAAGAACCAGGCAG	118-178	53	1,00	0,60	0,20
<i>MCW0116</i>	F: GATTTTGAGTCTCAACAGCTC R: AGGCCAAAGATGAGACACCTG	257-317	66	1,20	1,20	0,20

(conclusão)

Marcador	Seqüência do marcador	Tamanho (pb)	TA (°C) ²	Marcador <i>F+R</i> (µL) ³	MgCl ₂ (µL) ⁴	<i>Taq</i> (µL) ⁵
Cromossomo 4						
<i>LEI0100</i>	F: ATG TAA TCA GCA AGT GCC TGG R: TTC AGA GGC ACT GAC TGA ATG	242-274	58	1,20	1,20	0,20
<i>ADL0194</i>	F: ATTTTGTGTGTGGGATTAT R: GCCTTGATTGCTGTTATTAC	185-245	58	1,20	1,50	0,60
<i>LEI0122</i>	F: TCGCTGTTGCTTAGTTGTGG R: GATCTACTGGATTACCATTG	289-300	54	1,20	1,20	0,20
<i>LEI0062</i>	F: TTCATTTCCACGTGGAGTGAC R: GGAGCTGCATCCACTCTTGG	81-113	54	1,20	1,80	0,60
<i>LEI0076</i>	F: CCGGGTTTCAGCATTCTATCTGGC R: GATCTGAATTTCTCGTTCATCC	245-280	51	1,20	0,90	0,90
<i>MCW0240</i>	F: CAA AAC CGG TGT CAC CTA CTG R: GGT TAT TTC TTC AGT GAC TTC C	172-197	60	1,20	1,20	0,20
<i>LEI0063</i>	F: ATC ACT GTG TAC CTG AGG CC R: AGG TCT TCA AGT GCA CAC CTG	206-290	55	1,20	0,60	0,20
<i>LEI0085</i>	F: GGA TGA AGT GCC ACC ATA CGG R: ATG CGT GCT TAG AGG CCA GTG	259-273	60	1,40	1,20	0,20
<i>MCW0174</i>	F: TGG ACT TAA CAC TGC TAT TGC R: CTC TCT ACC TTG GAG GGC TGA	261-278	53	1,20	0,60	0,20

¹ componentes da reação de PCR (quantidades em µL): **água ultrapura: q.s.p. 15,0**; tampão (10 X): 1,5; **MgCl₂: variou de 0,60 a 2,10**; dNTP (10 mM): 0,6; **primer R e primer F: variou de 0,3 a 1,4 cada um**; **Taq DNA polimerase: variou de 0,2 a 1,20**; DNA (20 ng.µL⁻¹): 3,0; volume total: 15,0.

² temperatura de anelamento.

³ concentração de 2,5 pmoles.µL⁻¹ para *foward* (F) e *reverse* (R).

⁴ concentração de 25 mM.

⁵ concentração de 5 U.µL⁻¹.