Universidade Estadual Paulista

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

Campus de Jaboticabal

VARIABILIDADE GENÉTICA E IDENTIFICAÇÃO DE QTLs DE TÍBIA E PESO CORPORAL EM *Gallus gallus*

Beatriz do Nascimento Nunes Ragognetti

Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Maio de 2013

Universidade Estadual Paulista

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

Campus de Jaboticabal

VARIABILIDADE GENÉTICA E IDENTIFICAÇÃO DE QTLs DE TÍBIA E PESO CORPORAL EM *Gallus gallus*

Msc. Beatriz do Nascimento Nunes Ragognetti

Orientador: Prof. Dr. Danísio Prado Munari

Coorientadora: Pesq. Dra. Mônica Corrêa Ledur

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal – UNESP para a obtenção do Título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Maio de 2013

Ragognetti, Beatriz do Nascimento Nunes
R144v Variabilidade genética e identificação de QTLs de tíbia e peso corporal em Gallus gallus / Beatriz do Nascimento Nunes Ragognetti. – – Jaboticabal, 2013
v, 49 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientador: Danísio Prado Munari
Banca examinadora: João Ademir de Oliveira, Sandra Aidar de Queiroz, Nedenia Bonvino Stafuzza, Jane de Oliveira Peixoto
Bibliografia

1. QTLs - Mapeamento. 2. Correlação genética. 3. Gallus gallus-Tíbia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.082

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BEATRIZ DO NASCIMENTO NUNES RAGOGNETTI – nascida em 27 de maio de 1978, na cidade de Barretos, São Paulo, filha de Onibar Nunes Freitas e Silvia Aparecida do Nascimento. Iniciou o curso de Medicina Veterinária na Faculdade de Ciência Agrárias, Universidade de Marilia (UNIMAR) em fevereiro de 1998 e obteve o título de Médica Veterinária em dezembro de 2002. Em março de 2006, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal na Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Danísio Prado Munari e coorientação da Pesq. Dra. Mônica Corrêa Ledur. Foi bolsista CAPES no período de Março de 2006 a Setembro de 2007. Ingressou no curso de doutorado em agosto de 2009, no mesmo programa de Pós-Graduação, sob orientação do mesmo docente e coorientadora. Foi bolsista CAPES no período de agosto de 2010 a junho de 2013, quando obteve o título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal. Durante o curso de doutorado, realizou estágio na Universidade de Brisbane – University of Queensland- Austrália, sob a supervisão da Dra. Kátia Nones.

O mais importante da vida não é a situação em que estamos,
mas a direção para a qual nos movemos.

(Oliver W. Holmes)

À minha família;

A todos os meus professores. Nada seria possível sem eles.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. **Danísio**, por ter sido mais que um mestre nestes últimos 15 anos.

À Pesq. **Mônica**, pela coorientação e valiosas sugestões e críticas apresentadas que muito contribuíram na interpretação dos resultados.

À Pesq. **Kátia Nones** por ter me recebido, dando-me a oportunidade de desenvolver este trabalho, pela paciência e atenção durante minha estadia na Austrália.

Aos membros da comissão de qualificação (Dr. **João Ademir**, Dra. **Cláudia**, Dra. **Nedenia**, e Dra. **Sabrina**) e da comissão examinadora da tese (Dr. **João Ademir**, Dra. **Sandra**, Dra. **Jane** e Dra. **Nedenia**) pelas sugestões, atenção e contribuição para o término desta tese.

Aos **professores e funcionários do departamento de ciências exatas**, pela confiança e por proporcionarem um ambiente de estudo agradável e familiar.

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Julio de Mesquita Filho” – UNESP, **aos funcionários do Setor de Pós-Graduação,** especialmente ao **Antônio e Fernanda** pela atenção e paciência e a CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

A **EMBRAPA** Suínos e Aves pelos dados gentilmente cedidos a mim.

Aos **meus pais** (Onibar e Silvia) por respeitarem e acreditarem nos meus sonhos.

A **minha irmã** (Paula) por torcer sempre para meu sucesso pessoal e profissional.

A **minha tia** (Cida) por estar sempre me apoiando em todas minhas decisões.

A **minha amiga** (Patrícia) por ser parte de tudo que faço.

Aos **meus familiares**, por estarem sempre ao meu lado me incentivando.

Aos amigos Rodrigo, Marcos, Guilherme, Tati, Natália, Diego, Val, Salvador, Camila, Gui Bio, Ismael, Tiago, Giovana, Nicole, Priscila, Jaque, obrigada pelo incentivo, apoio e companhia.

Ao **Mateus,** meu grande amor.

A **DEUS** por me provar sua presença a cada dia.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS 1
1. INTRODUÇÃO 1
1.1. Marcadores Moleculares 3
1.2. Mapas de Ligação 5
1.3. População 5
1.4. Métodos Estatísticos 6
1.5. Características Estudadas 7
2. OBJETIVOS 10
3. REFERÊNCIAS 10
CAPÍTULO 2 – PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS DE CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DA TÍBIA E PESO VIVO AOS 42 DIAS DE IDADE EM UMA POPULAÇÃO ORIUNDA DE UM CRUZAMENTO RECÍPROCO DE AVES 15
RESUMO 15
1. INTRODUÇÃO 16
2. MATERIAL E MÉTODOS 17
2.1. População experimental 17
2.2. Características estudadas 19
2.3. Análises estatísticas 19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 20
4. CONCLUSÃO 25
6. REFERÊNCIAS 25
CAPÍTULO 3 – MAPEAMENTO DE LOCI ASSOCIADOS ÀS CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS MEDIDAS NAS TÍBIAS DE AVES DE UMA POPULAÇÃO F2 29
RESUMO 29
1. INTRODUÇÃO 30
2. MATERIAL E MÉTODOS 31
2.1. População experimental 31
2.2. Descrição das características 32

2.3. Genotipagem e mapa de ligação 32
2.4. Mapeamento de QTL 33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 34
4. CONCLUSÃO 41
5. REFERÊNCIAS 41
Apêndices 47

VARIABILIDADE GENÉTICA E IDENTIFICAÇÃO DE QTLs DE TÍBIA E PESO CORPORAL EM Gallus gallus

RESUMO – Neste estudo os objetivos foram estimar parâmetros genéticos e mapear *loci* associados a características ósseas e peso vivo aos 42 dias de idade (PV42) em *Gallus gallus*. Estas aves foram oriundas de uma população F2 resultante do cruzamento de uma linhagem de corte e outra de postura, mantidas pela Embrapa Suínos e Aves. Foram estimados parâmetros genéticos e identificados QTLs (loci de características quantitativas) para comprimento, largura e peso da tíbia e PV42, visando a melhor compreensão da arquitetura genética das características estudadas. Os componentes de variância foram estimados pelo método da Máxima Verossimilhança Restrita sob modelo animal multicaracterística. O modelo geral incluiu os efeitos aleatórios genético aditivo direto e residual e o efeito fixo da interação sexo (2 níveis) e incubação (17 níveis), totalizando 34 grupos sexo-incubação. As estimativas de herdabilidade para comprimento, largura e peso da tíbia e PV42, foram, respectivamente, 0,23 ± 0,08, 0,34 ± 0,09, 0,24 ± 0,08 e 0,15 ± 0,05. As correlações genéticas foram positivas e variaram de 0,56 ± 0,18 (entre comprimento da tíbia e PV42) a 0,89 ± 0,06 (entre largura e peso da tíbia). Quando PV42 foi incluído no modelo como covariável para as características ósseas, as estimativas de correlação genética entre as características da tíbia diminuíram e variaram de 0,28 ± 0,23 (entre comprimento e largura da tíbia) a 0,80 ± 0,11 (entre largura e peso da tíbia). Concluiu-se que a seleção favorecendo o aumento no PV42 poderia aumentar também as medidas de comprimento, largura e peso da tíbia. No entanto, como a associação genética entre PV42 e as características estudadas não é máxima, isto poderia em parte justificar os problemas ósseos encontrados em linhagens de frangos de corte, cujo principal critério de seleção é o peso corporal. Para o mapeamento de QTLs, foi realizada uma varredura no genoma utilizando 127 marcadores microssatélites, os quais cobriram 2630,30 cM dos cromossomos 1 ao 15, 18, 19, 23, 24 e do 26 ao 28. O modelo de análise do mapeamento incluiu o efeito fixo de incubação (17 níveis), sexo (2 níveis) e família de mães, que variou nos diferentes cromossomos. Foram encontrados dezessete QTLs distribuídos nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 6, 10, 13 e 24. No cromossomo 1, entre os marcadores LEI0079 e MCW145, foram mapeados QTLs para largura e peso da tíbia e PV42.

Entre estes dois marcadores está localizado o gene DACH1, que afeta a formação da crista ectodérmica apical, responsável pelo desenvolvimento dos membros inferiores e superiores. Para efeito de seleção específica para características ósseas, o ideal seria encontrar QTLs com efeito direto sobre estas características e que não esteja ligado ou influencie peso vivo, portanto, PV42 foi incluído no modelo de análise como covariável. Assim, foram encontrados dois QTLs para peso da tíbia nos cromossomos 2 e 4, e um QTL para largura da tíbia no cromossomo 3. No cromossomo 2 a região de QTL foi mapeada entre os marcadores ADL0373 e LEI0096. Entre estes marcadores foi encontrado o gene melanocortin-4 receptor (MC4R), que está associado com peso vivo, peso da carcaça e peso do músculo da perna em frangos. As informações provenientes destes QTLs poderão facilitar a busca por genes candidatos para as referidas características ósseas em futuros estudos.

Palavras-chave: correlação genética, *Gallus gallus,* herdabilidade, mapeamento de QTL, tíbia.

GENETIC VARIATION AND IDENTIFICATION OF QTLS OF TIBIA AND BODY WEIGHT IN *Gallus gallus*

ABSTRACT – The objectives of this study were to estimate genetic parameters and to map loci associated with tibia characteristics and body weight at 42 days of age (BW42) in *Gallus gallus*. An F2 chicken population was developed by crossing a broiler sire line and a layer line maintained by Embrapa Swine and Poultry. To better understand the genetic architecture of tibia length, width and weight and BW42, genetic parameters were estimated and QTL (Quantitative Trait Loci) for these traits were evaluated. Variance components were estimated by Restricted Maximum Likelihood under multi-trait animal model. The general model included the random additive genetic and residual fixed effect of the interaction and sex (2 levels) and incubation (17 levels), totaling 34 groups sex-incubation. Heritability estimates for length, width and weight of the tibia and BW42 were, respectively, 0.23 ± 0.08, 0.34 ± 0.09, 0.24 ± 0.08 and 0.15 ± 0.05. Genetic correlations were positive and ranged from 0.56 ± 0.18 (between tibia length and PV42) to 0.89 ± 0.06 (between width and weight of the tibia). When BW42 was included as a covariate in the model for bone characteristics, estimates of genetic correlations between traits of the tibia decreased and ranged from 0.28 ± 0.23 (between tibia length and tibia width) to 0.80 ± 0.11 (between tibia width and tibia weight). The genetic correlation between tibia traits and PV42 are not maximum, this could in part explain the bone problems found in strains of broilers. QTLs were mapped using 127 microsatellite markers, which covered 2630.30 cM of chromosomes 1-15, 18, 19, 23, 24 and 26-28. The analysis model mapping included the fixed effect of incubation (17 levels), sex (2 levels) and family of mothers, who ranged in different chromosomes. Seventeen QTL were found on chromosomes 1, 2, 3, 4, 6, 10, 13 and 24. QTLs for width and weight of the tibia and BW42 were mapped on chromosome 1 between markers LEI0079 and MCW145. Between these two markers is located DACH1 gene that affects the formation of the apical ectodermal ridge, responsible for the development of formation along the proximodistal axis of the limb. When BW42 was included in the model as a covariate

two QTLs for weight tibia on chromosomes 2 and 4, and one QTL for width of the tibia on chromosome 3 were mapped, suggesting that these regions might affect tibia characteristics independent of overall growth (BW). On chromosome 2 between markers ADL0373 and LEI0096, is located melanocortin-4 receptor (MC4R) gene, significantly associated with body weight, carcass weight and leg muscle weight. These QTLs are good candidate regions for future studies and may facilitate the search for candidate genes for these bone characteristics.

Keywords: genetic correlation, *Gallus gallus*, heritability, QTL mapping, tibia.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

A avicultura de corte assegura ao Brasil posição de destaque no cenário mundial. O país é o terceiro maior produtor (10,9 milhões de toneladas) e o maior exportador de carne de frango. O Brasil é responsável por mais de 40% das exportações mundiais de carne de frango, segundo a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF, 2012). É a atividade pecuária que apresentou os maiores índices de evolução nas últimas décadas. Esse desempenho é resultado de uma trajetória de incremento tecnológico e capacidade de coordenação entre os diferentes segmentos de produção que compõem o setor avícola.

Por mais de meio século, programas de melhoramento genético se concentraram principalmente em melhorias de duas importantes características de produção em frangos de corte, a taxa de crescimento e a eficiência alimentar (LE BIHAN-DUVAL et al., 2011). Nos últimos 60 anos, a taxa de crescimento nos frangos de corte teve aumento de 300% (KNOWLES et al., 2008), entretanto a estrutura óssea não é forte o suficiente para suportar o peso desses animais (BRADSHAW et al., 2002).

ALMEIDA PAZ (2008) relata que o estudo dos problemas locomotores é importante para a avicultura mundial uma vez que a dificuldade de locomoção está relacionada a perdas econômicas mensuráveis, como condenações e desclassificações de carcaças devido, principalmente, às fraturas e lesões na pele. A queda no desempenho por atraso no crescimento das aves com claudicação é também notada. Anormalidades das pernas representam a maior causa de perda econômica na indústria avícola mundial. Aproximadamente 2 a 6% de todas as aves têm problemas esqueléticos (DAY, 1990). No Rio Grande do Sul, maior produtor de frangos de corte do Brasil, 38,66% (1.624.233 aves) das condenações parciais que ocorreram no período de janeiro a dezembro de 2010 foi devido à contusão/fratura, o que gerou perda de R$ 81.646,24 (SESTERHENN et al., 2011).

O aumento da produtividade traz, em sua maior parte, grande dano ao bem-

estar dos animais (MOLENTO; BOND, 2008). A condição adequada de bem-estar do animal, além de fazer parte das regras do comércio internacional também sinaliza que o animal pode produzir mais. De acordo com NÃAS (2008), a falta de aplicação dos princípios de bem-estar durante a vida do animal, pode resultar em produção de carne de qualidade inferior.

Segundo BURT (2002), a genética molecular pode contribuir para melhorar características de produção sem prejudicar os ganhos já obtidos. Com o uso de ferramentas moleculares é possível identificar genes que controlam características quantitativas de importância econômica e assim auxiliar e acelerar programas de melhoramento genético animal, principalmente para características difíceis de serem medidas, de alto custo de avaliação, de baixa herdabilidade ou limitadas pelo sexo.

As diferenças entre indivíduos nas sequências de nucleotídeos que codificam um gene podem produzir diferenças nas sequências de aminoácidos ou proteínas que são codificadas. Estas proteínas podem por si só levar a alterações fenotípicas ou controlar a produção de outras enzimas ou proteínas que ocasionarão diferenças fenotípicas entre os animais. A seleção sob abordagem da genética quantitativa é baseada no conhecimento de parâmetros genéticos da população para as características de interesse, como herdabilidades e correlações genéticas. Estes parâmetros podem ser estimados a partir de dados fenotípicos e do pedigree. Entretanto, não há conhecimento do número de genes que afetam a característica, muito menos dos efeitos de cada gene ou as respectivas localizações no genoma (DEKKERS; HOSPITAL, 2002). Um dos objetivos dos estudos genéticos é associar o genótipo com o fenótipo que é herdado (BOTSTEIN; RISCH, 2003). Quando não há conhecimento do genótipo dos animais, as diferenças fenotípicas e a covariância entre parentes são utilizadas para inferir sobre as diferenças genéticas entre os indivíduos.

A maioria das características de interesse econômico tem padrão de manifestação quantitativo e determinado por mais de um gene (poligenes). Apesar da existência de genes principais, a maior parte da variação é controlada por um grande número de genes, cada um com pequeno efeito sobre o caráter (MONTALDO; MEZA-HERRERA, 1998). Os QTLs (do inglês *Quantitative Trait Loci*) são regiões genômicas associadas às características quantitativas. Essas regiões

são identificadas a partir de associações estatísticas significativas entre valores genotípicos de marcadores moleculares e a variabilidade fenotípica existente em uma população. O termo QTL foi sugerido por GELDERMANN (1975). Pesquisas têm mostrado que variações genéticas nessas regiões estão associadas a mudanças fenotípicas.

Marcadores moleculares têm sido usados com sucesso na identificação de QTL responsável pela variação genética de características de interesse econômico (ROTHSCHILD; SOLLER, 1997). Se um QTL estiver em um segmento cromossômico próximo do marcador, o monitoramento da segregação e do polimorfismo gênico do marcador permitirá inferir indiretamente a presença do QTL. TOGASHI & LIN (2009) concluíram que a contribuição na identificação de QTL para uma única característica de baixa herdabilidade no mérito genético total é mínima comparado com características de média ou alta herdabilidade. Esses mesmos autores verificaram que identificar QTL para várias características de herdabilidade baixa é justificado quando a característica tem correlação genética desfavorável com as demais.

O processo que utiliza a informação dos marcadores genéticos para auxiliar na seleção dos animais é denominado seleção assistida por marcadores (MAS). A palavra “assistida” implica que a seleção é também influenciada por outras fontes de informação tais como o desempenho observado, ou seja, o fenótipo.

MARCADORES MOLECULARES

Marcadores moleculares são marcas no genoma que podem representar um gene ou fragmento de DNA, ilustrando pontos de referência nos cromossomos que são herdáveis (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Se considerarmos marcadores moleculares em termos do tipo de informação que fornecem em um único *locus*, apenas três categorias principais podem ser descritas: o bialélico dominante, tal como RAPDs (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLPs (*Amplified Fragment Length Polymorphism*); bialélico codominantes, como RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), SSCPs (*Single Stranded Conformation Polymorphism*) e multialélico codominantes, como os microssatélites. Segundo DURAN et al. (2009), na análise genética, predominam os marcadores SNPs (polimorfismos de

nucleotídeo único) e os microssatélites.

Os marcadores microssatélites, ou SSR *(Simple Sequence Repeats*) são sequências curtas de um a seis nucleotídeos repetidos em sequência (*tandem)* e são codominantes (ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados). É o grupo de marcador molecular mais polimórfico, uma vez que cada microssatélite constitui um locus genético altamente variável e de grande conteúdo informativo (RUVINSKY; GRAVES, 2005), melhor distribuído ao acaso e fácil de ser detectado por PCR (Reação em cadeia da polimerase). Os marcadores microssatélites, são também marcadores multialélicos, ou seja, em uma população vários alelos de um *locus* podem ser detectados e discriminados. Por isso, esse tipo de marcador é o mais utilizado no mapeamento de QTLs em animais de produção em que as linhagens não são endogâmicas e os animais podem ser heterozigotos e ainda diferentes indivíduos dentro de cada linhagem podem ter diferentes alelos dentro de um mesmo *locus*. Microssatélites são os marcadores de escolha para estudos de diversidade, bem como para a análise de parentesco e mapeamento de QTLs, embora isso possa ser contestado em futuro próximo com o desenvolvimento de métodos de menor custo para o ensaio de SNPs.

Os SNPs são marcadores moleculares e representam mudança de uma única base entre dois indivíduos em um local definido. Há três diferentes categorias de SNPs: transições (C / T ou G / A), transversões (C / G, A / T, C / A, ou T / G) e pequenas inserções / deleções (DOVERI et al., 2008). Os SNPs são marcadores bialélicos, o que representa desvantagem quando comparada com os marcadores multialélicos como os microssatélites. Isto é compensado pela abundância relativa de SNPs, o que pode proporcionar uma elevada densidade de marcadores em um *locus* de interesse. Os SNPs são evolutivamente estáveis, não alterando de forma significativa de geração em geração (DURAN et al., 2009).

Em futuro próximo, as informações obtidas por sequenciamento de todo o genoma (completo em frangos), integrado aos SNP, poderá acelerar a busca por genes de interesse. *Loci* controladores de características quantitativas (QTL) para identificar as regiões do cromossomo que influenciam uma característica de interesse, a presença de genes candidatos localizado na mesma região, e a investigação de seus padrões de expressão (por exemplo, por *microarray* e análise

proteômica) e sua função em todas as espécies, vão se reunir para identificar genes-chave e para desvendar a complexidade fisiológica para as características de interesse.

MAPAS DE LIGAÇÃO

O genoma da galinha doméstica apresenta 38 pares de cromossomos autossômicos, totalizando 76 cromossomos (2n), consistindo em 8 macrocromossomos, 30 microcromossomos e os cromossomos sexuais Z e W (CHENG, 1997), no qual, a fêmea é o sexo heterogamético (ZW) e o macho o homogamético (ZZ).

Os mapas de ligação fornecem informações que melhoram a análise de QTL, pois as frequências de recombinação entre os marcadores e o QTL podem ser consideradas. Além disso, o mapa genético permite representar geneticamente o cromossomo. Segundo GRIFFITHS et al. (1998) pode-se usar a taxa de recombinação genética (*crossing-over* ou permuta) como indicador quantitativo da distância linear entre dois genes. Quanto maior a distância, maior a probabilidade das cromátides não-irmãs se cruzarem na região entre os genes e, portanto, maior a proporção de recombinantes que seriam produzidos. Quando se determina a frequência de recombinantes, obtém-se uma medida de distância de mapa entre os genes. A unidade que mede a distância genética entre dois marcadores no cromossomo é o Morgan, cujo nome foi dado em homenagem ao geneticista Thomas Hunt Morgan (1866-1945), definida como a distância em que se espera um evento de recombinação por gameta por geração (DOERGE, 2002). A frequência de recombinação de 0,01 ou 1% é definida como aproximadamente 1 cM (centiMorgan).

POPULAÇÃO

Para que os marcadores moleculares possam contribuir para o estudo e mapeamento de QTL é útil que a população esteja em desequilíbrio de ligação (LD). Neste caso, a informação de um marcador localizado próximo a um QTL poderá ser utilizada com maior precisão na predição deste QTL. Por isso, são importantes os delineamentos com cruzamentos controlados que visam maximizar o desequilíbrio

de ligação entre os *locus* (TANKSLEY, 1993; LIU, 1998). Desequilíbrio de ligação é qualquer desvio das frequências alélicas dos *loci* em relação às frequências esperadas sob a hipótese destes não estarem ligados e segregando independentemente, indicando ligação entre *locus.* Se estiverem ligados, passarão em conjunto para a próxima geração (FALCONER & MACKAY, 1996).

Para garantir o desequilíbrio de ligação, o uso de delineamento experimental envolvendo o cruzamento de linhagens divergentes e a formação de gerações F1 e F2 apresentam vantagens em relação a outros delineamentos (VAN DER BEEK et al., 1995). A geração F1 é composta por animais heterozigotos, mostrando máximo desequilíbrio de ligação nos genes que diferem entre as linhagens, isto é, os genes não segregam independentemente. A geração F2 resulta de uma distribuição aleatória do conteúdo genético das linhagens parentais e a variância fenotípica observada é devida, principalmente, aos QTLs. Por fim, a amostra de indivíduos F2 poderá conter todos os alelos em estudo para as populações sob cruzamento, o que pode não ocorrer em populações naturais, em que os cruzamentos são aleatórios. De acordo com FALCONER & MACKAY (1996), se houver diferença nas médias dos fenótipos entre as classes genotípicas do marcador, pode-se inferir que existe um QTL ligado àqueles marcadores, ou seja, as classes genotípicas dos marcadores segregam em conjunto com os alelos de um QTL de interesse.

A partir dos delineamentos genéticos e da construção de grupos de ligação, o mapeamento de QTLs envolveram o uso de metodologias estatísticas específicas. Os principais métodos de mapeamento são: o método de análise de marcas simples (STUBER et al., 1987), o mapeamento por intervalo (LANDER; BOTSTEIN, 1989), o mapeamento por intervalo composto (ZENG, 1994), sua extensão pelo mapeamento de múltiplos caracteres (JIANG; ZENG, 1995) e o mapeamento por múltiplos intervalos (KAO et al., 1999).

MÉTODOS ESTATÍSTICOS

LANDER & BOTSTEIN (1989) propuseram o mapeamento por intervalo, empregando estimativas de máxima verossimilhança. Segundo HALEY et al. (1994), a desvantagem de utilizar a máxima verossimilhança no mapeamento de intervalos é

a sua complexidade computacional, que dificulta análises simultâneas de vários QTLs, interações entre QTLs, efeitos de QTLs não ligados e efeitos fixos. Em 1994, esses mesmos autores utilizaram o método dos quadrados mínimos para análise de cruzamentos de linhagens não endogâmicas, a partir de três gerações e múltiplos marcadores ligados para análise de QTL. O modelo de “line-cross analysis” (F2) foi desenvolvido a partir de populações F2 com grupos de irmãos completos (“full-sibs”) e meio-irmãos (“half-sibs”). Em cada *locus*, este método localiza a origem dos alelos entre cada animal F2 e suas respectivas linhagens parentais, permitindo determinar o(s) provável (is) genótipo(s) do QTL (QQ, Qq, qQ e/ou qq) em cada posição. Em seguida são calculadas as probabilidades condicionais entre os genótipos dos *locus* e do provável QTL. Os efeitos aditivo (a) e de dominância (d) podem ser estimados para uma determinada posição por quadrados mínimos por meio de regressão entre os valores fenotípicos e as probabilidades condicionais. O método também permite o mapeamento de QTL simples ou múltiplos, a adição de efeitos fixos adicionais e covariáveis.

CARACTERÍSTICAS ESTUDADAS

Na literatura a maior parte dos estudos de mapeamento de QTLs identificaram *loci* associados a características de crescimento relacionadas com o peso corporal e composição de carcaça, e apenas poucos relatos foram focados em características ósseas (SCHREIWEIS et al., 2005), tamanho de partes do corpo das aves, tais como comprimento da tíbia (TSUDZUKI et al., 2007; e ZHOU et al., 2007) e comprimento do fêmur (GAO et al., 2010). O tecido ósseo é o segundo tecido a ter seu desenvolvimento priorizado pelo organismo, depois somente do sistema nervoso e à frente dos tecidos muscular e adiposo. Tal fato ilustra bem a importância de um correto e adequado desenvolvimento deste tecido.

Existem dois processos básicos de formação do tecido ósseo: a ossificação endocondral, em que um modelo de cartilagem serve de precursor do tecido ósseo que será formado; e a ossificação intramembranosa, se o osso for formado sem a intervenção de um precursor cartilaginoso. Nos ossos chatos, predomina o desenvolvimento por ossificação intramembranosa e os ossos curtos e longos se desenvolvem pelo processo endocondral (MACARI et al., 1994). O processo de

ossificação endocondral é responsável pelo crescimento longitudinal da maioria dos ossos do esqueleto (GERBER; FERRARA, 2000). Este processo ocorre através da atividade da linha epifisária. À medida que ocorre o crescimento, os condrócitos proliferam no lado epifisário da linha. Novos condrócitos cobrem os antigos que são então destruídos pelo processo de calcificação. Desse modo, a cartilagem é substituída por osso no lado diafisário da linha. Dessa maneira, a espessura da linha epifisária permanece constante, mas o osso, no lado diafisário, aumenta em comprimento.

A linha epifisária (Figura 1) é uma camada de cartilagem hialina na metáfise do osso em crescimento, consistindo em 4 zonas: 1 – Zona de cartilagem em repouso: condrócitos pequenos; fixam a linha epifisária ao osso da epífise. 2- Zona de cartilagem em proliferação: condrócitos maiores se dividem para substituir os que morrem no lado diafisário da linha. 3 – Zona de cartilagem hipertrófica: condrócitos ainda maiores se tornam maduros. 4 – Zona de cartilagem calcificada: zona final da linha; possui espessura pequena com algumas poucas células sendo a maioria condrócitos mortos devido à calcificação em torno deles. A cartilagem calcificada é posteriormente dissolvida por osteoclastos e a área é invadida por osteoblastos e capilares da diáfise. Os osteoblastos depositam matriz óssea substituindo a cartilagem calcificada (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Segundo TORTORA & GRABOWSKI (2002), o crescimento da diáfise, na sua circunferência, ocorre por crescimento aposicional. A camada de células osteogênicas do periósteo prolifera e se diferencia em osteoblastos, que começam a elaborar matriz óssea na superfície óssea subjacente ao periósteo. O periósteo é composto de tecido conjuntivo resistente que reveste a superfície do osso onde este não é recoberto por cartilagem articular. Contém células formadoras de osso que possibilitam que o osso cresça em diâmetro e espessura, porém não em comprimento. Este processo ocorre continuamente por todo o período de crescimento e desenvolvimento do osso, de modo que em um osso longo maduro o crescimento em diâmetro ocorre através de ossificação intramembranosa subperióstea. Deve ser lembrado que durante o crescimento e o desenvolvimento do osso, a reabsorção óssea é tão importante quanto à deposição óssea. A formação de osso do lado de fora do cilindro deve ser acompanhada pela atividade

osteoclástica interna, de modo que a cavidade da medula possa ser alargada à medida que o osso cresce.

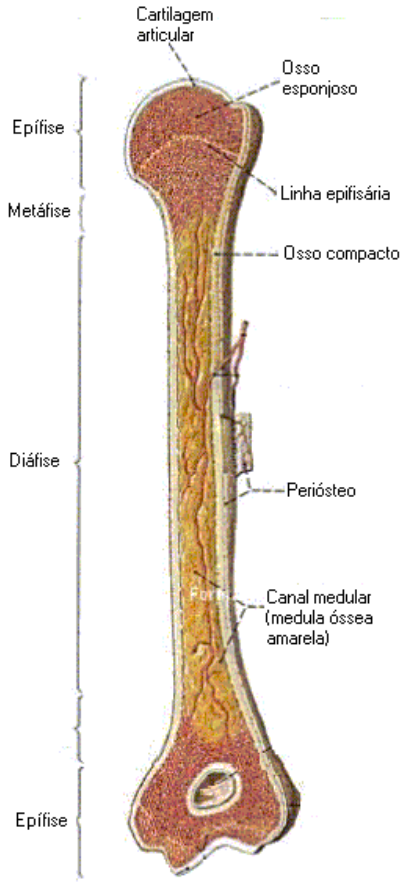


Figura 1. Estruturas encontradas em ossos longos.
(Fonte: AVANCINI DE BRITO & FAVARETTO, 1997).

SØRENSEN (1992) concluiu que a correlação genética entre taxa de crescimento e problemas de pernas em aves é positiva, assim, torna-se importante considerar em conjunto ganho de peso e características ósseas, no sentido de conhecer e propor novas estratégias para reduzir e até mesmo eliminar os problemas de pernas. Algumas hipóteses associadas às anormalidades ósseas são descritas por JULIAN (1998): o alto peso corporal dos frangos; imaturidade dos tecidos de sustentação, ou seja, a formação, remodelagem e alinhamento dos ossos, requer mais tempo que o rápido crescimento permite, consequentemente, têm-se como resultado problemas ósseos em frangos.

OBJETIVOS

Neste trabalho, os objetivos foram estimar parâmetros genéticos e mapear *loci* associados ao comprimento, largura e peso da tíbia e peso vivo aos 42 dias de idade (PV42) em aves oriundas de uma população F2 resultante do cruzamento de uma linhagem de corte e outra de postura, visando a melhor compreensão da arquitetura genética das características estudadas.

REFERÊNCIAS

ABEF - **Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos**. Relatório anual, 2012. Disponível em: <http://www.abef.com.br>. Acesso em 30 fev. 2013.

ALMEIDA PAZ, I. C. L. Problemas locomotores e técnicas de mensuração. Simpósio sobre bem estar de frangos e perus. **Anais...** *Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas*. São Paulo: Facta, p. 57-68, 2008.

AVANCINE DE BRITO, E.; FAVARETTO, J. A. Biologia: **Uma abordagem evolutiva e ecológica**, São Paulo: Editora Moderna, v. 2, 1997, 655p.

BRADSHAW, R. H.; KIRKDEN, R. D.; BROOM, D. M. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broilers in relation to welfare. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 13, p. 45-103, 2002.

BOTSTEIN, D.; RISCH, N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. **Nature Genetics**, v. 33, p. 228-237, 2003.

BURT, D. W. Applications of biotechonology in the poultry industry. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p. 5-13, 2002.

CHENG, H.H. Mapping the chicken genome. **Poultry Science**, v. 76, p. 1101-1107, 1997.

DAY, E. J. Future research needs focus on new, old problems. **Feedstuffs**, v. 23, p. 12‑15, 1990.

DEKKERS J. C. M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 22-32, 2002.

DOERGE, R. W. Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental population. **Nature Review Genetics**, v. 3, p. 43-52, 2002.

DOVERI, S.; LEE, D.; MAHESWARAN, M.; POWELL, W. Molecular markers: history, features and applications. In: **Principles and Practices of Plant Genomics**, v. 1, 2008, p. 23-68.

DURAN; C.; APPLEBY, N.; EDWARDS, D.; BATLEY, J. Molecular genetic markers: discovery, applications, data storage and visualization. **Current Bioinformatics**, v. 4, p. 16-27, 2009.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Harlow : Longman Group, 1996, 464 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA, 1998, 222 p.

GAO, Y.; DU, Z. Q.; FENG, C. G.; DENG, X. M.; LI, N.; DA, Y.; HU, X. X. Identification of quantitative trait loci for shank length and growth at different development stages in chicken. **Animal Genetics**, v. 41, p. 101–104, 2010.

GELDERMANN, H, Investigations on Inharitance of quantitative characters in animals by gene markers I, Methods, **Theoretical and Applied Genetics**, v. 46, p. 319-330, 1975.

GERBER, H. P.; FERRARA, N. Angiogenesis and bone growth. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 10, p. 223-238, 2000.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J. H.; SUZUKY, D. T.; LEWONTIN, R. L.; GELBERT, W. M. **Introdução a Genética**. 6 ed. Editora Guanabara Kooogan, 1998, p. 856.

HALEY, C. S.; KNOT, S. A. ELSEN, J. M. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, v. 136, p. 1195-1207, 1994.

JIANG, C.; ZENG, Z. B. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trat loci. **Genetics**, v. 140, n. 3, p. 1111-1127, 1995.

JULIAN, R. J. Rapid growth problems: ascites and skeletal deformities in broilers. **Poultry Science**, v. 77, p. 1773–1780, 1998.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KAO, C. H.; ZENG, Z. B.; TEASDALE, R. D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, v. 152, n.3, p. 1203-1216, 1999.

KNOWLES, T. G.; KESTIN, S. C.; HASLAM, S. M.; BROWN, S. N.; GREEN, L. E.; BUTTERWORTH, A.; POPE, S. J.; PFEIFFER, D.; NICOL, C. J. Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. **PLoS ONE**, v. 3, e1545, p. 1-5, 2008.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative trait using RFLP linkage maps. **Genetics**, v. 121, n.1, p. 185-199, 1989.

LE BIHAN-DUVAL, E.; NADAF, J.; BERRI, C.; PITEL, F.; GRAULET, B.; GODET, E.; LEROUX, S. Y.; DEMEURE, O.; LAGARRIGUE, S.; DUBY, C.; BEAUMONT, C. M.; DUCLOS, M. J. Detection of a cis eQTL controlling BMCO1 gene expression leads to the identification of a QTG for chicken breast meat color. **PLoS ONE**, v. 6, e14825, p. 1-10, 2011.

LIU, B. H. **Genomics: linkage, mapping and QTL analysis traits**. Boca Ratos, Florida, USA, CRC Press, 1998.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia aviaria aplicada a frangos de corte.** Jaboticabal, SP: FUNEP/UNESP, 1994, 296 p.

MONTALDO, H. H.; MEZA-HERRERA, C. A. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 1, p. 83-89, 1998.

MOLENTO, C. F. M.; BOND, G. B. Produção e bem-estar animal. **Revista Ciência Veterinária dos trópicos** – Suplemento nº1. Recife (PE): Facta. v. 11, p. 36-42, 2008.

NÃAS, I. A. Deficiências locomotoras em frangos de corte e bem-estar animal. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** – Suplemento técnico. Campinas: Facta, n. 2, p. 1-6, 2008.

ROTHSCHILD, M. F.; SOLLER, M. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. **Probe Newsletter for Agricultural Genomics**, v. 8, p. 13–20, 1997.

RUVINSKY, R.; GRAVES, J. M. **Mamalian genomics**. Wallingford, Oxfordshire, United Kingdom: CABI Publishing, 2005, 600 p.

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**, v. 37, p. 677–98, 2005.

SESTERHENN, R.; FERREIRA, T. Z.; KINDLEIN, L.; MORAES, H. L. S. Inpacto econômico de condenações *post mortem* de aves sob inspeção estadual no estado do rio grande do sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais eletrônicos...** Florianópolis: Conbravet, 2011. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/797.pdf. Acesso em 28 jun. 2012.

STUBER, C. W.; EDWARDS, M. D.; WENDEL, J. F. Molecular-marker- facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. Factors influencing yield and its component traits. **Crop Science**, v. 27, p. 639-648, 1987.

SØRENSEN, P. The genetics of leg disorders *in*: Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry. C. C. Whitehead, ed. Poultry Science Symposium 23. Carfax Publishing Co., Abingdon, U.K, p. 213–229, 1992.

TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Anual rewiews of genetics**, v. 27, p. 205-223, 1993.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Princípios de anatomia e fisiologia**. Guanabara koogan, 2002.

TOGASHI, K.; LIN, C. Y. Theoretical efficiency of multiple-trait quantitative trait loci assisted selection. **Journal of Animal Breeding and Genetic**, p. 1-11, 2009.

TSUDZUKI, M.; ONITSUKA, S.; AKIYAMA, R.; IWAMIZU, M.; GOTO, N.; NISHIBORI, M.; TAKAHASHI, H.; ISHIKAWA, A. Identification of quantitative trait loci affecting shank length, body weight and carcass weight from the Japanese cockfighting chicken breed, Oh- Shamo (Japanese Large Game). **Cytogenetic and Genome Research**, v. 117, p. 288–95, 2007.

VAN DER BEEK, S.; VAN ARENDONK, J.A.M.; GROEN, A.F. Power of two and three-generation QTL, mapping experiments in an outbred population containing full-sib or half-sib families. **Theoretical and Applied Genetics**, v.91, p.1115-1124, 1995.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, 1994.

ZHOU, H.; DEEB, N.; EVOCK-CLOVER, C. M.; MITCHELL, A. D.; ASHWELL, C. M.; LAMONT, S. J. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. III. Skeletal integrity. **Poultry Science**, v. 86, p. 255–66, 2007.

CAPÍTULO 2 – PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS DE CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DA TÍBIA E PESO VIVO AOS 42 DIAS DE IDADE EM UMA POPULAÇÃO ORIUNDA DE UM CRUZAMENTO RECÍPROCO DE AVES

RESUMO – Neste trabalho, o objetivo foi estimar parâmetros genéticos e fenotípicos de características ósseas da tíbia e peso vivo aos 42 dias de idade em aves nascidas de 17 incubações e resultantes de cruzamento recíproco de uma linhagem de corte e outra de postura, mantidas pela Embrapa Suínos e Aves, a fim de fornecer subsídios ao programa de melhoramento genético de aves, e gerar suporte para mapeamento de QTLs. As características estudadas foram: peso vivo aos 42 dias (PV42), comprimento, largura e peso da tíbia. Os componentes de variância foram estimados pelo método da Máxima Verossimilhança Restrita sob modelo animal multicaracterística. O modelo geral incluiu os efeitos aleatórios genético aditivo direto e residual e o efeito fixo da interação entre sexo (2 níveis) e incubação (17 níveis), totalizando 34 grupos sexo-incubação. Em outra análise, PV42 foi incluída no modelo de análise das características medidas na tíbia, como covariável. As estimativas de herdabilidade para comprimento, largura e peso da tíbia e PV42 foram, respectivamente, 0,23 ± 0,08, 0,34 ± 0,09, 0,24 ± 0,08 e 0,15 ± 0,05. As correlações genéticas foram positivas e variaram de 0,56 ± 0,17 (entre comprimento da tíbia e PV42) a 0,89 ± 0,06 (entre largura e peso da tíbia). Quando PV42 foi incluído no modelo como covariável as estimativas de correlação genética entre as características da tíbia diminuíram e variaram de 0,28 ± 0,23 (entre comprimento e largura da tíbia) a 0,80 ± 0,11 (entre largura e peso da tíbia). Concluiu-se que a seleção que favorecesse o incremento no PV42 aumentaria também as medidas de comprimento, largura e peso da tíbia. No entanto, a associação genética favorável entre PV42 e as características ósseas não é máxima o que justificaria, em parte, os problemas ósseos encontrados em linhagens de frangos de corte, cujo principal critério de seleção é o peso corporal.

Palavras-chave: Aves, correlações genéticas, herdabilidade, tíbia.

INTRODUÇÃO

A seleção genética para maximizar a eficiência produtiva de frangos de corte tem melhorado o desempenho dessas aves a tal nível que não se compara a nenhuma fonte de proteína animal. Essa seleção tem atingido sucessivos aumentos anuais na produção desde a década de 50, resultando em crescente ganho de peso corporal e eficiência alimentar (ZHANG et al., 2011). Contudo, associadas às melhorias obtidas pelo melhoramento tradicional surgiram características correlacionadas indesejáveis, como aumento na ocorrência de distúrbios fisiológicos tais como obesidade, ascite e problemas ósseos, além de redução na imunocompetência do animal (DUNNINGTON; SIEGEL, 1996). De acordo com WEBSTER (1994), problemas ósseos são questões de bem-estar importantes na indústria de frango de corte e estes problemas poderiam ser indiretamente causados pela seleção para crescimento rápido.

Problemas locomotores são um dos fatores de grande impacto na produção avícola de corte no mundo. Animais que apresentam claudicações resultam em grandes perdas na produção total, pois com as pernas debilitadas, o animal tende a diminuir sua movimentação e permanecer a maior parte do tempo deitado, ou então se apoiando na cama do aviário, isso pode ocasionar calos e hematomas na região do peito, e muitas vezes essas carcaças são condenadas. Se as aves apresentam dificuldade de locomoção, consequentemente diminuirão a ingestão de alimento e água, pois terão dificuldade para chegar ao comedouro e bebedouro, tornando-se mais leves e frágeis, e como consequência apresentarão piores resultados zootécnicos (AMADORI, 2010)

De acordo com BRADSHAW et al. (2002), a estrutura óssea destes animais não é suficientemente forte para suportar o aumento de peso, mais de 50 vezes o seu peso de nascimento em apenas 42 dias, segundo BRITO & CARRER (2006). SHIM et al. (2012) concluíram que a seleção para o crescimento nos últimos 50 anos resultou em aumento na taxa de crescimento das aves e nos valores absolutos do comprimento, peso, densidade, composição mineral, teor de cinzas, e resistência à ruptura da tíbia. No entanto, quando o fêmur e tíbia são considerados em termos de carga que necessitam suportar (expressa em valores absolutos de unidade de peso corporal), os autores concluíram que a qualidade do osso de uma população de

crescimento lento foi melhor do que a população de crescimento rápido. SCHMIDT et al. (1999) observaram ganhos genéticos significativos no comprimento, diâmetro médio e peso seco desengordurado da tíbia em linhagens paternas, porém estes autores relataram que tais aumentos não foram acompanhados por incremento significativo na resistência da tíbia.

Poucos artigos a respeito de parâmetros genéticos foram encontrados na literatura consultada para características ósseas medidas na tíbia. Porém, vários autores estudaram características ósseas ligadas à densidade e conteúdo mineral do osso medidas na tíbia e úmero (MAZZUCO; HESTER, 2005; SCHREIWEIS et al., 2005; ZHOU et al., 2007; SHIM et al., 2012), problemas ósseos associados ao rápido crescimento (LILBURN, 1994; THORP; WADDINGTON, 1997), osteoporose em galinhas de postura (BISHOP et al., 2000), morfologia e força de quebra medidas na tíbia (SHIM et al., 2012). Segundo ARAÚJO et al. (2012), é relevante estudar características inerentes às estruturas e propriedades dos ossos, pois assim haverá maiores possibilidades de obtenção de conhecimento que auxiliará nas soluções de desordens locomotoras.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi estimar parâmetros genéticos e fenotípicos de comprimento, largura e peso da tíbia e peso vivo aos 42 dias de idade em aves oriundas de uma população F2, a fim de fornecer subsídios aos programas de melhoramento genético de aves, e gerar suporte para mapeamento de QTLs.

MATERIAL E MÉTODOS

População experimental

O presente trabalho foi conduzido com dados colhidos no período de novembro de 1999 a julho de 2000 e dezembro de 2010 no Setor de Melhoramento Genético de Aves da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Suínos e Aves), localizada no Município de Concórdia, Santa Catarina (27º13′ latitude sul, 52º01′ longitude oeste e 564,7m de altitude).

A população utilizada foi formada a partir de duas linhagens de aves, uma de corte (TT) e outra de postura (CC). A primeira teve origem a partir de cruzamentos

das raças Cornish, Hampshire, e White Plymouth Rock, enquanto que a segunda teve origem na raça White Leghorn.

A linhagem TT é uma linha paterna de corte, formada em 1992. Sua seleção foi efetuada dentro de linha por seis gerações quando a população F2 foi criada. A seleção nesta linha tem como objetivo melhorar o peso corporal, conversão alimentar, rendimento de carcaça e partes, viabilidade, fertilidade e eclodibilidade, além de reduzir gordura abdominal e doenças metabólicas. A linhagem CC foi selecionada por oito gerações desde 1989, com objetivo de melhorar a produção de ovos, peso do ovo, conversão alimentar, viabilidade, maturidade sexual, fertilidade, eclodibilidade, qualidade do ovo e reduzir o peso corporal.

Foram realizados cruzamentos recíprocos das duas linhagens na proporção de um macho para cada fêmea. Foram utilizados sete machos e sete fêmeas de cada linhagem em cada cruzamento recíproco. As aves foram mantidas em gaiolas individuais com controle de pedigree e os ovos foram identificados para possibilitar o anelamento ao nascer dos pintos da primeira geração (F1). Estas aves foram criadas como matrizes de frangos de corte e alojadas em gaiolas individuais.

A geração F1 foi constituída por quatorze famílias: sete do cruzamento de macho CC com fêmea TT (CT) e sete do cruzamento de macho TT com fêmea CC (TC). A geração F2 foi formada selecionando-se um macho e três fêmeas ao acaso de diferentes famílias da população F1. Cada macho F1 fecundou (artificialmente) três fêmeas F1, evitando-se parentes próximos. Um total de 7 machos e 21 fêmeas F1 de cada cruzamento (TC e CT) geraram cerca de 100 pintos F2 por família de F1 em 17 incubações, com intervalos de 15 dias durante 9 meses, totalizando 2063 aves F2, metade de cada sexo e somente do cruzamento TCTC. Essa população F2 foi anelada, com controle de pedigree individual. Estas linhagens são oriundas de raças distintas e foram selecionadas com objetivos e critérios de seleção diferentes, assim, quando é realizado um cruzamento entre estas linhagens, obtêm-se uma população indicada para estudos de mapeamento clássico de QTLs, ou seja, por análise de ligação.

As aves F2 foram criadas como frangos de corte em boxes coletivos e tiveram água e ração (à base de milho e farelo de soja) à vontade. Os animais receberam, de 1 a 21 dias de idade, ração inicial com 21% de proteína bruta (PB), e 3.150 Kcal

de energia metabolizável (EM), de 22 a 35 dias de idade receberam ração de crescimento, com 20% de PB e 3.200Kcal de EM. A ração final, com 18,5% de PB e 3.200 Kcal de EM foi dada aos animais de 36 a 41 dias de idade.

Aos 35 dias de idade, as aves foram alojadas em gaiolas individuais para permitir a avaliação da conversão alimentar e mantidas desta forma até 41 dias de idade. Maiores detalhes sobre a população foram descritos por NONES et al. (2005).

Características estudadas

As características avaliadas no presente estudo foram:

(a) Peso corporal individual, em gramas, medido aos 42 dias de idade (PV42), após 6 horas de jejum e transporte para o abate no período de novembro de 1999 a julho de 2000.

(b) Comprimento da tíbia medido da extremidade proximal até a extremidade distal, sem fíbula e sem cartilagem, em mm.

(c) Largura da tíbia medida na porção central do osso, também sem fíbula, em mm.

O comprimento e largura da tíbia foram medidos com paquímetro manual (0,01 mm).

(d) Peso úmido da tíbia, em gramas, feito com balança analítica de precisão (0,0001g).

As tíbias foram armazenadas a -20° C, e as medidas foram feitas em dezembro de 2010.

Análises estatísticas

Análises pelo método dos quadrados mínimos, utilizando o procedimento GLM do programa computacional SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA), auxiliaram na definição dos efeitos fixos considerados nos modelos para as análises genéticas. Os animais foram divididos em grupos de acordo com o sexo e incubação (1 a 17). Foram verificados efeitos significativos ($P<0,0001$) de grupo sobre todas as características estudadas. O efeito da covariável PV42 também foi verificado

(P<0,01) sobre comprimento e largura da tíbia (efeito linear e quadrático) e peso da tíbia (efeito linear).

Os componentes de variância e parâmetros genéticos foram estimados pelo método da Máxima Verossimilhança Restrita sob modelo animal multicaracterística, utilizando o programa computacional WOMBAT (MEYER, 2007). O modelo geral proposto incluiu os efeitos aleatórios genético aditivo e residual e o efeito fixo de grupo (sexo-incubação) para todas as características.

O modelo misto utilizado para todas as características foi:

$$y = Xb + Za + e,$$

em que: y é o vetor da variável dependente; X é a matriz de incidência para os efeitos fixos associando os elementos de b e y; b é o vetor de efeitos fixos (grupo sexo-incubação); Z é a matriz incidência dos efeitos aditivos aleatórios, associando os elementos de a e y; a é o vetor de efeitos aleatórios para efeito genético aditivo direto e e é o vetor de efeitos residuais. Os valores iniciais requisitados pelo programa procederam das análises unicaracterística. Posteriormente, o PV42 foi considerado no modelo de análise das características ósseas da tíbia como covariável.

Foram assumidas as seguintes pressuposições: $Var(a) = A\sigma_a^2$ em que A é a matriz de parentesco e σ_a^2 é a variação atribuída aos efeitos genético aditivos e $Var(e) = I\sigma_e^2$, em que I é uma matriz identidade e σ_e^2 é a variação atribuída aos efeitos residuais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias gerais observadas e respectivos desvios-padrão e coeficientes de variação assim como os valores mínimos e máximos para as características estudadas estão apresentados na Tabela 1. As diferenças entre os valores de

mínimo e máximo eram previstas, pois em uma população F2 é esperada alta variabilidade fenotípica das características.

Tabela 1. Número de animais (N), média, desvio-padrão (DP), valor mínimo, valor máximo e coeficiente de variação (CV) do comprimento (COMP) e largura (LARG) da tíbia (em mm), peso da tíbia (PESO) e peso vivo aos 42 dias (PV42), em gramas.

Característica	N	Média	DP	Mínimo	Máximo	CV (%)
COMP	1414	89,83	4,55	52,38	105,87	5,06
LARG	1414	6,38	0,56	3,83	8,83	8,78
PESO	1413	5,93	1,23	1,33	12,35	20,75
PV42	2063	1005,71	142,35	402,00	1688,00	14,15

APPLEGATE & LILBURN (2002) encontraram médias de 1,968 g para peso aos 43 dias, 109,1 mm para comprimento, 9,44 mm para largura e 8,20 g para peso da tíbia, superiores às encontradas neste estudo provavelmente porque trabalharam com um cruzamento de Ross e Arbor Acres, ambas linhagens de frango de corte. HOCKING et al. (2009) observaram médias para comprimento e largura da tíbia de 74,2 e 5,06 mm, respectivamente, em uma linhagem sem seleção, denominada tradicional, 76,2 e 4,96 mm para uma linhagem de postura e 99,1 e 8,69 mm para uma linhagem de frangos de corte. Os mesmos autores encontraram média para peso da tíbia aos 42 dias de idade variando de 4,8 g na linhagem tradicional a 20,6 g na linhagem de frangos de corte. No presente estudo as médias para comprimento (89,83 ± 4,55), largura (6,38 ± 0,56) e peso da tíbia (5,93 ± 1,23) foram similares às encontrados por estes autores.

SHIM et al. (2012) verificaram médias para peso aos 42 dias de idade de 1400 g para uma população de crescimento lento (CL) e de 1900 g para uma população de crescimento rápido (CR), maiores que a média encontrada neste estudo que foi de 1005,71 g, provavelmente porque ambas as populações (CR e CL) são subpopulações de frangos de corte. Utilizando essas mesmas populações, estes

autores encontraram médias para comprimento da tíbia de 95,93 ± 4,85 mm para CL e 104,34 ± 4,45 mm para CR. Para peso da tíbia as médias foram 11,23 ± 1,81 g e 15,36 ± 2,28 g para CL e CR, respectivamente, superiores as encontradas no presente estudo. Os autores verificaram que a força de quebra, cinzas e densidade da tíbia foram maiores na população CL do que na população CR, portanto, as aves da população CR teriam maior risco de quebra de ossos do que as aves da população CL. PIERSON & HESTER (1982), SØRENSEN (1992), HESTER (1994) e LILBURN (1994) também concluíram que a força de quebra das pernas das aves modernas selecionadas para alto rendimento é menor quando comparada com aves que não passaram por um processo de seleção. Novos estudos serão necessários para se concluir se a resistência e qualidade óssea estão somente ligadas às características intrínsecas dos ossos, ou se, existem outras influências como, por exemplo, porcentagem de músculo inserido nos ossos (PAXTON et al., 2010), velocidade de crescimento das aves (SHIM et al., 2012), densidade e conteúdo mineral do osso (MAZZUCO; HESTER, 2005; SCHREIWEIS et al., 2005; ZHOU et al., 2007; SHIM et al., 2012), e densidade de estocagem das aves (BUIJS et al., 2012).

As estimativas de herdabilidade (Tabela 2) variaram de 0,15 ± 0,05 para PV42 a 0,32 ± 0,09 para largura da tíbia. De KONING et al. (2003) encontraram estimativa de herdabilidade para peso da tíbia de 0,07 ± 0,02 em uma população comercial de frangos de corte, inferior a encontrada neste estudo, que foi de 0,23 ± 0,07. Estes mesmos autores verificaram estimativas de herdabilidade de 0,11 ± 0,01 para peso vivo aos 40 dias de idade, próximo ao encontrado no presente estudo, que foi de 0,15 ± 0,05. Não foram encontradas na literatura estimativas de herdabilidade para comprimento e largura da tíbia.

Tabela 2 – Estimativas de herdabilidade (diagonal), correlação genética (acima da diagonal) e correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e seus respectivos erros-padrão entre comprimento (COMP), largura (LARG) e peso da tíbia (PESO) e peso vivo aos 42 dias (PV42).

Característica	COMP	LARG	PESO	PV42
COMP	0,23 ± 0,08	0,57 ± 0,17	0,79 ± 0,09	0,56 ± 0,17
LARG	0,46 ± 0,03	0,32 ± 0,09	0,89 ± 0,06	0,71 ± 0,13
PESO	0,70 ± 0,02	0,59 ± 0,02	0,23 ± 0,07	0,75 ± 0,11
PV42	0,67 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,15 ± 0,05

HOCKING et al. (2009) verificaram correlação fenotípica entre peso da tíbia e peso vivo em diferentes idade (6, 8 e 10 semanas) com diferentes linhagens (frangos de corte, postura e uma linhagem sem seleção) de 0,97, superior a encontrada no presente estudo que foi de 0,65 ± 0,02 (Tabela 2). Os mesmos autores obtiveram estimativas de correlações genéticas altas, que foram de 0,93 para comprimento e largura da tíbia, 0,97 para comprimento e peso da tíbia e 0,98 para peso e largura da tíbia. No presente estudo, apesar das estimativas terem sido de menor magnitude comparadas às descritas acima, a maior correlação genética também foi entre peso e largura da tíbia (0,89 ± 0,06), enquanto que a menor foi entre comprimento e largura da tíbia (0,57 ± 0,17). Altas estimativas de correlação genética sugerem que as características são controladas pelos mesmos genes (genes pleiotrópicos) ou que estes genes estão em desequilíbrio de ligação (TARKA et al., 2010) e segregam juntos.

Concluiu-se no presente estudo que aves mais pesadas terão também tíbias com maiores comprimento, largura e peso, porém SCHMIDT et al. (1999) concluíram que as alterações genéticas no ganho de peso em linhagens puras de frangos de corte não são acompanhadas de mudanças correlacionadas na resistência dos ossos. Em outro estudo, segundo WILLIAMS et al. (2004), a restrição alimentar em uma linhagem comercial de frangos de corte selecionados para rápido crescimento, melhorou a mineralização e porosidade da tíbia, o que sugere fortemente que a taxa de crescimento, e não o genótipo, foi a principal responsável para ossos com qualidade inferior.

As correlações ambientais (Tabela 3) assim como as correlações genéticas e fenotípicas também foram positivas, ou seja, as características respondem ao ambiente em conjunto com os desvios genéticos não aditivos, no mesmo sentido verificado para as correlações genéticas.

Tabelas 3 – Estimativas de correlação ambiental e seus respectivos erros-padrão entre comprimento (COMP), largura (LARG) e peso da tíbia (PESO) e peso vivo aos 42 dias (PV42).

Característica	LARG	PESO	PV42
COMP	0,43 ± 0,04	0,67 ± 0,02	0,70 ± 0,02
LARG		0,48 ± 0,04	0,52 ± 0,03
PESO			0,63 ± 0,02

Ao ajustar as diferentes características ósseas para a covariável PV42 houve diminuição na magnitude das correlações genéticas e fenotípicas (Tabela 4), porém a maior correlação genética ainda foi entre largura e peso da tíbia (0,80 ± 0,10) e a menor entre comprimento e largura da tíbia (0,28 ± 0,23).

As estimativas de herdabilidade também diminuíram quando PV42 foi considerado como covariável no modelo de análise, exceto para comprimento da tíbia (Tabela 4). Pode se inferir que ao ajustar o comprimento da tíbia em função do PV42, maior foi a proporção da variância fenotípica atribuída aos efeitos aditivos dos genes.

Tabela 4 – Estimativas de herdabilidade (diagonal), correlação genética (acima da diagonal) e correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e seus respectivos erros-padrão para comprimento (COMP), largura (LARG) e peso da tíbia (PESO), quando peso vivo aos 42 dias (PV42) foi usado como covariável.

Característica	COMP	LARG	PESO
COMP	0,29 ± 0,09	0,28 ± 0,23	0,64 ± 0,15
LARG	0,13 ± 0,04	0,30 ± 0,09	0,80 ± 0,10
PESO	0,47 ± 0,03	0,37 ± 0,03	0,21 ± 0,07

CONCLUSÃO

A seleção que favorecesse o incremento no PV42 aumentaria também as medidas de comprimento, largura e peso da tíbia. No entanto, a associação genética favorável entre PV42 e as características ósseas não é máxima o que justificaria, em parte, os problemas ósseos encontrados em linhagens de frangos de corte, cujo principal critério de seleção é o peso corporal. Características tais como porcentagem de músculo inserido nos ossos, densidade e conteúdo mineral do osso também poderiam ser consideradas na avaliação da qualidade e resistência óssea das aves.

REFERÊNCIAS

AMADORI, M. S.; ALMEIDA PAZ, I. C. L.; GARCIA, R. G.; COSTA PINTO, B.P.; SANTOS, L. S.; SIMM, S. Problemas locomotores em frangos de corte. VII ENCONTRO DE ZOOTECNIA, 2010, Dracena. Anais..., São Paulo: VII encontro de zootecnia, 2010.

APPLEGATE, T. J.; LILBURN, M. S. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. **Poultry Science**, v. 81, p. 1289–1294, 2002.

ARAÚJO, G. M.; VIEITES, F. M.; SOUZA, C. S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. **Archivos de zootecnia**, v. 61, p. 79-89, 2012.

BISHOP, S. C.; FLEMING, R. H.; MCCORMACK, H. A.; FLOCK, D. K.; WHITEHEAD, C. C. Inheritance of bone characteristics affecting osteoporosis in laying hens. **British Poultry Science**, v. 41, p. 33–40, 2000.

BUIJS, S.; VAN POUCKE, E.; VAN DONGEN, S.; LENS, L.; BAERT, J.; TUYTTENS, F. A. M. The influence of stocking density on broiler chicken bone quality and fluctuating asymmetry. **Poultry Science**, v. 91, p. 1759-1767, 2012.

BRADSHAW, R. H.; KIRKDEN, R. D.; BROOM, D. M. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broilers in relation to welfare. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 13, p. 45–103, 2002.

BRITO, A. B.; CARRER, S. **Problemas de pernas em frangos de corte**. Artigo Técnico, 2006. Disponível em: <http://www.polinutri.com.br/upload/artigo/177.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2013.

DE KONING, D. J.; WINDSOR, D.; HOCKING, P. M.; BURT, D. W.; LAW, A.; HALEY, C. S.; MORRIS, A.; VINCENT, J.; GRIFFIN, H. Quantitative trait locus detection in commercial broiler lines using candidate regions. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 1158–1165, 2003.

DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL P. B. Long-term divergent selection for eight-week body weight in white Plymouth rock chickens. **Poultry Science**, v. 75, p. 1168–1179, 1996.

HESTER, P. Y. The role of environment and management on leg abnormalities in meat-type fowl. **Poultry. Science**, v. 73, p. 904–915, 1994.

HOCKING, P. M.; SANDERCOCK, D. A.; WILSON, S.; FLEMING, R. H. Quantifying genetic (co)variation and effects of genetic selection on tibial bone morphology and quality in 37 lines of broiler, layer and traditional chickens. **British Poultry Science**, v. 50, p. 443-450, 2009.

LILBURN, M. S. Skeletal growth of commercial poultry species. **Poultry Science**, v. 73, p. 897–903, 1994.

MAZZUCO, H.; HESTER, P.Y. The Effect of an Induced Molt and a Second Cycle of Lay on Skeletal Integrity of White Leghorns. **Poultry Science**, v. 84, p. 771–781, 2005.

MEYER, K. WOMBAT – A tool for mixed model analyses in quantitative genetics by REML. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 8, p. 815-821, 2007.

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**, v. 37, p. 95–100, 2005.

PAXTON, H.; ANTHONY, N. B.; CORR, S. A.; HUTCHINSON, J.R. The effects of selective breeding on the architectural properties of the pelvic limb in broiler chickens: a comparative study across modern and ancestral populations. **Journal of Anatomy**, v. 217, p. 153–166, 2010.

PIERSON, F. W.; HESTER, P. Y. Factors influencing leg abnormalities in poultry: A review. **World's Poultry Science Journal**, v. 38, p. 5–17, 1982.

SCHMIDT, G. S.; MUNARI, D. P.; FIGUEIREDO, E. A. P.; ZANOTTO, D. L.; LEDUR, M. C. Mudanças genéticas em linhas puras de frango de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 623-627, 1999.

SHIM, M. Y.; KARNUAH, A. B.; MITCHELL, A. D.; ANTHONY, N. B.; PESTI, G. M.; AGGREY, S. E. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. **Poultry Science**, v. 91, p. 1790–1795, 2012.

SØRENSEN, P. The genetics of leg disorders. In: **Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry**. C. C. White-head. Oxfordshire, UK, 1992. p. 213–229.

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**, v. 37, p. 677–698, 2005.

TARKA, M.; AKESSON, M.; BERALDI, D.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, J.; HASSELQUIST, D.; BENSCH, S.; HANSSON, B. A strong quantitative trait locus for wing length on chromosome 2 in a wild population of great reed warblers. **Proceedings of the Royal Society B**. v. 277, p. 2361–2369, 2010.

THORP, B. H.; WADDINGTON, D. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 62, p. 67–73, 1997.

ZHANG, H.; LIU, S. H.; ZHANG, Q.; ZHANG, Y. D.; WANG, S. Z.; WANG, Q. G.; WANG, Y. X.; TANG, Z. Q.; LI, H. Fine-mapping of quantitative trait loci for body weight and bone traits and positional cloning of theRB1gene in chicken. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 128, p. 366–375, 2011.

ZHOU, H.; DEEB, N.; EVOCK-CLOVER, C. M.; MITCHELL, A. D.; ASHWELL, C. M.; LAMONT, S. J. Genome-Wide Linkage Analysis to Identify Chromosomal Regions Affecting Phenotypic Traits in the Chicken. III. Skeletal Integrity. **Poultry Science**, v. 86, p. 255–266, 2007.

WEBSTER J. Animal welfare: A cool eye towards Eden: A constructive approach to the problem of man's domination over the animals, **Blackwell Scientific**, Oxford, 1994.

WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; MURRAY, D. H.; FARQUHARSON, C. Bone strength during growth: Influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. **Calcified Tissue International**, v. 74, p. 236–245, 2004.

CAPÍTULO 3 – MAPEAMENTO DE *LOCI* ASSOCIADOS ÀS CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS MEDIDAS NAS TÍBIAS DE AVES DE UMA POPULAÇÃO F2

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi mapear QTLs (*loci* de características quantitativas) para características ósseas medidas na tíbia e peso vivo aos 42 dias (PV42) de aves oriundas de uma população F2 resultante de cruzamentos recíprocos de uma linhagem de corte e outra de postura, mantidas pela Embrapa Suínos e Aves, visando gerar suporte para melhor compreensão da arquitetura genética destas características. Uma varredura no genoma para mapear os QTLs foi feita utilizando 127 marcadores microssatélites, os quais cobriram 2630,30 cM dos cromossomos 1 ao 15, 18, 19, 23, 24, e 26 ao 28. O modelo de análise para o mapeamento incluiu o efeito fixo de incubação (17 níveis), sexo (2 níveis) e família de mães, que variou nos diferentes cromossomos. Em uma primeira análise foram encontrados quatorze regiões de QTL nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 6, 10, 13 e 24. No cromossomo 1, entre os marcadores LEI0079 e MCW145, foram mapeados regiões de QTL para largura e peso da tíbia e PV42. Entre estes dois marcadores está localizado o gene *dachshund homolog 1* (*DACH1*), que afeta a formação da crista ectodérmica apical, responsável pelo desenvolvimento dos membros inferiores e superiores. O modelo com busca simultânea para mais de um QTL mapeou mais três regiões de QTL no cromossomo 1, não identificados na análise anterior, para largura e peso da tíbia e PV42. Em uma segunda análise, além dos efeitos fixos utilizados na primeira, PV42 foi incluído no modelo como covariável e foram encontradas duas regiões de QTL para peso da tíbia nos cromossomos 2 e 4, e uma região de QTL para largura da tíbia no cromossomo 3 indicando que as informações provenientes destas regiões de QTL poderão facilitar a busca por genes candidatos em estudos futuros. No cromossomo 2 a região de QTL foi mapeada entre os marcadores ADL0373 e LEI0096. Entre estes marcadores foi encontrado o gene *melanocortin-4 receptor* (*MC4R*), que está associado com peso vivo, peso da carcaça e peso do músculo da perna em frangos.

Palavras-chave: genoma, GridQTL, QTL, tíbia.

INTRODUÇÃO

Por mais de meio século, os programas de melhoramento genético de frangos de corte se concentraram principalmente em melhorias de duas importantes características de produção: taxa de crescimento e eficiência alimentar (LE BIHAN DUVAL et al., 2011). A taxa de crescimento nos frangos de corte teve aumento de 300% nos últimos 60 anos segundo KNOWLES et al. (2008), entretanto a estrutura óssea não é forte o suficiente para suportar o peso desses animais (BRADSHAW et al., 2002). De acordo com DEKKERS & HOSPITAL (2002), a seleção para características de crescimento foi feita com base nos fenótipos, sem conhecimento do número de genes que afetam a característica, do efeito de cada gene ou seus locais no genoma.

A seleção genética quantitativa possui limitações: o fenótipo pode ser um preditor imperfeito do valor genético de um indivíduo e pode não ser observável em ambos os sexos. A situação ideal para a seleção genética quantitativa é que a característica tenha alta herdabilidade e que o fenótipo possa ser observado em todos os indivíduos antes da idade reprodutiva (DEKKERS; HOSPITAL, 2002). Diante disto, a seleção assistida por marcadores (MAS) passou a representar uma alternativa em programas de melhoramento genético.

Nos últimos 15 anos, estudos de mapeamento de QTLs (*loci* de características quantitativas) no genoma da galinha identificaram regiões cromossômicas que contribuem para caracterizar a variação genética em nível do DNA, o que permitiu o mapeamento de genes que afetam características quantitativas de interesse econômico por meio de marcadores moleculares. O mapeamento de *loci* de características quantitativas (QTLs) é uma das principais abordagens para detecção da variabilidade genética de características economicamente importantes em nível molecular (ZHANG et al., 2011). O objetivo desses estudos é, geralmente, identificar marcadores genéticos que estão perto do QTL (desequilíbrio de ligação - LD) ou o gene que é subjacente ao QTL (marcador direto) e usar essas informações nos programas de seleção assistida por marcadores (DEKKERS, 2004).

Segundo GAO et al. (2010), a maior parte dos QTLs de características de crescimento foram associados com o peso corporal e composição de carcaça, e

apenas alguns poucos relatos focaram em características ósseas (SCHREIWEIS et al., 2005), tais como o comprimento da tíbia (TSUDZUKI et al., 2007; ZHOU et al., 2007) ou comprimento do fêmur (GAO et al., 2010).

No presente estudo o objetivo foi mapear QTLs para características ósseas medidas na tíbia e peso vivo aos 42 dias de idade em uma população F2 desenvolvida pela EMBRAPA Suínos e Aves, oriunda de cruzamento recíproco de uma linhagem de corte e outra de postura.

MATERIAL E MÉTODOS

População experimental

Foi utilizada uma população F2 desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves, obtida a partir do cruzamento de duas linhagens distintas. A linhagem de corte (TT) teve origem a partir do cruzamento das raças Cornish, Hampshire e White Plymouth Rock selecionadas para melhorar o peso corporal, conversão alimentar, consumo de ração, rendimento de carcaça e partes, viabilidade, fertilidade e eclodibilidade; e reduzir a gordura abdominal e doenças metabólicas. A linhagem de postura (CC) foi originada da raça White Leghorn, para melhorar a produção de ovos, peso e qualidade do ovo, conversão alimentar, viabilidade, maturidade sexual, fertilidade, eclodibilidade e redução do peso corporal.

Foram realizados cruzamentos recíprocos entre sete machos TT com sete fêmeas CC para formação da população F1. A geração F1 foi constituída por sete famílias TC (machos de corte e fêmeas de postura) e sete famílias CT (machos de postura e fêmeas de corte), totalizando aproximadamente cinquenta animais. Para a formação da população F2, cada macho fertilizou três fêmeas de diferentes famílias da população F1, por inseminação artificial, evitando-se parentes próximos. A geração TCTC totalizou cerca de 100 irmãos completos F2, por fêmea, produzidos em 17 incubações, com intervalos de 15 dias durante quase oito meses (NONES et al., 2005).

A população foi anelada com controle de pedigree individual, e avaliada para várias características de desempenho e carcaça. As aves foram criadas como frangos de corte recebendo ração inicial com 21% de proteína bruta (PB) e 3.150

Kcal de energia metabolizável (EM) do 1° ao 21° dia de idade à base de milho e farelo de soja. Do 22° ao 35° dia de idade receberam ração de crescimento, com 20% de PB e 3.200 Kcal EM. A ração final foi dada aos animais do 36° ao 41° dia de idade e continha 18,5% PB e 3.200 Kcal de EM. As aves foram mantidas em boxes coletivos até os 35 dias de idade, quando cada ave foi pesada e alojada em gaiola individual até 41 dias.

Descrição das características

O peso vivo das aves (em gramas) foi medido aos 42 dias de idade (PV42), após 6 horas de jejum e transporte para o abate no período de novembro de 1999 a julho de 2000. As tíbias foram armazenadas à -20°C e as características da tíbia foram medidas em dezembro de 2010. Estas foram descongeladas à temperatura ambiente e toda cartilagem, músculo e fíbula foram retirados da tíbia. O comprimento foi medido entre as extremidades distal e proximal do osso, e a largura foi mensurada na região central do mesmo. Ambas as características foram medidas com paquímetro manual (0,01 mm). Os pesos desses ossos foram feitos com balança de precisão analítica (0,0001 g).

Genotipagem e mapa de ligação

O DNA foi extraído a partir de 5 µl de sangue utilizando 500 µl do reagente DNAzol® (Life Technologies). A PCR foi realizada para cada marcador microssatélite em 25 µl de reações, tal como descrito por NONES et al. (2006). A genotipagem foi realizada no sequenciador automático MegaBACE (GE Health Care) e análise de fragmentos de tamanho realizada com software PROFILER GENÉTICA (GE Healthcare). Um total de 127 marcadores genéticos foram genotipados. Detalhes sobre esses marcadores e mapas foram descritos anteriormente por NONES et al. (2005) e CAMPOS et al. (2009).

Segundo LANDER & BOTSTEIN (1989) e DARVASI & SOLLER (1992), a genotipagem seletiva é uma estratégia que pode reduzir significativamente o número de indivíduos genotipados para um dado poder de detecção de QTLs a partir de um grande número de registros de desempenho. A seleção dos animais que foram

genotipados foi realizada dentro de família para evitar que alguma família não fosse representada, e assim o mapeamento de QTL fosse prejudicado.

Mapeamento de QTL

Mapeamento por intervalo foi utilizado para detecção de QTL. As análises foram realizadas com o software GRIDQTL (<http://www.gridqtl.org.uk/index.htm>, SEATON et al., 2006). No presente estudo, foi utilizada uma saída específica do programa denominada “BCF2portlets”, que analisa populações oriundas de retrocruzamento e população F2. Os efeitos fixos de família de mães, sexo e incubação foram incluídos no modelo para todas as características. Estatísticas F foram geradas em todos os intervalos a cada 1 cM ao longo de cada cromossomo da galinha (GGA) para identificar a posição mais provável do QTL, a partir de análise de regressão pelo método dos quadrados mínimos. Quando foi evidenciada a presença de mais de um pico no gráfico gerado pelo programa, que sugerisse existir mais de um QTL para determinada característica em determinado cromossomo, novas análises foram realizadas para confirmar se esses picos representavam a presença de mais de um QTL, ou não. Isto foi feito adicionando o QTL inicial como efeito pré-existente, de modo que a variância causada pelo mesmo é removida, revelando ou não outro (s) QTL (s) não detectado (s) anteriormente (LEACH et al., 2010).

Inicialmente foram testados o efeito aditivo, de dominância e epistasia (modelo completo) para todas as características em todo genoma da galinha para o mapeamento de QTL. Para alguns QTLs mapeados, os desvios de dominância e epistáticos foram pouco confiáveis (erros-padrão altos), portanto, optou-se por considerar no modelo somente o efeito aditivo para estes QTLs. Os efeitos de dominância e epistasia só foram considerados no modelo quando as estimativas foram confiáveis. A determinação dos limiares de significância cromossômica ($\alpha = 0,05$ e $\alpha = 0,01$) foi feita com o auxílio do programa GridQTL, com testes de 10.000 permutações (CHURCHILL; DOERGE, 1994). A análise de QTL para as características medidas nos ossos também foi realizada utilizando PV42 como covariável.

A hipótese empregada para a localização de um QTL foi de que os marcadores moleculares estariam próximos e, portanto, suficientemente ligados ao

QTL de forma que, na maioria das progênies de um individuo heterozigoto para o marcador, foi possível associar as variações na característica quantitativa de interesse com o genótipo do marcador, que foi indicativo do genótipo do QTL. No presente caso, a hipótese de nulidade (H_0) testada foi a de não existência de QTL associado ao marcador, enquanto que a hipótese alternativa (H_1) foi a de que o marcador está em desequilíbrio de ligação com o QTL e desta forma segregam juntos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Grande parte dos QTLs encontrados neste estudo (Tabela 1) foram mapeados no GGA 1, o maior cromossomo do genoma da galinha que corresponde a 195 Mbp (16,25% do genoma). Como esperado, foram mapeados regiões de QTL para as diferentes características estudadas em um mesmo intervalo no cromossomo, já que estas apresentaram alta correlação genética entre si (capítulo 2). Exemplo disto foram os QTLs mapeados para largura e peso da tíbia e PV42 (Figura 1) encontrados entre os mesmos marcadores flanqueadores (LEI0079-MCW145). ZHANG et al. (2010) realizaram um estudo com características ósseas e encontraram doze QTLs entre os marcadores LEI0079 e ROS0025.

Duas regiões de QTL foram mapeados no GGA 1 para cada uma dessas características (largura e peso da tíbia e PV42). Com esses resultados ficou claro que, quando se seleciona aves mais pesadas, indiretamente estar-se-á selecionando aves com largura e peso da tíbia maiores. Entre estes dois marcadores (LEI0079-MCW145) está localizado o gene dachshund homolog 1 (DACH1 - *map viewer* – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Para este gene foram anotados 698 SNPs, mas nenhum validado. Este gene foi localizado na sequência de STS (do inglês *Sequence Tagged Site*) que são sequências curtas de DNA (200 a 500 pb) que ocorrem uma única vez no genoma e cuja posição exata e ordem de bases, uma vez conhecidas, identificam um local no genoma (OLSON et al., 1989).

HORNER et al. (2002) concluíram que o gene DACH1 é um gene alvo de sinalização do fator de crescimento do fibroblasto durante o desenvolvimento do esqueleto do membro, e pode funcionar como intermediário na via metabólica que regula a proliferação celular ou diferenciação do fator de crescimento do fibroblasto.

De acordo com KIDA et al. (2004), o referido gene DACH1 afeta a formação da crista ectodérmica apical, responsável pelo desenvolvimento dos membros inferiores e superiores em embriões.

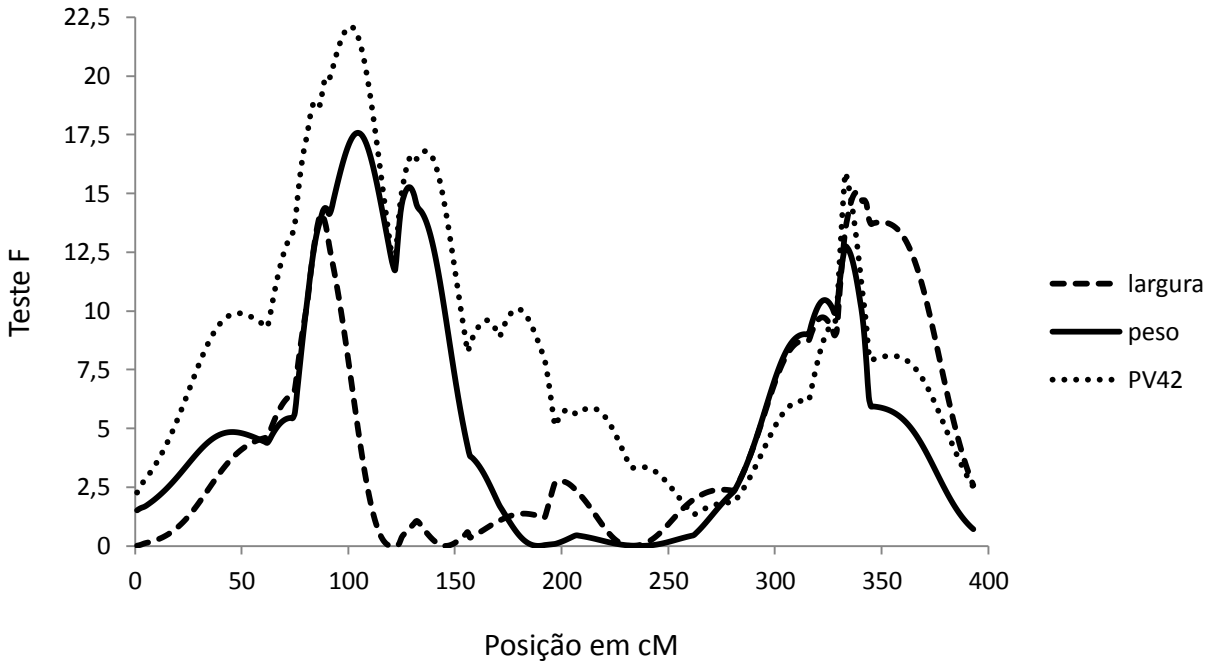


Figura 1. Estimativas da estatística F de acordo com a posição em cM para as características largura (Teste F = 7,21 *) e peso (Teste F = 12,43 **) da tíbia e peso vivo aos 42 dias de idade (PV42) (Teste F = 14,86) no GGA 1. * P< 0,05; ** P< 0,01.

No GGA 1 foram mapeadas duas regiões de QTL para PV42, a 100 cM (LEI146 – LEI174) e a 332 cM (LEI0079 – MVW145) em nível cromossômico (Tabela 1). NONES et al. (2006), utilizando esta mesma população encontraram três QTLs para PV42 no cromossomo 1, a 81 cM (P<0,05), 138 cM (sugestivo) e 332 cM (sugestivo) em nível genômico. Esta pequena variação pode ser em decorrência do mapeamento não ter sido corrigido para o genoma. Além disso, no presente estudo não foram consideradas regiões sugestivas de QTL. Outros autores também encontraram QTLs para peso vivo aos 42 dias de idade próximos ao marcador MCW145 (SEWALEM et al., 2002; CARLBORG et al., 2003; ATZMON et al., 2006; ATZMON et al., 2007). LIU et al. (2007) mapearam QTLs para peso vivo em

diferentes idades (8, 9, 11 e 12 semanas) no cromossomo 1 entre os marcadores LEI0079 e ADL328. SEWALEM et al. (2002) e CARLBORG et al. (2004) encontraram QTL para PV42 próximo ao marcador LEI146.

No presente estudo, a maior correlação genética encontrada foi entre peso da tíbia e PV42 (0,746 ± 0,119; Capítulo 2). Para estas características, apenas o efeito aditivo foi incluído no modelo de mapeamento de QTL, sendo assim, a existência de quatro regiões de QTL (duas para cada característica) encontradas nos mesmos intervalos (LEI0079 – MCW145 e LEI146 – LEI174), parece coerente. SHARMAN et al. (2007) também mapearam QTL para peso da tíbia flanqueado pelo marcador LEI146.

Apenas uma região de QTL mapeada no cromossomo 1 (comprimento da tíbia) apresentou efeitos aditivo e de dominância, evidenciando que para esta característica existe interação entre alelos do mesmo *locus,* ou seja, para esta característica o valor genotípico não pode ser explicado linearmente em função do número de alelos. Nenhum outro QTL foi mapeado entre estes marcadores (ADL150-ADL319) (Tabela 1). A posição em pares de base (pb) dos marcadores flanqueadores, para cada QTL (cM), em cada cromossomo para as características estudadas foram descritos no Apêndice A.

Tabela 1. Posição dos QTLs em CentiMorgan (cM) do comprimento (COMP; n=1414), largura (LARG; n=1414) e peso (PESO; n=1413) da tíbia e peso vivo aos 42 dias (PV42; n=2063), em cada cromossomo (GGA), teste F, marcadores flanqueadores e posição dos marcadores em cM.

GGA	Característica	Posição QTL (cM)	Teste F	Marcadores Flanqueadores	Posição dos Marcadores(cM)
1	COMP	126	8,58**	ADL150-ADL319	124,2-131,3
1	LARG	86	14,14**	MCW297-LEI146	85,8–90,3
1	LARG	337	7,51*	LEI0079-MCW145	331,9-340,3
1	PESO	105	8,99**	LEI146-LEI174	90,3-119,8
1	PESO	332	12,43**	LEI0079-MCW145	331,9-340,3
1	PV42	100	22,10**	LEI146-LEI174	90,3 – 119,8
1	PV42	332	14,86**	LEI0079-MCW145	331,9-340,3
2	PV42	205	24,32**	MCW0291-LEI0147	187,0-219,0
3	PV42	111	11,96**	LEI0161-LEI0029	108,0-111,4
4	COMP	107	7,33*	ROS0024-MCW240	81,3-116,0
4	LARG	143	9,05*	MCW0240-LEI0063	116,0-152,0
4	PESO	138	21,20**	MCW0240-LEI0063	116,0-152,0
4	PV42	142	23,66**	MCW0240-LEI0063	116,0-152,0
6	COMP	33	5,08*	ADL377-ADL142	30,9-33,7
10	PV42	138	5,14*	ADL102-MCW003	111,8-138,9
13	PESO	8	4,89*	ADL147-MCW213	0,0–8,4
24	LARG	116	5,09*	MCW301-ROS302	100,0-116,2

* significativo a P<0,05 no cromossomo, ** significativo a P<0,01 no cromossomo.

No GGA 2 (149 Mbp) apenas uma região de QTL foi encontrada para PV42. Como o intervalo entre os marcadores flanqueadores é grande (aproximadamente 22,4 Mbp), vários genes foram encontrados (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), tais como, o gene SLC4A1(ID: 396532), que participa de duas funções amplamente divergentes de células eritróides, principal determinante da arquitetura do citoesqueleto (KIM, et al., 1988). ZHOU et al. (2006) também mapearam QTL para PV42 flanqueado pelo marcador LEI0147. No GGA 3 (110 Mbp) foi mapeada apenas uma região de QTL para PV42.

Regiões de QTL para as quatro características estudadas foram mapeados no GGA 4 (90 Mbp). Três deles foram mapeados entre o mesmo intervalo (116,0-152,0 cM) e, consequentemente, entre os mesmos marcadores (MCW0240-LEI0063), para largura e peso da tíbia e PV42 (Tabela 1). BARON et al. (2003) utilizaram esta mesma população e também mapearam um QTL para PV42 flanqueado pelos mesmos marcadores citados. Apesar da região de QTL mapeada para comprimento da tíbia não estar dentro do mesmo intervalo e flanqueado pelos mesmos marcadores, este QTL está localizado muito próximo aos demais, entre 81,3 e 116,0 cM (ROS0024 – MCW240). Como dito anteriormente, as regiões de QTL para PV42 e características ósseas foram mapeadas na mesma região (Figura 2), sugerindo que o mesmo gene ou um grupo de genes ligados está envolvido na variação fenotípica destas características, o que também foi verificado por NONES et al. (2006), quando mapearam QTLs para características de carcaça e PV42 nesta mesma população.

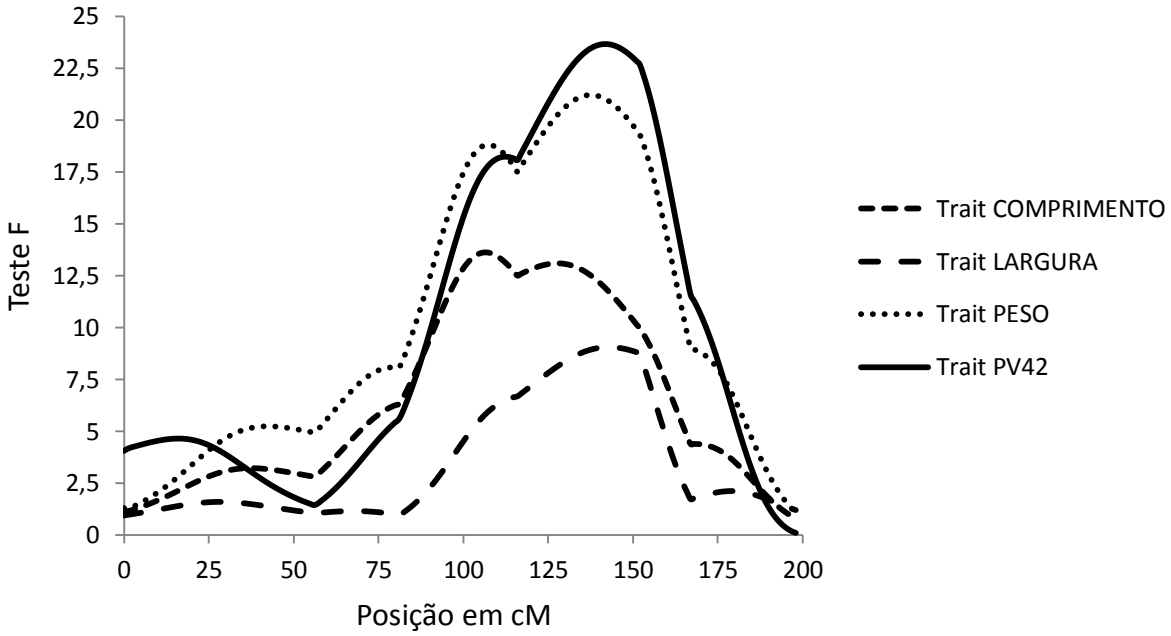


Figura 2. Estimativas da estatística F de acordo com a posição em cM para as características comprimento (Teste F = 7,33 *), largura (Teste F = 9,05 *) e peso da tíbia (Teste F = 21,20 **) e peso vivo aos 42 dias de idade (PV42) (Teste F = 23,66 *) no GGA4. * P< 0,05; ** P< 0,01.

Apenas uma região de QTL foi mapeada nos cromossomos 6 (35 Mbp), 10 (19,9 Mbp), 13 (17,8 Mbp) e 24 (6,3 Mpb), para comprimento da tíbia, PV42, peso e largura da tíbia, respectivamente (Tabela 1). As regiões de QTL mapeadas para comprimento da tíbia (GGA 1), peso da tíbia (GGA 13) e largura da tíbia (GGA 24) apresentaram efeito aditivo e de dominância. A região de QTL mapeada no GGA 6 para comprimento da tíbia apresentou apenas efeito de dominância. A única região de QTL que apresentou efeito aditivo e de epistasia foi aquela mapeada para PV42 no GGA 3 (100 Mbp). O efeito aditivo representa o valor genotípico que pode ser predito linearmente por meio do número de alelos que definem o genótipo. O efeito de dominância representa o valor genotípico que não pode ser explicado linearmente em função do número de alelos, isto é, tal efeito é proporcionado pelas interações intra alélicas (entre alelos do mesmo *locus*). A epistasia é a capacidade que um gene de determinado *locus* tem de atuar sobre os genes de outro *locus* diferente. Esta ocorre entre diferentes *loci* em componentes de efeitos aditivos e não aditivos que compõem a variação genética de um caráter.

Para seleção específica é importante encontrar regiões de QTL com efeito direto sobre as características de interesse e não indireto por meio do peso vivo total. Como pode ser constatado, sem o ajuste da covariável PV42 encontraram-se muitas regiões de QTL para estas características próximas às regiões associadas ao PV42, mas estas regiões de QTL não foram todas observadas após o ajuste da covariável (Tabela 2).

Quando PV42 foi incluído no modelo como covariável (Tabela 2), uma região de QTL para peso da tíbia foi mapeada a 168 cM no GGA 2 entre os marcadores flanqueadores ADL0373 e LEI0096. Esta região de QTL não foi evidenciada na primeira análise (sem o uso da covariável PV42) provavelmente porque a região de QTL de maior efeito foi a mapeada para PV42, ou porque duas regiões de QTL fortemente ligadas com efeitos na mesma direção tendem a se apresentar como um único QTL de grande efeito (BARTON; KEIGHTLEY, 2002). Entre estes marcadores foi encontrado o gene *melanocortin-4 receptor (MC4R*), e segundo QIU et al. (2006), este gene está associado com peso vivo, peso da carcaça e peso do músculo da perna em frangos. A posição pares de base (pb) dos marcadores flanqueadores, para cada QTL (cM), em cada cromossomo para as características estudadas quando PV42 foi incluído no modelo como covariável foram descritos no Apêndice B.

Tabela 2. Posição dos QTLs em CentiMorgan (cM) das característica ósseas, peso (PESO) e largura (LARG) da tíbia em cada cromossomo (GGA), teste F, marcadores flanqueadores e posição dos marcadores, quando a análise incluiu PV42 no modelo como covariável.

GGA	Característica	Posição QTL (cM)	Teste F	Marcadores Flanqueadores	Posição dos Marcadores (cM)
2	PESO	168	7,72**	ADL0373-LEI0096	156,0-181,0
3	LARG	165	11,23**	LEI0118-MCW0224	163,4-198,1
4	PESO	139	12,67**	MCW0240-LEI0063	116,0-152,0

* significativo a P<0,05 no cromossomo, ** significativo a P<0,01 no cromossomo.

No GGA 3, uma região de QTL para largura da tíbia foi mapeada entre os marcadores LEI0118-MCW0224, também não evidenciada na primeira análise. Estas regiões de QTL foram identificadas usando PV42 como covariável, sugerindo que não são afetadas pela região de QTL para PV42. A região de QTL mapeada para peso da tíbia no GGA 4 foi evidenciada entre os mesmos marcadores flanqueadores quando PV42 foi incluído como covariável ou não.

CONCLUSÃO

Esses achados são importantes na tentativa de entender melhor como essas características se relacionam e possam contribuir para futuramente tentar reduzir problemas ósseos ou locomotores, que causam grandes perdas econômicas na indústria avícola.

Embora existam poucos relatos de regiões de QTL associadas às características ósseas, os marcadores associados às regiões de QTL em outras populações foram confirmados no presente estudo, sugerindo que estas são importantes regiões para pesquisa de genes candidatos e mutações causais.

REFERÊNCIAS

ATZMON, G.; RONIN, Y. I.; KOROL, A.; YONASH, N.; CHENG, H.; HILLEL, J. QTLs associated with growth traits and abdominal fat weight and their interactions with gender and hatch in commercial meat-type chickens. **Animal Genetics**, v. 37, p. 352–358, 2006.

ATZMON, G.; BLUM, S.; FELDMAN, M.; LAVI, U.; HILLEL, J. Detection of agriculturally important QTLs in chickens and analysis of the factors affecting genotyping strategy, **Cytogenetic and Genome Research**, v. 117, p. 327–337, 2007.

BARON, E. E.; RUY, D. C.; NONES, K.; LEDUR, M. C.; CAMPOS, R. I. R.; AMBO, M.; COUTINHO, L. L. Identificação de QTL para peso corporal em aves (Gallus

gallus) no cromossomo 4. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 49., 2003, Águas de Lindóia. **Anais…**Ribeirão Preto: SBG, 2003.

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

BRADSHAW, R. H.; KIRKDEN, R. D.; BROOM, D. M. A Review of the Aetiology and Pathology of Leg Weakness in Broilers in Relation to Welfare. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 13, p. 45-103, 2002.

CARLBORG, O.; KERJE, S.; SCHUTZ, K.; JACOBSSON, L.; JENSEN, P.; ANDERSSON, L. A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. **Genome Research**, v. 13, p. 413–421, 2003.

CARLBORG, O.; HOCKING, P. M.; BURT, D. W.; HALEY, C. S. Simultaneous mapping of epistatic QTL in chickens reveals clusters of QTL pairs with similar genetic effects on growth. **Genetical Research**, v. 83, p. 197-209, 2004.

CAMPOS, R. L.; NONES, K.; LEDUR, M. C.; MOURA, A. S.; PINTO, L. F.; AMBO, M.; BOSCHIERO, C.; RUY, D. C.; BARON, E. E.; NINOV, K.; ALTENHOFEN, C. A.; SILVA, R. A.; ROSÁRIO, M. F.; BURT, D. W.; COUTINHO, L. L. Quantitative trait loci associated with fatness in a broiler-layer cross. **Animal Genetics**, v. 5, p. 729-36, 2009.

CHURCHILL, G. A.; DOERGE, R. W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v. 138, p. 963-971, 1994.

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

DEKKERS, J. C. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 313–328, 2004.

DEKKERS J. C. M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 22-32, 2002.

GAO, Y.; DU, Z. Q.; FENG, C. G.; DENG, X. M.; LI, N.; DA, Y.; HU, X. X. Identification of quantitative trait loci for shank length and growth at different development stages in chicken. **Animal Genetics**, v. 41, p. 101–104, 2010.

HORNER, A.; SHUM, L.; AYRES, J. A.; NONAKA, K.; NUCKOLLS, G. H. Fibroblast growth factor signaling regulates dach1 expression during skeletal development. **Developmental Dynamics**, v. 225, p. 35–45, 2002.

KIDA, Y.; MAEDA, Y.; SHIRAISHI, T.; SUZUKI, T.; OGURA, T. Chick Dach1 interacts with the Smad complex and Sin3a to control AER formation and limb development along the proximodistal axis. **Development**, v. 131, p. 4179-4187, 2004.

KIM, H. C.; YEW, N. S.; ANSORGE, W.; VOSS, H.; SCHWAGER, C.; VENNSTROM, B.; ZENKE, M.; ENGEL, J. D. Two different mRNAs are transcribed from a single genomic locus encoding the chicken erythrocyte anion transport proteins (Band 3). **Molecular and Cellular Biology**, p. 4416-4424, 1988.

KNOWLES, T. G.; KESTIN, S. C.; HASLAM, S. M.; BROWN, S. N.; GREEN, L. E.; BUTTERWORTH, A.; POPE, S. J.; PFEIFFER, D.; NICOL, C. J. Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. **PLoS ONE**, v. 3, e1545, p. 1-5, 2008.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v. 121, p. 185-189, 1989.

LEACH, R. J.; CRAIGMILE, S. C.; KNOTT, S. A.; WILLIAMS, J. L.; GLASS, E. J. Quantitative trait loci for variation in immune response to a Foot-and-Mouth Disease virus peptide. **BMC Genetics**, v. 11, p. 107, 2010.

LE BIHAN-DUVAL, E.; NADAF, J.; BERRI, C.; PITEL, F.; GRAULET, B.; GODET, E.; LEROUX, S. Y.; DEMEURE, O.; LAGARRIGUE, S.; DUBY, C.; BEAUMONT, C. M.;

DUCLOS, M. J. Detection of a cis eQTL controlling BMCO1 gene expression leads to the identification of a QTG for chicken breast meat color. **PLoS ONE**, v. 6, e14825, p. 1-10, 2011.

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**, v. 86, p. 1084–1089, 2007.

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 1 from a brazilian resource population. **Scientia Agricola**, v. 26, p. 12-17, 2005.

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**, v. 37, p. 95–100, 2006.

OLSON, M.; HOOD, L.; CANTOR, C.; BOTSTEIN, D. A common language for physical mapping of the human genome. **Science**, v. 245, p. 1434-1435, 1989.

QIU, X.; LI, N.; DENG, X.; ZHAO, X.; MENG, Q.; WANG, X. The single nucleotide polymorphisms of chicken melanocortin-4 receptor (MC4R) gene and their association analysis with carcass traits. **Science China Life Sciences**, v. 49, p. 560-566, 2006.

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**, v. 37, p. 677–98, 2005.

SEATON, G.; HERNANDEZ, J.; GRUNCHEC, J.A.; WHITE, I.; ALLEN, J.; DE KONING, D. J.; WEI, W.; BERRY, D.; HALEY, C.; KNOTT, S. **GridQTL: a grid portal for qtl mapping of compute intensive datasets**. In World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Brazil, 2006. Disponível em: < http://www.gridqtl.org.uk/gridqtl_project.htm>. Acesso em 25 mai. 2012.

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**, v. 81; p. 1775-1787, 2002.

SHARMAN, P. W. A.; MORRICE, D. R.; LAW, A. S.; BURT, D. W.; HOCKING, P. M. Quantitative trait loci for bone traits segregating independently of those for growth in an F2 broiler x layer cross. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 117, p. 296-304, 2007.

TSUDZUKI, M.; ONITSUKA, S.; AKIYAMA, R.; IWAMIZU, M.; GOTO, N.; NISHIBORI, M.; TAKAHASHI, H.; ISHIKAWA, A. Identification of quantitative trait loci affecting shank length, body weight and carcass weight from the Japanese cockfighting chicken breed, Oh-Shamo (Japanese Large Game).**Cytogenetic and Genome Research**, v. 117, p. 288–95, 2007.

ZHANG, H.; ZHANG, Y. D.; WANG, S. Z.; LIU, X. F.; ZHANG, Q.; TANG, Z. Q.; LI, H. Detection and fine mapping of quantitative 1 trait loci for bone traits on chicken chromosome one. **Journal. of Animal Breeding and Genetics**., v. 127, p. 462–468, 2010.

ZHANG, H.; LIU, S. H.; ZHANG, Q.; ZHANG, Y. D.; WANG, S. Z.; WANG, Q. G.; WANG, Y. X.; TANG, Z. Q.; LI, H. Fine-mapping of quantitative trait loci for body weight and bone traits and positional cloning of theRB1gene in chicken. **Journal. of Animal Breeding and Genetics**, v. 128, p. 366–375, 2011.

ZHOU, H.; DEEB, N.; EVOCK-CLOVER, C. M.; 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**, v. 85, p. 1700–1711, 2006.

ZHOU, H.; DEEB, N.; EVOCK-CLOVER, C. M.; MITCHELL, A. D.; ASHWELL, C. M.; LAMONT, S. J. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions

affecting phenotypic traits in the chicken. III. Skeletal integrity. **Poultry Science**, v. 86, p. 255–66, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Posição em pares de base (pb) dos marcadores flanqueadores, para cada QTL (cM), em cada cromossomo (GGA), para comprimento (COMP), largura (LARG) e peso (PESO) da tíbia e peso vivo aos 42 dias de idade (PV42).

GGA	Característica	Posição QTL (cM)	1° Marcador (Posição em pb)	2° Marcador (Posição em pb)
1	COMP	126	ADL150 (65,124,527)	ADL319 (65,816,624)
1	LARG	86	MCW297 (51,632,067)	LEI146 (53,187,445)
1	LARG	337	LEI0079 (153,468,487)	MCW145 (157,114,439)
1	PESO	105	LEI146 (53,187,445)	LEI174 (62,932,827)
1	PESO	332	LEI0079 (153,468,487)	MCW145 (157,114,439)
1	PV42	100	LEI146 (53,187,445)	LEI174 (62,932,827)
1	PV42	332	LEI0079 (153,468,487)	MCW145 (157,114,439)
2	PV42	205	MCW0291 (77,294,724)	LEI0147 (98,749,380)
3	PV42	111	LEI0161 (33,595,706)	LEI0029 (35,167,780)
4	COMP	107	ROS0024 (49,393,863)	MCW240 (67,652,149)
4	LARG	143	MCW240 (67,652,149)	LEI0063 (81,169,221)
4	PESO	138	MCW240 (67,652,149)	LEI0063 (81,169,221)
4	PV42	142	MCW240 (67,652,149)	LEI0063 (81,169,221)
6	COMP	33	ADL377 (27,801,410)	ADL142 (29,295,183)
10	PV42	138	ADL102*	MCW003 (18,110,150)
13	PESO	8	ADL147 (7,649,069)	MCW213 (9,607,064)
24	LARG	116	MCW301 (4,551,227)	ROS302*

***Não foi encontrada a posição em pares de bases para estes marcadores.

APÊNDICE B. Posição em pares de base (pb) dos marcadores flanqueadores, para cada QTL (cM), em cada cromossomo (GGA), para largura (LARG) e peso (PESO) da tíbia quando peso vivo aos 42 dias de idade (PV42) foi incluído no modelo como covariável.

GGA	Característica	Posição QTL (cM)	1° Marcador (Posição em pb)	2° Marcador (Posição em pb)
2	PESO	168	ADL373 (66,505,871)	LEI0096 (69,807,507)
3	LARG	165	LEI0118 (59,685,002)	MCW0224 (76,487,564)
4	PESO	139	MCW0240 (67,652,149)	LEI0063 (81,169,221)