

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**POLIMORFISMOS NOS GENES MC4R, FABP3, DGAT1
E LEPR E SUAS ASSOCIAÇÕES COM PRODUTIVIDADE EM
MATRIZES SUÍNAS**

**Vanja de Souza Gondim
Zootecnista**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**POLIMORFISMOS NOS GENES MC4R, FABP3, DGAT1
E LEPR E SUAS ASSOCIAÇÕES COM PRODUTIVIDADE EM
MATRIZES SUÍNAS**

Vanja de Souza Gondim

Orientador: Prof. Dr. Humberto Tonhati

Coorientador: Prof. Dr. Robson Carlos Antunes

Tese apresentada a Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Zootecnia

2015

G637p Gondim, Vanja de Souza
Polimorfismos nos genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR e suas associações co produtividade em matrizes suínas / Vanja de Souza Gondim. -- Jaboticabal, 2015
xvi, 52 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Humberto Tonhati
Coorientador: Robson Carlos Antunes
Banca examinadora: João Ademir de Oliveira, Nedenia Bonvino Stafuzza, Leonardo Augusto Fonseca Pascoal, Ana Carolina Portella Silveira

Bibliografia

1. Associação genética. 2. Linhagem materna. 3. Sequenciamento. 4. SNPs. 5. *Sus scrofa*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:636.4

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

Vanja de Souza Gondim – solteira, nascida no dia 10 de dezembro de 1980 na cidade de Areia/PB, filha de Saulo Souza Gondim e Josefa Maria da Conceição Filha. Concluiu o segundo grau em 1998, no Colégio Santa Rita. Iniciou em junho de 2001 o curso de graduação em Zootecnia no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – Campus de Areia, obtendo o título de Zootecnista no período 2006.2, com o trabalho intitulado “Caroço de algodão para cabras em lactação”, sob a orientação do Prof. Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros. Entre abril de 2008 e fevereiro de 2009 foi bolsista Exp 3 do Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq) no Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – Campus de Bananeiras, sob a orientação da Prof. Dra. Terezinha Domiciano Dantas Martins, desenvolvendo o projeto intitulado “Caracterização e acompanhamento técnico das criações de suínos da agricultura familiar no estado da Paraíba, com ênfase na sustentabilidade”. Em março de 2009 iniciou o curso de Pós-Graduação em nível de mestrado em Zootecnia também sob a orientação da Prof. Dra. Terezinha Domiciano Dantas Martins, obtendo o título de mestre em fevereiro de 2011, com o trabalho intitulado “Caracterização fenotípica dos grupos genéticos de suínos no estado da Paraíba”. Entre março e agosto de 2011, prestou assistência técnica em áreas de assentamentos no estado da Paraíba pela empresa Consultoria e Planejamento de Projetos Agropecuários (Consplan) em parceria com Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA). Em agosto de 2011 iniciou o curso de Pós-Graduação em nível de Doutorado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, *Campus* de Jaboticabal – UNESP, sob a orientação do Prof. Humberto Tonhati, obtendo o título de Doutora em Zootecnia em junho de 2015.

EPÍGRAFE

“Vitorioso não é aquele que vence os outros
mas o que vence a si mesmo, dominando seus
vícios e superando seus defeitos....”

“Toda vitória sem sacrifício é inglória.
Faça o que puder e Deus fará o resto.
Faça por onde e eu te ajudarei.”

Martinho Gondim

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Saulo Souza Gondim e Josefa Maria da Conceição, por todo amor.

A minha tia-avó Ina (*in memoriam*), pelo incentivo constate.

Aos meus irmãos Edilene Souza Gondim, Márcia Maria Souza Gondim, Perla Joana Souza Gondim e Ricardo Souza Gondim, por todo companheirismo e união.

Aos meus sobrinhos Larissa Gondim Carneiro, Arthur Gonçalves Gondim, Pedro Daniel Gonçalves Gondim e Mariana Gonçalves Gondim, por todos os momentos de descontração e alegria.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pela força que me move em todos os momentos da minha trajetória.

Aos meus anjinhos de luz, por sempre estarem ao meu lado quando mais necessito, por abrandarem a saudades daqueles que ficaram distantes.

A minha família por todo incentivo, por estarem sempre ao meu lado, mesmo distantes, quando o dever e as obrigações me chamavam e dedicaram-se com muitos esforços.

Ao meu orientador, Prof. Humberto Tonhati, por ter aceitado me orientar, mesmo sem me conhecer, por toda a confiança em mim depositada, meu reconhecimento.

Ao meu coorientador, Prof. Robson Carlos Antunes, por toda confiança, amizade, ensinamentos, incentivos e conselhos repassados, minha eterna gratidão.

Ao Professor do curso de Zootecnia da Faculdades Associadas de Uberaba (FAZU), Evandro Rigo e o Pesquisador e Engenheiro agrônomo da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S.A. (EBDA), Alberto de Almeida Alves pela coleta das amostras de suínos da raça Piau.

A empresa Grinpisa Investimentos Privados S/A, pela disponibilidade das amostras e dados zootécnicos do plantel de suínos comerciais, em especial ao associado José Aparecido da Silva.

Ao Gismar Vieira, pelas análises laboratoriais, execução de parte do projeto, amizade e paciência pelas explicações.

Ao Naudin e o Prof. João Ademir pelas análises estatísticas e toda paciência nas explicações, agradeço imensamente.

À minha banca de qualificação Nedenia Bonvino, Rusbel Raúl, Rodrigo Pelicioni e Marcos Buzanskas por todas as sugestões e posterior colaboração.

Ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba pela minha formação de graduação e pós-graduação em nível de mestrado em Zootecnia.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual de São Paulo pela oportunidade da realização de um sonho, pelos ensinamentos que contribuíram imensamente para minha formação profissional.

Ao CNPq pela bolsa de estudos, para que esse projeto fosse concretizado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelo auxílio financeiro para realização desse projeto.

Aos professores da FCAV/UNESP por todo ensinamento repassados.

Ao Prof. Jeffrey Federico Lui pela amizade e o tempo de orientação.

A Prof.^a Ana Lima da Universidade Federal de Uberlândia e sua mãe Marta pela amizade, conselhos e incentivos transmitidos.

Aos Professores da UFPB, em especial Leonardo Augusto, Ludmila da Paz, Terezinha Domiciano, por todo incentivo profissional transmitido.

A minha amiga Lara Lavigne Amaral, por dividir comigo os momentos de convívio em Uberlândia, tornando-os mais alegres e divertidos.

A amiga Camila Moraes, Tábata Facioli e Dona Mara, por todo o tempo que convivemos juntas em Uberlândia, dividindo ensinamentos e multiplicando a alegria da vida.

As minhas queridas conterrâneas Maria Lucília e Raquel Santos pela acolhida em Jaboticabal, pela amizade, por dividir comigo momentos de alegrias, saudades e outros menos agradáveis. Muito obrigado por tornar menos árduos nossos dias de saudades!

As minhas eternas amigas Ana Carolina “Carol” e Mayara Mari Murata “May”, por tornar nossa moradia com gostinho de família, calorosa, fraterna e motivadora. O Ap 23 estará guardado em nossas boas memórias de Jaboticabal. Estarei sempre torcendo pelas conquistas de vocês!

A amiga Agda “Agdinha”, pela amizade e disposição de está sempre presente em vários momentos na minha vida. Sou lisonjeada pela sua amizade.

Aos amigos Gustavo, Marilena, Anaiane e Anna Flávia por dividirem comigo momentos de convívio, tornando nossos dias mais risonhos e alegres.

Aos colegas Flávia Campos, Claudenia, Jéssica Josefa, Ariadne, Marisa, Ana Paula, Luiz Cláudio (Mancha), Daniela Araújo, Renata Ferreira, Glaucenyra, Fabiana Jéssica e por todos os momentos de descontração.

Aos funcionários da FCAV/UNESP

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho, que por motivo de esquecimento deixei de mencionar. Meu muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO GERAL	4
3. REFERENCIAL TEÓRICO	5
3.1. Influência da seleção genética nas características reprodutivas em fêmeas suínas.....	5
3.2. Gene do receptor de melanocortina 4 (MC4R).....	6
3.3. Proteína de ligação 3 a ácido graxo, músculo e coração (FABP3)	8
3.4. Gene que codifica a enzima Acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1)...	9
3.5. Gene Leptina e seu receptor (LEPR)	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Amostragem e colheita de sangue	14
4.2. Análise laboratorial	15
4.2.1. Extração de DNA.....	15
4.2.2. Desenho dos primers	16
4.2.3. Amplificação de DNA (ARMS-PCR)	16
4.2.4. Genotipagem e obtenção dos perfis genéticos	17
4.2.5. Descrição dos dados fenotípicos.....	17
4.3. Análise estatística	18
4.3.1. Frequência alélica e genotípica	18
4.3.2. Análises de associação entre os polimorfismos e as características de produção e reprodução	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
5.1. Amplificação e sequenciamento	23
5.2. Frequências alélicas e genotípicas	24
5.2.1. Gene MC4R (SNPg.1578C>T)	25

5.2.2. Gene FABP3 (SNPg.-240T>C).....	25
5.2.3. Gene DGAT1 (SNPg.9422C>T)	26
5.2.4. Gene LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A)	27
5.3. Associação entre os polimorfismos e as características de produção e reprodução: análise de variância.....	28
5.3.1. Gene MC4R (SNPg.1578C>T).....	31
5.3.2. Gene FABP3 (SNPg.-240T>C).....	33
5.3.3. Gene DGAT1 (SNPg.9422C>T)	34
5.4. Associação entre os polimorfismos e as características de produção e reprodução: substituição alélica e dominância	36
5.4.1. Gene MC4R (SNPg.1578C>T).....	37
5.4.2. Gene FABP3 (SNPg.-240T>C).....	39
5.4.3. Gene DGAT1 (SNPg.9422C>T)	40
6. CONCLUSÃO.....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

LISTA DE ABREVIATURAS

Abipecs	Associação Brasileira das Indústrias Produtoras e Importadoras de Carne Suína
AGM	Ácidos graxos monoinsaturados
AGP	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
ARMS	Sistema de amplificação refratária da mutação (<i>Amplification Refractory Mutation System</i>)
DEP-AG	Diferença esperada na progênie auxiliada pela genômica
NDES	Número de desmamados
DGAT1	Diacilglicerol aciltransferase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FABP3	Proteína de ligação 3 a ácido graxo, músculo e coração
FTA	Papel de filtro estéril
GG	Grupo genético
GI	Gordura intramuscular
H-W	Hardy-Weinberg
IDP	Intervalo de partos
IPC	Idade a primeira cobertura
LEPR	Receptor da leptina
LLJM	Large White, Landrace, Jiaxing, Meishan
LWLD	Large White, Landrace
MC	Melanocortinas
MC4R	Receptor de melanocortina 4
MM	Mumificado
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NM	Nascido morto
NV	Nascido vivo
pb	Pares de bases
PMD	Peso médio ao desmame
PMN	Peso médio ao nascimento

PTLD	Peso total da leitegada ao desmame
PTLN	Peso total da leitegada ao nascimento
QTL	Locos de características quantitativas
RFLP	Polimorfismo no Tamanho de Fragmentos de Restrição
RNA	Ácido ribonucleico
SAM	Seleção assistida por marcadores
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
Taq	<i>Termus aquaticus</i>
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. <i>Primers</i> para os genes MC4R, LEPR, FABP3, DGAT1 e a sonda M13....	16
Tabela 2. Estatística descritiva dos dados para as médias de produtividade para fêmeas suínas de dois grupos genéticos.	18
Tabela 3. Caracterização dos polimorfismos encontrados nos genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR para cada grupo genético estudado.....	23
Tabela 4. Número de animais analisados, frequência alélica, frequência genotípica observada, frequência genotípica esperada segundo o equilíbrio de Hardy Weinberg e valores do teste do X^2_{obs} para os genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR nos grupos genéticos de suínos estudados.	24
Tabela 5. Médias dos quadrados mínimos e desvio-padrão para as características peso médio ao nascimento (PMN), peso médio a desmama (PMD), peso total da leitegada ao nascimento (PTLN), peso total da leitegada ao desmame (PTLD), número de desmamados (NDES), idade a primeira cobertura (IPC) e intervalo de parto (IDP) em função dos genótipos do MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) e LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) nos grupo genéticos de suínos LWLD (Large White e Landrace) e LLJM (Large White, Landrace, Jiaying, Meishan).....	29
Tabela 6. Estimativas dos efeitos de substituição alélica e dominância e seus respectivos <i>p-valor</i> associados com os genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) e LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) nos grupo genéticos Large White e Landrace (GG2 – LWLD) e Large White, Landrace, Jiaying, Meishan (GG3 – LLJM) para peso médio ao nascimento (PMN), peso médio a desmama (PMD), peso total da leitegada ao nascimento (PTLN), peso total da leitegada ao desmame (PTLD), número de desmamados (NDES), idade a primeira cobertura (IPC), intervalo de parto (IDP)....	37

POLIMORFISMOS NOS GENES MC4R, FABP3, DGAT1 E LEPR E SUAS ASSOCIAÇÕES COM PRODUTIVIDADE EM MATRIZES SUÍNAS

RESUMO – Os genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR são de grande importância no estudo das características reprodutivas de suínos, uma vez que, estão relacionados com ingestão alimentar, taxa de crescimento, redução da gordura subcutânea e lactação. Neste sentido, objetivou-se identificar geneticamente polimorfismos do tipo SNP nos genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) e LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) em suínos da raça Piau e em duas linhagens maternas comerciais industriais de suínos europeus e chineses. Para isso, foi extraído DNA a partir de sangue periférico de um grupo de 304 suínos. Mediante ARMS-PCR Multiplex, foram amplificados fragmentos específicos que, posteriormente, foram genotipados em sequenciador automático para a realização da eletroforese com corantes fluorescentes. Foram encontrados SNP no gene MC4R (SNPg.1578C>T) e FABP3 (SNPg.-240T>C) para os três grupos genéticos analisados com as três variações genotípicas (CC, TT, CT e TT, TC, CC, respectivamente). O SNP (SNPg.9422C>T) do gene DGAT1 apresentou as três variações genotípicas no grupo genético de suínos europeus (CC, CT e TT). Entretanto, para os grupos genéticos Piau e europeus com raças chinesas apresentaram apenas as duas variações genotípicas de homozigotos (CC e TT). Para o gene LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) os grupos genéticos europeus com raças chinesas e Piau apresentaram os genótipos GG, AA e o grupo genético com raças europeias apresentou as duas variações genotípicas de homozigoto (GG e AA) e apenas um animal apresentou o genótipo heterozigoto (AG e TA). Os polimorfismos dos genes FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) apresentaram frequências genotípicas altas para os alelos C em relação aos alelos T e no gene MC4R (SNPg.1578C>T) apresentou menor frequência. Para os polimorfismos do gene LEPR (SNPg.5396A>G e SNPg.5395T>A) apresentou-se fixado nas populações estudadas, demonstrando baixa variabilidade dentro da população. Todos os polimorfismos avaliados pela análise de variância apresentaram associação ($P<0,05$) com as características reprodutivas e apenas o gene DGAT1 na população com raças europeias apresentou associação ($P<0,05$) com as características de produção para peso médio ao desmame e peso total da leitegada ao desmame. Os efeitos de substituição alélica e dominância demonstraram significativos ($P<0,05$) para mais características, independente da análise de variância. Para o polimorfismo do gene MC4R (SNPg.1578C>T) o alelo T apresentou efeito de dominância sobre o alelo C nas características de peso total da leitegada ao nascimento e idade a primeira cobertura no grupo genético com raças europeias e idade a primeira cobertura no grupo genético europeu com raças chinesas. Também foi observado efeito de substituição alélica (C→T) nas características idade a primeira cobertura no grupo genético com raças europeias e peso total da leitegada ao nascimento e idade a primeira cobertura no grupo genético europeu com raças chinesas. Para o polimorfismo do gene FABP3 (SNPg.-240T>C) observou-se efeito de substituição alélica (T→C) na característica número de desmamados no grupo genético europeu com raças chinesas e efeito de dominância na característica intervalo de parto no grupo genético europeu com raças chinesas. Para o polimorfismo do gene DGAT1 (SNPg.9422C>T) foi

observado efeito de substituição alélica (C→T) nas características de peso médio a desmama, peso total da leitegada ao desmame e idade a primeira cobertura no grupo genético com raças europeias. Diante disso, a população com raças europeias demonstrou ter sofrido menor seleção para os polimorfismos analisados, apresentando maior variabilidade dos genótipos.

Palavras-chave: associação genética, linhagem materna, sequenciamento, SNPs, *Sus scrofa*.

POLYMORPHISMS IN MC4R, FABP3, DGAT1 AND LEPR GENES AND THEIR ASSOCIATION WITH PRODUCTIVITY IN SOWS

ABSTRACT – The MC4R, FABP3, DGAT1 and LEPR genes are great importance in the study of traits of swine breeding, since they are related to feed intake, growth rate, reduction of subcutaneous fat and lactation. The aim of this study was to identify SNP in MC4R(SNPg.1578C> T), FABP3 (SNPg.-240T> C), DGAT1 (SNPg.9422C> T) and LEPR (SNPg.5396A> G; SNPg.5395T> A) genes in pigs of Piau breed and two commercial industrial maternal lineages of European and Chinese pigs. For this, DNA was extracted from peripheral blood of 304 pigs. By ARMS-PCR Multiplex, specific fragments were amplified and genotyped in automated sequencer to perform electrophoresis marked with fluorescent dyes. SNP were identified in the MC4R (SNPg.1578C>T) and FABP3 (SNPg.-240T> C) genes the three genotypic variations (CC, TT, CT and TT, TC, CC, respectively) were identified in all genetic groups analyzed. The SNP (SNPg.9422C> T) of DGAT1 gene presented the three genotypic variations (CC, CT and TT) in the European genetic group. However, for the Piau and Europeans with Chinese genetic groups showed only the two homozygous genotypic variations (CC and TT). For LEPR gene (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A), the European genetic group with Chinese and Piau breeds showed the GG, AA genotypes and the European breeds genetic group showed two genotypes, homozygous variations (GG, AA) and only one heterozygous animal (AG, TA). Polymorphisms of FABP3 (SNPg.-240T>C) and DGAT1 (SNPg.9422C>T) genes showed high genotypic frequency for the C allele when compared to T allele and the MC4R gene (SNPg.1578C>T) showed less frequently. For polymorphisms in the LEPR gene (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) had set up in the populations studied, showing low variability within the population. All polymorphisms evaluated by analysis of variance were associated ($P < 0.05$) with the reproductive traits and only the DGAT1 gene was associated ($P < 0.05$) with the production for average weight at weaning and the total litter weight at weaning traits in the population with European breeds. The dominance and allelic substitution effects showed significant ($P < 0.05$) to traits independent of the analysis of variance. For the MC4R gene (SNPg.1578C> T) the T allele had the dominant effect of the C allele on the total weight of the litter age at birth and in the first covering traits in European genetic group breeds and age in the first cover trait in European genetic group with Chinese races. Allelic substitution effect (C→T) was also observed in age features the first coverage trait on European genetic group breeds, and total litter weight at birth and age the first coverage traits in the European genetic group with Chinese races. For FABP3 polymorphism (SNPg.-240T> C), was observed allele substitution effect (T→C) of the number of weaned trait on European breeds with Chinese genetic group and dominance effect on delivery interval trait in genetic group European with Chinese breeds. For the polymorphism in the DGAT1 gene (SNPg.9422C> T), was observed effect of allelic substitution (C→T) the average weight weaning, the total litter weight at weaning and age at first mating traits on genetic group with European breeds. Therefore, the population with European breeds showed he suffered smaller selection for the polymorphisms analyzed, showing greater variability of genotypes.

Keywords: genetic association, maternal lineage, sequencing, SNPs, *Sus scrofa*.

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

A carne suína apresenta um papel fundamental na alimentação humana, pois é a proteína animal mais consumida no mundo, atrás apenas dos pescados (SIDONIO et al., 2015; GUIMARÃES et al., 2015). O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) no ano de 2012 relatou uma produção de 104,363 milhões de toneladas de carne suína, sendo que, a China produziu aproximadamente 50% deste total. A China, Estados Unidos e União Europeia representam aproximadamente 82% da produção mundial, sendo que o Brasil representa uma parcela de 3,1% da produção mundial, ocupando a 4º posição desse ranking. Aproximadamente 84% da produção nacional de carne suína são destinadas ao mercado interno, sendo 16% exportados (Abipecs, 2013), gerando receitas e empregos provenientes de toda a cadeia produtiva.

Certamente, uma das grandes conquistas de mercado externo para a carne suína brasileira no ano de 2013 foi o mercado japonês, passando a importar cortes específicos e de alto valor agregado (NOJOSA, 2014). A grande vantagem desse mercado está principalmente em facilitar a negociação também com outros importantes mercados, já que o Japão é referência internacional do setor (ADJORI/SC, 2015). No entanto, ainda se faz necessário adaptar o produto brasileiro ao perfil de consumo deste mercado, o qual prefere carnes mais macias e com maior teor de gordura. Neste sentido, tem-se dado ênfase aos estudos e pesquisas de genes relacionados com estas características. Assim, dada à importância econômica, as características reprodutivas devem ser levadas em consideração, já que refletem no desempenho dos animais em crescimento e terminação, pois são resultados das fases de pré-desmama e pós-desmame, nas quais o tamanho e peso de leitegada são fundamentais para a eficiência na produção de suínos (PIRES, 1999).

As técnicas de análise no melhoramento genético de suínos vêm se tornando mais eficientes, incluindo a maior quantidade de informação no modelo para avaliação genética. Apesar dos ganhos genéticos em várias características, o

aumento nas taxas desses ganhos é reduzido quando se trata de características de baixa herdabilidade ou difíceis de serem mensuradas, como por exemplo, rendimento de carcaça, resistência à doenças, longevidade (COUTINHO; ROSÁRIO; JORGE, 2010; GODDARD; HAYES, 2009) e características reprodutivas.

Com isto, a seleção de animais portadores de alelos desejáveis e a identificação de genes que atuam sobre tais características, poderão acarretar em maior ganho genético, por meio da diminuição do intervalo de geração (GODDARD; HAYES, 2009) e aumento da acurácia dos valores genéticos com o uso da diferença esperada na progênie auxiliada pela genômica (DEP-AG), por exemplo.

Com o desenvolvimento da biotecnologia, novas ferramentas têm sido disponibilizadas para identificar genes responsáveis pelas características quantitativas (LEDUR; BERTANI e NONES, 2003). A genética molecular somada aos métodos tradicionais por meio da seleção assistida por marcadores (SAM) tem sido utilizados como ferramenta que em programas de melhoramento genético para características de baixa herdabilidade oferece maiores benefícios (OLIVEIRA, 1996). Dentre os principais marcadores genéticos destaca-se o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), que se baseia nas alterações da molécula de DNA, ou seja, quando ocorre substituição, deleção ou inserção de um nucleotídeo no genoma com frequência acima de 1% na população (SANTORO, 2010).

Os marcadores moleculares do tipo SNP têm sido muito utilizados em estudos de associação para características de interesse econômico em suínos. Diversos SNPs dos genes receptor das melanocortinas 4 (MC4R), proteína de ligação 3 a ácidos graxos, músculo e coração (FABP3), gene que codifica a enzima Acyl CoA: diacylglicerol acyltransferase (DGAT1) e receptor da leptina (LEPR) estão relacionados a estudos de qualidade de carne em suínos; porém não há registros de estudos desses genes e seus respectivos polimorfismos em suínos para características reprodutivas. Além disso, a seleção de suínos para produção de carne magra pode ter levado a perdas nos índices reprodutivos, como a reduzida espessura de toucinho e baixo consumo alimentar na fase de lactação, comprometendo o escore corporal das matrizes por meio da mobilização de gorduras de reservas para produção de leite, influenciando negativamente para o aparecimento do cio, resultando em aumento do intervalo de partos.

Neste sentido, os genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR são de grande importância no estudo das características de produtividade de suínos, uma vez que, estão relacionadas com ingestão alimentar, taxa de crescimento, gordura subcutânea e lactação.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi identificar polimorfismos do tipo SNP nos genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR em suínos da raça Piau e em duas linhagens maternas comerciais industriais de suínos europeus e chineses.

2.1. Objetivos específicos

- Identificar polimorfismos nos genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T), LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) em suínos da raça Piau e duas linhagens maternas comerciais industriais de suínos europeus e chineses;
- Verificar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos em suínos da raça Piau e duas linhagens maternas comerciais industriais de suínos europeus e chineses;
- Verificar a associação por meio da análise de variância entre os polimorfismos nos genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) e LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) com as características produtivas em duas linhagens maternas comerciais industriais de suínos europeus e chineses;
- Verificar os efeitos de substituição alélica e dominância nos genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) e LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) com as características produtivas em duas linhagens maternas comerciais industriais de suínos europeus e chineses.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Influência da seleção genética nas características reprodutivas em fêmeas suínas

O melhoramento genético atual nos rebanhos núcleo de fêmeas suínas tem alcançado bons índices em algumas características reprodutivas, e uma das principais mudanças é o material genético utilizado, que produz um maior número de leitões por parto (MOREIRA, 2014). Somam-se a isto as respostas correlacionadas com o aumento de leitegada ao nascimento, levando em consideração outros métodos para alcançar os objetivos específicos da seleção, por exemplo, eficiência de lactação, vitalidade dos leitões, cruzamentos com raças chinesas na composição das linhagens comerciais, as quais apresentam maior e melhor capacidade uterina e placentária, maior número de tetas e melhor habilidade materna (ANTUNES, 2015). Como descrito por Rauw et al. (1998), as respostas correlacionadas ocorrem por ligação e pleiotropia, em que diferentes locos situados próximos no mesmo cromossomo, influenciam distintas características, impossibilitando a segregação independente dos genes a partir da meiose e/ou um único gene afeta duas ou mais características diferentes; também são influenciadas pelas frequências alélicas, podendo ser diferentes em populações distintas.

Por meio da seleção e de cruzamentos, utilizam-se das melhores raças para aumentar a eficiência reprodutiva da matriz (FONSECA et al., 2000), onde as taxas de parto podem ser elevadas e o intervalo de parto reduzido (ROSA et al., 2014). Algumas das variáveis reprodutivas, principalmente em animais de genética de alta produção, são influenciadas pela produção de leite, pois os menores intervalos desmame-cio e taxa de ovulação adequada podem estar associados à maior produção de leite e à menor perda de reserva corporal (proteína e gordura) na vida produtiva da matriz (SOBESTIANSKY et al., 1998; KIM, 2010). Além disso, o aumento da produtividade da fêmea suína contribui para o aumento do balanço energético negativo na fase de lactação (BERGSMA et al., 2008). Uma possibilidade para evitar que isso ocorra de maneira mais pronunciada, citada pelo autor, é

aumentar geneticamente a eficiência de lactação, ou seja, aumentar a produção de leite para um determinado consumo de ração e mobilização do tecido corporal. Isto resultaria em equilibrar a quantidade de energia disponível (entrada energética – ingestão alimentar e reserva corporal) utilizada para crescimento e manutenção dos leitões (saídas energéticas) (BERGSMA et al., 2008).

Durante a lactação, o metabolismo de energia e/ou proteína de porcas lactantes entre os tecidos maternos e o leite pode ser afetado pelo número de partos (EISSEN; KANIS; KEMP, 2000; BERGSMA et al., 2008). Mahan (1998) relatou que em fêmeas hiperprolíficas, o conteúdo de gordura do colostro e do leite foi reduzido de acordo com o aumento do número de partos, o que pode estar relacionado com a redução da espessura de toucinho. Diferenças na composição do leite de porcas também podem ser atribuídas à fatores genéticos. Alston-Mills, Iverson e Thompson (2000) encontraram maior teor de gordura e cálcio no leite de fêmeas Meishan (9,6%) comparadas com fêmeas mestiças (7,7%) ($P < 0,05$); porém o teor de lactose e proteína não diferiu entre as raças ($P > 0,05$) no início de lactação. Esses autores relataram que devido às baixas reservas energéticas dos leitões ao nascimento, estes são dependentes da boa qualidade do leite da porca para a sua sobrevivência. Neste sentido, o nível de gordura do leite e colostro da fêmea suína pode contribuir positivamente para o maior peso dos leitões ao desmame.

3.2. Gene do receptor de melanocortina 4 (MC4R)

O MC4R é um receptor da família das melanocortinas (MC), as quais são uma classe de peptídeos que desempenham importantes funções fisiológicas, por exemplo, regulação da temperatura corporal, resposta imune e ingestão alimentar (MUCENIECE; DAMBROVA, 2010).

Em suínos, o gene MC4R foi mapeado no cromossomo 1 e possui 2.265 pb, organizado em 2 éxons (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/397359>). Este gene desempenha um papel no consumo de alimento e obesidade, sendo um importante marcador genético para as características relacionadas com o crescimento em suínos (KIM et al., 2000).

O polimorfismo descrito por KIM et al. (2000) revelou uma substituição não-sinônima do ácido aspártico (GAU) por asparagina (AAU) na posição 298 da proteína humana MC4R. Este estudo demonstrou que essa mutação está significativamente associada com várias características de desempenho em suínos. O alelo 1 homozigoto, foi associado com menor espessura de toucinho, taxa de crescimento mais lenta e menor consumo de ração, e o alelo 2 homozigoto, foi associado com maior espessura de gordura, com maior consumo de alimento e taxa de crescimento mais rápida. Também observaram que a associação entre a substituição não sinônima do gene MC4R encontrada e as características de desempenho analisadas nas linhagens suínas entre raças europeias e americanas, apresenta-se melhor definida, comparada à linhagem que utilizou raça chinesa (Meishan) na sua formação. De todo, em algumas das linhagens europeias e americanas analisadas, as frequências gênicas não estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg, ao passo que são resultados de cruzamento de diversas raças e/ou linhagens, refletido pela pressão de seleção para uma ou mais característica de interesse.

Dados semelhantes foram encontrados por Houston; Cameron e Rance (2004), animais Asp298 homozigotos apresentaram taxa de crescimento mais lenta e menor ingestão de alimentos do que animais Asn298 homozigotos (72g/dia e 165g/dia, respectivamente, $P < 0,05$) e animais heterozigotos (59g/dia e 138g/dia, $P < 0,05$). Animais que eram Asn298 homozigotos tinham maior média de espessura de toucinho do que os heterozigotos (1,2 mm; $P < 0,05$).

Piorkowska et al. (2010) estudaram o efeito de uma substituição não sinônima G>A no gene MC4R nas características de taxa de crescimento, composição da carcaça e qualidade de carne em cinco raças de suínos (Large White, Landrace polonês, Pulawska, Pietrain e Duroc). Os animais homozigotos AA foram associados com maiores taxas para ingestão alimentar, ganho de peso e espessura de toucinho e os animais homozigotos GG apresentaram maior percentual de GI e peso total do pernil com 0,5 kg mais pesados comparado aos animais homozigotos AA.

Benoit et al. (2000) baseado na revisão de vários trabalhos, relata que alterações na sinalização no sistema nervoso central (SNC), podem ser influenciadas pelo gene MC4R sobre a ingestão de alimentos. Adicionalmente, estes autores

demonstram consistência com a hipótese de que a leptina regula a sinalização de melanocortinas, portanto o sistema de melanocortinas é um intermediário dos efeitos da leptina para regular a ingestão de alimentos.

3.3. Proteína de ligação 3 a ácido graxo, músculo e coração (FABP3)

A família das proteínas de ligação de ácido graxo (FABPs) é expressa principalmente no coração e músculo esquelético (ZHAO et al., 2010; TYRA et al., 2011; CHAO et al., 2012), sendo suas principais funções a regulação da absorção de ácidos graxos e transporte intracelular (CHMURZYŃSKA, 2006).

Em suínos, o gene FABP3 foi mapeado no cromossomo 6 e compreende 1.508 pb, organizado em 2 éxons (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/399532>) e foi associado à característica de gordura na carcaça (CHMURZYŃSKA, 2006). Entretanto, durante muitos anos a seleção de suínos foi direcionada para a redução de gordura subcutânea na carcaça, no intuito de obter uma carne mais magra; porém resultou também em reduções no conteúdo de GI, principalmente por uma correlação desta característica com a espessura de toucinho. O ideal, agora seria explorar as possibilidades de aumentar o teor de GI na carcaça de suínos (CHAO et al., 2012) sem aumentar o conteúdo de gordura subcutânea.

Chao et al. (2012) encontraram associação com a porcentagem de carne magra no gene FABP3 utilizando a enzima de restrição *HaeIII* na linhagem suína DIV2 (Yorkshire, Landrace, Meishan e Tongcheng origin). Assim, o genótipo DD teve porcentagem de carne magra superior aos indivíduos dd. Os resultados obtidos por Zhao et al. (2010) em uma raça chinesa suína (ZhaotongWujin) mostraram que os genótipos para o FABP3 afetou significativamente o conteúdo de GI. Contudo, os genótipos HH e dd, classificados utilizando as enzimas de restrição *Hinfl* e *HaeIII* por meio da técnica PCR-RFLP (Reação em Cadeia da Polimerase - Polimorfismo no Tamanho de Fragmentos de Restrição), respectivamente, foram observados maior teor de GI e ácidos graxos monossaturados e poliinsaturados (AGM e AGP) e menor teor de ácidos graxos saturados (AGS).

Em suínos da raça Berkshire, Lee et al. (2010) observaram correlação estatisticamente significativa entre o polimorfismo detectado pela técnica de RFLP

com a enzima de restrição *Hinfl*, para o genótipo HH do gene FABP3, associando ao menor peso dos animais e conteúdo de AGS, perda por gotejamento, e para os outros genótipos (Hh e hh) maiores conteúdos de GI e AGM. Para a enzima *MspI* o genótipo AA também foi associado a menor peso dos animais e maior conteúdo de AGP e AGM em relação aos outros genótipos (Aa e aa). No entanto, se pensar que os AGM são principalmente compostos de ácido oleico, os animais com os genótipos homozigotos (HH e AA) apresentaram maior teor em ácido oleico nas suas classes genotípicas (LEE et al., 2010).

Tyra et al. (2011) observaram frequências genotípicas diferentes em várias raças analisadas (Duroc, Pietrain, Puławska, Large White Polonês e Landrace Polonês) para o gene FABP3, em que a mutação localizada na região 5'UTR (*untranslated region*) identificada por meio da enzima *Hinfl* tinha um efeito sobre o aumento da expressão em animais FABP3 hh em comparação com as demais formas polimórficas nos músculos esqueléticos (*longissimus dorsi* e semimembranosos) e, no fígado causou uma diferenciação significativa ($P>0,05$) em animais homozigotos (HH e hh). A mutação localizada na região do íntron 2 através da enzima *HpaII* no gene FABP3, estes autores observaram diferenças na transcrição deste gene nos músculos esqueléticos, em que os animais Aa mostraram expressão significativamente maior ($P<0,05$) em comparação com animais AA.

3.4. Gene que codifica a enzima Acyl CoA: diacylglicerol acyltransferase (DGAT1)

O gene DGAT1 é mais expresso nos tecidos onde a formação de triglicerídeos é acentuada, como o tecido adiposo branco, intestino delgado e fígado (LI et al., 2012). Os triglicerídeos são um tipo de gordura, sendo a principal forma de armazenamento de energia dos animais, utilizada como reserva calórica para obtenção de energia em momentos de privação alimentar. Já a enzima acil CoA: diacylglicerol-aciltransferase atua no metabolismo do diacylglicerol celular nos processos fisiológicos que envolvem o triacylglicerol, como a absorção intestinal de

gordura, síntese de lipoproteína, formação de tecido adiposo e lactação (CASES et al., 1998).

Em suínos, o gene DGAT1 foi mapeado no cromossomo 4, compreende 9.618 pb, organizado em 17 éxons e têm funções similares em humanos e ratos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/397118>). Na grande maioria das espécies, esse gene codifica uma proteína de cerca de 500 aminoácidos com uma massa molecular de 55 kDa (YEN et al., 2008)

Nonneman e Rohrer (2002) mapearam o gene DGAT1 suíno no cromossomo 4 que contém QTL (locos de características quantitativas) para taxa de crescimento e gordura. O DGAT1 suíno codifica uma proteína de 547 aminoácidos e tem 85, 86 e 92% de identidade com a proteína de rato, humano e bovino, respectivamente. Essa identidade reflete principalmente na função desempenhada pela proteína, que provavelmente é semelhante entre eles. Neste sentido, estes autores relatam que alterações no gene DGAT1 de bovinos pode resultar na ausência de produção de leite e uma substituição no gene pode causar efeito na produção e conteúdo de gordura do leite.

Zhao et al. (2012) relataram maiores concentrações de triglicerídeos e ácidos graxos livres, bem como o conteúdo de gordura intramuscular (GI) em uma raça chinesa Banna Mini-pig Inbred Line (BMIL) selecionada para gordura em comparação com o BMIL magra. Os dados indicaram que, mais triglicerídeos e ácidos graxos livres a partir dos nutrientes podem ser adicionados ao tecido muscular da raça BMIL selecionada para gordura, o que leva a maior deposição GI.

Cui et al. (2011), ao compararem as raças de suínos Large White, Laiwu (Chinesa) e a Lulai Black (Large White X Laiwu), verificaram efeitos diferentes da quantidade expressa de mRNA do gene DGAT1 no toucinho, tecido muscular e fígado. Entretanto, a raça Large White apresentou maior expressão no toucinho e a raça chinesa Laiwu apresentou maior quantidade no tecido muscular e fígado. Esses autores, ainda obtiveram uma correlação positiva com a expressão do mRNA de DGAT1 no fígado com a espessura de toucinho nas raças Laiwu, Lulai Black e Large White, porém em ordem crescente entre as raças.

3.5. Gene Leptina e seu receptor (LEPR)

A leptina (do grego *leptos*= magro) é um hormônio (peso molecular de aproximadamente 16 kDa) constituído por 167 aminoácidos, sendo que os 21 aminoácidos iniciais assumem posição sinalizadora que sofre clivagem antes de ser secretada na corrente sanguínea (ZHANG et al., 1994; BARB et al., 2001).

Este hormônio é sintetizado e secretado principalmente pelos adipócitos (maior quantidade pelo tecido adiposo branco), cuja concentração está relacionada com a quantidade de tecido adiposo (MAFFEI et al., 1995; CHEHAB; LIM; LU, 1996; NEGRÃO; LICINIO, 2000; RESELAND, et al., 2001; SOUSA; BRÁS-SILVA; LEITE-MOREIRA, 2009). Contudo, a leptina também é expressa em outras regiões, assim como seus receptores OB-R: estômago (epitélio gástrico) (BADO, et al., 1998; FRIEDMANN; HALAAS, 1998; TRAYHURN, 2005), placenta (BADO, et al., 1998; FRIEDMANN; HALAAS, 1998; CHILLIARD; BONNET; DELAVAUD, 2001; TRAYHURN, 2005), tecido adiposo marrom (BADO, et al., 1998; TRAYHURN, 2005), coração, fígado (TRAYHURN, 2005), músculo esquelético (WANG et al., 1998; TAKEDA, et al., 2002; TRAYHURN, 2005) e glândula mamária (FRIEDMANN; HALAAS, 1998; SMITH-KIRWIN et al., 1998; TRAYHURN, 2005).

Ahima e Osei (2001) relataram que o aumento ou diminuição da alimentação ingerida por um indivíduo estão diretamente relacionados com a concentração de leptina e fatores como a variação de cada indivíduo, é determinante nessa concentração. Além disso, a produção e secreção desse peptídeo são reguladas através de células nervosas, nos próprios tecidos onde seus receptores são produzidos (HUAN et al., 2003; SOUSA; BRÁS-SIVA; LEITE-MOREIRA, 2009), cuja função é de bio-sinalização, ou seja, aumentam ou diminuem a ingestão alimentar (NEGRÃO; LICINIO, 2000).

O LEPR é expresso em diferentes regiões do cérebro que, por sua vez estão relacionadas com a regulação do balanço energético e ingestão alimentar (STELLAR, 1954; COLL; FAROOQI; O'RAHILLY, 2007; SALMAN; COSTA; POIANA, 2007; SOUSA; BRÁS-SIVA; LEITE-MOREIRA, 2009). Além disso, há presença de receptores da leptina também nos ovários, testículos e útero, onde podem desempenhar funções reprodutivas e de crescimento nos animais (TERMAN, 2005).

Em suínos, o LEPR foi mapeado no cromossomo 6 e compreende 51.994 pb, organizado em 18 éxons (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/396836>). Foram detectados vários polimorfismos (KOPECNÝ, STRATIL, CEPICA, 1997) associados à características econômicas, como deposição de gordura na carcaça (TYRA; ROPKA-MOLIK, 2011), gordura intramuscular (LI et al., 2010), espessura de toucinho (GALVE et al., 2012) e peso corporal (MUÑOZ et al., 2011).

No estudo de Tyra e Ropka-Molik (2011) foi observada uma alta correlação entre o nível de expressão do gene LEPR e os índices de gordura na carcaça e, nos músculos *Longissimus dorsi* e semimembranoso (lombo e pernil). Por outro lado, o nível de transcrição desse gene não demonstrou efeito sobre o conteúdo de GI nos músculos analisados.

Em estudo realizado por Galve et al. (2012) em suínos cruzados (Duroc x Landrace/Large White) avaliando os efeitos do polimorfismo do gene da LEPR na conformação de carcaça, infiltração de gordura e produção do presunto “*jamón*”, foram descritas algumas características decorrentes da mutação LEPRc.1987C>T: efeito positivo nos cortes ricos em gordura (ex: barriga), espessura de toucinho medido em dois lugares anatômicos (5ª lombar e 4ª torácica), reforçada camada de gordura (gordura intramuscular) na paleta e pernil (peças importantes para indústria de carne curada) e efeito negativo em cortes ricos em músculo (ex: lombo). Entretanto, foi observado um aumento de tecido adiposo subcutâneo no pernil e paleta de 8% e 24%, respectivamente, em suínos com o genótipo TT, favoráveis à produção de produtos curados de alta qualidade. A gordura intramuscular no lombo (*longissimus dorsi*) de suínos com o genótipo TT apresentou 12,8% a mais, resultando numa melhor matéria-prima para a cura. Em contrapartida, os lombos apresentaram-se mais leves (cerca de 5,6%) e maior teor de gordura (cerca de 6%).

Pérez-Montarelo et al. (2013) identificaram a isoforma curta do receptor da leptina (LEPRa) em suínos, que é homóloga à isoforma humana, a qual codifica uma proteína deficiente em resíduos intracelulares responsáveis pelo sinal de tradução. Foram detectados 16 polimorfismos na região promotora do LEPR, onde um desses revelou uma alta expressão diferencial no fígado para a isoforma LEPRa. Este dado sugere que essa isoforma específica é regulada por este tecido. A expressão da LEPR global foi encontrada na gordura e fígado condicionada ao genótipo

LEPRc.1987C>T, onde o alelo C, em ambos os tecidos, aumentam a expressão global do gene LEPR, assim como, para as isoformas LEPRb, detectada no hipotálamo, e a isoforma LEPRa, no fígado.

Em suínos mestiços (Duroc x Ibérica), Munõz et al. (2011) observaram efeitos significativos para as principais características de qualidade e produção, sendo influenciadas pelo sexo na linhagem Duroc. A mutação LEPR (SNPg.2002C>T) aumentou o peso corporal aos 225 dias, espessura de toucinho em 130 kg e menor rendimento de cortes nobres, em relação ao peso da carcaça. Também aumentou os ácidos graxos saturados ($0,60 \pm 0,12\%$) e diminuiu os ácidos graxos monossaturados ($-0,35 \pm 0,12\%$) e poliinsaturados ($-0,25 \pm 0,06\%$) em amostras de toucinho.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem e colheita de sangue

Foi coletado sangue periférico de três grupos genéticos (GG) de suínos, sendo GG1 formado por 77 animais, de ambos os sexos, da raça nativa brasileira Piau, oriundos da Fazenda da UNIUBE – Uberaba/MG, GG2 e GG3 formados por linhagens maternas comerciais, sendo GG2 (LWLD) por 113 animais, resultante do cruzamento da Large White e Landrace Dinamarquesas e GG3 (LLJM) por 114 animais, provenientes do cruzamento de duas raças europeias (Large White e Landrace) com duas raças chinesas (Jiaxing e Meishan) pertencentes à Fazenda Granja GRINPISA Investimentos Privados S/A – Uberlândia/MG.

O sangue foi colhido de animais vivos por punção na parte superior da orelha em papel de filtro estéril – FTA (*Whatman*, 55 mm) fixado em envelopes de papel cartão. Este foi colhido utilizando-se lancetas estéreis OneTouch® UltraSoft™ ponta fina, calibre 28 mm (*Johnson & Johnson*). Os animais do grupo genético Piau foram contidos pelos tratadores com o uso de cachimbos adequados. Efetuou-se, então, a punção lentamente da veia, a fim de evitar hemólise. O volume total das amostras coletadas variou até o preenchimento do círculo no FTA (Figura 1).



Figura 1. Colheita de sangue em suínos em papel de filtro estéril (FTA).

Todas as informações dos animais (sexo, raça e idade) e de seus proprietários ou lugar, foram anotadas no envelope de cada amostra e posteriormente cadastradas em planilhas para controle. Após a colheita e secagem do sangue, os envelopes foram dobrados para garantir a integridade da amostra,

acondicionados em sacos de polietileno na posição vertical, levados até o laboratório, separados por cada grupo genético e armazenados em temperatura ambiente para posterior análise.

4.2. Análise laboratorial

As análises foram realizadas por serviço terceirizado, pelo Laboratório Medgen Tecnologia Avançada em DNA, Uberlândia/MG.

4.2.1. Extração de DNA

Foram extraídos DNA de 304 amostras de sangue total, coletadas em cartões FTA e manipuladas utilizando o protocolo WhatmanTM FTATM for blood DNA (2015), modificado por MEDGEN – Agronegócio. Para tanto, 25% do círculo de papel contendo a amostra de sangue foi transferido do envelope de papel cartão para um microtubo de 1,5 mL e, em seguida, foram adicionados 150 µL de TLN (tampão de lise nuclear), 5 µL de SDS 10% (dodecil sulfato de sódio), 2 µL de proteinase K (20mg/mL) e a amostra foi então incubada *overnight* à 60°C.

Após a incubação, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 2.862 ×g, e o sobrenadante transferido para um novo tubo de 1,5 mL (*pellet* descartado). Em seguida, foram adicionados 30 µL de NaCl saturado (6 M), sendo as amostras agitadas no *vortex* e centrifugadas por 10 min a 2.862 ×g. O sobrenadante foi transferido para novo tubo de 1,5 mL e 300 µL de etanol absoluto foram adicionados, e a amostra misturada por inversão, sendo aguardado um período de 20 a 30 min para precipitação do DNA. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 10.500 ×g obtendo-se um *pellet* de coloração clara. O sobrenadante foi descartado e os tubos invertidos em papel toalha até secagem total das amostras, aproximadamente 30 min. O DNA foi ressuspenso em 100 µL de H₂O ultrapura (MilliQ).

4.2.2. Desenho dos *primers*

Foram desenhados 3 *primers* utilizando as sequências de DNA depositadas no banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para cada um dos genes MC4R (GenBank Ac: AF087937), FABP3 (GenBank Ac: JN646857), DGAT1 (GenBank Ac: GI47522917) e LEPR (GenBank Ac: GQ268934). Os *primers* apresentados na Tabela 1 foram desenhados por meio do programa *Primer3* (<http://frodo.wi.mit.edu/edu/primer3/>) e sua qualidade foi verificada por meio do programa OligoAnalyzer 3.1(<http://www.idtdna.com/calc/analyzer>).

Tabela 1. *Primers* desenhados para amplificar regiões-alvo dos genes MC4R, FABP3, DGAT1, LEPR e a sonda M13.

Genes	<i>Primers</i>	Produto de PCR
MC4R	D*: 5' TAC CCT GAC CAT CTT GAT TG 3' RMUT*: 5' <u>ACT CAT CGG AAT CGT ATG</u> GAG TGC ATA AAT CAG GGG ATC 3' R*: 5' <u>GTC AAG ATG CTA CCG TTC</u> GAG TGC ATA AAT CAG GGG ATT 3'	196 pb
FABP3	D*: 5' <u>GTC AAG ATG CTA CCG TTC</u> CTA GCC CAG CCT CAC CAT GGT 3' DMUT*: 5' <u>ACT CAT CGG AAT CGT ATG</u> CTA GCC CAG CCT CAC CAT GGC 3' R*: 5' TGA GTC CCC ATT CAC TTC GAT G 3'	183 pb
DGAT1	D*: 5' <u>GTC AAG ATG CTA CCG TTC</u> AGC CAG CGC CCC CGG TCC 3' DMUT*: 5' <u>ACT CAT CGG AAT CGT ATG</u> AGC CAG CGC CCC CGG TCT 3' R*: 5' CTG TGC CTG CCT GCC ATC: 5'	143 pb
LEPR	D*: 5' GTG ATA ACT GCA TTT GAC TTG GC 3' R*: 5' <u>GTC AAG ATG CTA CCG TTC</u> AGT TTG ATA AGT AGG TAC CAC TTA T 3' RMUT*: 5' <u>ACT CAT CGG AAT CGT ATG</u> AGT TTG ATA AGT AGG TAC CAC TTG A 3'	209 pb

*D: *primer* direto; R: *primer* reverso; RMUT: *primer* reverso para a troca de nucleotídeo; DMUT: *primer* direto para a troca de nucleotídeo.
Em sublinhado encontram-se as sondas: M13 – FAM: 5' GTC AAG ATG CTA CCG TTC 3'; M13 – NED: 5' ACT CAT CGG AAT CGT ATG 3'

4.2.3. Amplificação de DNA (ARMS-PCR)

As amostras de DNA extraídas foram submetidas à técnica de sistema de amplificação refratária da mutação ARMS-PCR (*Multiplex Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction*) para amplificação dos fragmentos de interesse dos genes em estudo.

As soluções *mix* para a ARMS-PCR foram preparadas com um volume final de 20 µL, contendo 1,0 µL de DNA (20 ng/µL), 1,0 µL dos *primers* (2 pmol), 2,0 µL de tampão 10X, 0,6 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,4 µL de dNTPs (200 µM), 0,8 µL de M13-NED (100 pmol), 0,8 µL de M13-FAM (100 pmol), 0,4 µL da DNA polimerase *Taq Platinum* (Life Technologies) (2 U/µL) e 13 µL de H₂O ultrapura.

As reações e a padronização da temperatura ideal de amplificação foram realizadas em termociclador Veriti® (Life Technologies). Os ciclos de amplificação consistiram de: 94°C por 30 segundos para desnaturação inicial do DNA, 58°C por 30 segundos para o anelamento dos *primers* e 72°C por 1 minuto para extensão da nova fita de DNA. Este ciclo repetiu-se por 15 vezes, seguido de um segundo programa: 94°C por 30 segundos para desnaturação, 53°C por 30 segundos para o anelamento dos *primers*, 72°C por 1 minuto para extensão. Este ciclo repetiu-se 25 vezes e em seguida as amostras foram mantidas a 72°C por 10 minutos para extensão final.

4.2.4. Genotipagem e obtenção dos perfis genéticos

A genotipagem foi realizada por oligos fluorescentes, onde foram utilizados 1µL dos produtos amplificados da reação Multiplex-PCR diluídos em 8 µL de Formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems) e 0,3 µL de LIZ® 600 (Applied Biosystems). Em seguida as amostras foram desnaturadas a 95°C por 5 minutos, resfriadas por 10 minutos a -20°C e introduzidas no sequenciador automático ABI 3500 (Applied Biosystems) para eletroforese capilar. Os fragmentos obtidos foram analisados com o programa GeneMaker 3.0 (), para edição dos dados e caracterização das sequências de nucleotídeos de cada marcador do painel lipoprotéico sendo que o conjunto das amplificações resultou no perfil genético de cada animal.

4.2.5. Descrição dos dados fenotípicos

Nas características fenotípicas foram utilizadas apenas as observações de dois grupos genéticos, sendo GG2 (LWLD) – 113 matrizes e GG3 (LLJM) – 114 matrizes, pois na maioria das criações de suínos nativos, como o Piau, não há registros fenotípicos. As médias de produtividade foram entre os anos 2012 e 2014

até o quarto parto de 227 fêmeas suínas. A estrutura descritiva dos dados avaliados pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2. Estatísticas descritivas dos dados de produtividade para fêmeas suínas de dois grupos genéticos.

		Parâmetros	
Características	Nº Observações	Média	Desvio-padrão
GG2 – LWLD**			
IPC (dias)	97	238,10	7,64
NDES (nº)	418	11,28	3,67
IDP (dias)	338	148,19	10,50
PMN (kg)	437	1,49	0,06
PMD (kg)	442	5,56	0,78
PTLN (kg)	441	19,33	5,14
PTLD (kg)	435	60,63	24,86
GG3 – LLJM**			
IPC (dias)	93	238,87	7,19
NDES (nº)	415	11,58	3,29
IDP (dias)	339	148,56	12,44
PMN (kg)	438	1,48	0,08
PMD (kg)	425	5,77	0,67
PTLN (kg)	445	19,22	4,18
PTLD (kg)	425	66,04	21,49

IPC = idade a primeira cobertura; NDES = número de desmamado; IDP = intervalo entre parto; PMN = peso médio ao nascimento; PTLN = peso total da leitegada ao nascimento; PTLD = peso total da leitegada ao desmame.

**GG2 – LWLD = Large White e Landrace; GG3 – LLJM = Large White, Landrace, Jiaxing e Meishan.

4.3. Análise estatística

4.3.1. Frequência alélica e genotípica

As frequências alélicas nos SNPs genotipados foram calculadas por meio de contagem alélica simples (Falconer e Mackay, 1996).

Para verificar se os genótipos estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi considerado um gene com dois alelos “A” e o alelo “B”, com frequência gênica p e q, respectivamente. Foi utilizado o teste do qui-quadrado (X^2) com nível de significância $P < 0,05$.

As frequências alélicas, genotípicas e teste do X^2 para aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg foram estimadas conforme procedimento descrito por Weir (1990), Salman (2007), Hartl e Clark (2010), cujas equações estão descritas a seguir:

a) Frequência gênica ou alélica (f):

$$\hat{p}(A) = \frac{2N_{AA} + N_{AB}}{2N}$$

$$\hat{q}(B) = \frac{2N_{BB} + N_{AB}}{2N}$$

b) Frequência genotípica (F):

$$F(AA) = \frac{N_{AA}}{N}$$

$$F(AB) = \frac{N_{AB}}{N}$$

$$F(BB) = \frac{N_{BB}}{N}$$

c) Teste do χ^2 para o equilíbrio de Hardy-Weinberg (H-W):

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(o - e)^2}{e} \right]$$

Em que:

N_{AA} = nº de animais de genótipo AA

N_{BB} = nº de animais de genótipo BB

N_{AB} = nº de animais de genótipo AB

N = nº total de animais da amostra

$\hat{p}(A)$ = frequência do alelo A

$\hat{q}(B)$ = frequência do alelo B

o = frequência observada

e = frequência esperada

4.3.2. Análises de associação entre os polimorfismos e as características de produção e reprodução

As medidas fenotípicas das características de número de desmamados (NDES), peso médio ao nascimento (PMN), peso médio a desmama (PMD), peso total da leitegada ao nascimento (PTLN), peso total da leitegada ao desmame (PTLD), idade a primeira cobertura (IPC), intervalo de parto (IDP) foram avaliadas em um modelo misto, aplicando-se uma análise de medidas repetidas no tempo. No caso, de se apresentar função de densidade em variáveis aleatórias contínuas foi utilizado o procedimento MIXED do SAS (2000) com a opção *repeated*. Como medida repetida, considerou-se a ordem de parto. Os dados foram analisados com o seguinte modelo linear generalizado:

$$Y_{ijkl} = \mu + I(gen) + NV + OP + NDES + IPC + IDP + e$$

Em que:

Y = variável dependente (peso médio ao nascimento, peso médio a desmama, peso total da leitegada ao nascimento, peso total da leitegada ao desmame);

μ = média geral para a população para as características;

$I(gen)$ = efeito aleatório do indivíduo, aninhado no genótipo (AA, AB, BB);

NV = efeito fixo do número de nascidos vivos;

OP = efeito fixo da ordem de parto (1, 2, 3, 4);

$NDES$ = efeito fixo do número de desmamado;

IPC = efeito fixo da idade à primeira cobertura;

IDP = efeito fixo do intervalo de parto;

e = erro aleatório.

No caso de se apresentar função de densidade em variáveis aleatórias discretas foi utilizado o procedimento GENMOD do SAS (2000) com a opção *repeated*. Como medida repetida, considerou-se a ordem de parto. Os dados foram analisados com o seguinte modelo linear generalizado, com distribuições da família exponencial:

$$Y_{ijkl} = \mu + I(\text{gen}) + NV + NM + MM + PMN + PMD + OP + NDES + IPC + e$$

Em que:

Y = variável dependente (número de desmamados; idade a primeira cobertura; intervalo de parto);

μ = média geral para a população para as características;

$I(\text{gen})$ = efeito aleatório do indivíduo, aninhado no genótipo (AA, AB, BB);

NV = efeito fixo do número de nascidos vivos;

NM = efeito fixo do número de nascidos mortos;

MM = efeito fixo do número de mumificados;

PMN = efeito fixo do peso médio ao nascer;

PMD = efeito fixo do peso médio ao desmame;

OP = efeito fixo da ordem de parto (1, 2, 3, 4);

$NDES$ = efeito fixo do número de desmamado;

IPC = efeito fixo da idade à primeira cobertura;

e = erro aleatório.

Na escolha da estrutura de (co) variância dos resíduos mais adequados foram utilizados os critérios de informação de Akaike (AIC) e Bayesiano de Schwarz (BIC) (WOLFINGER, 1993).

Os efeitos de substituição alélica e dominância foram estimados utilizando o mesmo modelo misto, no entanto, incluindo o efeito de genótipo como covariável. Para o efeito de substituição alélica, os genótipos foram indicados como 0, 1 e 2 para AA, AB e BB, respectivamente, correspondendo ao número de genes B no genótipo, e para o efeito de dominância os genótipos foram indicados como -1, 0 e +1, o que corresponderia aos valores designados $-a = -1$, $d = +a = +1$ para dominância completa, tal que o grau de dominância = $d/a = 1$. No modelo genético em que o genoma incorpora efeitos de dominância, essa dominância é do tipo completa e no sentido positivo ou do alelo favorável ($d/a = +1$), isto é, o valor genotípico do indivíduo heterozigoto é idêntico ao do homozigoto favorável. Para a estimativa dos efeitos de dominância, os valores atribuídos ($-a$, d e $+a$) referentes

aos genótipos AA, AB e BB foram calculados como desvios da média dos genótipos homozigotos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Amplificação e sequenciamento

A partir dos experimentos de ARMS-PCR Multiplex, os polimorfismos foram identificados pela presença de dois picos de cores diferentes no eletroferograma em indivíduos heterozigotos e por um pico, porém de cor diferente, para cada homozigoto em cada gene na população. A Tabela 3 apresenta os polimorfismos encontrados em cada gene nos grupos genéticos estudados.

Tabela 3. Caracterização dos polimorfismos identificados nos genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR para cada grupo genético estudado.

Genes	Posição dos SNPs*	Região	Grupos genéticos***		
			GG1 – Piau (77)	GG2 – LWLD (113)	GG3 – LLJM (114)
MC4R	SNPg.1578C>T	éxon 2	CC, CT, TT	CC, CT, TT	CC, CT, TT
FABP3	SNPg.-240T>C	5'UTR**	TT, TC, CC	TT, TC, CC	TT, TC, CC
DGAT1	SNPg.9422C>T	éxon 17	CC, TT	CC, CT, TT	CC, TT
LEPR	SNPg.5396A>G		GG	GG, AG	GG
	SNPg.5395T>A	éxon 2	AA	AA, TA	AA

*SNPs: Single nucleotide polymorphisms

**UTR: untranslated region

***GG1 – Piau = raça nativa brasileira; G2 – LWLD = Large White e Landrace; GG3 – LLJM = Large White, Landrace, Jiaying e Meishan.

Foram encontrados polimorfismos do tipo SNP no gene MC4R (SNPg.1578C>T) e FABP3 (SNPg.-240T>C) para os três grupos genéticos analisadas com as três variações genotípicas, os homozigotos (CC, TT e TT, CC respectivamente) e heterozigotos (CT e TC respectivamente). O SNP (SNPg.9422C>T) do gene DGAT1 apresentou as três variações genotípicas no grupo genético de suínos LWLD. Entretanto, para os grupos genéticos Piau e LLJM apresentaram apenas as duas variações genotípicas de homozigotos (CC e TT). Para o gene LEPR (SNPg.5396A>G e SNPg.5395T>A) o grupo genético LWLD apresentou duas variações genotípicas homozigoto (GG, AA) e heterozigoto (AG e TA); e o LLJM e Piau apenas o genótipo GG e AA.

5.2. Frequências alélicas e genotípicas

Na Tabela 4 verificam-se as frequências alélicas e genotípicas e o X^2_{obs} para os SNPs identificados nos genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C), DGAT1 (SNPg.9422C>T) e LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A) nos grupos genéticos GG1 – Piau, GG2 – LWLD e GG3 – LLJM.

Tabela 4. Número de animais analisados, frequência alélica, frequência genotípica observada, frequência genotípica esperada segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg e valores observados da estatística do teste (X^2_{obs}) para os genes MC4R, FABP3, DGAT1 e LEPR nos grupos genéticos de suínos estudados.

Genes	MC4R (SNPg.1578C>T)	FABP3 (SNPg.-240T>C)	DGAT1 (SNPg.9422C>T)	LEPR (SNPg.5396A>G SNPg.5395T>A)
GG1 – Piau⁺				
Nº Animais	77	77	77	77
Frequência alélica	C = 0,28 T = 0,72	T = 0,12 C = 0,88	C = 0,97 T = 0,03	A, T = 0,01 G, A = 0,99
Frequência genotípica observada	CC = 0,04 (3) CT = 0,48 (37) TT = 0,48 (37)	TT = 0,04 (3) TC = 0,16 (12) CC = 0,81 (62)	CC = 0,97 (75) CT = 0 TT = 0,03 (2)	AA, TT = 0 (0) AG, TA = 0 (0) GG, AA = 1 (77)
Frequência genotípica esperada segundo o equilíbrio HW.	CC = 0,08 (6) CT = 0,40 (31) TT = 0,52 (40)	TT = 0,01 (1) TC = 0,21 (16) CC = 0,78 (60)	CC = 0,94 (72) CT = 0,06 (5) TT = 0 (0)	AA, TT = 0 (0) AG, TA = 0 (0) GG, AA = 1 (77)
X^2_{obs}	2,89	5,07*	—**	—**
GG2 – LWLD⁺				
Nº Animais	110	113	113	112
Frequência alélica	C = 0,33 T = 0,67	T = 0,20 C = 0,80	C = 0,88 T = 0,12	A, T = 0,01 G, A = 0,99
Frequência genotípica observada	CC = 0,07 (8) CT = 0,51 (56) TT = 0,42 (46)	TT = 0,03 (3) TC = 0,34 (39) CC = 0,63 (71)	CC = 0,83 (94) CT = 0,09 (10) TT = 0,08 (9)	AA, TT = 0 (0) AG, TA = 0,01 (1) GG, AA = 0,99 (111)
Frequência genotípica esperada segundo o equilíbrio HW.	CC = 0,11 (12) CT = 0,44 (49) TT = 0,45 (49)	TT = 0,04 (5) TC = 0,32 (36) CC = 0,64 (72)	CC = 0,77 (87) CT = 0,21 (24) TT = 0,02 (2)	AA, TT = 0 (0) AG, TA = 0,02 (2) GG, AA = 0,98 (110)
X^2_{obs}	2,48	1,06	33,23*	—**
GG3 – LLJM⁺				
Nº Animais	103	108	114	113
Frequência Alélica	C = 0,42 T = 0,58	T = 0,12 C = 0,88	C = 0,98 T = 0,02	A, T = 0,01 G, A = 0,99
Frequência genotípica observada	CC = 0,13 (13) CT = 0,58 (60) TT = 0,29 (30)	TT = 0,02 (2) TC = 0,19 (21) CC = 0,79 (85)	CC = 0,98 (112) CT = (0) TT = 0,02 (2)	AA, TT = 0 (0) AG, TA = 0 (0) GG, AA = 1 (113)
Frequência genotípica esperada segundo o equilíbrio HW.	CC = 0,18 (19) CT = 0,49 (50) TT = 0,33 (34)	TT = 0,02 (2) TC = 0,21 (23) CC = 0,77 (83)	CC = 0,96 (109) CT = 0,04 (5) TT = 0 (0)	AA, TT = 0 (0) AG, TA = 0 (0) GG, AA = 1 (113)
X^2_{obs}	4,36*	0,22	—**	—**

Os valores entre parênteses correspondem ao número de animais para cada genótipo identificado.

* X^2_{obs} : Qui-Quadrado observado, valores maiores que 3,84 são estatisticamente significativos ($P < 0,05$).

**Para o gene LEPR e DGAT1 não foi calculado o X^2_{obs} , quando os genótipos apresentaram frequência genotípica igual a 0.

*GG1 – Piau = raça nativa brasileira; G2 – LWLD = Large White e Landrace; GG3 – LLJM = Large White, Landrace, Jiaxing e Meishan.

5.2.1. Gene MC4R (SNPg.1578C>T)

Para o SNPg.1578C>T do gene MC4R observou-se maior frequência do alelo T em relação ao alelo C para os três grupos genéticos avaliados. O genótipo mais frequente para os grupos genéticos Piau e LWLD foi o homozigoto TT (52% e 45%, respectivamente). No entanto, o grupo genético LLJM apresentou frequência genotípica mais elevada para o heterozigoto CT (49%). Para o teste da probabilidade das proporções do gene MC4R, não se rejeitou a hipótese de nulidade que as frequências genotípicas observadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg a um nível de significância de 5%. Esse resultado indicou que o SNPg.1578C>T do gene MC4R encontra-se em equilíbrio nos grupos genéticos LWLD e Piau. Possivelmente, a frequência gênica inicial do SNP não foi alterada na raça Piau, devido ao fato de que esses animais apresentam maior teor de gordura que é um parâmetro adaptativo relacionado a esse gene, mantendo esse inalterado na população.

5.2.2. Gene FABP3 (SNPg.-240T>C)

Para o SNPg.-240T>C do gene FABP3 observou-se três padrões de genótipos, porém o homozigoto CC apresentou maior frequência nos três grupos genéticos analisados (78% Piau, 64% LWLD e 77% LLJM). Para o teste da probabilidade das proporções, não se rejeitou a hipótese de nulidade que as frequências genotípicas observadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg a um nível de significância de 5%. Esse resultado indicou que o SNPg.-240T>C encontra-se em equilíbrio nos grupos genéticos LWLD e Piau.

Tyra et al. (2011) observaram frequências genotípicas diferentes em várias raças analisadas (Duroc, Pietrain, Puławska, Large White Polonês e Landrace Polonês) para o gene FABP3, em que a mutação localizada na região 5'UTR identificada por meio da enzima *HinfI* tinha um efeito sobre o aumento da expressão em animais hh em comparação com as demais formas polimórficas nos músculos esqueléticos e, no fígado causou uma diferenciação significativa ($P < 0,05$) em

animais homozigotos (HH e hh). Outra mutação localizada na região do íntron 2 por meio da enzima *HpaII*, estes autores observaram diferenças na transcrição deste gene nos músculos esqueléticos, em que os animais Aa apresentaram expressão significativamente maior ($P < 0,05$) em comparação com animais AA.

Portanto, a seleção para aumentar a carne magra no grupo genético LWLD, como para as características reprodutivas, tais como número de leitões, não alteraram a frequência gênica inicial do gene que expressa a proteína FABP3. Além disso, o gene FABP3 está relacionado com características organolépticas favoráveis à qualidade de carne, como maior teor de gordura intramuscular. De um modo geral, podemos dizer que a seleção das linhagens maternas industriais para aumentar a carne magra e o número de leitões nascidos concomitantemente foi favorável, pois a seleção aplicada pode aumentar o percentual de gordura intramuscular sem aumento de gordura subcutânea.

5.2.3. DGAT1 (SNPg.9422C>T)

Para o SNPg.9422C>T do gene DGAT1, o alelo C apresentou frequência superior, com 97%, 88% e 98% em relação ao alelo T para os grupos genéticos Piau, LWLD e LLJM, respectivamente. Maiores frequências do genótipo homozigoto CC foram observadas para todas as populações analisadas, no entanto, as populações GG1 – Piau e GG3 – LLJM, apresentaram apenas dois padrões de genótipos, homozigotos CC (94% e 96% respectivamente) e heterozigotos CT (6% e 4% respectivamente). O grupo genético LWLD apresentou os três padrões de genótipos (CC = 77%; CT = 21%; TT = 2%).

O teste do qui-quadrado nos grupos genéticos Piau e LWLD não foi possível calcular, pois alguns genótipos tem frequência esperada igual à zero, que é denominador da razão do qui-quadrado. Além disso, o alelo C do gene DGAT1 está praticamente fixo nas populações, logo se rejeita a hipótese de nulidade que as frequências genotípicas observadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,05$).

Este resultado indica que provavelmente, devido à estrutura genética da população, esta se encontra em processo intenso de seleção, no caso dos grupos

genéticos LWLD e LLJM, oriundas do plantel de granjas núcleo e multiplicador, causando a alteração da frequência gênica inicial. Nos programas de melhoramento genético para linhagens maternas além de características reprodutivas também são consideradas outras relacionadas, como menor espessura de toucinho, aumento dos kg de carne produzidos por matriz por ano, aumento do ganho de peso médio diário.

Neste sentido, Cui et al. (2011) ao comparar três raças de suínos Large White, Laiwu (Chinesa) e a Lulai Black (Large White X Laiwu), verificaram diferentes efeitos da quantidade mRNA do gene DGAT1 expressa de no toucinho, tecido muscular e fígado. Entretanto, a raça Large White apresentou maior expressão no toucinho e a raça chinesa Laiwu apresentou maior expressão nos tecidos muscular e fígado. Esses autores, ainda obtiveram uma correlação positiva com a expressão no fígado com a espessura de toucinho nas três raças de suínos, em que a raça Laiwu apresentou maior expressão seguida da Lulai Black e Large White.

5.2.4. LEPR (SNPg.5396A>G; SNPg.5395T>A)

Em relação aos polimorfismos do gene LEPR, não se encontrou a variação dos genótipos para o gene LEPR (SNPg.5396A>G e SNPg.5395T>A), demonstrando que está fixo, já que apresenta apenas um padrão de genótipo (GG, AA) para todas as populações, sendo que, na linhagem materna LWLD apenas um animal apresentou genótipo AG. Isso demonstrou inexistência de variabilidade dentro das populações para estes alelos, provavelmente por via da recombinação e seleção para linhagens maternas para baixa espessura de toucinho e, menor consumo de ração, por exemplo. Portanto, alelos menos favoráveis, são eliminados ou se encontram em frequências muito baixas, em detrimento de outros alelos onde sua frequência pode chegar a 1, ou seja, resultar em fixação do alelo favorável e/ou mais adaptativo na população. Em relação ao grupo genético Piau, trata-se de populações pequenas e isoladas, que por deriva genética devido à reprodução consanguínea pode provocar perdas de alelos que por sua vez, tenha sofrido mudanças adaptativas, e tendem a formar populações homozigotas.

Pode-se explicar a presença de um único alelo nos grupos genéticos de linhagens maternas comerciais, devido à função da leptina e sua atuação através da

ligação ao receptor. O receptor da leptina (LEPR) se expressa em diferentes regiões do cérebro que por sua vez, estão relacionadas com a regulação do balanço energético e ingestão alimentar (STELLAR, 1954; COLL; FAROOQI; O'RAHILLY, 2007; SOUSA; BRÁS-SIVA; LEITE-MOREIRA, 2009). Além disso, há presença de receptores da leptina também nos ovários, testículos e útero, onde podem desempenhar funções reprodutivas e de crescimento nos animais (TERMAN, 2005). Assim, os genes responsáveis pelas características de interesse econômico, através da seleção nestas populações, tende a aumentar a frequência dos alelos mais favoráveis e/ou eliminarem alelos desfavoráveis intensificando a homozigose.

Neste sentido, Galve et al. (2012) realizaram estudo na Espanha em suínos cruzados (Duroc x Landrace/Large White) sobre os efeitos de um polimorfismo no gene LEPR na conformação de carcaça, infiltração de gordura e produção do presunto "jamón". Os autores descreveram aumento de tecido adiposo subcutâneo no pernil e paleta de 8% e 24% respectivamente em suínos TT, favoráveis a produção de produtos curados de alta qualidade organoléptica. A gordura intramuscular no lombo TT apresentou 12,8% a mais, resultando em melhor matéria-prima para a cura. Em contrapartida, os lombos apresentaram consequências econômicas negativas como menor peso (cerca de 5,6%) e com maior teor de gordura (cerca de 6%).

5.3. Associação entre os polimorfismos e as características de produção e reprodução: análise de variância

Para os SNPg.5396A>G e SNPg.5395T>A do gene LEPR não foi possível analisar os efeitos de associações com as características devido à ausência de variação dos genótipos, como demonstrado previamente. Na Tabela 5 está descrita a relação das possíveis associações entre os SNPs dos genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C) e DGAT1 (SNPg.9422C>T) identificados nos grupos genéticos de suínos GG2 – LWLD e GG3 – LLJM com as características PMN, PMD, PTLN, PTLD, NDES, IPC, IDP.

Tabela 5. Médias dos quadrados mínimos e desvio-padrão para as características peso médio ao nascimento (PMN), peso médio a desmama (PMD), peso total da leitegada ao nascimento (PTLN), peso total da leitegada ao desmame (PTLD), número de desmamados (NDES), idade à primeira cobertura (IPC) e intervalo de parto (IDP) em função dos genótipos do MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C) e DGAT1 (SNPg.9422C>T) nos grupo genéticos de suínos LWLD (Large White e Landrace) e LLJM (Large White, Landrace, Jiaxing e Meishan).

Genes		Características						
Genótipos		GG2 – LWLD						
		PMN	PMD	PTLN	PTLD	NDES	IPC	IDP
MC4R	CC (8)	1,47±0,01	5,27±0,33	18,01±0,16	56,87±2,04	10,30±0,89	251,80±4,66	146,70±3,66 ^b
	CT (56)	1,49±0,01	5,33±0,27	17,97±0,08	58,34±0,86	10,16±0,68	252,84±3,98	144,06±2,5 ^a
	TT (46)	1,48±0,01	5,33±0,30	17,88±0,09	57,99±0,95	10,54±0,74	250,96±4,11	144,82±2,60 ^{ab}
FABP3	TT (3)	1,50±0,02	5,39±0,36	18,01±0,25	54,26±4,73	9,67±0,93	250,95±5,29	141,65±4,41
	TC (39)	1,48±0,01	5,35±0,28	17,92±0,14	53,37±3,85	10,02±0,47	254,17±4,41	147,71±2,56
	CC (71)	1,49±0,01	5,35±0,27	17,99±0,13	52,76±3,74	10,17±0,43	253,59±4,44	145,76±2,58
DGAT1	CC (94)	1,48±0,01	5,20±0,27 ^a	18,16±0,19	47,11±4,47 ^a	10,15±0,43	252,18±3,84 ^a	144,62±2,47 ^a
	CT (10)	1,48±0,01	5,39±0,26 ^{ab}	17,92±0,19	50,64±4,24 ^{ab}	10,08±0,59	251,71±4,04 ^a	143,50±3,15 ^a
	TT (9)	1,50±0,01	5,55±0,27 ^b	18,21±0,20	52,75±4,47 ^b	9,83±0,70	263,29±4,20 ^b	147,80±3,33 ^b
		GG3 – LLJM						
MC4R	CC (13)	1,51±0,02	5,86±0,28	18,73±0,46	61,78±2,21	9,46±0,55 ^a	243,70±1,91 ^a	152,65±2,71 ^b
	CT (60)	1,49±0,01	6,09±0,24	18,35±0,28	62,85±1,74	10,17±0,44 ^b	238,96±1,47 ^b	146,59±2,05 ^a
	TT (30)	1,48±0,02	6,18±0,26	18,01±0,35	62,60±1,91	10,04±0,48 ^b	239,96±1,60 ^b	146,18±2,26 ^a
FABP3	TT (2)	1,52±0,04	6,29±0,35	17,93±1,34	71,55±6,14	10,43±1,03	232,00±4,22 ^a	146,07±5,51 ^{ab}
	TC (21)	1,49±0,02	5,94±0,15	17,74±0,37	63,72±2,94	10,21±0,35	241,43±1,30 ^b	145,33±2,41 ^a
	CC (85)	1,50±0,01	5,98±0,15	18,46±0,25	63,04±2,91	10,27±0,28	241,98±0,65 ^b	147,45±2,06 ^b
DGAT1	CC (112)	1,48±0,01	5,88±0,11	18,19±0,25	63,82±1,85	9,95±0,42	239,79±1,73	145,94±2,22
	TT (2)	1,46±0,03	5,99±0,27	19,01±0,98	66,69±3,93	9,76±0,94	234,07±4,71	145,08±5,85

a, b letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada gene, indicam diferenças estatisticamente significantes (P<0,05), pelo teste de Tukey-Kramer.

5.3.1. Gene MC4R (SNPg.1578C>T)

As médias das características avaliadas com o SNPg.1578C>T do gene MC4R foram significativas para o intervalo de parto (IDP) nos grupos genéticos LWLD e LLJM, o número de desmamados (NDES) e idade à primeira cobertura (IPC) apenas no grupo genético LLJM. As médias do NDES, IPC e IDP entre os genótipos foram estatisticamente diferentes ($P < 0,05$), sendo que animais CC apresentaram as maiores médias para o IPC e IDP nos dois grupos genéticos e menor média para o NDES no LLJM.

A idade à primeira cobertura tem grande importância no plantel de uma granja, pois as leitoas representam uma grande proporção, ao passo que a primeira cobertura pode influenciar a eficiência reprodutiva do rebanho (CAVALCANTE NETO et al., 2008; ROTAVA, 2014), causando descarte precoce e aumento dos dias não produtivos. De acordo com Whittmore e Kyriazakis (2006), a seleção de genótipos para carne magra e aumento da prolificidade pode ter causado consequências nas matrizes, em especial fêmeas primíparas, como problemas reprodutivos, principalmente pela redução da deposição lipídica. Do mesmo modo, o aumento do número de leitões nascidos por parto afeta diretamente o peso ao nascimento, a maior variabilidade do peso nas leitegadas e por consequência, devido à vitalidade de leitões de baixo peso ao nascer, pode resultar na mortalidade na maternidade. Além disso, os genes MC4R e LEPR desempenham papéis importantes no controle da homeostase energética, regulação do peso corporal, e mobilização de gorduras (KIM et al., 2000; MACKOWSKI et al., 2005). Também, tem demonstrado efeitos de QTL altamente significativos na espécie suína sobre o consumo de ração, ganho de peso diário, e espessura de toucinho. Isso pode ser uma possível explicação para menor NDES e maior IDP, já que o SNPg.1578C>T quando em homozigose para o alelo C pode ter relação com menor ingestão alimentar da matriz no período de lactação, demandando mobilização do tecido adiposo de reserva para produção de leite, ocasionando possíveis mudanças na produção e composição de leite.

Szyndler-Nedza et al. (2013), estudando uma mutação no gene LEPR localizada no íntron 4 identificada através da técnica PCR-RFLP com a enzima de restrição *HpaII* e o SNPg.1426G>A no gene MC4R com a composição do leite de matrizes da raça Large White e Landrace Polônês, encontraram associação com

esas características. As mutações nos genes *LEPR* e *MC4R* demonstraram influência significativa sobre a gordura ($P \leq 0,001$ e $P \leq 0,001$), sólidos ($P \leq 0,001$ e $P \leq 0,001$), teor de lactose ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,001$) e teor de proteína no leite ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$).

Em relação ao IDP nos animais homozigotos para o genótipo CC apresentaram uma média de 2 e 6 dias respectivamente para LWLD e LLJM a mais entre um parto e o seguinte (Tabela 5), resultando menor número de leitões desmamados por porca por ano, refletindo em perdas econômicas. As variáveis que regulam o IDP são o período de lactação e intervalo desmama cio, este último pode ser influenciado pelo período de lactação e o estado nutricional da fêmea. Segundo Pinheiro (2014), para um bom desempenho reprodutivo do rebanho são necessárias dietas recomendadas em quantidade e qualidade, sendo fundamental a manutenção de um escore corporal na gestação, além de um manejo de arrazoamento que permita baixa perda na condição corporal durante a lactação. Porém, as linhagens desenvolvidas na suinocultura atualmente possuem um baixo consumo de ração durante o período de lactação, o que possivelmente pode acarretar em perda da condição corporal, comprometendo a ovulação e o aparecimento do cio (ROTHSCHILD, 2003).

Como descrito por Benoit et al. (2000), baseados na revisão de diferentes trabalhos, a ingestão de alimentos pode ser influenciada por alterações na sinalização no SNC pelo gene *MC4R*. Na análise de associação, realizado por Houston, Cameron e Rance (2004), o gene *MC4R* foi significativamente associado com o ganho médio diário, ingestão diária de alimento e espessura de toucinho. A substituição não sinônima Asp298 (ácido aspártico) em indivíduos homozigotos apresentou taxa de crescimento mais lento e menor ingestão de alimentos do que indivíduos homozigotos para Asn298 (asparagina) (72g/dia e 165g/dia, respectivamente, $P < 0,05$) e heterozigotos (59g/dia e 138g/dia, $P < 0,05$). Indivíduos homozigotos Asn298 apresentaram maior média de espessura de toucinho do que os heterozigotos (1,2 mm, $P < 0,05$).

Hirose et al. (2014) avaliando os efeitos dos genes candidatos *LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *PIK3C3* e *VRTN* sobre características de produção em suínos Duroc, encontraram correlações positivas sobre o ganho de peso médio diário e espessura

de toucinho com a associação dos SNPs nos genes LEPR (c.2002T) e MC4R (c.1426G) e dos SNPs nos genes LEPR (c.2002T), MC4R (c.1426G) e *PIK3C3* (c.2604C) individualmente com estas características.

A fim de compreender como o SNPg.1578C>T no gene MC4R pode estar relacionado com as características reprodutivas, ressalta-se que o perfil das fêmeas suínas mudou nos últimos anos, através da seleção para menor espessura de toucinho, maior produção de carne magra, entre outras. Dessa forma apresentam-se com maior tamanho e peso quando adultas, necessitando de mais tempo para atingir a maturidade, energia e nutrientes para suprir a manutenção; e talvez o mais importante, o consumo voluntário de ração destes animais tornou-se menor ao longo do tempo de seleção (SCHENKEL et al., 2007). Como efeito, as genéticas atuais apresentam maior tendência às perdas de reservas corporais durante a lactação, refletindo em possíveis perdas reprodutivas, ao passo que no primeiro parto as fêmeas possuem menos reservas corporais, apresentam maiores exigências para a manutenção, produzem mais leite e ingerem menos ração (WILLIAMS, 1998; SCHENKEL, 2007). Além de fatores genéticos, outros como o clima, nutrição, manejos podem influenciar o período de lactação, período desmama cio e, conseqüentemente o intervalo de partos.

5.3.2. Gene FABP3 (SNPg.-240T>C)

Observou-se efeito significativo ($P<0,05$) entre o SNPg.-240T>C no gene FABP3 e as características reprodutivas IPC e IDP apenas no grupo genético LLJM (Tabela 5). O gene FABP3 tem como principais funções a regulação da absorção de ácidos graxos, transporte intracelular e foi associado ao teor de gordura na carcaça (CHMURZYŃSKA, 2006). O tecido adiposo pode ter influência sobre as características reprodutivas, pois este tecido desempenha função endócrina, como o metabolismo de hormônios esteroides sexuais (PINTO, 2014). É provável que a variante ou uma intimamente ligada à mutação do gene FABP3 facilite o transporte de lipídeos da dieta para os processos metabólicos envolvidos nestas duas características contribuindo em uma condição corporal satisfatória. Assim, a ação do SNPg.-240T>C quando em homozigose para o alelo T, diminuiu a IPC e o IDP, resultando em ação favorável a estas características do ponto de vista econômico. O

grupo genético LLJM tem em sua constituição genética raças chinesas, que de fato, apresenta um teor de gordura na carcaça mais elevado comparado ao LWLD (raças europeias), causando uma alteração significativa da função do gene FABP3 nesta população.

Os resultados obtidos por Zhao et al. (2010) em uma raça chinesa suína (ZhaotongWujin) mostraram que os genótipos HH e dd para o FABP3 afetou significativamente o conteúdo de GI. Contudo, os genótipos HH e dd, classificados utilizando as enzimas de restrição *Hinfl* e *HaeIII* em PCR-RFLP respectivamente, foi observado maior teor de GI e ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (AGM e AGP) e menor ácidos graxos saturados (AGS).

5.3.3. DGAT1 (SNPg.9422C>T)

O SNPg.9422C>T no gene DGAT1 as médias das características de peso médio a desmama (PMD), peso total da leitegada a desmama (PTLD), idade a primeira cobertura (IPC) e intervalo de parto (IDP) apresentaram associação significativa e diferença estatística ($P<0,05$) entre os genótipos apenas no grupo genético LWLD, sendo que, animais homozigotos para o alelo T demonstraram as maiores médias (Tabela 5). Vários fatores podem interferir no peso de desmamados, em especial os ligados à fêmea como, peso ao nascimento, consumo voluntário de ração e saúde da porca na fase lactacional (MACHADO, 2014), produção de leite, qualidade do colostro, ordem do parto e diferenças entre as raças. O período de lactação apresenta grande impacto sobre o desenvolvimento de leitões, pois a quantidade e qualidade de colostro ingerida nas primeiras horas após o nascimento, acarreta em maturação das criptas do intestino delgado (XU et al., 1992), que facilita a digestão e absorção dos nutrientes provenientes do leite. Além disso, o colostro transmite a imunidade passiva por meio das imunoglobulinas (FERREIRA, 2012), que por sua vez, irão contribuir no melhor peso a desmama e a qualidade do leitão desmamado, é o principal fator para um bom desenvolvimento até a fase de terminação.

Contudo, a seleção genética para linhagens maternas hiperprolíficas também resultou em aumento na capacidade de produção de leite, mas devido à seleção

para deposição de carne magra, menor teor de gordura na carcaça, aumento da taxa de crescimento e menor conversão alimentar, refletiu em menor ingestão de alimentos, podendo comprometer a produção de leite da matriz suína, principalmente em primíparas.

O gene DGAT1 atua no metabolismo do diacilglicerol em que envolve a síntese de triglicerídeos, como por exemplo, a absorção intestinal de gordura pelo intestino delgado e no processo fisiológico da lactação (CASES et al., 1998; LI et al., 2012). Em razão destas funções fisiológicas, vários estudos associaram polimorfismos no gene DGAT1 com características econômicas como produção e composição do leite em bovinos leiteiros (GRISART et al., 2004), qualidade de carne em suínos comerciais (Zhang et al., 2014) e deposição de gordura em bovinos de corte (THALLER et al., 2003).

Portanto, o SNPg.9422C>T identificado neste estudo, pode ter causado uma maior produção de leite e com qualidade superior nas fêmeas com genótipo TT, resultando em leitões mais pesados ao desmame, apesar do menor número de desmamados, com peso a mais de 5,5 kg no PTLN em relação aos outros genótipos, porém as fêmeas obtiveram maior IDP. Possivelmente, estes animais perderam mais de suas reservas lipídicas durante o período lactacional, o que pode estar relacionado com uma menor ingestão de alimentos refletido pela seleção artificial, visando as características econômicas de produção. Esses animais necessitam de elevada demanda nutricional na lactação devido ao grande número de leitões por parto, ao passo que estimula diretamente a produção de leite. Em síntese, quanto maior o consumo de ração, maior a produção de leite, menor será a perda de condição corporal, e menor o IDP (FERREIRA, 2012).

Todavia para o SNPg.9422C>T no gene DGAT1 no grupo genético de suínos LLJM e para o SNPg.-240T>C no gene FABP3 no LLJM não foram encontrados associações em função dos genótipos, com as características PMN, PMD, PTLN, PTLN, NDES, IPC e IDP (Tabela 5). Este resultado pode ser devido ao pressuposto de que estas linhagens maternas tenham sofrido pressão de seleção para determinadas características de importância econômica, como, tamanho de leitegada, aumento da produção de carne por matriz por ano, aumento do ganho de peso médio diário (GMPD) e aumento no número de leitões desmamados por ano.

Também, este resultado pode ser atribuído à diferenças nas frequências dos alelos destes genes na população estudada, frequência dos animais fundadores, modelos estatísticos utilizados e interação genótipo e ambiente.

Portanto, presume-se que pode haver alguma relação dos SNPs avaliados no presente trabalho presente nos genes MC4R, FABP3 e DGAT1 com características de produtividade nas linhagens maternas de suíno selecionadas para hiperprolificidade.

5.4. Associação entre os polimorfismos e as características de produção e reprodução: substituição alélica e dominância

As estimativas para o teste F relacionados aos efeitos de substituição alélica (α) e de dominância (d) para o SNPg.1578C>T no gene MC4R, SNPg.-240T>C no gene FABP3 e SNPg.9422C>T no gene DGAT1, em relação às características de PMN, PMD, PTLN, PTLD, NDES, IPC e IDP, estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Estimativas dos efeitos de substituição alélica e de dominância e seus respectivos *p*-valor associados com os genes MC4R (SNPg.1578C>T), FABP3 (SNPg.-240T>C) e DGAT1 (SNPg.9422C>T) nos grupos genéticos Large White e Landrace (GG2 – LWLD) e Large White, Landrace, Jiaxing, Meishan (GG3 – LLJM) para peso médio ao nascimento (PMN), peso médio a desmama (PMD), peso total da leitegada ao nascimento (PTLN), peso total da leitegada ao desmame (PTLD), número de desmamados (NDES), idade a primeira cobertura (IPC) e intervalo entre partos (IDP).

Características	GG2 – LWLD				GG3 – LLJM			
	α	p	d	p	α	p	d	p
MC4R (SNPg.1578C>T)					MC4R (SNPg.1578C>T)			
PMN	-0,0036	0,4081	0,0076	0,1777	-0,0159	0,0943	0,0024	0,8002
PMD	0,0363	0,6169	0,0407	0,5984	0,0350	0,5412	0,0633	0,4211
PTLN	-0,0573	0,2996	0,1415	0,0533	-0,2580	0,0174	0,0481	0,7570
PTLD	0,0440	0,9523	0,5321	0,5639	1,3427	0,1565	0,1832	0,8028
NDES	0,2286	0,2416	-0,3936	0,1288	0,2380	0,0638	0,3937	0,1094
IPC	-1,9549	0,0438	2,4687	0,0395	-2,5151	0,0149	-2,9686	0,0400
IDP	0,9567	0,3311	1,1027	0,4150	-3,0477	0,0285	-2,9265	0,1253
FABP3 (SNPg.-240T>C)					FABP3 (SNPg.-240T>C)			
PMN	0,0009	0,8824	-0,0041	0,4901	0,0040	0,7071	-0,0082	0,4120
PMD	0,0117	0,8690	-0,1084	0,3222	-0,0262	0,6876	0,0272	0,7989
PTLN	0,0503	0,4374	-0,1096	0,2290	-0,0953	0,3369	-0,1840	0,3132
PTLD	-0,6336	0,5220	-1,9028	0,2717	-0,4556	0,5630	-0,4260	0,7054
NDES	0,0932	0,6780	-0,1349	0,5960	0,4101	0,0087	0,2324	0,3486
IPC	-0,1073	0,9198	0,4553	0,7132	1,6076	0,0841	2,1260	0,1967
IDP	0,0421	0,9715	1,8890	0,1978	2,0449	0,1109	-4,3459	0,0386
DGAT1 (SNPg.9422C>T)					DGAT1 (SNPg.9422C>T)			
PMN	0,0061	0,1942	-0,0028	0,7834	0,0049	0,7963	-	-
PMD	0,1525	0,0174	0,1114	0,4233	0,0296	0,7976	-	-
PTLN	0,0030	0,9590	-0,1209	0,3627	0,0895	0,7617	-	-
PTLD	1,7400	0,0242	1,8049	0,2806	0,7788	0,5737	-	-
NDES	-0,3214	0,1311	-0,6921	0,1592	-0,2295	0,5075	-	-
IPC	4,8952	0,0001	-2,6056	0,2417	-2,1286	0,4328	-	-
IDP	1,2810	0,2506	-1,6310	0,5289	-0,0256	0,9927	-	-

α (efeito da substituição gênica), d (efeito de dominância) e p ($P<0,05$).

5.4.1. Gene MC4R (SNPg.1578C>T)

A associação do SNPg.1578C>T no gene MC4R com as características de PTLN e IPC no grupo genético LWLD e a característica IPC no grupo genético LLJM apresentou efeitos significativos ($P<0,05$) de dominância, apesar de não ter sido demonstrado efeito na análise de variância para essas características ($P<0,05$) no LWLD. O alelo T apresenta efeito de dominância completa sobre o alelo C, visto que o CT apresenta valor de PTLN similar ao homozigoto TT. Para a característica IPC no grupo genético LWLD observou-se efeito de sobredominância do alelo C, pois o valor do CT foi maior que o CC. No entanto, a IPC no grupo genético LLJM apresentou grau de dominância parcial do alelo T, pois os valores de CT foram menores que o TT e maior que o ponto médio (Tabela 5). Por meio das estimativas

obtidas no grupo genético LWLD, a presença do alelo T aumenta o PTLN em 0,1415 kg e o alelo C aumenta a IPC em 2,4687 dias. No entanto, é importante ressaltar que na característica IPC o efeito de dominância mostrou-se negativo no grupo genético LLJM ($d = -2,9686$), sendo que o valor negativo de d sempre indica dominância do gene que contribui para menos. Igualmente, observou-se efeito significativo do SNPg.1578C>T no gene MC4R de substituição alélica (C→T) ($P < 0,05$) para IPC nas duas populações e para PTLN e IDP apenas na LLJM, indicando que o alelo C está relacionado com estas características, havendo um decréscimo de -1,9549 e -2,5151 dias para IPC nos grupos genéticos LWLD e LLJM respectivamente e, para PTLN e IDP no LLJM um decréscimo de -0,2580 kg e -3,0477 dias. Neste caso, os valores negativos de substituição alélica podem ser favoráveis às características reprodutivas do ponto de vista da seleção, pois os animais começam a vida reprodutiva mais cedo e apresentaram menor número de dias não produtivos, aumentando o número de leitões desmamados/porca/ano. Mas para a característica de produção, no caso o PTLN no grupo genético LLJM, esse efeito se mostrou desfavorável, pois a presença do alelo T causou redução do peso total de leitões ao nascimento.

Todavia, dois fatores influenciam em maior proporção o peso do leitão ao nascimento: fatores genéticos como hiperprolificidade, capacidade uterina, eficiência placentária e diferenças entre raças; e os fatores maternos como a nutrição (PANZARDI et al., 2009). Holanda et al. (2005) encontraram efeito positivo ($P < 0,05$) para o peso médio ao nascimento em relação a idade da matriz ao parto e o tamanho de leitegada. Os autores observaram que as maiores leitegadas ocorreram em fêmeas de 3,12 anos de idade. Certamente, fêmeas mais jovens tendem a ter leitegadas menores comparadas com fêmeas já adultas, e no banco de dados analisados neste estudo foram contabilizadas fêmeas até o quarto parto. Além disso, a demanda por nutrientes para o crescimento e a manutenção das fêmeas primíparas durante a gestação e período de lactação é maior em relação às fêmeas adultas. Um dos problemas que ocorre com fêmeas hiperprolíficas é a desuniformidade da leitegada, como consequência, maior variabilidade de peso entre os leitões. Os programas de melhoramento genético das empresas de suínos direcionaram a seleção para características produtivas e reprodutivas, como ganho

de peso diário, taxa de crescimento e tamanho de leitegada, porém a capacidade de desenvolvimento nutricional dessas fêmeas não está na mesma proporção. Neste sentido, as fêmeas submetidas à cobertura com idades mais reduzidas não conseguem suprir as necessidades nutricionais durante a gestação e lactação, vindo a comprometer os partos subsequentes.

5.4.2. Gene FABP3 (SNPg.-240T>C)

A estimativa para o número de cópias para o alelo C dos efeitos de substituição alélica do SNPg.-240T>C no gene FABP3 indica que este alelo está relacionado com a variável NDES ($P<0,05$) no grupo genético LLJM (Tabela 6), apesar de não ter sido demonstrado efeito na análise de variância para esta característica ($P<0,05$). Entretanto, os animais heterozigotos apresentaram em média 0,4101 leitão desmamado/parto a mais e os homozigotos CC, com 0,8202 leitão desmamado a mais por parto. Portanto, animais homozigotos para o alelo favorável são, em média, superiores aos animais que não possuem nenhuma cópia desse alelo. Williams et al. (2009) estudaram a influência do peso ao nascer de leitões sobre a expressão do receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma (PPAR) e as proteínas da família de ligação de ácidos graxos no tecido adiposo e musculo esquelético (FABP's). A colocação dos autores demonstrou que FABP3 é expresso em tecido adiposo em quantidade dez vezes maior do que no músculo esquelético e o aumento é alcançado logo após o nascimento, independentemente do peso ao nascer, sendo que a expressão do gene FABP3 no tecido adiposo diminui com a idade em leitões com baixo peso ao nascer (0,800 kg – 1,330 kg), o que pode representar uma diferença de desenvolvimento nestes animais. O efeito de dominância deste gene apresentou significância com a característica IDP no LLJM ($P<0,05$), sendo que o alelo T apresentou dominância parcial em relação ao alelo C e animais com a presença do alelo dominante demonstrou uma estimativa de - 4,3459 dias entre um parto e o seguinte. Possivelmente a presença desse alelo juntamente com outros genes pode regular o metabolismo lipídico envolvido nestas duas características, que é susceptível à estímulos como disponibilidade de nutrientes e necessidades de produção (LEHNINGER; NELSON, 2006), como a lactação.

5.4.3. DGAT1 (SNPg.9422C>T)

As estimativas do efeito de substituição alélica do SNPg.9422C>T no gene DGAT1 para as características PMD, PTLD e IPC (Tabela 6) foram significativas ($P < 0,05$) no grupo genético LWLD. A presença do alelo T apresentaram em média 0,1525 e 1,7400 kg no PMD e PTLD respectivamente a mais por parto e, quando em homozigose esses valores são duplicados. Do mesmo modo, para a característica da IPC, os animais heterozigotos apresentaram em média 4,8952 dias a mais para atingir a maturidade sexual. O efeito de dominância deste gene no grupo genético LWLD não apresentou efeito significativo ($P > 0,05$) sobre as características. E para o grupo genético LLJM não foi possível calcular o efeito de dominância do gene DGAT1 sobre as características avaliadas neste estudo, ao passo que esse efeito só é possível de ser calculado na presença dos três genótipos (CC, CT e TT) e apenas os genótipos homozigotos (CC e TT) estavam presentes.

6. CONCLUSÃO

A população LWLD revelou ter sofrido menor seleção para os polimorfismos analisados, apresentando maior variabilidade dos genótipos.

Todos os polimorfismos demonstraram efeitos significativos para as características reprodutivas analisadas. Entretanto, o gene DGAT1 apresentou efeito significativo apenas no grupo genético LWLD para as características de produção PMD e PTLD.

Para a maioria dos polimorfismos foi possível identificar o alelo favorável para uma dada característica, podendo assim ser utilizados como marcadores para seleção assistida no melhoramento genético de linhagens maternas de suínos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS 2013: Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. **Em 15 anos, Brasil se tornou o 4º maior produtor e exportador mundial de carne suína.** Disponível em: <http://www.abipecs.org.br/news/710/101/Em-15-anos-Brasil-se-tornou-o-4-maior-produtor-e-exportador-mundial-de-carne-suina.html>. Acesso em: 12/10/2013.

ADJORI/SC. Associação dos Jornais do Interior de Santa Catarina. **Simpósio debate desafios da exportação da carne suína catarinense:** principais discussões giraram em torno da necessidade de manter a qualidade do produto vendido ao Japão. 2013. Disponível em: <http://www.adjorisc.com.br/economia/simposio-debate-desafios-da-exportac-o-da-carne-suina-catarinense-1.1327343#.U2BBGahdVcN>. Acesso em: 27 jan. 2015.

AHIMA, R. S.; OSEI, S. Y. Molecular regulation of eating behaviour: new insights and prospects for therapeutic strategies. **Trends in Molecular Medicine**, Oxford, v. 7, n. 5, p. 205-213, 2001.

ALSTON-MILLS, B.; IVERSON, S. J.; THOMPSON, M. P. A comparison of the composition of milks from Meishan and crossbred pigs. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 85-91, 2000.

ANTUNES, R. C. Palestra: melhoramento para tamanho de leitegada e respostas correlacionadas. In: VI Fórum Internacional de Suinocultura, 6., 2012, Concórdia: Embrapa Suínos e Aves. **Anais eletrônicos...** Curitiba, PR, 2012. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/952104/1/PALESTRAS1PorkExpo.pdf>. Acesso em: 15/04/2015.

BADO, A.; LEVASSEUR, S.; ATTOUB, S.; KERMORGANT, S.; LAIGNEAU, J. P.; BORTOLUZZI, M. N.; MOIZO, L.; LEHY, T.; GUERRE-MILLO, M.; LE MARCHAND-BRUSTEL, Y.; LEWIN, M. J. The stomach is a source of leptin. **Nature**, London, v. 394, n. 6695, p. 790–793, 1998.

BARB, C. R.; HAUSMAN, G. J.; HOUSECKNECHT, K. L. Biology of leptin in the pig. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 21, n. 4, p. 297–317, 2001.

BENOIT, S.; SCHWARTZ, M.; BASKIN, D.; WOODS, S. C.; SEELEY, R. J. CNS melanocortin system involvement in the regulation of food intake. **Hormones and Behaviour**, New York, v. 37, n. 4, p. 299–305, 2000.

BERGSMA, R.; KANIS, E.; VERSTEGEN, M. W. A.; KNOL, E. F. Genetic parameters and predicted selection results for maternal traits related to lactation efficiency in sows. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 86, p. 1067-1080, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas.2007-0165>>.

CASES, S.; STEVEN J. SMITH, S. J.; YAO-WU ZHENG, Y-W.; MYERS, H. M.; LEAR, S. R.; SANDE, E.; NOVAK, S.; COLLINS, J. C.; WELCH, C. B.; LUSIS, A. J.; ERICKSON, S. K.; FARESE JR. R. V. Identification of a gene encoding an acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 95, n. 22, p. 13018–13023, 1998.

CAVALCANTE NETO, A.; LUI, J. F.; SARMENTO, J. L. R.; RIBEIRO, M. N.; MONTEIRO, J. M. C.; FONSECA, C.; TONHATI, H. Efeitos genéticos e ambientais sobre a idade à primeira concepção de fêmeas suínas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 499-502, 2008.

CHAO, Z.; WANG, F.; DENG, C-Y.; WEI, L-M.; SUN, I-P.; LIU, H-L.; LIU, Q-W.; ZHENG, X-L. Distribution and linkage disequilibrium analysis of polymorphisms of MC4R, LEP, FABP3 genes in the different populations of pigs, associated with economic traits in DIV2 line. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 39, p. 6329–6335, 2012.

CHEHAB, F. F.; LIM, M. E.; LU, R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. **Nature Genetics**, New York, v. 12, n. 3, p. 318–320, 1996. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ng0396-318>>.

CHILLIARD, Y.; BONNET, M.; DELAVAL, C. Leptin in ruminants: gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 21, n. 4, p. 271-295, 2001.

CHMURZYŃSKA, A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. **Journal of Applied Genetics**, Poznań, v. 47, n. 1, p. 39-48, 2006.

COLL, A. P.; FAROOQI, I. S.; O'RAHILLY, S. The hormonal control of food intake. **The Cell**, Englewood, v. 129, n. 2, p. 251-262, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.04.001>>.

COUTINHO, L. L.; ROSARIO, M. F.; JORGE, E. C. Biotecnologia animal. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, p. 123-147, 2010.

CUI, J. X.; ZENG, Y. Q.; WANG, H.; CHEN, W.; DU, J. F.; CHEN, Q. M.; HU, Y. X.; YANG, L. The effects of DGAT1 and DGAT2 mRNA expression on fat deposition in fatty and lean breeds of pig. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 140, n. 1-3, p. 292-296, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2011.04.007>>.

EISSEN, J. J.; KANIS, E.; KEMP, B. Sow factors affecting voluntary feed intake during lactation. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 64, n. 2-3, p. 147-165, 2000.

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

FERREIRA, R. A. **Suinocultura**: manual prático de criação. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2012. p. 242-250.

FONSECA, R.; PIRES, A.V.; LOPES, P.S.; TORRES, R.A.; EUCLYDES, R.F. Estudo da divergência genética entre raças suínas utilizando técnicas de análise multivariada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, p.403-409, 2000.

FRIEDMANN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, London, v. 395, n. 6704, p. 763-770, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/27376>>.

GALVE, A.; BURGOS, C.; SILIÓ, L.; VARONA, L.; RODRÍGUEZ, C.; OVILO, C.; LÓPEZ-BUESA, P. The effects of leptin receptor (LEPR) and melanocortin-4 receptor (MC4R) polymorphisms on fat content, fat distribution and fat composition in a Duroc×Landrace/Large White cross. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 145, n. 1-3, p. 145-152, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.01.010>>.

GODDARD, M. E.; HAYES, B. J. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. **Genetics**, New York, v. 10, n. 6, p. 381-391, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrg2575>>.

GRISART, B.; FARNIR, F.; KARIM, L.; CAMBISANO, N.; KIM, J.; KVASZ, A.; MNI, M.; SIMON, P.; FRE`REÂ, J. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. **Proceedings of the National Academy Science of the United States of America**, Washington, v. 101, n. 8, p. 2398-2403, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0308518100>>.

GUIMARÃES, S. E. F.; LOPES, P. S.; GUIMARÃES, J. D.; NASCIMENTO5, C. S.; PINHO, R. O. Biotecnologia aplicada ao melhoramento de suínos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 10., 2013, Uberaba. **Palestras...** Uberaba, MG, 2013. Disponível em: <<http://sbmaonline.org.br/anais/x/palestras/pdfs/SimoneGuimaraesV2.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2015.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de genética de populações**. Porto Alegre: ARTMED, 2010. 659 p.

HIROSE, K.; ITO, T.; FUKAWA, K.; ARAKAWA, A.; MIKAWA, S.; HAYASHI, Y.; TANAKA, K. Evaluation of effects of multiple candidate genes (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *PIK3C3*, and *VRTN*) on production traits in Duroc pigs. **Animal Science Journal**, Oxford, v. 85, n. 3, p. 198–206, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/asj.12134>>. Epub 2013 Oct 15>.

HOLANDA, M. C. R.; BARBOSA, S. B. P.; SAMPAIO, J. B. M.; SANTOS, E. S.; SANTORO, K. R. Tamanho da leitegada e pesos médios ao nascer e aos 21 dias de idade de leitões da raça Large White. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 4, p. 539-544, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352005000400016>>.

HOUSTON, R. D; CAMERON, N. D.; RANCE, K. A. A melanocortin-4 receptor (MC4R) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations. **Animal Genetics**, Oxford, v. 35, n. 5, p. 386–390, 2004.

HUAN, J. N.; LI, J.; HAN, Y.; CHEN, K.; WU, N.; ZHAO, A. Z. Adipocyte-selective reduction of the leptin receptors induced by antisense RNA leads to increased adiposity, dyslipidemia, and insulin resistance. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 78, n. 46, p. 45638-45650, 2003.

KIM, K. S.; LARSEN, N. J.; ROTHSCCHILD, M. F. Rapid communication: linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 3, p. 791–792, 2000.

KIM, K. S.; LARSEN, N. J.; SHORT, T.; PLASTOW, G.; ROTHSCCHILD, M. F. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. **Mammalian Genome**, New York, v. 11, p. 131–135, 2000.

KIM, S. W. Recent advances in sow nutrition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.39, p.303-310, 2010.

KOPECNÝ, M.; STRATIL, A.; CEPICA, S. Polymorphism at the porcine LEPR gene detected by PCR - DGGE. **Animal Genetics**, Oxford, v. 28, n. 6, p. 461, 1997.

LEDUR, M. C.; BERTANI, G. R.; NONES, K. Genômica nos Programas de Melhoramento Genético Avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2003, Campinas. **Anais...** p. 87-105.

LEE, S. H. Association between polymorphisms of the heart fatty acid binding protein gene and intramuscular fat content, fatty acid composition, and meat quality in Berkshire breed. **Meat Science**, Amsterdam, v. 86, n. 3, p. 794–800, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.024>>.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, K. Y. Princípios de bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. p. 280

LI, X.; KIM, S. W.; CHOI, J. S.; LEE, Y. M.; LEE, C. K.; CHOI, B. H.; KIM, T. H.; CHOI, Y. I.; KIM, J. J.; KIM, K. S. Investigation of porcine FABP3 and LEPR gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content. **Molecular Biology Reproduction**, Plymouth, v. 37, n. 8, p. 3931–3939, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11033-010-0050-1>>.

LI, T.; XU, D.; ZUO, B.; LEI, M.; XIONG, Y.; CHEN, H.; ZHOU, Y.; WU, X. Ectopic over expression of porcine DGAT1 increases intramuscular fat content in mouse skeletal muscle. **Transgenic Research**, Andover, v. 22, n. 1, p. 187–194, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11248-012-9633-z>>.

MACHADO, I. P. Índices zootécnicos e sistemas de gerenciamento na produção de suínos. In: FERREIRA, A. H.; CARRARO, B.; DALLANORA, D.; MACHADO, G.; MACHADO, I. P.; PINHEIRO, R.; ROHR, S. (Coord.). **Produção de suínos: teoria e prática**. Brasília: ABCS, 2014. cap. 5, p. 169-177.

MACKOWSKI, M.; SZYMONIAK, K.; SZYDLOWSKI, M.; KAMYCZEK, M.; ECKERT, R.; ROZYCKI, M.; SWITONSKI, M. Missense mutations in exon 4 of the porcine LEPR gene encoding extra cellular domain and their association with fatness traits. **Animal Genetics**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 135–137, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2052.2005.01247.x>>.

MAFFEI, M.; HALLAS, J.; RAVUSSIN, E.; PRATLEY, R. E.; LEE, G. H.; ZHANG, Y.; FEI, H.; KIM, S.; LALLONE, R.; RANGANATHAN, S.; KERN, P. A.; FREDMAN, J. M. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, New York, v. 1, p. 1155-1161, 1995. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm1195-1155>>.

MAHAN, D. C. Relationship of gestation protein and feed intake level over a five-parity period using a high-producing sow genotype. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 533-541, 1998.

MOREIRA, R. H. R. **Arginina na nutrição de matrizes suínas hiperprolíficas**. 2014. 56f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

MUCENIECE, R.; DAMBROVA, M. Melanocortins in brain inflammation: the role of melanocortin receptor subtypes. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 681, p. 61–70, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-6354-3_5>.

MUÑOZ, G.; ALCÁZAR, E.; FERNÁNDEZ, A.; BARAGAN, C.; CARRASCO, A.; PEDRO DE, E.; SILIÓ, L.; SÁNCHEZ, J. L.; RODRÍGUES, M. C. Effects of porcine MC4R and LEPR polymorphisms on economic traits in Duroc×Iberian crossbred pigs. **Meat Science**, Amsterdam, v. 88, n. 1, p. 169–173, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.018>>.

NEGRÃO, A. B.; LICINIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 205-214, 2000.

NOJOSA, G. B. A. Palestra: qualidade da carne suína catarinense e o mercado japonês. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA E V BRASIL SUL PIG FAIR, Chapecó, 6., 2013, Concórdia. **Anais eletrônicos...** Concórdia: EMBRAPA Aves e Suínos, 2013. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_t7l46u4u.pdf>. Acessado em: 23 jan. 2014.

NONNEMAN, D.; ROHRER, G. A. Linkage mapping of porcine DGAT1 to a region of chromosome 4 that contains QTL for growth and fatness. **Animal Genetics**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 472-473, 2002.

OLIVEIRA, D. A. A. Genética molecular – novas tecnologias aliadas ao melhoramento animal. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DE PASTAGENS, 13., 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1996. p. 319-352.

PANZARDI, A.; MARQUES, B. M. F. P. P.; HEIM, G.; BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. Fatores que influenciam o peso do leitão ao nascimento. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 37, supl. 1, p. 49-60, 2009.

PÉREZ-MONTARELO, D.; FERNANDEZ, A.; BARRAGÁN, C.; NOGUERA, J. L.; FOLCH, J. M.; RODRÍGUEZ, C.; O'VILO, C.; SILIÓ, L.; FERNÁNDEZ, A. I. Transcriptional characterization of porcine leptin and leptin receptor genes. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, e66398, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0066398>>.

PINHEIRO, R. Endocrinologia do intervalo desmame-estro e manejo nutricional do desmame à cobertura. In: FERREIRA, A. H.; CARRARO, B.; DALLANORA, D.; MACHADO, G.; MACHADO, I. P.; PINHEIRO, R.; ROHR, S. (Coord.). **Produção de suínos: teoria e prática**. Brasília: ABCS, 2014. cap. 12, p. 545.

PIORKOWSKA, K.; TYRA, M.; ROGOZ, M.; ROPKA-MOLIK, K.; OCZKOWICZ, M.; RO-ZYCKI, M. Association of the melanocortin-4 receptor (MC4R) with feed intake, growth, fatness and carcass composition in pigs raised in Poland. **Meat Science**, Amsterdam, v. 85, n. 2, p. 297–301, 2010. Disponível: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.01.017>>.

PIRES, A. V. **Avaliação genética de características reprodutivas em suínos**. 1999. 82 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

PINTO, W.J. A função endócrina do tecido adiposo. **Rev. Fac. Méd.**, Sorocaba, v.16, n. 3, p. 111-120, 2014.

RESELAND, J. E.; ANDERSSSEN, S. A.; SOLVOLL, K.; HJERMANN, I.; URDAL, P. HOLME, I.; DREVON, C. A. Effect of long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. **The American Journal Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 2, p. 240-245, 2001.

ROSA, L. S.; COSTA FILHO, L. C. C.; SOUZA, M. I. L. CORREA FILHO, R. A. C. Fatores que afetam as características produtivas e reprodutivas de fêmeas suínas. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.71, n.4 p.381-395, 2014.

ROTAVA, J. Parâmetros de peso, idade e estrutura corporal na cobertura das leitoas. In: FERREIRA, A. H.; CARRARO, B.; DALLANORA, D.; MACHADO, G.; MACHADO, I. P.; PINHEIRO, R.; ROHR, S. (Coord.). **Produção de suínos: teoria e prática**. Brasília: ABCS, 2014. cap. 7, p. 279-282.

SALMAN, A. K. D.; COSTA, R. B.; POLIANA, F. G. Gene da leptina em ruminantes. **REDVET** – revista electrónica de veterinária, v. 8, n. 12, p. 0, 2007. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121207.html>>. Acesso em: 14 dez. 2013.

SALMAN, A. K. D. Conceitos básicos de genética de populações. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2007. 27 p. (Documentos, 118).

SANTORO, A. **Identificação de Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) no gene Nove-cis-epoxicarotenóid dioxygenase (NCED) em eucalyptus**. 2010. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.

SAS INSTITUTE. **User's guide**. Cary, 2000.

SCHENKEL, A. C. **Relação entre condição corporal de fêmeas suínas ao primeiro parto e ao desmame e a produção de leitões no segundo parto**. 2007. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES JÚNIOR, A. J.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. BNDES Setorial, n. 35, p. 421-463, 2012. Disponível em:

<http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set3512.pdf>. Acesso em: 20. jan. 2015.

SMITH-KIRWIN, S. M.; O'CONNOR, D. M.; JOHNTON, J.; LANCEY, E.; HASSINK, S. G.; FUNANAGE, V. L. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Philadelphia, v. 83, n. 5, p. 1810–1813, 1998.

SOBESTIANSKY, J. WENTZ, I.; SILVEIRA, P. R. S. da; SESTI, L. A. C. Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Concórdia: Embrapa-CNPSA, 1998. 388 p

SOUSA, M.; BRÁS-SILVA, C.; LEITE-MOREIRA, A. O papel da leptina na regulação da homeostasia energética. **Acta Medica Portuguesa**, Lisboa, v. 22, n. 3, p. 291-298, 2009.

STELLAR, E. M. The physiology of motivation. **Psychology Review**, Deddington, v. 61, p. 5-22, 1954.

SZYNDLER-NEDZA, M.; TYRA, M.; ROPKA-MOLIK, K.; PIÓRKOWSKA, K.; MUCHA, A.; RÓZYCKI M.; KOSKA, M.; SZULC, K. Association between LEPR and MC4R genes polymorphisms and composition of milk from sows of damline. **Molecular Biology Reports**, The Hague, v. 40, n. 7, p. 4339–4347, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11033-013-2524-4>>.

TAKEDA, S.; EEFTERIOU, F.; LEVASSEUR, R.; LIU, X.; ZHAO, L.; PARKER, K. L.; ARMSTRONG, D.; DUCY, P.; KARSENTY, G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. **The Cell**, Englewood Cliffs, v. 111, n. 1, p. 305-317, 2002.

TERMAN, A. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Oxford, v. 122, n. 6, p. 400-404, 2005.

THALLER, G.; KUHN, C.; WINTER, A.; EWALD, G.; BELLMANN, O.; WEGNER, J.; ZUHLKE, H.; FRIES, R. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 354-357, 2003.

TRAYHURN, P. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. **Acta Physiology Scandinavica**, Oxford, v. 184, n. 4, p. 285-293, 2005.

TYRA, M.; ROPKA-MOLIK, K. Effect of the FABP3 and LEPR gene polymorphisms and expression levels on intramuscular fat (IMF) content and fat cover degree in pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 142, n. 1-3, p. 114-120, 2011.

TYRA, M.; ROPKA-MOLIK, K.; ECKERT, R.; PIÓRKOWSKA, K.; OCZKOWICZ, M. FABP3 and LEPR gene expression profile in skeletal muscles and liver during ontogenesis in various breeds of pigs. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 40, n. 3, p. 147-154, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.10.001>>.

WANG, J.; LIU, R.; HAWKINS, M.; BARZILAI, N.; ROSSETTI, L. A nutrient sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. **Nature**, London, v. 393, n. 6686, p. 684-688, 1998.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data**. Massachusetts: Sinauer Associates. 1990. 377 p.

WHATMAN. **Whatman™ FTA™ for blood DNA**. 2010. (Data file 51641). Disponível em: <https://www.google.com.br/search?newwindow=1&site=&source=hp&q=Whatman%E2%84%A2+FTA%E2%84%A2+for+blood+DNA.+Data+file+51641&oq=Whatman%E2%84%A2+FTA%E2%84%A2+for+blood+DNA.+Data+file+51641&gs_l=hp.3...1018072.1018072.0.1020074.1.1.0.0.0.0.585.585.51.1.0.msedr...0...1c.2.64.hp..1.0.0.qrPpdczU8ug>. Acesso em: 20. fev. 2015.

WHITTMORE, C. T.; KYRIAZAKIS, I. **Whitmore's science and practice of pig production**. 3rd. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2006. p. 4-100.

WILLIAMS, I. H. Nutritional effects during lactation and during the interval from weaning to oestrus. In: VERSTEGEN, M. W. A.; MOUGHAN, P. J.; SCHRAMA, J. W. **The lactating sow**. Nottingham: University Press, 1998. p. 159-181.

WOLFINGER, R. Covariance structure selection in general mixed models. **Communications in Statistics – simulation and computation**, New York, v. 22, n. 4, p. 1079-1106, 1993. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03610919308813143>>.

XU, R. J.; MELLOR, D. J.; TUNGTHANATHANICH, P.; BIRTLES, M. J.; REYNOLDS, G. W.; SIMPSON, H. V. Growth and morphological changes in the small intestine in piglets during the first three days after birth. **Journal of Developmental Physiology**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 161-172, 1992.

YEN, C-L. E.; STONE, S. J.; KOLIWAD, S.; HARRIS, C.; FARESE JR., R. V. DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis. **Journal of Lipid Research**, Bethesda, v. 49, n. 11, p. 2283-2301, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.10.1194/jlr.R800018-JLR200>>.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, London, v. 372, n. 6505, p. 425-432, 1994.

ZHAO, S. M.; REN, L. J.; GUO, L.; CHENG, M. L.; ZHANG, X.; GE, C. R.; GAO, S. Z. Muscle lipid metabolism gene expression in pigs with different FABP3 genotypes. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 128, n. 1, p. 101–107, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2009.11.005>>.

ZHAO, S. M.; LI, W. Z.; PAN, H. B.; HUANG, Y.; YANG, M. H.; WEI, H. J.; GAO, S. Z. Expression levels of candidate genes for intramuscular fat deposition in two Banna mini pig inbred lines divergently selected for fatness traits. **Genetics Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, n.4, p. 783-789, 2012.