

ALDRIN VIEIRA PIRES

**MAPEAMENTO DE LOCOS DE CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS NO
CROMOSSOMO 6 DE SUÍNOS**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para
obtenção do título de *Doctor
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

ALDRIN VIEIRA PIRES

**MAPEAMENTO DE LOCOS DE CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS NO
CROMOSSOMO 6 DE SUÍNOS**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para
obtenção do título de *Doctor
Scientiae*.

APROVADA: 24 de março de 2003.

Prof^a. Simone E. Facioni Guimarães
(Conselheira)

Prof. Ricardo Frederico Euclides

Dra. Cláudia Teixeira Guimarães

Dra. Marta Fonseca Martins

Prof. Paulo Sávio Lopes
(Orientador)

À minha esposa, Ivy.

À minha filha, Letícia.

Aos meus pais, Israel e Maria das Graças.

Aos meus irmãos, Aureliano, Christiano, Vanessa e Cléverson.

AGRADECIMENTO

A DEUS, por estar presente constantemente em minha vida, por me dar forças para sempre seguir adiante.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realizar mais esta etapa da minha vida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, consiliário e amigo Prof. Paulo Sávio Lopes, pelo apoio, incentivo, pela paciência, confiança, e pelos longos anos de rico convívio.

Aos meus conselheiros Prof. Robledo e Profa. Simone, pelas valiosas contribuições e sugestões, pelo apoio, incentivo e pela amizade.

Ao Prof. Ricardo Bajá, pela amizade, pelos aconselhamentos e pelo rico convívio.

À pesquisadora Cláudia Guimarães (Kcal), pela amizade, pelo apoio, incentivo e pelas sugestões.

À Dra. Marta, pelo apoio, pelas sugestões e pelos conselhos.

Aos amigos Amauri (Réptil), Augusto (Juninho), Fausto (30 dia) e Maria Amélia, pelo companheirismo, pela paciência, atenção, ajuda e pelos intermináveis meses de execução do experimento na GMSuínos/DZO/UFV.

Aos estagiários Alex, Carlos, Dani, Fred, Jane, Kleibe e Rachel, pela amizade, pelo apoio e pela imprescindível ajuda, sem os quais teria sido impossível a realização deste trabalho.

Ao Dr. Hauke Thomsen, pela ajuda e pelas sugestões nas análises dos dados.

Aos amigos Anderson, Bira, Lili, Miguel, Ronaldinho, Rogério e Sílvia e a todos da EMBRAPA-CNPMS, que contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos amigos de longa data, Alexandre Bodão, Claudinho, Emerson, Paulinho, Policarpo, Ricardinho, Rodolphinho, Samuel e Toninho, pelos anos de convívio, apoio e incentivo.

Aos colegas de curso, Adriana, Eliana, Elizângela, Fernanda, Filipão, Giselle, Guilherme, Gustavo, Herluce, Jaime, Júnior, Leandro, Lindenberg, Marcelo, Marcos, Urbano e Vicente, pelo convívio e pelos ricos debates no Grupo de Discussão.

Aos funcionários da Granja de Melhoramento Genético de Suínos/DZO, que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Norte Americano de Mapeamento Genômico de Suínos, pela doação dos primers para os marcadores microssatélites.

À EMBRAPA Milho e Sorgo (CNPMS), Sete Lagoas, MG, em especial à pesquisadora Dra. Cláudia Teixeira Guimarães, pela disponibilização do sequenciador automático utilizado para as genotipagens.

À minha esposa Ivy, companheira em todos os momentos, pela paciência, compreensão, pelo apoio e incentivo.

Ao meu avô Vicente, pelos valiosos conselhos e pela experiência de vida.

Aos meus tios, tias, primos e primas, por fazerem parte da minha vida e da construção do meu caráter.

Aos meus sogros, pela amizade, pelo carinho e por terem me fornecido esta bela mulher, que me gerou uma linda filha.

BIOGRAFIA

Aldrin Vieira Pires, filho de Israel de Paiva Pires e Maria das Graças Vieira Pires, natural de Dores do Turvo, Estado de Minas Gerais, nasceu em 21 de janeiro de 1974.

Em abril de 1992, iniciou o curso de Zootecnia, pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, onde foi bolsista de iniciação científica por alguns anos, acompanhando e conduzindo pesquisas junto ao Programa de Melhoramento Genético de Aves do Departamento de Zootecnia da UFV.

Em fevereiro de 1997, graduou-se em Zootecnia, pela Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 1997, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, na área de Melhoramento Genético Animal.

Em 26 de fevereiro de 1999, submeteu-se ao exame final de defesa de tese para obtenção do título de *Magister Scientiae* em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa.

Em abril de 1999, iniciou o Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, realizando estudos na área de Melhoramento Genético Animal.

Em 24 de março de 2003, submeteu-se aos exames finais de defesa de tese para obtenção do título de *Doctor Scientiae* em Genética e Melhoramento.

CONTEÚDO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS GERAIS.....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

CAPÍTULO 1

Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 (SSC6) de uma população F2 de suínos: I - características de desempenho.....	16
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Material e Métodos.....	19
Resultados e Discussão.....	25
Conclusões.....	30
Referências Bibliográficas.....	31

CAPÍTULO 2

Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 (SSC6) de uma população F2 de suínos: II - características de carcaça e cortes	33
Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	36
Resultados e Discussão.....	45
Conclusões.....	53
Referências Bibliográficas.....	54

CAPÍTULO 3

Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 (SSC6) de uma população F2 de suínos: III – qualidade de carne	57
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	60
Resultados e Discussão.....	67
Conclusões.....	71
Referências Bibliográficas.....	72
RESUMO E CONCLUSÕES.....	74

RESUMO

PIRES, Aldrin Vieira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2003.
Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 de suínos. Orientador: Paulo Sávio Lopes. Conselheiros: Simone Eliza Facioni Guimarães e Robledo de Almeida Torres.

O objetivo deste estudo foi realizar o mapeamento de QTL no cromossomo 6 de suínos (SSC6), associados a diversas características de desempenho, carcaça e qualidade de carne. Uma população de 617 animais F2 foi obtida do intercruzamento da geração F1, produzida pelo cruzamento divergente de dois machos da raça nativa brasileira Piau e 18 fêmeas comerciais (Landrace x Large White x Pietrain) e genotipada para 13 marcadores microssatélites. As características avaliadas na F2 foram: 1 – desempenho: número de tetas (NT), peso ao nascimento (PN), peso aos 21, 42, 63, 77 e 105 dias de idade (P21, P42, P63, P77 e P105), peso ao abate (PA), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e ganho de peso médio diário (GPD) dos 77 aos 105 dias de idade, e idade ao abate (IDA); 2 – carcaça: comprimento de carcaça pelos métodos brasileiro e americano, peso e rendimento de carcaça, espessura de toucinho na região da copa, espessura de toucinho imediatamente após a última costela, espessura de toucinho entre

a última e a penúltima vértebra lombar, menor espessura de toucinho na região acima da última vértebra lombar e espessura de toucinho imediatamente após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar, espessura de bacon, profundidade de lombo, área de olho de lombo, pesos de órgãos internos (coração, pulmões, fígado, baço e rim) e comprimento de intestino; e 3 – qualidade de carne: pH medido 45 minutos e 24 horas *post-mortem* (pH45, pH24, respectivamente), perda de peso por gotejamento (GOTEJ), perda de peso por cozimento (COZ), perda de peso total (PTOT), gordura intramuscular (GORINT), maciez objetiva (MACIEZ) e coloração da carne [luminosidade (L), índice de vermelho (A), índice de amarelo (B), tonalidade de cor (H) e índice de saturação (C)]. Foi utilizado o método de regressão por intervalo de mapeamento, por meio do programa QTL Express. Foi encontrado um QTL significativo associado a CR, a 99 cM no cromossomo 6 de suínos. Para a característica P42, foi encontrado um QTL sugestivo localizado a 55 cM. Um mesmo gene ou grupo gênico, localizado em torno de 100 cM, pode estar atuando sobre as características CR, GPD e IDA. Embora com resultados não significativos, os genes ou grupos de genes que atuam sobre a característica peso corporal podem ser diferentes, dependendo da idade em que for medida tal característica. Foram encontrados QTLs sugestivos para as características de carcaça comprimento de carcaça e espessura de bacon, além de QTL significativo para peso do rim. QTLs sugestivos foram encontrados também para peso de pernil limpo, peso de paleta, peso de lombo e peso de filezinho. Foram encontrados QTLs significativos para as características pH45 e GOTEJ e QTLs sugestivos para GOTEJ. Não foram encontrados QTLs para as demais características. Mesmos grupos gênicos, localizados em torno de 76, 88 e 97 cM, podem estar atuando sobre as características pH45 e GOTEJ. Nas regiões dos picos da estatística F onde foram encontrados QTLs sugestivos, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a presença de QTLs de associações falso-positivas.

ABSTRACT

PIRES, Aldrin Vieira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, 2003, March.
Mapping quantitative trait loci on swine chromosome 6. Adviser: Paulo Sávio Lopes. Committee Members: Simone Eliza Facioni Guimarães and Robledo de Almeida Torres.

The objective of this study was to perform QTL mapping on swine chromosome 6 (SSC6) associated to performance, carcass and meat quality traits. The F2 population was produced by outbred cross using two sires of the Piau native brasilian breed and 18 commercial dams (Landrace x Large White). A total of 617 F2 animals were genotyped for 13 microsatellite markers. The traits evaluated on F2 population were: 1 – performance: teat number (NT); birth weight (PN); weight at 21, 42, 63, 77 and 105 days of age (P21, P42, P63, P77 and P105); slaughter weight (PA); feed intake (CR); feed-gain ratio (CA), average daily gain (GPD) to 77 at 105 days of age; and slaughter age (IDA); 2 - carcass: several carcass, cuts and internal organs weight were evaluated: heart wt, lungs wt, liver wt, kidney wt and spleen wt, and intestine length; and 3 – meat quality: pH evaluated at 45 minutes and at 24 hours “*post-mortem*” (pH45, pH24, respectively), drip loss (GOTEJ), cooking loss (COZ), total weight loss (PTOT), intramuscular fat content (GORINT), objective tenderness (MACIEZ)

and muscle color Minolta measurements: lightness (L), redness (A), yellowness (B), hue angle (H) and chroma (C). Data were analyzed by multiple regression developed for analysis of crosses between outbred lines, using the QTL Express software. It was detected a significant QTL for CR, in 99 cM on SSC6. Suggestive QTL was obtained for P42, located in 55 cM. The traits CR, GPD and IDA may be under the influence of a gene or gene group, located about 100 cM. Despite of the non significant results, the genes or genes groups related to body weight traits may be different, depending of age in what the traits are measured. Suggestive QTL were found for carcass length and bacon depth. A significant QTL for kidney wt was also found. Further suggestive QTL were found for the cut traits: skinless and fatless ham weight, picnic shoulder weight, loin weight and sirloin weight. Significant QTL were detected for pH45 and GOTEJ traits, and suggestive QTL for GOTEJ. It was not found QTL for another traits. The traits pH45 and GOTEJ may be under the influence of a gene or gene group, located about 76, 88 and 97. In the F-values peak where were detected suggestive QTL, more markers should be included, in order to verify if they are QTL in fact, or just false-positive associations.

1. INTRODUÇÃO

Os avanços nas diversas áreas da produção animal (manejo, nutrição, ambiência, controle sanitário e melhoramento genético) propiciaram grandes melhorias na cadeia produtiva suína. A partir do melhoramento genético dos rebanhos foi possível obter animais de alto potencial produtivo.

Uma alternativa para se selecionar os melhores animais, que serão usados como genitores da próxima geração, é buscar a identificação dos genes ou dos locos envolvidos na determinação das características economicamente importantes e incorporar estas informações às metodologias tradicionais de melhoramento.

A detecção de genes de grande efeito (*major genes*) e de locos de características quantitativas (QTLs – *quantitative trait loci*) em suínos é uma importante ferramenta, pois permite incorporar dados gerados aos programas industriais de melhoramento genético. Permite também responder a algumas questões sobre a natureza da variação das características quantitativas, como quantos genes ou locos gênicos são responsáveis pela manifestação destas, ou ainda, onde estão localizados estes genes, e qual o efeito destes genes?

A genética molecular evoluiu muito nas últimas décadas. Vários avanços, como o aumento do número de marcadores de DNA, juntamente com o desenvolvimento dos métodos de genotipagem, dos delineamentos experimentais, das metodologias estatísticas e da bioinformática, tornaram possível a execução de projetos com o objetivo de identificar e localizar genes

e QTLs, responsáveis pela variação genética, e verificar as associações dos marcadores genéticos com as características de importância econômica na suinocultura.

O estudo sobre mapeamento genético de QTL para características de importância econômica em suínos iniciou-se em 1988 (ANDERSSON et al., 1994). Esses autores utilizaram a estratégia de cruzamentos de animais com alto grau de heterozigosidade, ou seja, linhagens que demonstraram segregação na maioria das características fenotípicas, facilitando a construção do mapa genético. Foram obtidos animais a partir do cruzamento do porco selvagem europeu com suínos da raça Large White. Utilizou-se, portanto, o cruzamento entre duas populações divergentes, nas quais espera-se que diferentes alelos dos QTLs estejam fixados devido a diferentes objetivos de seleção nas duas populações.

Segundo ANDERSSON (1997), a estratégia do intercruzamento de linhagens divergentes de animais domésticos, adaptados a diferentes condições ambientais ou sistemas de produção, proporciona oportunidade única para mapeamento de QTLs. Essa estratégia também foi adotada por KONING et al. (1999) na detecção de QTLs para espessura de toucinho e gordura intramuscular em suínos.

1.1. Locos de características quantitativas - QTLs

Os melhoristas têm trabalhado as características quantitativas pela seleção, usando estimativas de valores genéticos baseadas nas observações fenotípicas do próprio animal e, ou, de seus parentes. A teoria da genética quantitativa assume que as características quantitativas são controladas por um grande número de genes, cada um tendo um pequeno efeito (modelo infinitesimal).

PATERSON (1998b), em uma explanação sobre o mapeamento de QTL no melhoramento de animais e plantas, comenta que uma mudança na teoria de “número virtualmente infinito de genes com pequenos efeitos” para “poucos genes com grandes efeitos” tem sido proposta, questionada, revisada, rejeitada e reconsiderada. Os geneticistas têm percebido que algumas pressuposições usadas para simplificar os modelos quantitativos, como

igualdade dos efeitos dos genes e aditividade da ação gênica, eram pouco prováveis e mais precisamente descritas pelos locos de características quantitativas (QTLs).

QTLs são identificados como associações estatísticas significativas entre os valores genotípicos e a variabilidade fenotípica na progênie segregante (WILLIAM, 1998). Segundo LIU (1998), QTLs são genes localizados no genoma com efeitos genéticos aditivos, de dominância e, ou, epistáticos, significativos.

Um dos fundamentos para a busca por QTLs é o estabelecimento de mapas de ligação saturados, o que tem ocorrido nos últimos anos. A procura por QTLs é mais fácil em cruzamentos entre linhas endogâmicas com grandes diferenças fenotípicas, linhas altamente divergentes (LANDER e BOTSTEIN, 1989). Este tipo de cruzamento leva a uma grande segregação de QTL e marcadores na geração F2.

Experimentos usando mapeamento de QTLs são conduzidos visando três objetivos básicos: 1) localizar genes responsáveis pela variação genética em fenótipos economicamente importantes, como ponto inicial para a seleção assistida por marcadores no melhoramento animal e vegetal; 2) a longo prazo, realizar a clonagem molecular dos genes de fenótipos específicos; e 3) responder questões básicas sobre os processos evolutivos (PATERSON, 1998a).

1.2. Seleção assistida por marcadores

A informação direta do DNA pode ajudar a fixar um alelo específico de um gene de grande efeito, tal como o gene do Halotano, associado à Síndrome do Estresse Suíno (PSS) e à carne pálida mole e exudativa (PSE). Pode também ser usada para assistir à seleção de características quantitativas, incluindo aquelas que podem ser selecionadas por meios tradicionais. A informação molecular pode aumentar a acurácia da seleção e, portanto, a resposta à seleção. Assim, a identificação de genes influenciando características economicamente importantes seguida pela seleção assistida por marcadores (MAS), pode ser empregada em conjunto com métodos

tradicionais de seleção para acelerar a taxa de melhoramento nestas características (PLASTOW, 2000).

A informação obtida por estudos moleculares, associada aos métodos tradicionais de seleção, pode aumentar a acurácia da seleção e, conseqüentemente, resultar em uma maior resposta à seleção. O tamanho desta resposta extra em esquemas de seleção assistida por marcadores (MAS) tem sido considerado em muitos estudos teóricos. Em geral, MAS é mais benéfica para características com baixa herdabilidade, limitadas pelo sexo ou ainda características difíceis de serem mensuradas fenotipicamente.

Segundo GIBSON (1994), há um pequeno benefício na utilização da MAS, mas em alguns casos pode levar a severas conseqüências a longo prazo, como a diminuição ou nenhum ganho genético em função da fixação dos alelos. Já MEUWISSEN e GODDARD (1996) estudaram o impacto da MAS em características de qualidade de carne e reprodutivas, em que é difícil de se obter progresso usando métodos tradicionais, e mostraram que para caracterização de qualidade de carne, que são medidas após o abate, pode-se obter uma resposta adicional acima de 64%. O uso da MAS, no entanto, requer desequilíbrio de ligação, seja na família ou na população (MUIR, 1999).

1.3. Resultados obtidos com suínos

Observou-se nas últimas décadas uma grande contribuição da genética molecular, promovendo o aumento expressivo do conhecimento do genoma de muitas espécies de animais e vegetais.

Dentre as espécies de animais domésticos, a suína é a que mais foi beneficiada por estas novas descobertas, tanto pelos investimentos diretos em pesquisa do seu próprio genoma como pela conversão dos conhecimentos adquiridos em ferramentas aplicadas à seleção (PEREIRA, 2000).

Vários locos responsáveis pela manifestação das características economicamente importantes (ETL) já foram mapeados e vários outros locos estão sendo mapeados. Estes locos compreendem desde características monogênicas ou governadas por poucos genes (pelo menos aparentemente) até locos de características quantitativas (QTLs), em que vários locos de efeito menor são responsáveis pela manifestação da característica.

O primeiro ETL utilizado na indústria suinícola foi o halotano (HAL), em 1991 (FUJII et al., 1991). O gene do HAL está associado com a Síndrome do Estresse Suíno (PSS) e carne pálida mole e exudativa (PSE).

Vários projetos em todo o mundo foram ou estão sendo implantados para se mapear o genoma dos suínos, que é, certamente, dentre os animais de interesse econômico, a espécie com maior volume de informações (ROTHSCHILD, 2003, ROSLIN INSTITUTE, 2003). Mais de 2000 genes e, ou, marcadores já foram localizados no genoma suíno, apesar de nem todos os resultados terem sido publicados (GUIMARÃES et al., 2001). A maioria dos mapas genéticos tem aproximadamente 1000 marcadores, o que dá uma distância média entre marcadores de cerca de 3 cM. Estas informações têm possibilitado aos pesquisadores a procura por QTL e também por genes candidatos.

Muitos estudos têm sido voltados para a busca de QTL afetando características de importância econômica em suínos (ANDERSON et al., 1994; ROTHSCHILD et al., 1995; CASAS-CARRILO et al., 1997; ANDERSSON-EKLUND et al., 1998; ROHRER e KEELE, 1998; WANG et al., 1998; MARKLUND et al., 1999; NEZER et al., 1999; PASZEK et al., 1999; YU et al., 1999; ROHRER, 2000; WALLING et al., 2000; BIDANEL et al., 2001; de KONING et al., 2001; MALEK, et al., 2001; OVILO et al., 2002), sendo que a maioria deles tem encontrado QTL com efeitos significativos na variação fenotípica das características ou QTL com efeitos sugestivos sobre as características quantitativas.

QTLs para crescimento e espessura de toucinho, características de qualidade de carne e características reprodutivas têm sido identificados. Mutações que causam síndrome do estresse suíno (HAL ou CRC1), carne ácida (RN) e cor de pele também têm sido identificadas. Estudos com polimorfismo de genes candidatos têm apresentado resultados promissores (por exemplo, receptor de estrógeno - ESR e receptor de prolactina – PRLR, para tamanho de leitegada, FABP do coração e adipócitos, para qualidade de carne). A indústria suinícola tem um papel significativo nestes desenvolvimentos, tanto pelo suporte direto à pesquisa quanto pela implementação rápida das ferramentas práticas que têm sido geradas (PLASTOW, 2000).

Na Tabela 1 são apresentados alguns testes em genética molecular usados pela indústria suinícola.

Tabela 1 – QTL e genes candidatos usados pela indústria suinícola

QTL	
Taxa de crescimento	Cromossomos 1, 4, 6, 7, 13
Deposição de gordura	Cromossomos 4, 6, 7, 13
Qualidade de carne	Cromossomos 3, 4, 12, 15
Tamanho de leitegada	Cromossomos 7, 8
Comprimento de intestino	Cromossomos 4
Resposta imune	Cromossomos 1, 4, 6
Genes candidatos e “Major genes”	
RYR1	Síndrome do estresse suíno, hiperplasia maligna, qualidade de carne
K88AB	Diarréia neonatal
ESR e PRLR	Tamanho de leitegada
RN	Qualidade de carne (carne ácida)
ECF18R	Doença do edema, diarréia
KIT	Cor de pele (branca dominante)
MC1R	Cor de pele (vermelha/preta)
HFABP e AFABP	Gordura intramuscular
Testes de indústria	
Teste de parentesco	Uso não exclusivo
Halotano (HAL)	Qualidade de carne – uso não exclusivo
Receptor de estrógeno (ESR)	Tamanho de leitegada – uso exclusivo (PIC)
Receptor de prolactina (PRLR)	Tamanho de leitegada – uso exclusivo (PIC)
KIT	Cor branca – uso exclusivo (PIC)
MC1R	Cor vermelha/branca – uso exclusivo (PIC)
MC4R	Crescimento e deposição de gordura – uso exclusivo (PIC)
FUT1	Resistência à E. coli F18 – uso exclusivo (PIC/ITH)
RN	Qualidade de carne
AFABP, HFABP	Gordura intramuscular – não exclusivo
IGF2	Composição de carcaça – uso exclusivo (Seghers)
PT1	Crescimento, apetite e produção de leite
Testes secretos comerciais	Muitos testes

Adaptado de ROTHSCILD e PLASTOW (1999) e PLASTOW (2000).

1.4. Mapeamento de QTL

Um grande número de delineamentos experimentais e de metodologias estatísticas tem sido proposto para se detectar genes que afetam características quantitativas com o auxílio de marcadores genéticos.

Mapeamento de QTL é basicamente uma inferência genômica do relacionamento entre os valores fenotípicos das características quantitativas e os genótipos do QTL. Este relacionamento inclui número e posição dos QTLs, além dos efeitos destes QTLs, da interação dentro dos alelos do QTL (dominância) e entre os alelos de locos de QTL (epistasia), além de efeitos pleiotrópicos e interação com o ambiente.

Em geral, considera-se que um QTL esteja ligado ao loco de um marcador com uma frequência de recombinação r . Na Figura 1 está exemplificada a ligação entre um QTL e um único marcador (A).

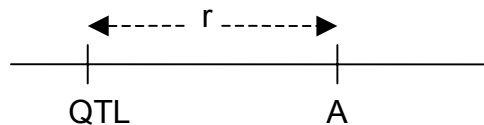


Figura 1 – Relação de ligação entre um QTL e um marcador (A), a uma distância de recombinação r .

Entretanto, no mapeamento genômico utilizando marcadores moleculares, as análises são feitas a partir das informações de vários marcadores, em que os marcadores adjacentes ao QTL em estudo são utilizados para localizar este QTL, e os demais marcadores são utilizados para incluir no modelo as variações causadas por outros possíveis QTLs ou genes candidatos, tornando a análise de posição e efeito do QTL em estudo mais precisa. Na Figura 2 está ilustrado um QTL flanqueado por dois marcadores A e B, localizados a r_1 e r_2 distâncias de recombinação, respectivamente. Os marcadores C e D estão localizados fora do intervalo de interesse, com o objetivo de absorver a variação provocada por outros QTLs adjacentes.

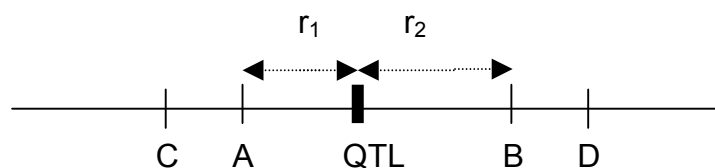


Figura 2 – Relação de ligação de um QTL no mapeamento genômico.

1.5. Genes do cromossomo 6 de suínos

Grande número de genes e locos gênicos já foi mapeado no cromossomo 6 suíno (SSC6).

Constam nas Tabelas 2 e 3 os locos presentes no SSC6 (ROTHSCHILD, 2003 e ROSLIN INSTITUTE, 2003). Estes não são, porém, locos de QTL e sim de genes, uma vez que o SSC6 é um dos mais estudados, devido a localização de genes importantes, como o Halotano, Receptor da Leptina, Receptor de Melanocortina, entre outros. Estes locos foram amplamente estudados e já se chegou à informação em nível de gene. ROTHSHILD e PLASTOW (1999) descrevem vários QTLs localizados no SSC6, que precisam ainda ser confirmados por mais estudos.

Foi feita a divisão em duas tabelas. Na Tabela 2 são apresentados alguns genes cuja localização é precisa e está representada por seu posicionamento em centi-morgans (cM). Na Tabela 3 estão outros genes cuja localização está em termos de mapeamento citogenético e sua localização está menos precisa, em termos de bandas nos braços curto (p) e longo (q) do cromossomo. Na Figura 3 está exemplificado o mapa citogenético do SSC6.

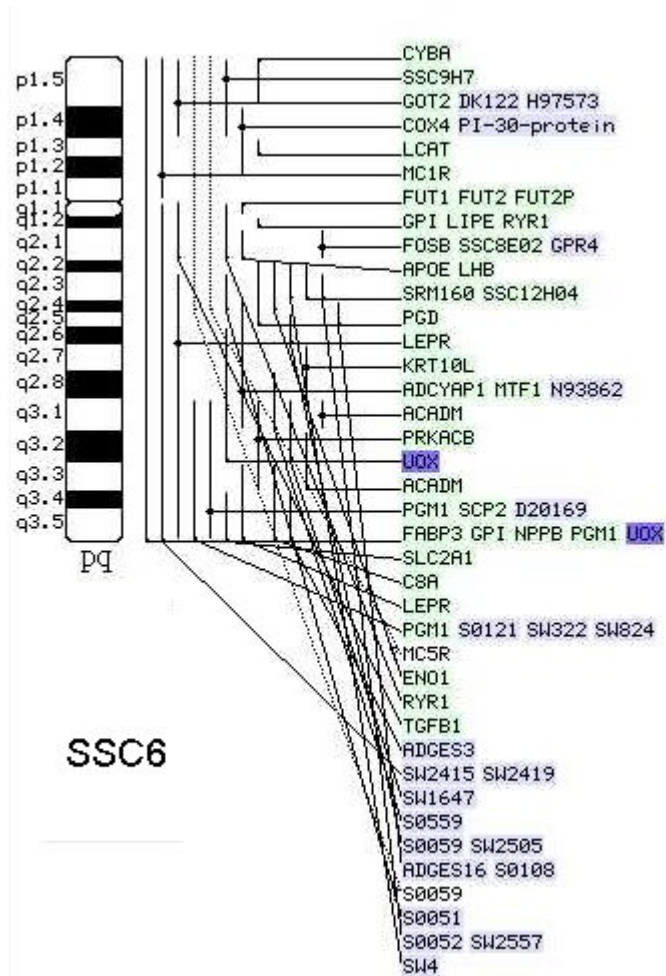


Figura 3 - Mapa de ligação do cromossomo 6 de suínos (SSC6).

Tabela 2 - Genes SSC6 com a respectiva localização, em cM

Símbolo	Descrição	Posição (cM)
E	Loco para cor de pele	0,0
ENO1	Enolase 1, (alpha)	62,8
PRKACB	Proteína kinase, cAMP-dependente catalítica, beta	66,9
EAH	Eritrócito antígeno H	100,0
EAS	Eritrócito antígeno S - inibição de antígenos A-O	100,0
ECF18R	Receptor para E.coli F18	100,0
FOSB	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homólogo Bg	100,0
GPI	Glicose fosfato isomerase	100,0
HAL	Sensibilidade ao Halotano	100,0
RYR1	Canal de cálcio (músculo esquelético)	100,0
NPPB	Peptídeo natriuretic do cérebro	106,0
PGD	Desidrogenase 6-Fosfogluconato	106,0
POU2F2	Domínio POU, classe 2, fator de transcrição 2	106,0
FUCA1	Fucosidase, alpha	109,0
ALPL	Fosfatase alcalina, osso, fígado, rim	117,0
TGFB1	Transformador do fator de crescimento beta-1	124,9
A1BG	Glicoproteína alpha-1B	129,0
APOE	Apolipoproteína E	129,0
ETH5001	Microsatellite para o loco RYR1	129,0
RYR1	Receptor de Ryanodina	129,0
EAO	Eritrócito antígeno O	136,5
TAT	Tirosina aminotransferase	336,0
FABP3	Proteína ligadora de ácidos graxos, coração	106,0

Tabela 3 - Genes do SSC6 cuja localização não é ainda muito precisa (expressa em bandas dos braços curto (p) e longo (q))

Símbolo	Descrição	Posição
MC1R	Receptor 1 de Melanocortina, (alpha melanócito estimulante)	p
COX4	Citocromo c oxidase, subunidade IV	p12-p14
LCAT	Aciltransferase lecitina-colesterol	p13
GOT2	Transaminase 2 glutâmico-oxaloacético, mitocondrial	p14-p15
CYBA	Citocromo b-245, alpha polipeptídeo	p15
SSC9H7	Proteína do Canal de Cálcio tipo I	p15-p14
FUT1	alpha(1,2) fucosiltransferase 1	q11
FUT2	alpha(1,2) fucosiltransferase 2	q11
FUT2P	alpha(1,2) fucosiltransferase 2 (pseudogene)	q11
LIPE	Lipase sensível a homônio	q12
LHB	Hormônio luteinizante, beta polipeptídeo	q21
SRM160	Proteína da matriz nuclear relacionada a Ser/Arg	q22-q23
MC5R	Receptor de Melanocortina-5	q24-q31
MTF1	Metal regulatory transcription factor	q24-q31
UOX	Urato oxidase	q26-q32
KRT10L	Loco semelhante a queratina, homólogo a K51 em rato	q27-q28
ACADM	Acil-CoenzimaA desidrogenase	q31
D20169	EST D20169	q31-q35
PGM1	Fosfoglicomutase 1	q31-q35
SCP2	Proteína carreadora de Esterol	q31-q35
C8A	Complemento do componente 8, alpha polipeptídeo	q33-q35
LEPR	Receptor da Leptina	q33-q35
SLC2A1	Soluto carreador família 2 (facilitador glicose trans)	q34
ADCYAP1	Polipeptídeo ativador da adenilato ciclase, pituitária	q24-q31
PI-30-protein		p12-p14
DK122	DK122, SCAR	
MC1R	Receptor 1 de Melanocortina (AcclI PCR-RFLP)	
MC1R	Receptor 1 de Melanocortina (BspH1 PCR-RFLP)	

2. OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste trabalho foi mapear QTLs no cromossomo 6 de suínos (SSC6), relacionados às diversas características de importância econômica na suinocultura, em uma população de animais F2, produzida por cruzamentos entre raças geneticamente divergentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSSON, L. 1997. The use of a Wild pig x Domestic pig intercross to map phenotypic trait loci. **Journal of Heredity**, v.88, p.380-383.
- ANDERSSON, L., HALEY, C.S., ELLEGREN, H., KONTT, S.A. JOHANSSON, M. K. ANDERSSON, K., ANDERSSON-EKLUND, L., EDFORS-LILJA, I., FREDHOLM, M., HANSSON, I., HAKANSSON, J., LUNDSTRÖM, K. 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Science**, v.263, p.1771-1774.
- ANDERSSON-EKLUND, L., MARKLUND, L. LUNDSTRÖM, K., HALEY, C.S., ANDERSSON, K., HANSSON, I., MOLLER, M., ANDERSSON, L. 1998. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a Wild Boar x Large White intercross. **Journal of Animal Science**, v.76, p.694-700.
- BIDANEL, J.P., MILAN, D., IANNUCELLI, N., AMIGUES, Y., BOSCHER, M.Y., BOURGEOIS F., CARITEZ, J.C., GRUAND, J., LE ROY, P., LAGANT, H., QUINTANILLA, R., RENARD C., GELLIN, J., OLLIVIER, L., CHEVALET, C. 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Genetic Selection Evolution**, v.33, p.289-309.
- CASAS-CARRILLO, E., PRILL-ADAMS, A., PRICE, S.G., CLUTTER, A.C., KIRKPATRICK, B.W. 1997. Mapping genomic regions associated with growth rate in pigs. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2047-2053.
- FUJII, J., OTSU, K., ZORZATO, F., de LEON, S., KHANNA, V.K., WEILER, J.L., O'BRIEN, P.J., MacLENNAN, D.H. 1991. Identification of a mutation in the porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. **Science**, v.253, p.448-451.
- GIBSON, J.P. 1994. Short-term gain at the expense of long-term gain response with selection of identified loci. **Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, v.21, p.201-204.
- GUIMARÃES, S.E.F., LOPES, P.S., WENCESLAU, A.A., PIRES, A.V., SOARES, M.A.M., CARMO, F.M.S. 2001. O Genoma dos Suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38. **Anais...** Piracicaba, SP: SBZ. (CD Rom).
- KONING, D.J., JANSSE, L.L.G., RATTINK, A. P. et al. 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). **Genetics**, v.152, p.1679-1690.
- KONING, D.J., RATTINK, A.P., HARLIZIUS, B., GROENEN, M.A.M., BRASCAMP, E.W., van ARENDONK, J.A.M. 2001. Detection and characterization of quantitative trait loci for growth and reproduction traits in pigs. **Livestock Production Science**, v.72, p.185-198.
- LANDER, E.S., BOTSTEIN, D. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v.121, p.185-199.
- LIU, B.H. **Statistical genomics: Linkage, mapping and QTL analysis**. 1998. 611p.

- MALEK, M., DEKKERS, C.M.J., LEE, H.K., BAAS, T.J., ROTHSCHILD, M.F. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636.
- MARKLUND, L., NYSTROM, P.E., STREN, S., ANDERSSON-EKLUND, ANDERSSON, L. 1999. Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. **Heredity**, v.82, p.134–141.
- MEUWISSEN, T. H. E., GODDARD, M. E. 1996. **Genetic Selection Evolution**, v.28, p.161.
- MUIR, W.M. 1999. Molecular Genetics in Poultry breeding. In. Simpósio Internacional de Genética e Melhoramento animal. **Anais...**, Viçosa, MG, Brasil, p.243 – 267.
- NEZER, C., MOREAU, L., BROUWERS, B., COPPIETERS, W., DETILLEUX, J. HANSET, R., KARIM, L., KVASZ, A., LEROY, P., GEORGES, M. 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in pigs. **Nat. Genet.**, v.21, p.155–156.
- OVILO, C., CLOP, A., NOGUERA, J.L., OLIVER, M.A., BARRAGÁN, C., RODRÍGUEZ, C., SILIÓ, L., TORO, M.A., COLL, A., FOLCH, J.M., SÁNCHEZ, A., BABOT, D., VARONA, L., PEREZ-ENCIZO, M. 2002. Quantitative trait locus for meat quality traits in an Iberian x Landrace F2 pig population. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2801-2808.
- PASZEK, A., WILKIE, P., FLICKLINGER, G., ROHRER, G., ALEXANDER, L., BEATTIE, C.W., SCHOOK, L.B. 1999. Interval Mapping of growth in divergent swine cross. **Mammalian Genome**, v.10, p.117-122.
- PATERSON, A.H. **Of blending, beans, and bristles: the foundations of QTL mapping.** In: PATERSON, A.H. Molecular dissection of complex traits. CRC Press, New York, 1998a, p.1-10.
- PATERSON, A.H. **QTL mapping in DNA marker-assisted plant and animal improvement.** In: PATERSON, A.H. Molecular dissection of complex traits. CRC Press, New York, 1998b, p.131-143.
- PEREIRA, A.F. 2000. Melhoramento genético de suínos. IN: Reunião Anual da SBZ, 37, **Anais** dos Simpósios, Viçosa:SBZ, 2000, p.9-15.
- PLASTOW, G.S. 2000. Molecular genetics in the swine industry. Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 3, **Anais...** Belo Horizonte, MG: SBMA, 2000, p.21-30.
- ROHRER, G.A. 2000. Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of back fat and weight in Meishan-White Composit resource population. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2547–2553.
- ROHRER, G.A., KEELE, J.W. 1998. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine: II. Muscling and wholesale product yield traits. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2255-2262.
- ROSLIN INSTITUTE. 2003. **Pig genome mapping.** Disponível em: <<http://www.projects.roslin.ac.uk>>. Acessado em: 15 de janeiro de 2003.

- ROTHSCHILD, M.F. 2003. **U.S. Pig gene mapping coordination program.** Disponível em: <<http://www.genome.iastate.edu/pig>>. Acessado em: 20 de janeiro de 2003.
- ROTHSCHILD, M.F., LIU, H.C., TUGGLE, C.K., YU, T.P., WANG, L. 1995. Analysis of pig chromosome 7 genetic markers for growth and carcass performance traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v.112, p.341–348.
- ROTHSCHILD, M.F., PLASTOW, G.S. 1999. Advances in pig genomics and industry applications. *AgBiotechNet*, v.1, p.1-7.
- WALLING, G.A., VISSCHER, P.M., ANDERSSON, L., ROTHCHILD, M.F., WANG, L., MOSER, G., GROENEN, M.A.M., BIDANEL, J.-P., CEPICA, S., ARCHIBALD, A.L., GELDERMANN, H., de KONING, D.J., MILAN, D., HALEY, C.S. 2000. Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies: chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. *Genetics*, v.155, p.1369–1378.
- WANG L., YU, T.-P., TUGGLE, C.K., LIU, H.-C., ROTSCHILD, M.F. 1998. A direct search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. *Journal of Animal Science*, v.76, p.2560-2567.
- WILLIAM, D.B. **QTL analysis: power, precision and accuracy.** In: PATERSON, A.H. *Molecular dissection of complex traits.* CRC Press, New York, 1998, p. 145-162.
- YU, T.P., WANG, L., TUGGLE, C.K., ROTHSCHILD, M.F. 1999. Mapping fatness and growth on pig chromosome 13: a search in the region close to the pig PIT1 gene. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v.16, p.269–280.

CAPÍTULO 1

Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 (SSC6) de uma população F2 de suínos: I - características de desempenho

Resumo: O objetivo deste estudo foi realizar o mapeamento de QTLs no cromossomo 6 suíno (SSC6), associados às características de desempenho. Uma população F2 composta por 617 animais foi obtida pelo intercruzamento da geração F1, produzida pelo cruzamento divergente de dois machos da raça nativa brasileira Piau com 18 fêmeas comerciais. Foram utilizados 13 marcadores microssatélites, distribuídos ao longo do SSC6, para genotipar os animais. As características avaliadas na população F2 foram: número de tetas (NT), peso ao nascimento (PN), peso aos 21, 42, 63, 77 e 105 dias de idade (P21, P42, P63, P77 and P105), peso ao abate (PA), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e ganho de peso médio diário (GPD) dos 77 aos 105 dias de idade, e idade ao abate (IDA). Foi utilizado o método de regressão por intervalo de mapeamento, e as análises foram realizadas por meio do programa QTL Express. Foi encontrado um QTL significativo associado a CR, a 99 cM do SSC6. Para a característica P42, foi encontrado um QTL sugestivo localizado a 55 cM. Um mesmo loco, localizado em torno de 100 cM, pode estar atuando sobre as características CR, GPD e IDA. Embora com picos não significativos, os locos que atuam sobre a característica peso corporal parecem ser diferentes, dependendo da idade em que for medida tal característica. Nas regiões dos picos da estatística F onde foram encontrados QTL sugestivos, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a presença de QTLs.

Palavras-chave: QTL, cruzamento divergente, genética, marcadores moleculares, melhoramento animal

Mapping quantitative trait loci on chromosome 6 (SSC6) in a F2 pig population: I – performance traits

Abstract: The objective of this study was to perform QTL mapping on swine chromosome 6 (SSC6) associated to performance traits. The F2 population was produced by outbred crossing using two native Brazilian breed Piau sires with 18 commercial dams. A total of 617 F2 animals was genotyped for 13 microsatellite markers. The traits evaluated on F2 population were: teat number (NT), birth weight (PN), weight at 21, 42, 63, 77 and 105 days of age (P21, P42, P63, P77 and P105), slaughter weight (PA), feed intake (CR), feed-gain ratio (CA), average daily gain (GPD) to 77 at 105 days of age, and slaughter age (IDA). Data were analyzed by multiple regression developed for analysis of crosses between outbred lines, using QTL Express software. It was detected a significant QTL for CR, at 99 cM on SSC6. Suggestive QTL was obtained for P42, it was located at 55 cM. The traits CR, GPD and IDA may be under the influence of a locus, located about 100 cM. Despite of the non significant results, the loci related to body weight traits may be different, according to the age in which traits were measured. In the F-values peaks where suggestive QTLs were detected, more markers should be included, in order to confirm the QTLs presence.

Key words: QTL, outbred cross, genetic, molecular markers, animal breeding

INTRODUÇÃO

As características de crescimento são, em sua maioria, economicamente importantes na produção animal e apresentam herança quantitativa, ou seja, apresentam variação contínua e são governadas por vários genes.

O modelo infinitesimal tem sido usado para descrever o comportamento dessas características, pressupondo que um número infinito de genes, com pequenos efeitos, seja responsável por suas variações genéticas. Em muitos casos, porém, esse modelo tem sido substituído por outros nos quais poucos genes são responsáveis por uma grande proporção da variação genética das características. O mapeamento dos locos de características quantitativas (QTLs) permite que se determine a localização e os efeitos destes genes. Este mapeamento de QTL é, portanto, uma das alternativas para se identificar genes que causam variações fenotípicas em características economicamente importantes.

Dentre os mapas genéticos dos animais domésticos, o suíno é um dos mais estudados. O genoma suíno possui cerca de 2800 cM, distribuídos em 18 pares de cromossomos autossômicos e o par sexual. Mais de 2000 genes e, ou marcadores já foram localizados no genoma suíno, apesar de nem todos os resultados terem sido publicados (GUIMARÃES et al., 2001). A maioria dos mapas genéticos tem aproximadamente 1000 marcadores, o que dá uma distância média entre marcadores de cerca de 3 cM. Estas informações têm possibilitado aos pesquisadores procurar por QTLs e também por genes candidatos.

Dentre as estratégias de mapeamento de QTLs, a escolha do delineamento para a obtenção dos indivíduos que formarão a população a ser genotipada é de extrema importância, pois está diretamente ligada à facilidade de detecção dos QTLs. A utilização de uma população F₂, obtida do cruzamento entre raças geneticamente divergentes, apresenta algumas vantagens, como maior facilidade de detecção de QTLs, principalmente em função da grande segregação de alelos, devido à maior variabilidade genética.

A maioria dos cruzamentos em suínos para formação de uma população divergente F₂ é obtida pelo acasalamento entre o porco selvagem

européu ou o porco chinês e as raças comerciais, Landrace, Large White e Pietrain, (ROSLIN INSTITUTE, 2003, ROTHSCHILD, 2003).

Muitos estudos têm sido voltados para a busca de QTLs afetando características de crescimento em suínos (ANDERSSON et al., 1994; ROTHSCHILD et al., 1995; CASAS-CARRILO et al., 1997; WANG et al., 1998; MARKLUND et al., 1999; NEZER et al., 1999; PASZEK et al., 1999; YU et al., 1999; ROHRER, 2000; WALLING et al., 2000; BIDANEL et al., 2001; de KONING et al., 2001; MALEK, et al., 2001), sendo que a maioria deles tem encontrado QTLs com efeitos significativos na variação fenotípica das características ou QTLs com efeitos sugestivos sobre as características quantitativas.

O objetivo deste trabalho foi mapear QTLs associados às características de peso corporal em várias idades, consumo de ração, ganho de peso médio diário, conversão alimentar e idade ao abate, no cromossomo 6 de suínos, a partir de uma população F2.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos dados e delineamento utilizado

A formação das famílias e obtenção dos dados fenotípicos foram realizadas na Granja de Melhoramento de Suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, Brasil, no período de novembro de 1998 a julho de 2001.

Foi utilizado o delineamento de F2 para se obter desequilíbrio de fase de ligação entre os marcadores e os QTLs.

Para tanto, foram construídas duas famílias provenientes do cruzamento de dois machos da raça nativa brasileira Piau com 18 fêmeas originadas de linhagem desenvolvida na UFV pelo acasalamento de animais das raças comerciais, Landrace x Large White x Pietrain, selecionadas para características de desempenho. A geração F1 nasceu entre os meses de março e maio de 1999. Dentre os machos F1, foram selecionados ao acaso 11 varrões provenientes de diferentes leitegadas, que foram acasalados (monta

natural) com 54 fêmeas. Estes animais foram acasalados entre os meses de fevereiro e outubro de 2000, para a produção da geração F2, nascida entre junho de 2000 e fevereiro de 2001. Assim, foram obtidos 617 animais F2, divididos em cinco lotes:

- lote 1 = animais nascidos entre 20/06/00 e 03/07/00;
- lote 2 = animais nascidos entre 03/08/00 e 23/08/00;
- lote 3 = animais nascidos entre 16/09/00 e 01/11/00;
- lote 4 = animais nascidos entre 30/11/00 e 25/12/00;
- lote 5 = animais nascidos entre 19/01/01 e 12/02/01.

Os três primeiros lotes foram constituídos de animais nascidos de matrizes de primeira parição e os demais, de segunda parição.

Os machos foram castrados aos 10 dias de idade e desmamados aos 21 dias de idade. Dos 77 aos 105 dias de idade, os animais foram submetidos ao teste de conversão alimentar individual.

Características avaliadas

As seguintes características fenotípicas foram mensuradas na geração F2: número de tetas (NT), peso ao nascer (PN), peso aos 21 (P21), aos 42 (P42), 63 (P63), 77 (P77) e aos 105 (P105) dias de idade, peso ao abate (PA), ganho de peso médio diário (GPD), consumo de ração à vontade (CR) e conversão alimentar (CA) dos 77 aos 105 dias de idade, e idade ao abate (IDA). Os números de observações, as médias e os desvios-padrão dessas características são apresentados na Tabela 1.

Extração de DNA

A análise genotípica foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. O DNA dos animais parentais, F1 e F2 foi extraído do sangue dos mesmos, coletado imediatamente após o abate. O DNA foi extraído de acordo com a técnica descrita a seguir:

EXTRAÇÃO DE DNA COM SAL A PARTIR DE CÉLULAS BRANCAS

A – Obtenção dos Leucócitos

1. Coletar \pm 10mL de sangue em EDTA 0,5%.
2. Centrifugar por 15 minutos, a 3500 rpm e descartar o plasma.
3. a) Guardar em \pm 1mL de NET 100 e congelar;
b) Lavar as células com PBS 1X por duas vezes;
c) Centrifugar e descartar o sobrenadante.
4. Completar o tubo com solução de hemólise \pm 2mL, (10mM Tris pH 7.5, 5mM MgCl₂, 10mM NaCl), homogeneizar, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C.
5. Desprezar ou aspirar o sobrenadante, ressuspender o pellet em 2mL de solução de lise, passar no Vórtex, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C.
6. Repetir o passo 5 até obter um pellet branco. Neste passo, pode-se passar para tubos eppendorfs marcados para fazer as lavagens, utilizando 14000 rpm por 20 segundos.
7. Ressuspender o pellet em 200 μ L do tampão de proteinase K (5X), 20 μ L de proteinase (20mg/mL), 26 μ L de SDS 20% e 744 μ L de H₂O destilada. Volume final 1000 μ L.
8. Incubar a 55°C até dissolver o pellet (4–6 horas ou *over night*).

B – Precipitação do DNA com o sal

9. Dividir cada amostra em mais dois tubos. Adicionar 110 μ L NaCl 5M e homogeneizar por 15 segundos. Centrifugar a 14000 rpm por 5 minutos.
10. Transferir o sobrenadante para um novo tubo e adicionar 1mL de etanol absoluto. Ressuspender e centrifugar por 5 minutos a 14000 rpm.
11. Descartar o sobrenadante, secar o pellet, ressuspender em 100 a 200 μ L de TR e incubar em banho-maria a 37°C por 30 minutos.

As soluções de DNA para uso (na concentração aproximada de 25 η g/ μ L) foram mantidas a 4°C.

Obtenção dos genótipos marcadores

Os *primers* de microssatélites foram doados pelo Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Genômico Suíno Norte Americano (ROTHSCHILD, 2003).

Foram utilizados *primers* para cobrir o cromossomo 6 de suínos a um intervalo médio de 12,7 cM. Na Tabela 2 são apresentados os *primers* com algumas características específicas a cada um deles, como localização,

fluorescência, faixa da variação de tamanho em pares de base (pb) e número de alelos.

Tabela 1 – Número de observações, média e desvio-padrão para as características estudadas

Característica	Unidade	Número de observações	Média	Desvio-padrão
NT	n ^o	617	13,1454	1,2877
PN	Kg	617	1,2249	0,2643
P21	Kg	572	4,9478	1,0582
P42	Kg	581	8,3710	1,7928
P63	Kg	590	16,3434	3,2297
P77	Kg	617	21,4498	4,1137
P105	Kg	594	36,5655	6,1364
CR	Kg	606	40,0691	7,8430
GPD	Kg	596	0,5340	0,1340
CA	Kg/Kg	591	2,7993	0,6500
PA	Kg	506	64,8397	5,5370
IDA	dias	532	147,8346	9,9511

NT - número de tetas; PN - peso ao nascer; P21, P42, P63, P77 e P105 = peso aos 21, 42, 63, 77 e 105 dias de idade, respectivamente; PA - peso ao abate; GPD - ganho de peso médio diário; CR - consumo de ração; CA - conversão alimentar e IDA - idade ao abate.

Para as amplificações, foram utilizados os termocicladores MJ Reseach, Inc. modelo PTC-100/96. As reações foram constituídas de Taq polimerase 1 U, dNTPs 0,2 mM, *primers forward* e *reverse* 0,2 µM cada, Tris-HCl pH 8,3 20mM, KCl 50 mM. As concentrações de Mg variaram de 2 a 43 mM, em função do padrão de amplificação dos primers. Foram utilizados 25 ηg de DNA genômico por reação, em um volume final de 10 µL. Os programas de amplificação variaram para cada par de *primer*, constituindo-se basicamente dos seguintes passos:

- 1- desnaturação inicial = 94°C/3 min.;
- 2- desnaturação = 94°C/1min.;
- 3- anelamento do *primer* = temperatura variável (Tabela 2) por um minuto;
- 4- polimerização = 72°C/1 min.; (repetindo-se os passos 2, 3 e 4 por 25 a 35 vezes, de acordo com o primer);
- 5- polimerização final = 72°C/5 min.

Tabela 2 – *Primers* utilizados na varredura do cromossomo 6 de suínos

Marcador	Posição ¹ (cM)	Fluorescência	Temp. anel. ²	Mínimo alelo (pb)	Máximo alelo (pb)	Número de alelos
S0035	7,3	Tet	62	178	186	4
SW973	18,6	Hex	58	171	183	2
SW1353	29,2	Hex	58	154	168	4
SW1841	41,5	Fam	58	175	236	7
SW1057	47,1	Hex	56	150	188	7
SW1067	71,4	Hex	60	136	175	7
SW122	83,3	Fam	56	110	132	8
DG94	93,0	Hex	56	174	190	4
S0003	102,0	Hex	56	131	162	6
S0228	105,2	Tet	56	221	241	5
SW1881	121,1	Fam	58	151	183	5
SW1680	153,9	Tet	65	118	158	7
SW607	165,7	Fam	56	152	172	3

¹ = segundo (ROTHSCHILD, 2003), ² = temperatura de anelamento em °C.

O padrão de amplificação dos marcadores foi inicialmente observado em gel de poliacrilamida a 5%, aplicando-se 5 µL de cada reação. Após a corrida em cuba de eletroforese, foi realizada a coloração com nitrato de prata. Confirmadas as amplificações, os produtos foram congelados a -20°C para posterior análise dos fragmentos. Estas análises foram feitas por meio de eletroforese em géis de poliacrilamida a 5%, utilizando-se seqüenciador automático ABI Prism 377 do Núcleo de Biologia Aplicada da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil.

A detecção e discriminação dos fragmentos polimórficos amplificados foram realizadas pelo programa GenScan. Posteriormente, os dados foram extraídos e convertidos em um arquivo de saída pelo programa Genotyper v.2.0, ambos da Applied Biosystems.

Análises estatísticas

Foram utilizadas as distâncias de consenso do mapa de ligação de suínos (ROTHSCHILD, 2003). O mapeamento de QTL foi realizado pelo programa QTL Express (SEATON et al., 2002), que emprega o método de regressão por intervalo de mapeamento, desenvolvido para análises de cruzamentos entre raças divergentes (HALEY et al., 1994).

No modelo estatístico, assume-se que o QTL é dialélico, com alelos alternativos fixados em cada raça parental (HALEY et al., 1994). Considera-se o genótipo QQ para os animais comerciais, com efeito a, qq para os animais nativos, com efeito -a, e Qq para os animais F1, com efeito d. A probabilidade de cada indivíduo F2 apresentar cada um dos três genótipos do QTL é calculada condicionalmente aos marcadores, a intervalos de 1 cM ao longo do cromossomo. Essas probabilidades são usadas para se fazer a regressão das características nos coeficientes aditivos e de dominância do QTL em estudo para cada animal.

Os valores da razão F foram plotados e os pontos com os maiores valores para a estatística do teste foram apresentados como a possível posição do provável QTL. Os níveis de significância ($\alpha=0,10, 0,05$ ou $0,01$) ao longo do cromossomo foram obtidos pelo teste de permutação (CHURCHILL e DOERGE, 1994), utilizando-se um total de 10000 permutações para cada característica. O teste de permutação foi executado pelo programa QTL Express (SEATON et al., 2002) e, posteriormente, foi utilizado o “Proc Univariate” do SAS (SAS INSTITUTE INCORPORATION, 1990), para se obterem os níveis de significância a 1 e 5% (QTL significativo) e a 10% (QTL sugestivo) de probabilidade, a partir das informações de todas as características simultaneamente.

Foi adotado o seguinte modelo estatístico:

$$y_{ijk} = S_i + L_j + (C_{ijk} - \bar{C})b + c_a a + c_d d + e_{ijk}$$

em que:

y_{ijk} = fenótipo;

S_i = efeito fixo do sexo i, i = 1 (macho), 2 (fêmea);

L_j = efeito fixo do lote ou época de parição j, j = 1, 2, 3, 4, 5;

$(C_{ijk} - \bar{C})b$ = ajustamento para as covariáveis (tamanho de leitegada ao nascimento para PN; tamanho de leitegada ao desmame para P21, P42, P63, P77, P105 e PA; peso aos 77 dias para CR, GPD e CA);

c_a e c_d foram calculados da seguinte maneira:

$$c_a = P(QQ) - P(qq)$$

$$c_d = P(Qq)$$

em que:

$P(QQ)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem homozigotos com origem comercial;

$P(qq)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem homozigotos com origem nativa;

$P(Qq)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem heterozigotos.

O modelo anterior foi utilizado para se estimar a regressão do fenótipo nos coeficientes c_a e c_d , variando a posição do QTL a cada cM. Para cada posição, calculou-se uma razão F, comparando-se o modelo que considera a presença do QTL (modelo completo) ao modelo sem o QTL (modelo reduzido). As estimativas para a e d foram calculadas como a melhor posição estimada com a maior razão F correspondente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 é apresentado um resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os prováveis QTLs e as respectivas estimativas dos efeitos aditivos e de dominância, com os respectivos erros-padrão.

Os valores da estatística F para todas as características foram plotados nas Figuras 1, 2 e 3, respectivamente, para as características: NT, PN, P21 e P42, para P63, P77, P105 e PA e para CR, CA, GPD e IDA, sendo que os picos correspondem às prováveis posições dos QTLs em estudo.

Observa-se, na Tabela 3 e na Figura 1, que a característica número de tetas apresenta dois picos de estatísticas F com valores próximos, localizados a 66 e 92 cM, sendo o valor máximo de F (F_{max}) igual a 3,68. Embora não significativos, estes picos são elevados e devem ser investigados, saturando-se mais o mapa de ligação, ou genotipando mais animais, para se verificar se são QTL de fato ou apenas associações falso-positivas. HIROOKA et al. (2001) também encontraram evidências de QTL influenciando número de tetas, porém, nos cromossomos 2, 10 e 12.

Tabela 3 - Resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os QTL e as respectivas estimativas dos efeitos aditivos e de dominância

Característica	Posição (cM)	F _{max}	Aditivo (± EP) ¹	Dominância (± EP)
NT	66	3,68	0,1960 ± 0,1273	0,3701 ± 0,1773
PN	165	1,55	0,0050 ± 0,0228	0,0620 ± 0,0358
P21	48	2,79	-0,0883 ± 0,0883	0,2796 ± 0,1279
P42	54	4,52[†]	-0,2015 ± 0,1792	0,7588 ± 0,2684
P63	53	2,75	-0,1509 ± 0,3166	1,0959 ± 0,4741
P77	51	2,07	0,1390 ± 0,3613	1,0663 ± 0,5378
P105	105	1,11	0,2147 ± 0,4183	-0,9008 ± 0,6215
CR	99	6,80*	1,4496 ± 0,4883	-1,7321 ± 0,7596
GPD	101	4,22	0,1790 ± 0,0080	-0,0223 ± 0,0116
CA	101	1,01	-0,0501 ± 0,0411	0,0457 ± 0,0595
PA	126	3,77	-1,4275 ± 0,6920	-1,9424 ± 1,2363
IDA	56	3,68	-3,4770 ± 1,3356	1,7233 ± 1,9510

*, † = significativo a 5% e sugestivo a 10% de probabilidade, respectivamente. ¹ EP = erro-padrão.

NT - número de tetas; PN - peso ao nascer; P21, P42, P63, P77 e P105 = peso aos 21, 42, 63, 77 e 105 dias de idade, respectivamente; PA - peso ao abate; GPD - ganho de peso médio diário; CR - consumo de ração; CA - conversão alimentar e IDA - idade ao abate.

Observando a curva da estatística F para a característica peso ao nascimento (PN) na Figura 1, verifica-se que esta não apresenta valores elevados de F (F_{máx} = 1,55), não evidenciando, portanto, a presença de QTL para esta característica. Por outro lado, ao investigarem a região próxima ao gene PIT1 no cromossomo 13, YU et al. (1999) encontraram QTL para PN, enquanto WALLING et al. (2000) encontraram no cromossomo 4. Já BIDANEL et al. (2001) utilizaram 137 marcadores cobrindo todo o genoma suíno e WANG et al. (1998), que trabalharam com os cromossomos 4 e 7, não encontraram evidências de QTL para PN.

O pico da estatística F obtido para peso aos 21 dias de idade (P21) foi de 2,79 na posição de 48 cM, indicando não haver QTL significativo para esta característica, nesse cromossomo. Tais resultados foram semelhantes aos de WANG et al. (1998), que não encontraram evidências de QTL para P21.

A característica peso aos 42 dias de idade (P42) apresentou um valor máximo de F igual a 4,52 ($P < 0,10$), indicando haver um QTL sugestivo na região de 54 cM. Ao investigarem a região próxima ao gene PIT1 no cromossomo 13, YU et al. (1999) não encontraram QTL para esta característica.

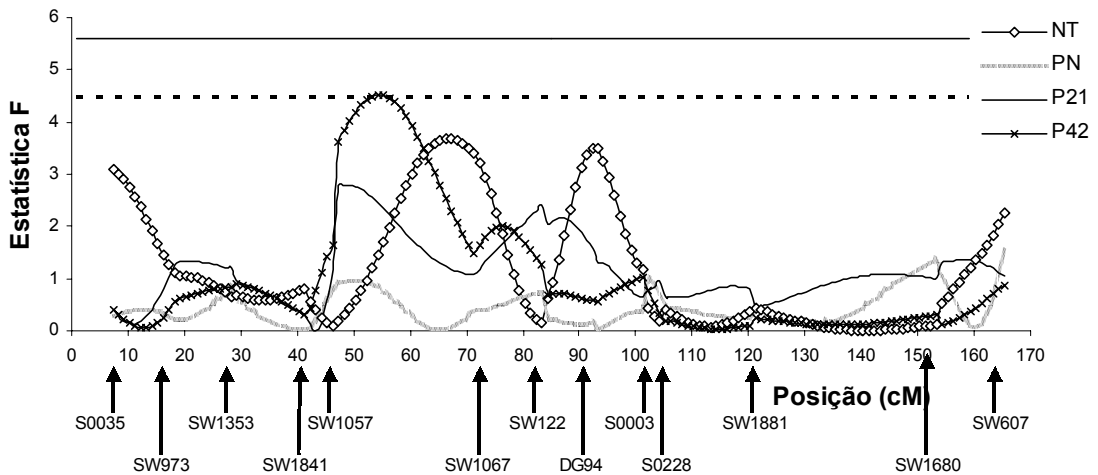


Figura 1 – Estimativas da estatística F para as características número de tetas (NT), peso ao nascimento (PN), peso aos 21 (P21) e aos 42 (P42) dias de idade. As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

Ao analisar a Figura 1, verifica-se tendência de picos definidos para as características P21 e P42. Embora não significativos, estes picos sugerem a existência de locos com alguma influência sobre estas características. Para verificar com maior precisão presença real de QTLs, deve-se aumentar a densidade de marcadores nessas regiões ou repetir o experimento com avaliação de maior número de animais. Desta forma, seriam obtidos dados para um mapeamento mais refinado dessas regiões.

Observa-se, na Tabela 3 e na Figura 2, que as características peso aos 63 (P63), 77 (P77) e 105 (P105) dias de idade apresentam picos baixos, com os valores máximos de F iguais a 2,75, 2,07 e 1,11, posicionados a 53, 51 e 105 cM, respectivamente, não se indicando, desta forma, a presença de QTLs significativos ou sugestivos para estas características.

Para peso ao abate (PA), a estatística F apresentou maiores valores, embora ainda não significativos, mas com um valor máximo de F igual a 3,77, a

126 cM. Este pico da estatística F foi obtido em uma região cromossômica pouco saturada por marcadores. Assim, a maior saturação da região com marcadores faz-se necessária para se confirmar a presença de QTLs.

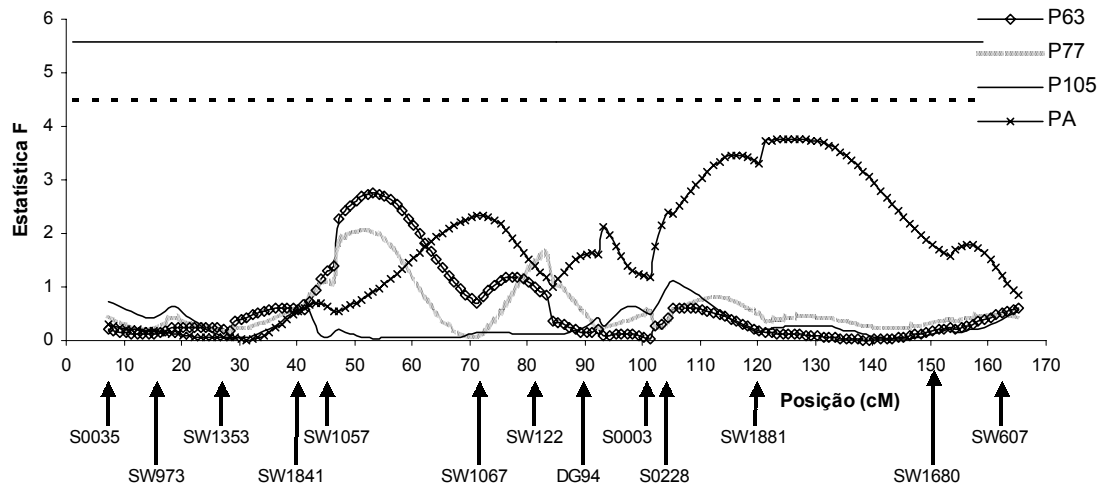


Figura 2 – Estimativas da estatística F para as características peso aos 63, 77 e 105 dias de idade (P63, P77 e P105) e peso ao abate (PA). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

Analisando simultaneamente as Figuras 1 e 2, verifica-se que as características de peso corporal medidas quando o animal é mais jovem (P21, P42, P63 e P77) tenderam a apresentar picos, embora não significativos, em diferentes regiões, sugerindo que os locos que atuam sobre as características peso corporal podem ser diferentes, dependendo da idade do animal.

Observa-se, na Tabela 3 e na Figura 3, que a característica conversão alimentar (CA) apresentou valores da estatística F muito baixos, sendo o valor máximo de F igual a 1,01, a 101 cM. Assim, não foi evidenciada a existência de QTL para esta característica.

Para a característica GPD, foi verificado um $F_{\max} = 4,22$, valor este que está próximo ao nível de significância de 10% de probabilidade, podendo se tratar, portanto, da presença de um QTL sugestivo em 101 cM. MALEK et al. (2001) encontraram 5 QTLs para ganho de peso médio diário ao trabalharem com uma varredura cromossômica em que utilizaram 125 marcadores microssatélites, enquanto CASAS-CARRILLO et al. (1997) encontraram um

QTL para GPD no cromossomo 3. Por outro lado, ROTHSCILD et al. (1995) não encontraram QTL para GPD em um estudo realizado no cromossomo 7.

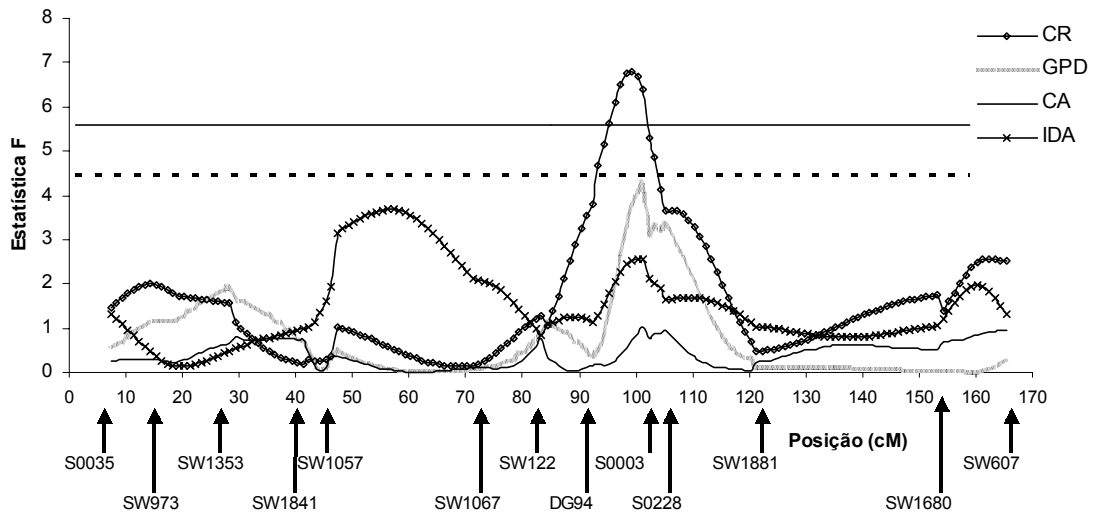


Figura 3 – Estimativas da estatística F para as características consumo de ração (CR), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar (CA) e idade ao abate (IDA). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

O valor máximo de F igual a 6,80 foi significativo ($P < 0,05$) para consumo de ração (CR) (Figura 3), indicando a presença de um QTL a 99 cM ($P < 0,05$) influenciando esta característica. ROHRER (2000) encontrou QTLs para consumo de ração médio diário nos cromossomos 1 (119 cM) e 5 (71 cM). Estes QTLs podem indicar a presença de genes reguladores de apetite, que estariam relacionados à ingestão alimentar. Ressaltando que os animais receberam ração à vontade, sem qualquer restrição, para que pudessem expressar todo o potencial para CR.

A estatística F para a característica idade ao abate (IDA) apresentou dois picos, sendo o $F_{\max} = 3,68$ a 56 cM. Como essa região cromossômica apresenta baixa densidade de marcadores, deve-se, portanto, obter maior saturação da mesma, com a distribuição de mais marcadores, para se verificar se há presença real de QTL. IDA apresentou outro pico menor, em 101 cM, que praticamente coincide com o F_{\max} para GPD, e com o F_{\max} para CR, que foi significativo. Estes resultados justificariam a existência de correlação fenotípica positiva entre CR e GPD, e negativa entre estas e IDA, ou seja, maior CR

levaria a maior GPD e, conseqüentemente, à redução na IDA. Estes resultados sugerem que um mesmo loco pode estar atuando sobre essas características, exercendo efeito pleiotrópico, ou ainda, pode tratar-se de ligação gênica, em que diferentes locos, proximamente ligados em torno de 100 cM, podem estar influenciando essas características. Para se verificar se está ocorrendo efeito pleiotrópico ou de ligação gênica nesta região, deve-se aumentar a densidade de marcadores para se obter um mapeamento de alta resolução.

CONCLUSÕES

Foi encontrado um QTL significativo associado ao consumo de ração, a 99 cM, e um QTL sugestivo para peso aos 42 dias de idade, localizado a 55 cM do cromossomo 6 de suínos.

Um mesmo gene ou grupo gênico, localizado em torno de 100 cM do cromossomo 6, pode estar atuando sobre as características consumo de ração, ganho de peso médio diário e idade ao abate.

Embora não significativos, os resultados sugerem que os locos que atuam sobre as características peso corporal podem ser diferentes, dependendo da idade do animal.

Nas regiões dos picos da estatística F onde se encontraram QTLs sugestivos, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a real presença de QTL.

Agradecimento

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), pelo financiamento do projeto.

À Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, em especial à pesquisadora Dra. Cláudia Teixeira Guimarães, pela disponibilização do seqüenciador automático utilizado para as genotipagens.

Ao Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Norte Americano de Mapeamento Genômico de Suínos, pela doação dos *primers* de microssatélites.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSSON, L., HALEY, C.S., ELLEGREN, H., KONTT, S.A. JOHANSSON, M. K. ANDERSSON, K., ANDERSSON-EKLUND, L., EDFORS-LILJA, I., FREDHOLM, M., HANSSON, I., HAKANSSON, J., LUNDSTRÖM, K. 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Science**, v.263, p.1771-1774.
- BIDANEL, J.P., MILAN, D., IANNUCELLI, N., AMIGUES, Y., BOSCHER, M.Y., BOURGEOIS F., CARITEZ, J.C., GRUAND, J., LE ROY, P., LAGANT, H., QUINTANILLA, R., RENARD C., GELLIN, J., OLLIVIER, L., CHEVALET, C. 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Genetic Selection Evolution**, v.33, p.289–309.
- CASAS-CARRILLO, E., PRILL-ADAMS, A., PRICE, S.G., CLUTTER, A.C., KIRKPATRICK, B.W. 1997. Mapping genomic regions associated with growth rate in pigs. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2047–2053.
- CHURCHILL, G.A., DOERGE, R.W. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v.138, p.963-971.
- GUIMARÃES, S.E.F., LOPES, P.S., WENCESLAU, A.A., PIRES, A.V., SOARES, M.A.M., CARMO, F.M.S. 2001. O Genoma dos Suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38. **Anais...** Piracicaba, SP: SBZ. (CD Rom).
- HALEY, C.S., KNOTT, S.A., ELSEN, J.M. 1994. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, v.36, p.1195-1207.
- HIROOKA, H., de KONING, D.J., HARLIZIUS, B., van ARENDONK, J.A.M., RATTINK, A.P., GROENEN, M.A.M., BRASCAMP, E.W., BOVENHUIS, H. 2001. A whole-genome scan for quantitative trait loci affecting teat number in pigs. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2320-2326.
- de KONING, D.J., RATTINK, A.P., HARLIZIUS, B., GROENEN, M.A.M., BRASCAMP, E.W., van ARENDONK, J.A.M. 2001. Detection and characterization of quantitative trait loci for growth and reproduction traits in pigs. **Livestock Production Science**, v.72, p.185-198.
- MALEK, M., DEKKERS, C.M.J., LEE, H.K., BAAS, T.J., ROTHSCHILD, M.F. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636.

- MARKLUND, L., NYSTROM, P.E., STREN, S., ANDERSSON-EKLUND, ANDERSSON, L. 1999. Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. **Heredity**, v.82, p.134–141.
- NEZER, C., MOREAU, L., BROUWERS, B., COPPIETERS, W., DETILLEUX, J. HANSET, R., KARIM, L., KVASZ, A., LEROY, P., GEORGES, M. 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in pigs. **Nat. Genet.**, v.21, p.155–156.
- PASZEK, A., WILKIE, P., FLICKLINGER, G., ROHRER, G., ALEXANDER, L., BEATTIE, C.W., SCHOOK, L.B. 1999. Interval Mapping of growth in divergent swine cross. **Mammalian Genome**, v.10, p.117-122.
- ROHRER, G.A. 2000. Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of back fat and weight in Meishan-White Composit resource population. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2547–2553.
- ROSLIN INSTITUTE. 2003. **Pig genome mapping**. Disponível em: <<http://www.projects.roslin.ac.uk>>. Acessado em: 15 de janeiro de 2003.
- ROTHSCHILD, M.F. 2003. **U.S. Pig gene mapping coordination program**. Disponível em: <<http://www.genome.iastate.edu/pig>>. Acessado em: 20 de janeiro de 2003.
- ROTHSCHILD, M.F., LIU, H.C., TUGGLE, C.K., YU, T.P., WANG, L. 1995. Analysis of pig chromosome 7 genetic markers for growth and carcass performance traits. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.112, p.341–348.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. **SAS/STAT® user's guide: version 6. 4** ed. Cary, NC:1990.
- SEATON, G., HALEY, C.S., KNOTT, S.A., KEARSEY, M., VISSCHER, P.M. 2002. QTL express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. **Bioinformatics**, v.18, n.2, p.339-340. Disponível em: <<http://qtl.cap.ed.ac.uk>>. Acessado em 21 e 22 de janeiro de 2003.
- WALLING, G.A., VISSCHER, P.M., ANDERSSON, L., ROTHCHILD, M.F., WANG, L., MOSER, G., GROENEN, M.A.M., BIDANEL, J.-P., CEPICA, S., ARCHIBALD, A.L., GELDERMANN, H., de KONING, D.J., MILAN, D., HALEY, C.S. 2000. Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies: chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. **Genetics**, v.155, p.1369–1378.
- WANG L., YU, T.-P., TUGGLE, C.K., LIU, H.-C., ROTSCHILD, M.F. 1998. A direct search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2560-2567.
- YU, T.P., WANG, L., TUGGLE, C.K., ROTHCHILD, M.F. 1999. Mapping fatness and growth on pig chromosome 13: a search in the region close to the pig PIT1 gene. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.16, n.4, p.269–280.

CAPÍTULO 2

Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 (SSC6) de uma população F2 de suínos: II - características de carcaça e cortes

Resumo: Uma população composta de 550 animais F2 foi produzida a partir do inter cruzamento da geração F1, obtida pelo cruzamento divergente de dois machos da raça nativa brasileira Piau com 18 fêmeas comerciais. O objetivo do trabalho foi mapear QTLs associados às características de carcaça. Os animais foram genotipados para 13 marcadores microssatélites, distribuídos no cromossomo 6 de suínos. As características avaliadas foram: comprimento de carcaça pelos métodos brasileiro e americano, peso e rendimento de carcaça, espessura de toucinho na região da copa, espessura de toucinho imediatamente após a última costela, espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar, menor espessura de toucinho na região acima da última vértebra lombar, espessura de toucinho imediatamente após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar, espessura de bacon, profundidade de lombo, área de olho de lombo, pesos de órgãos internos (coração, pulmões, fígado, baço e rim) e comprimento de intestino. Foi utilizado o método de regressão por intervalo de mapeamento por meio do programa QTL Express. Foram encontrados QTLs sugestivos para as características de comprimento de carcaça pelo método brasileiro e espessura de bacon e QTL significativo para peso do rim. QTLs sugestivos foram encontrados também para peso de pernil limpo, peso de paleta, peso de lombo e peso de filezinho. Nas regiões dos picos da estatística F onde se encontraram QTLs sugestivos, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a real presença de QTL.

Palavras-chave: QTL, cruzamento divergente, genética molecular, melhoramento animal

Mapping quantitative trait loci on chromosome 6 (SSC6) in a F2 pig population: II – carcass traits

Abstract: The objective of this study was to accomplish QTL mapping on swine chromosome 6. A total of the 550 F2 animals was produced by outbred cross using two sires of the native brazilian breed Piau and 18 commercial dams. The animals were genotyped for 13 microsatellite markers. The carcass traits evaluated were: carcass length by the brazilian carcass classification method, carcass length by the american carcass classification method, carcass weight, carcass yield, higher backfat thickness at last 2nd-3rd thoracic vertebrae, backfat thickness after last rib, backfat thickness between last 1st-2nd lombar vertebrae, lower backfat thickness after last lombar vertebrae, backfat thickness after last rib, at 6,5 cm from the midline, bacon depth, loin depth, loin eye area internal organs weight (heart, lungs, liver, kidney and spleen), and intestine length. Data were analyzed by multiple regression as developed for analysis of crosses between outbred lines, using the QTL Express software. Suggestive QTL were found for carcass length and bacon depth. A significant QTL for kidney weight was also found. In peak of the suggestive F-values, more markers should be included, to be confirm if they are QTL in fact.

Key words: QTL, outbred cross, molecular genetic, animal breeding

INTRODUÇÃO

Os recentes avanços na pesquisa genômica irão mudar e melhorar a produção animal nos próximos anos. Mapas de ligação estão sendo desenvolvidos para diversas espécies animais de interesse econômico. Dentre estas espécies, o mapa genético dos suínos certamente é um dos mais saturados.

O genoma suíno possui cerca de 2800 cM, distribuídos em 18 cromossomos autossômicos mais os cromossomos sexuais. Este genoma tem cerca de 1000 marcadores genéticos efetivos, o que permite um mapeamento genômico com distância média entre marcadores de aproximadamente 2,8 cM (ROSLIN INSTITUTE, 2003).

Um dos principais objetivos do mapeamento genômico é a procura por locos de característica quantitativa (QTLs) influenciando as características economicamente importantes na produção animal. Recentemente, a utilização dos marcadores genéticos moleculares tem tornado possível dissecar a variação das características quantitativas e identificar locos individuais controlando as características de importância econômica.

Os primeiros mapas de ligação para animais domésticos usando marcadores de DNA foram desenvolvidos em 1994 e 1995 para bovinos, suínos e ovinos. Apesar de o número de marcadores ter aumentado muito nos mapas das espécies de animais de interesse econômico, poucos genes foram identificados a partir desses QTLs. Genes não precisam ser identificados para que um QTL seja utilizado na produção animal para melhorar a acurácia da seleção (seleção assistida por marcadores – MAS). Porém, a identificação de genes associados às variações fenotípicas irá melhorar a eficiência da utilização dos marcadores de DNA nas diferentes espécies de animais domésticos (KAPPES, 1999).

Dentre as estratégias de mapeamento de QTL, a escolha do delineamento para a obtenção dos indivíduos que formarão a população a ser genotipada é de extrema importância. A utilização de uma população F2, obtida do cruzamento entre raças geneticamente divergentes, apresenta algumas vantagens, como maior facilidade de detecção de QTL e grande segregação de alelos, devido a maior variabilidade genética. Por outro lado, a aplicação direta

à seleção assistida por marcadores deve ser analisada para se verificar em qual raça parental estão os QTLs encontrados.

A maioria dos cruzamentos em suínos para formação de uma população divergente F2 é obtida pelo acasalamento entre porco selvagem europeu ou porco chinês e raças comerciais, Landrace, Large White e Pietrain, (ROSLIN INSTITUTE, 2003, ROTHSCHILD, 2003).

Muitos estudos têm sido voltados para a busca de QTL afetando características de carcaça em suínos (ANDERSSON et al., 1994; ROTHSCHILD et al., 1995; ANDERSSON-EKLUND et al., 1998; ROHRER e KEELE, 1998; WANG et al., 1998; NEZER et al., 1999; YU et al., 1999; ROHRER, 2000; WALLING et al., 2000; BIDANEL et al., 2001; de KONING et al., 1999; MALEK, et al., 2001; dentre outros), sendo que a maioria deles tem encontrado QTLs com efeitos significativos na variação fenotípica das características, ou QTLs com efeitos sugestivos sobre as características quantitativas.

No entanto, a maioria dos trabalhos com características de carcaça em suínos utiliza informações referentes apenas às características de carcaça propriamente ditas, como comprimento e rendimento de carcaça, espessura de toucinho e área de olho de lombo. Poucos trabalhos têm utilizado informações referentes aos rendimentos de cortes da carcaça.

As características de carcaça são muito importantes na produção suína, sobretudo aquelas relacionadas a maior rendimento de carne e menor deposição de gordura, para que se possa atender ao crescente e cada vez mais exigente mercado consumidor de produtos suinícolas.

O objetivo deste trabalho foi mapear, no cromossomo 6 de suínos, QTLs associados às características de carcaça e cortes, a partir de uma população F2, obtida por cruzamento divergente.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos dados e delineamento utilizado

A formação das famílias e a obtenção dos dados fenotípicos foram realizadas na Granja de Melhoramento de Suínos do Departamento de

Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, Brasil, no período de novembro de 1998 a julho de 2001.

Foi utilizado o delineamento de F2 para se obter desequilíbrio de fase de ligação entre os marcadores e os QTLs.

Para tanto, foram construídas duas famílias provenientes do cruzamento de dois machos da raça nativa brasileira Piau com 18 fêmeas de linhagem desenvolvida na UFV pelo acasalamento de animais das raças comerciais Landrace x Large White x Pietrain, selecionadas para características de desempenho. A geração F1 nasceu entre os meses de março e maio de 1999. Dentre os machos F1, foram selecionados ao acaso 11 varrões, provenientes de diferentes leitegadas, que foram acasalados (monta natural) com 54 fêmeas. Estes animais foram acasalados entre os meses de fevereiro e outubro de 2000 para a produção da geração F2, a qual nasceu entre junho de 2000 e fevereiro de 2001. Assim, foram obtidos 617 animais F2, divididos em cinco lotes:

- lote 1 = animais nascidos entre 20/06/00 e 03/07/00;
- lote 2 = animais nascidos entre 03/08/00 e 23/08/00;
- lote 3 = animais nascidos entre 16/09/00 e 01/11/00;
- lote 4 = animais nascidos entre 30/11/00 e 25/12/00;
- lote 5 = animais nascidos entre 19/01/01 e 12/02/01.

Os três primeiros lotes foram constituídos de animais nascidos de matrizes de primeira parição e os demais, de segunda parição.

Os machos foram castrados aos 10 dias de idade e desmamados aos 21 dias de idade.

O abate foi realizado na própria granja onde os animais foram criados, à medida em que estes atingiram cerca de 65 ($64,84 \pm 5,53$) kg de peso vivo ($147,83 \pm 9,95$ dias de idade). Os animais permaneceram em jejum por 18 horas antes do abate, período em que tiveram pleno acesso à água fresca.

Após o período de jejum, os animais foram conduzidos à sala de abate e submetidos à insensibilização elétrica, posicionando-se os eletrodos do insensibilizador (Sulmaq, Modelo 7654) na porção dorsal do pescoço dos animais, aplicando-se uma voltagem de 300 volts, por cerca de 5 segundos. A

sangria foi realizada imediatamente após a insensibilização, pela punção do coração por meio de inserção sob a axila esquerda do animal.

A seguir, os animais foram chamuscados e as cerdas manualmente raspadas com faca sob fluxo de água. As carcaças foram, então, suspensas pelas patas traseiras, eventradas, evisceradas, lavadas, serradas longitudinalmente, inclusive a cabeça, e pesadas. A meia-carcaça direita de cada animal foi resfriada em freezers horizontais a uma temperatura de 4°C, por 24 horas. Após este período, foi realizada a dissecação da carcaça para se obter os dados das características de cortes.

Características avaliadas

As características em estudo foram divididas em dois grupos: carcaça e cortes, para facilitar a descrição e posterior discussão.

Desta forma, as seguintes características de carcaça foram avaliadas na geração F2: peso de carcaça com cabeça e pés (PCARC), rendimento de carcaça com cabeça e pés (RCARC), comprimento de carcaça pelo método brasileiro (MBCC) e pelo método americano (MLC); espessura de toucinho nas posições ETSH (maior espessura de toucinho na região da copa, na linha dorso-lombar), ETUC (espessura de toucinho imediatamente após a última costela, na linha dorso-lombar), ETUL (espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar, na linha dorso-lombar), ETL (menor espessura de toucinho na região acima da última vértebra lombar, na linha dorso-lombar) e P2 (espessura de toucinho imediatamente após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar). Na meia-carcaça resfriada na região da última costela, a partir de um corte transversal no carré, mediram-se: ETO (espessura de toucinho, a 6,5 cm da linha dorso-lombar, equivalente à P2) e PROFLOMB (profundidade de lombo, diâmetro do músculo *Longissimus dorsi* sobre uma reta traçada da coluna vertebral serrada até a posição onde foi medida a ETO).

Foi estimada a espessura de toucinho média (ETOM), a partir de todas as espessuras de toucinho citadas anteriormente [$ETOM=(ETSH+ETUC+ETUL+ETL+ETP2+ETO)/6$], e a espessura de toucinho média (ETOMDOR), a partir das espessuras de toucinho tomadas na linha dorso-lombar do animal [$ETOMDOR=(ETSH+ETUC+ETUL+ETL)/4$]. A área de olho de lombo (AOL) foi medida em triplicata, com auxílio de um planímetro, no

decalque vegetal tomado da seção transversal do músculo *Longissimus dorsi*, na altura da última costela. Além de espessura do bacon (EBACON), medida imediatamente após a última costela, na altura da divisão carré-bacon.

Foram medidos os pesos dos seguintes órgãos internos: pulmão (PULMAO), coração (COR), fígado (FIG), baço (BACO) e rim (RIM). Foi medido também o comprimento total do intestino delgado (INTEST). Os números de observações, as médias e os desvios-padrão destas características são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Número de observações, média e desvio-padrão para as características de carcaça

Característica	Unidade	Número de observações	Média	Desvio-padrão
PCARC	kg	526	50,3718	0,6302
RCARC	%	526	81,9907	2,0302
MBCC	cm	546	85,9635	4,1380
MLC	cm	540	71,6663	3,1885
ETSH	mm	547	40,4324	5,4435
ETUC	mm	549	19,8149	4,8137
ETUL	mm	547	28,5108	5,9496
ETL	mm	495	45,0064	2,0245
P2	mm	547	16,8133	3,7444
ETO	mm	502	21,5556	5,4246
ETOM	mm	411	25,9527	3,6033
ETOMDOR	mm	508	28,2830	4,2197
EBACON	mm	539	24,9221	6,6352
PROFLOMB	mm	495	43,7893	4,3388
INTEST	m	544	18,4208	1,8269
AOL	cm ²	499	26,3009	3,7359
PULMAO	kg	541	0,4525	0,0785
COR	kg	547	0,2348	0,0289
FIG	kg	545	1,2682	0,1571
BACO	kg	547	0,0925	0,0198
RIM	kg	546	0,1275	0,0183

PCARC - peso da carcaça; RCARC - rendimento de carcaça com pés e cabeça; MBCC - comprimento de carcaça pelo Método Brasileiro de Classificação de Carcaça; MLC - comprimento de carcaça pelo Método Americano; ETSH - maior espessura de toucinho na região da copa, na linha dorso-lombar; ETUC - espessura de toucinho imediatamente após a última costela, na linha dorso-lombar; ETUL - espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar, na linha dorso-lombar; ETL - menor espessura de toucinho na região acima da última vértebra lombar, na linha dorso-lombar; P2 - espessura de toucinho medida imediatamente após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar; ETO - espessura de toucinho a 6,5 cm da linha dorso-lombar; equivalente à P2; ETOM - espessura de toucinho média; ETOMDOR - espessura de toucinho média entre as espessuras dorso-lombar; EBACON - espessura do bacon; PROFLOMB - profundidade de lombo; AOL - área de olho de lombo; PULMAO - peso de pulmão; COR - peso de coração; FIG - peso de fígado; BACO - peso de baço; RIM - peso de rim e INTEST - comprimento total do intestino delgado.

A meia-carcaça direita foi resfriada a 4°C por 24 horas e, posteriormente, procedeu-se a sua dissecação para se obter os dados das características de cortes: peso total pernil (PP), peso do pernil sem pele e sem capa de gordura (PPL), peso total da copa (PCOPA), peso da copa sem pele e sem capa de gordura (PCOPAL), peso total da paleta (PPA), peso da paleta sem pele e sem capa de gordura (PPAL), peso total do carré (PC), peso do lombo (PL), peso total do bacon (PB), peso das costelas (PCOS), peso total da papada (PAPADA), peso do filezinho (PF) e peso da banha rama (PBR). Os números de observações, as médias e os desvios-padrão das características de corte são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Número de observações, média e desvio-padrão para as características de cortes

Característica	Unidade	Número de observações	Média	Desvio-padrão
PP	Kg	543	7,2766	0,8207
PPL	Kg	543	4,9864	0,6039
PCOPA	Kg	549	2,3352	0,3593
PCOPAL	Kg	544	1,6887	0,2668
PPA	Kg	545	4,8704	0,6105
PPAL	Kg	548	2,6998	0,3852
PC	Kg	540	3,4690	0,4833
PL	Kg	542	1,0222	0,1816
PB	Kg	541	2,6891	0,4522
PCOS	Kg	548	1,5216	0,2460
PAPADA	Kg	546	0,7085	0,2043
PF	Kg	546	0,2202	0,0401
PBR	Kg	544	0,4574	0,1602

PP - peso total do pernil; PPL - peso do pernil sem pele e sem capa de gordura; PCOPA - peso total da copa; PCOPAL - peso da copa sem pele e sem capa de gordura; PPA - peso total da paleta; PPAL - peso da paleta sem pele e sem capa de gordura; PC - peso total do carré; PL - peso do lombo; PB - peso total do bacon; PCOS - peso das costelas; PAPADA - peso total da papada; PF - peso do filezinho e PBR - peso da banha rama.

Extração de DNA

A análise genotípica foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. O DNA dos animais parentais, F1 e F2 foi extraído do sangue dos mesmos, coletado imediatamente após o abate. O DNA foi extraído de acordo com a técnica descrita a seguir:

EXTRAÇÃO DE DNA COM SAL A PARTIR DE CÉLULAS BRANCAS

A – Obtenção dos Leucócitos

1. Coletar \pm 10mL de sangue em EDTA 0,5%.
2. Centrifugar por 15 minutos, a 3500 rpm e descartar o plasma.
3. a) Guardar em \pm 1mL de NET 100 e congelar;
b) Lavar as células com PBS 1X por duas vezes;
c) Centrifugar e descartar o sobrenadante.
4. Completar o tubo com solução de hemólise \pm 2mL, (10mM Tris pH 7.5, 5mM MgCl₂, 10mM NaCl), homogeneizar, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C.
5. Desprezar ou aspirar o sobrenadante, ressuspender o pellet em 2mL de solução de lise, passar no Vórtex, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C.
6. Repetir o passo 5 até obter um pellet branco. Neste passo, pode-se passar para tubos eppendorfs marcados para fazer as lavagens, utilizando 14000 rpm por 20 segundos.
7. Ressuspender o pellet em 200 μ L do tampão de proteinase K (5X), 20 μ L de proteinase (20mg/mL), 26 μ L de SDS 20% e 744 μ L de H₂O destilada. Volume final 1000 μ L.
8. Incubar a 55°C até dissolver o pellet (4–6 horas ou *over night*).

B – Precipitação do DNA com o sal

9. Dividir cada amostra em mais dois tubos. Adicionar 110 μ L NaCl 5M e homogeneizar por 15 segundos. Centrifugar a 14000 rpm por 5 minutos.
10. Transferir o sobrenadante para um novo tubo e adicionar 1mL de etanol absoluto. Ressuspender e centrifugar por 5 minutos a 14000 rpm.
11. Descartar o sobrenadante, secar o pellet, ressuspender em 100 a 200 μ L de TR e incubar em banho-maria a 37°C por 30 minutos.

As soluções de DNA para uso (na concentração aproximada de 25 η g/ μ L) foram mantidas a 4°C.

Obtenção dos genótipos marcadores

Os *primers* de microsatélites foram doados pelo Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Genômico Suíno Norte Americano (ROTHSCHILD, 2003).

Foram utilizados *primers* para cobrir o cromossomo 6 de suínos a um intervalo médio de 12,7 cM. Na Tabela 3 são apresentados os *primers* com algumas características específicas a cada um deles, como localização,

fluorescência, faixa da variação de tamanho, em pares de base (pb), e número de alelos.

Tabela 3 – *Primers* utilizados na varredura do cromossomo 6 de suínos

Marcador	Posição ¹ (cM)	Fluorescência	Temp. anel. ²	Mínimo alelo (pb)	Máximo alelo (pb)	Número de alelos
S0035	7,3	Tet	62	178	186	4
SW973	18,6	Hex	58	171	183	2
SW1353	29,2	Hex	58	154	168	4
SW1841	41,5	Fam	58	175	236	7
SW1057	47,1	Hex	56	150	188	7
SW1067	71,4	Hex	60	136	175	7
SW122	83,3	Fam	56	110	132	8
DG94	93,0	Hex	56	174	190	4
S0003	102,0	Hex	56	131	162	6
S0228	105,2	Tet	56	221	241	5
SW1881	121,1	Fam	58	151	183	5
SW1680	153,9	Tet	65	118	158	7
SW607	165,7	Fam	56	152	172	3

¹ = segundo (ROTHSCHILD, 2003), ² = temperatura de anelamento em °C.

Para as amplificações, foram utilizados os termocicladores MJ Research, Inc. modelo PTC-100/96. As reações foram constituídas de Taq polimerase 1 U, dNTPs 0,2 mM, *primers forward* e *reverse* 0,2 µM cada, Tris-HCl pH 8,3 20mM, KCl 50 mM. As concentrações de Mg variaram de 2 a 43 mM em função do padrão de amplificação dos *primers*. Foram utilizados 25 ng de DNA genômico por reação, em um volume final de 10µL. Os programas de amplificação variaram para cada par de *primer*, constituindo-se basicamente dos seguintes passos:

- 1- desnaturação inicial = 94°C/3 min.;
- 2- desnaturação = 94°C/1min.;
- 3- anelamento do *primer* = temperatura variável (Tabela 2) por um minuto;
- 4- polimerização = 72°C/1 min.; (repetindo-se os passos 2, 3 e 4 por 25 a 35 vezes, de acordo com o *primer*);
- 5- polimerização final = 72°C/5 min.

O padrão de amplificação dos marcadores foi inicialmente observado em gel de poliacrilamida a 5%, aplicando-se 5 µL de cada reação. Após a corrida em cuba de eletroforese, foi realizada a coloração com nitrato de prata.

Confirmadas as ampliações, os produtos foram congelados a -20°C para posterior análise dos fragmentos. Estas análises foram feitas por meio de eletroforese em géis de poliacrilamida a 5%, utilizando-se sequenciador automático ABI Prism 377 do Núcleo de Biologia Aplicada da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil.

A detecção e a discriminação dos fragmentos polimórficos amplificados foram feitas utilizando o programa GenScan. Posteriormente, os dados foram extraídos e convertidos em um arquivo de saída pelo programa Genotyper v.2.0, ambos da Applied Biosystems.

Análises estatísticas

Foram utilizadas as distâncias de consenso do mapa de ligação de suínos (ROTHSCHILD, 2003). O mapeamento de QTL foi realizado pelo programa QTL Express (SEATON et al., 2002), que emprega o método de regressão por intervalo de mapeamento desenvolvido para análises de cruzamentos entre raças divergentes (HALEY et al., 1994).

No modelo estatístico, assume-se que o QTL é dialélico, com alelos alternativos fixados em cada raça parental (HALEY et al., 1994). Considerou-se o genótipo QQ para os animais comerciais, com efeito a , qq para os animais nativos, com efeito $-a$, e Qq para os animais F1, com efeito d . A probabilidade de cada indivíduo F2 apresentar cada um dos três genótipos do QTL é calculada condicionalmente aos marcadores, a intervalos de 1 cM ao longo do cromossomo. Essas probabilidades são usadas para se fazer a regressão das características nos coeficientes aditivos e de dominância do QTL em estudo, para cada animal.

Os valores da razão F foram plotados e os pontos com os maiores valores para a estatística do teste foram apresentados como a possível posição do provável QTL. Os níveis de significância ($\alpha=0,10$, $0,05$ ou $0,01$) ao longo do cromossomo foram obtidos pelo teste de permutação (CHURCHILL e DOERGE, 1994), utilizando-se um total de 10000 permutações para cada característica. O teste de permutação foi executado pelo programa QTL Express (SEATON et al., 2002) e, posteriormente, foi utilizado o “Proc Univariate” do SAS (SAS INSTITUTE INCORPORATION, 1990) para se obter

os níveis de significância a 1 e 5% (QTL significativo) e a 10% (QTL sugestivo) de probabilidade, a partir das informações de todas as características simultaneamente.

Foi adotado o seguinte modelo estatístico:

$$y_{ijk} = S_i + L_j + (C_{ijk} - \bar{C})b + c_a a + c_d d + e_{ijk}$$

em que:

y_{ijk} = fenótipo;

S_i = efeito fixo do sexo i , $i = 1$ (macho) , 2 (fêmea);

L_j = efeito fixo do lote ou época de parição j , $j = 1, 2, 3, 4, 5$;

$(C_{ijk} - \bar{C})b$ = ajustamento para as covariáveis (peso de carcaça para as características de carcaça; e peso da banda direita resfriada para as características de cortes);

c_a e c_d foram calculados da seguinte maneira:

$$c_a = P(QQ) - P(qq)$$

$$c_d = P(Qq)$$

em que:

$P(QQ)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem homozigotos com origem comercial;

$P(qq)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem homozigotos com origem nativa;

$P(Qq)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem heterozigotos.

O modelo anterior foi utilizado para estimar a regressão do fenótipo nos coeficientes c_a e c_d , variando a posição do QTL a cada cM. Para cada posição, foi calculada uma razão F, comparando o modelo que considera a presença do QTL (modelo completo) ao modelo sem o QTL (modelo reduzido). As estimativas para a e d foram calculadas como a melhor posição estimada com a maior razão F correspondente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características de carcaça

Na Tabela 4 é apresentado um resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os prováveis QTLs e as estimativas dos efeitos aditivos e de dominância, com os respectivos erros-padrão.

Nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, são apresentadas as distribuições das estatísticas F ao longo do cromossomo, sendo que os picos das curvas indicam as posições, em cM, onde os prováveis QTLs estão localizados.

Constata-se, na Tabela 4 e na Figura 1, que foi detectado um QTL sugestivo ($P < 0,10$) para comprimento de carcaça pelo método brasileiro (MBCC) apresentando um $F_{\max} = 5,25$, na posição de 7 cM. No entanto, não houve evidência de QTL para comprimento de carcaça pelo método americano (MLC). Diversos autores encontraram QTLs com efeito significativo para comprimento de carcaça em outros cromossomos, no 7 (NEZER et al., 2002; ROHRER e KEELE, 1998), no 8 (ANDERSSON-EKLUND et al., 1998) e nos cromossomos 6, 11 e X (MALEK et al., 2001).

Observa-se, na Figura 1 e na Tabela 4, que não foram detectados ($P > 0,10$) QTLs para peso de carcaça (PCARC) ($F_{\max} = 3,83$) e rendimento de carcaça (RCARC) ($F_{\max} = 2,38$). ROHRER e KEELE (1998) e MALEK et al. (2001) encontraram QTL com efeito significativo sobre PCARC.

Quanto às características de espessura de toucinho, medidas na região dorso-lombar (ETSH, ETUC, ETUL e ETL) (Tabela 4 e Figura 2), e demais espessuras de toucinho (P2, ETO, ETOM e ETOMDOR) (Tabela 4 e Figura 3), verifica-se que nenhuma delas apresentou QTL significativo ou sugestivo. QTLs significativos para espessura de toucinho foram encontrados por ÓVILO et al. (2000), no cromossomo 6, por RATTINK et al. (2000), nos cromossomos 2 e 7, por HARLIZIUS et al. (2000), no cromossomo X, WALLING et al. (2000), no cromossomo 4, e por KONING et al. (2001), nos cromossomos 2, 7, 14 e X.

Tabela 4 - Resumo das estatísticas F máximas, com suas posições (cM) para os QTLs, e as estimativas dos efeitos aditivos e de dominância, para as características de carcaça

Característica	Posição (cM)	Fmax	Aditivo + EP [†]	Dominância + EP
PCARC	121	3,83	-1,0103 ± 0,3849	-0,1576 ± 0,5904
RCARC	71	2,38	0,0672 ± 0,4980	-1,3792 ± 0,6328
MBCC	7	5,25[†]	0,4666 ± 0,2985	-1,2977 ± 0,4333
MLC	7	2,23	0,2967 ± 0,2378	-0,6329 ± 0,3452
ETSH	154	1,56	0,7367 ± 0,4408	0,3580 ± 0,6087
ETUC	92	2,62	0,1378 ± 0,3745	-1,2366 ± 0,5408
ETUL	53	3,50	0,6620 ± 0,5023	1,7777 ± 0,7949
ETL	61	3,46	-0,1101 ± 0,5738	2,2603 ± 0,8596
P2	70	4,38	0,1195 ± 0,2941	1,1296 ± 0,3818
ETO	51	2,78	0,0038 ± 0,4669	1,7300 ± 0,7340
ETOM	154	2,91	0,7945 ± 0,3307	0,1311 ± 0,4676
ETOMDOR	154	2,76	0,7867 ± 0,3370	0,1566 ± 0,4765
EBACON	7	4,88[†]	-0,3884 ± 0,4295	1,9493 ± 0,6482
PROFLOMB	110	1,93	-0,2517 ± 0,4076	-1,1610 ± 0,6589
AOL	136	3,15	0,0356 ± 0,3880	-1,7501 ± 0,7002
PULMAO	29	2,33	-0,0156 ± 0,0074	0,0067 ± 0,0116
COR	102	2,67	-0,0013 ± 0,0022	0,0072 ± 0,0032
FIG	101	2,20	0,0232 ± 0,0120	0,0111 ± 0,0172
BACO	165	4,45	0,0055 ± 0,0020	0,0055 ± 0,0031
RIM	75	6,99*	0,0049 ± 0,0018	0,0059 ± 0,0024
INTEST	84	2,25	0,3352 ± 0,1579	-0,0413 ± 0,2156

[†] = sugestivo a 10%, * = significativo a 5% de probabilidade. ¹ EP = erro-padrão.

Características: PCARC - peso da carcaça; RCARC - rendimento de carcaça com pés e cabeça; MBCC - comprimento de carcaça pelo Método Brasileiro de Classificação de Carcaça; MLC - comprimento de carcaça pelo Método Americano; ETSH - maior espessura de toucinho na região da copa, na linha dorso-lombar; ETUC - espessura de toucinho imediatamente após a última costela, na linha dorso-lombar; ETUL - espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar, na linha dorso-lombar; ETL - menor espessura de toucinho na região acima da última vértebra lombar, na linha dorso-lombar; P2 - espessura de toucinho medida imediatamente após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar; ETO - espessura de toucinho a 6,5 cm da linha dorso-lombar, equivalente à P2; ETOM - espessura de toucinho média; ETOMDOR - espessura de toucinho média entre as espessuras dorso-lombar; EBACON - espessura do bacon; PROFLOMB - profundidade de lombo; AOL - área de olho de lombo; PULMAO - peso de pulmão; COR - peso de coração; FIG - peso de fígado; BACO - peso de baço; RIM - peso de rim e INTEST - comprimento total do intestino delgado.

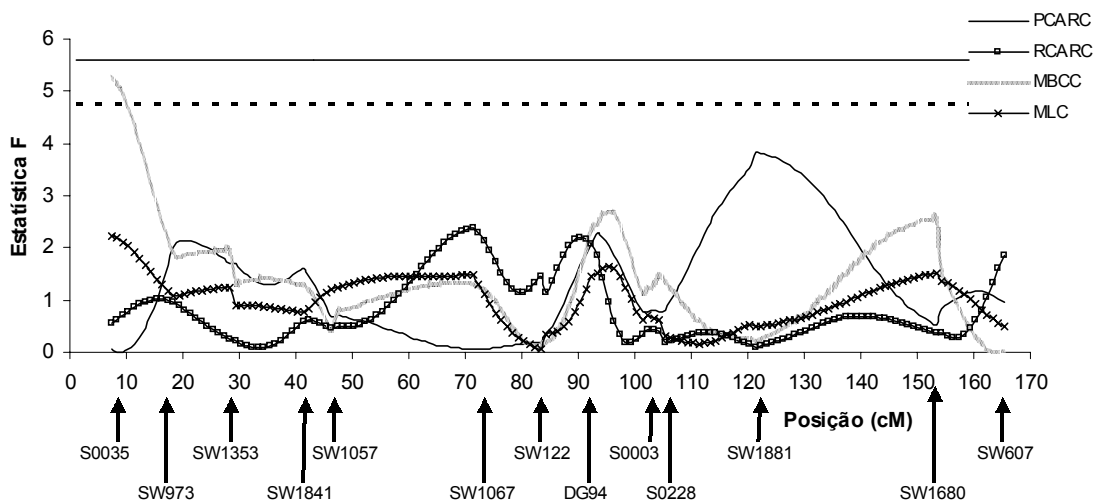


Figura 1 – Estimativas da estatística F para as características peso (PCARC), rendimento de carcaça (RCARC) e comprimento de carcaça pelo método brasileiro (MBCC) e pelo método americano (MLC). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

Ao se analisar o comportamento da curva da estatística F para espessura de toucinho, ao longo do cromossomo (Figura 2), verifica-se que há tendência de coincidência de picos em algumas regiões. Os maiores picos para ETUL ($F_{\max} = 3,50$; 53 cM) e ETL ($F_{\max} = 3,46$; 61 cM) estão localizados próximos, sugerindo que este loco pode estar atuando em ambas as características. Comportamento semelhante é apresentado em outra região cromossômica, os picos de ETUC ($F_{\max} = 2,62$), ETUL e ETL apresentam-se próximos, e bem definidos, na região de 95 a 100 cM.

Além das regiões cromossômicas destacadas na Figura 2, verifica-se na Figura 3 duas outras regiões com coincidência de picos para espessura de toucinho, uma em 154 cM, com os picos de ETOM ($F_{\max} = 2,91$), ETOMDOR ($F_{\max} = 2,76$) e P2 e outra em 83 cM, com picos sugerindo QTLs responsáveis por variações para estas características.

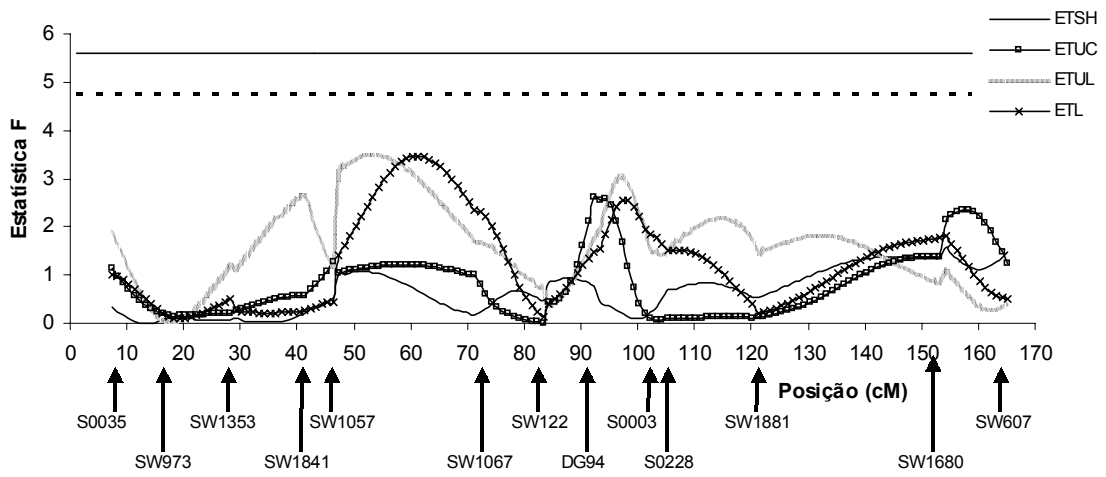


Figura 2 – Estimativas da estatística F para as características de espessura de toucinho ETSH, ETUC, ETUL e ETL. As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

Observa-se também, na Figura 3, que espessura de toucinho P2 apresentou um pico ($F_{\max} = 4,38$) a 70 cM. Embora não se trate de um QTL sugestivo ($P > 0,10$), com o aumento da densidade de marcadores na região de 50 a 70 cM, pode-se verificar se seria um QTL ou uma associação falso-positiva.

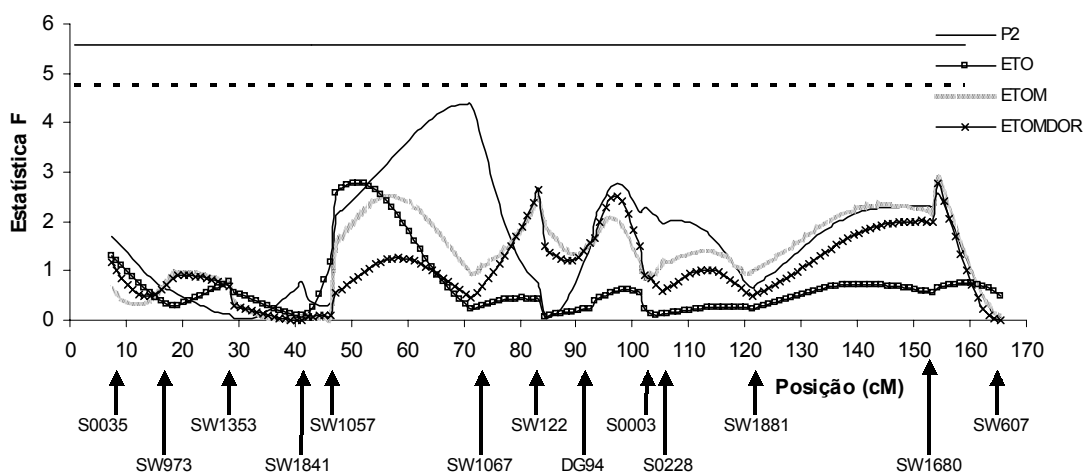


Figura 3 – Estimativas da estatística F para as características de espessura de toucinho P2, ETO, ETOM e ETOMDOR. As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

QTL sugestivo ($P < 0,10$) foi encontrado para espessura de bacon (EBACON) ($F_{\max} = 4,88$), localizado na posição 7 cM (Figura 4), mas este pico pode ser em função da ausência de marcadores na extremidade do cromossomo, uma vez que a posição deste QTL coincide com a posição do primeiro marcador S0035.

Não foram encontrados QTLs significativos para profundidade de lombo (PROFLOMB) ($F_{\max} = 1,93$), área de olho de lombo (AOL) ($F_{\max} = 3,15$) e comprimento de intestino (INTEST) ($F_{\max} = 2,25$). ÓVILO et al. (2000) encontraram QTL significativo para AOL no cromossomo 6 (113 cM) e ROHRER e KEELE (1998), no cromossomo 1, enquanto YU et al. (1999) não encontraram QTL significativo para AOL no cromossomo 13.

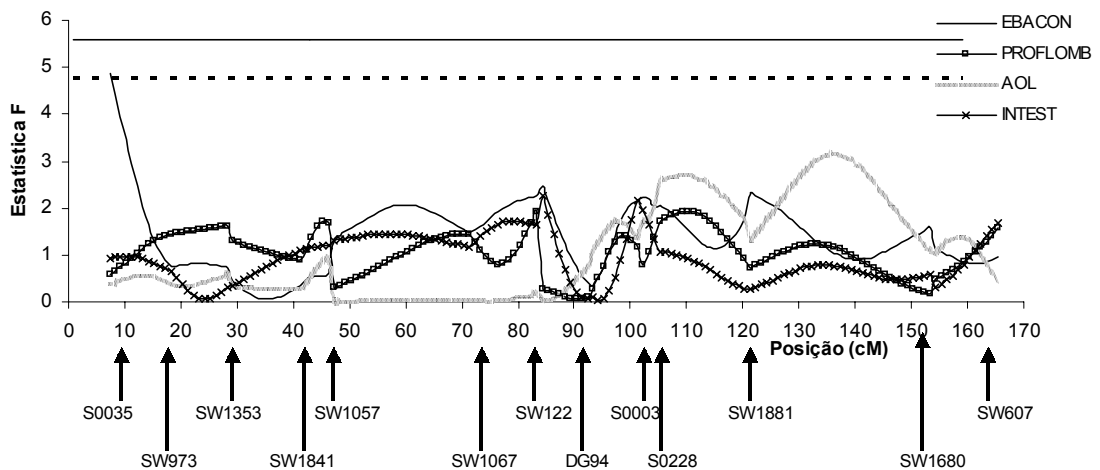


Figura 4 – Estimativas da estatística F para as características espessura de bacon (EBACON), profundidade de lombo (PROFLOMB), área de olho de lombo (AOL) e comprimento de intestino (INTEST). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

Constata-se, na Tabela 4 e na Figura 5, que a característica peso de rim (RIM) apresentou um $F_{\max} = 6,99$ significativo ($P < 0,05$), indicando haver um QTL na posição 68 cM do cromossomo 6 suíno influenciando a variação fenotípica desta característica. Não foram encontrados QTLs significativos para pesos de pulmão (PULMAO) ($F_{\max} = 2,33$), coração (COR) ($F_{\max} = 2,67$), fígado (FIG) ($F_{\max} = 2,20$) e baço (BACO) ($F_{\max} = 4,45$). ANDERSON-EKLUND et al.

(1998) também não encontraram QTL significativo para peso do coração, do rim e do baço, mas encontraram QTL significativo para peso do fígado.

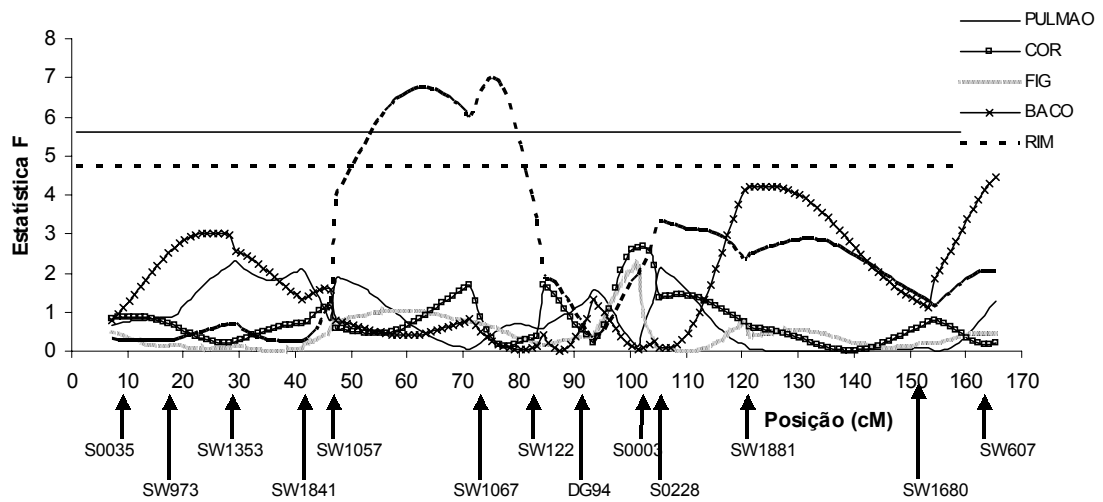


Figura 5 – Estimativas da estatística F para peso de rim (RIM), pulmão (PULMAO), coração (COR), fígado (FIG) e baço (BACO). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

Características de cortes

Na Tabela 5 é apresentado um resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os prováveis QTLs, com as estimativas dos efeitos aditivos e de dominância e os respectivos erros-padrão, para as características de cortes.

Nas Figuras 6, 7 e 8 são apresentadas as distribuições das estatísticas F ao longo do cromossomo, onde os picos das curvas indicam as posições, em cM, em que os prováveis QTLs estão localizados.

Constata-se, na Tabela 5 e na Figura 6, que foram detectados três QTLs sugestivos ($P < 0,10$) para peso do pernil limpo (PPL), cujos valores da estatística F foram 5,17 (102 cM), 5,31 (105 cM) e 4,76 (129 cM), indicando que, nas respectivas posições, há QTLs sugestivos associados às variações fenotípicas desta característica. Para as características peso do pernil (PP), peso da copa (PCOPA) e peso da copa limpa (PCOPAL) não foram encontrados QTLs significativos ($P > 0,10$).

Para as características peso da paleta limpa (PPAL) e peso do carré (PC) (Tabela 5 e Figura 7), não foram encontrados QTLs ($P > 0,10$). No entanto, para peso de paleta (PPA), foram encontrados dois QTLs sugestivos ($P < 0,10$) nas posições 14 cM ($F = 4,91$) e 24 cM ($F_{\max} = 5,20$). Para peso do lombo (PL), um QTL sugestivo ($P < 0,10$) foi localizado a 130 cM ($F_{\max} = 8,64$) e, para peso do filezinho (PF), foi detectado um QTL sugestivo ($P < 0,10$) a 78 cM ($F_{\max} = 4,98$). Por estarem associados à PPA, PL e PF, estes QTLs são de grande interesse, sobretudo para os frigoríficos, que visam a obtenção de melhores rendimentos dos cortes de maior valor comercial, estando associados estes cortes a maior rendimento de carne. Porém, trata-se de QTLs sugestivos, que precisam ser melhor investigados.

Tabela 5 - Resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os QTLs, e respectivas estimativas dos efeitos aditivos e de dominância para as características de cortes

Característica	Posição (cM)	F_{\max}	Aditivo + EP ¹	Dominância + EP
PP	165	3,85	-0,0902 0,0327	-0,0202 0,0515
PPL	105	5,31[†]	-0,0828 0,0254	0,0079 0,0375
PCOPA	28	3,28	0,0470 0,0189	0,0186 0,0299
PCOPAL	105	2,76	-0,0302 0,0129	0,0036 0,0190
PPA	24	5,20[†]	0,0845 0,0312	-0,0807 0,0502
PPAL	153	4,37	-0,0629 0,0213	-0,0093 0,0318
PC	72	3,70	0,0684 0,0266	0,0269 0,0356
PL	130	4,84[†]	0,0018 0,0125	-0,0689 0,0222
PB	101	2,78	0,0437 0,0217	-0,0395 0,0315
PCOS	102	1,83	0,0224 0,0134	0,0180 0,0196
PAPADA	98	3,33	0,0379 0,0151	0,0122 0,0241
PF	78	4,98[†]	-0,0086 0,0028	-0,0037 0,0040
PBR	55	3,31	-0,0165 0,0124	0,0429 0,0190

[†] = sugestivo a 10% de probabilidade. ¹ EP = erro-padrão

PP - peso total pernil; PPL - peso do pernil limpo; PCOPA - peso total da copa; PCOPAL - peso da copa limpa; PPA - peso total da paleta; PPAL - peso da paleta limpa; PC - peso total do carré; PL - peso do lombo; PB - peso total do bacon; PCOS - peso das costelas; PAPADA - peso total da papada; PF - peso do filezinho e PBR - peso da banha rama.

Analisando os dados da Tabela 5 e Figura 8, referentes às características peso total do bacon (PB), peso das costelas (PCOS), peso total

da papada (PAPADA) e peso da banha rama (PBR), verifica-se que nenhum QTL significativo ou sugestivo ($P < 0,10$) foi detectado para estas características.

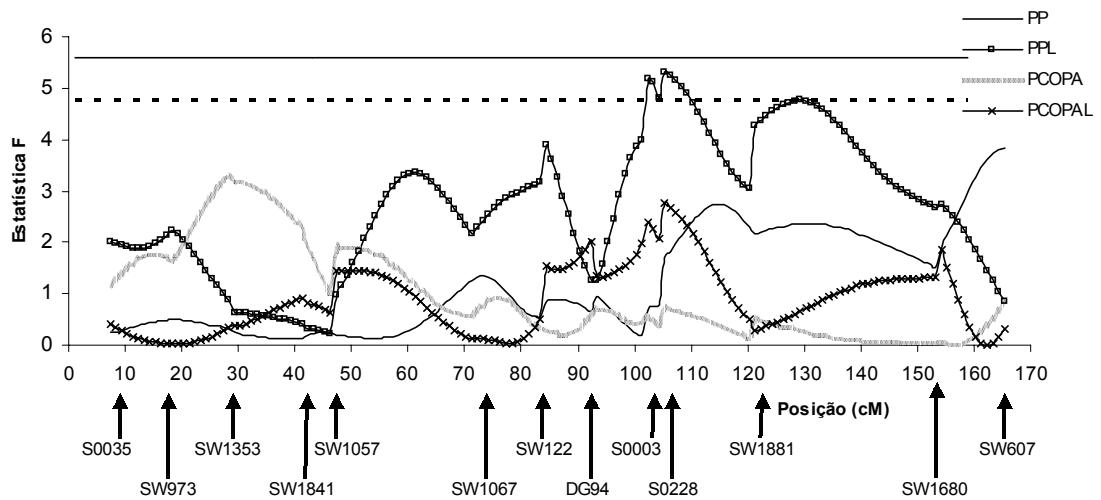


Figura 6 – Estimativas da estatística F para peso do pernil (PP), peso do pernil limpo (PPL), peso total da copa (PCOPA) e peso da copa limpa (PCOPAL). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

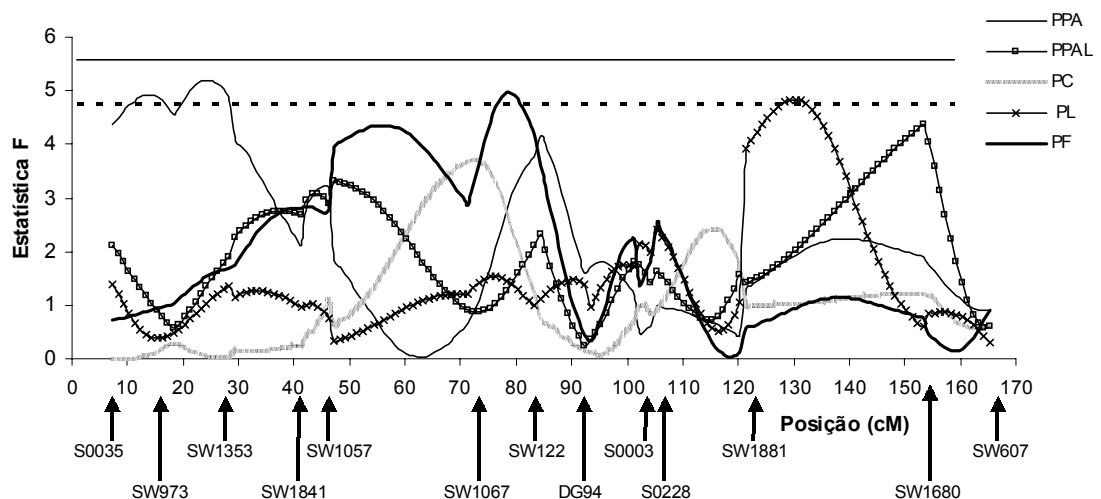


Figura 7 – Estimativas da estatística F para peso da paleta (PPA), para peso da paleta limpa (PPAL), peso do carré (PC), peso do lombo (PL) e peso do filezinho (PF). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

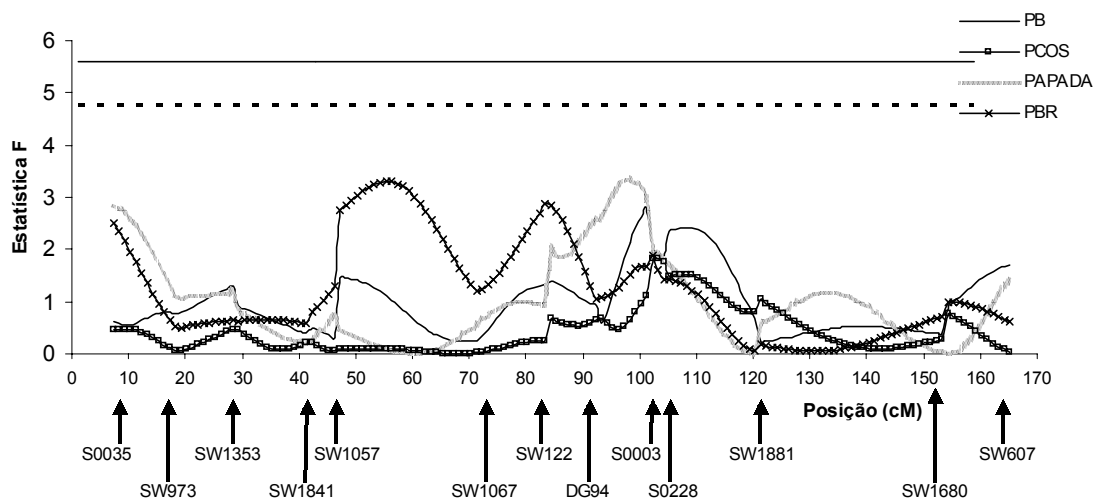


Figura 8 – Estimativas da estatística F para peso do bacon (PB), peso das costelas (PCOS), peso da papada (PAPADA) e peso da banha rama (PBR). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

CONCLUSÕES

Foram encontrados QTLs sugestivos para as características comprimento de carcaça pelo método brasileiro e espessura de bacon, além de QTL significativo para peso de rim. QTLs sugestivos foram encontrados também para peso do pernil sem pele e sem capa de gordura, peso da paleta, peso do lombo e peso do filezinho.

Os picos máximos para as espessuras de toucinho ETUL e ETL estão localizados próximos, sugerindo que um mesmo loco pode estar atuando em ambas as características. Picos praticamente coincidentes também são apresentados por ETUC, ETUL e ETL, e ETOM, ETOMDOR e P2, sugerindo também que as mesmas regiões genômicas podem estar atuando sobre estas características.

As regiões dos picos da estatística F em que foram encontrados QTLs sugestivos devem ser mais investigadas, para se confirmar a real presença destes QTLs.

Agradecimento

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais) pelo financiamento do projeto.

À Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, em especial à pesquisadora Dra. Cláudia Teixeira Guimarães, pela disponibilização do seqüenciador automático utilizado para as genotipagens.

Ao Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Norte Americano de Mapeamento Genômico de Suínos, pela doação dos *primers* de microssatélites.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSSON, L., HALEY, C.S., ELLEGREN, H., KONTT, S.A., JOHANSSON, M. K. ANDERSSON, K., ANDERSSON-EKLUND, L., EDFORS-LILJA, I., FREDHOLM, M., HANSSON, I., HAKANSSON, J., LUNDSTRÖM, K. 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Science**, v.263, p.1771-1774.
- ANDERSSON-EKLUND, L., MARKLUND, L., LUNDSTRÖM, K., HALEY, C.S., ANDERSSON, K., HANSSON, I., MOLLER, M., ANDERSSON, L. 1998. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a Wild Boar x Large White intercross. **Journal of Animal Science**, v.76, p.694-700.
- BIDANEL, J.P., MILAN, D., IANNUCELLI, N., AMIGUES, Y., BOSCHER, M.Y., BOURGEOIS F., CARITEZ, J.C., GRUAND, J., LE ROY, P., LAGANT, H., QUINTANILLA, R., RENARD C., GELLIN, J., OLLIVIER, L., CHEVALET, C. 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Genetic Selection Evolution**, v.33, p.289–309.
- CHURCHILL, G.A., DOERGE, R.W. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v.138, p.963-971.
- de KONING, D.J., JANSS, L.L.G., RATTINK, A.P., van OERS, P.A.M., de VRIES, B.J., Groenen, M.A.M., van der POEL, J.J., GROOT, P.N., BRASCAMP, E. W., van ARENDONK, J.A.M. 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). **Genetics**, v.152, p.1679-1690.
- de KONING, D.J., RATTINK, A.P., HARLIZIUS, B., GROENEN, M.A.M., BRASCAMP, E.W., van ARENDONK, J.A.M. 2001. Detection and

- characterization of quantitative trait loci for growth and reproduction traits in pigs. **Livestock Production Science**, v.72, p.185-198.
- HALEY, C.S., KNOTT, S.A., ELSEN, J.M. 1994. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, v.36, p.1195-1207.
- HARLIZIUS, B., RATTINK, P., de KONING, D.J., FAIVRE, M., JOOSTEN, R.G., van ARENDONK, J.A.M., GROENEN, M.A.M. 2000. The X Chromosome harbors quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636.
- KAPPES, S.M. 1999. Utilization of gene mapping information in livestock animals, **Theriogenology**, v.51, p.135-147.
- MALEK, M., DEKKERS, C.M.J., LEE, H.K., BAAS, T.J., ROTHSCHILD, M.F. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636.
- NEZER, C., MOREAU, L., BROUWERS, B., COPPIETERS, W., DETILLEUX, J. HANSET, R., KARIM, L., KVASZ, A., LEROY, P., GEORGES, M. 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in pigs. **Nat. Genet.**, v.21, p.155–156.
- NEZER, C., MOREAU, L., WAGENAAR, D., GEORGES, M. 2002. Results of a whole genome scan targeting QTL for growth and carcass traits in a Piétrain x Large White intercross. **Genetic Selection Evolution**, v.34, p.371-387.
- ÓVILO, C., PEREZ-ENCIZO, M., BARRAGÁN, C., CLOP, A., RODRÍGUEZ, C., OLIVER, M.A., TORO, M.A., NOGUERA, J.L. 2000. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine Chromosome 6. **Mammalian Genome**, v.11, p.344-346.
- RATTINK, A.P., KONING, D.J., FAIVRE, M., HARLIZIUS, B., van ARENDONK, J.A.M., GROENEN, M.A.M. 2000. Fine mapping and imprinting analysis for fatness trait QTLs in pigs. **Mammalian Genome**, v.11, p.656-661.
- ROHRER, G.A. 2000. Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of back fat and weight in Meishan-White Composit resource population. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2547–2553.
- ROHRER, G.A., KEELE, J.W. 1998. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine: II - Muscling and wholesale product yield traits. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2255-2262.
- ROSLIN INSTITUTE. 2003. **Pig genome mapping**. Disponível em: <<http://www.projects.roslin.ac.uk>>. Acessado em: 15 de janeiro de 2003.
- ROTHSCHILD, M.F. 2003. **U.S. Pig gene mapping coordination program**. Disponível em: <<http://www.genome.iastate.edu/pig>>. Acessado em: 20 de janeiro de 2003.
- ROTHSCHILD, M.F., LIU, H.C., TUGGLE, C.K., YU, T.P., WANG, L. 1995. Analysis of pig chromosome 7 genetic markers for growth and carcass

- performance traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v.112, p.341–348.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. **SAS/STAT® user's guide: version 6. 4** ed. Cary, NC:1990.
- SEATON, G., HALEY, C.S., KNOTT, S.A., KEARSEY, M., VISSCHER, P.M. 2002. QTL express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. *Bioinformatics*, v.18, n.2, p.339-340. Disponível em: <<http://qtl.cap.ed.ac.uk>>. Acessado em 21 e 22 de janeiro de 2003.
- WALLING, G.A., VISSCHER, P.M., ANDERSSON, L., ROTHCHILD, M.F., WANG, L., MOSER, G., GROENEN, M.A.M., BIDANEL, J.-P., CEPICA, S., ARCHIBALD, A.L., GELDERMANN, H., de KONING, D.J., MILAN, D., HALEY, C.S. 2000. Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies: chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. *Genetics*, v.155, p.1369–1378.
- WANG L., YU, T.-P., TUGGLE, C.K., LIU, H.-C., ROTHSCHILD, M.F. 1998. A direct search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. *Journal of Animal Science*, v.76, p.2560-2567.
- YU, T.P., WANG, L., TUGGLE, C.K., ROTHSCHILD, M.F. 1999. Mapping fatness and growth on pig chromosome 13: a search in the region close to the pig PIT1 gene. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v.16, n.4, p.269–280.

CAPÍTULO 3

Mapeamento de locos de características quantitativas no cromossomo 6 (SSC6) de uma população F2 de suínos: III – qualidade de carne

Resumo: Para se realizar o mapeamento de QTLs no cromossomo 6 de suínos, 557 animais F2 foram genotipados para 13 marcadores microssatélites. Uma população F2 foi obtida a partir do intercruzamento da geração F1, produzida pelo cruzamento divergente de dois machos da raça nativa brasileira Piau e 18 fêmeas comerciais (Landrace x Large White). As características avaliadas na população F2 foram: pH medido 45 minutos e 24 horas *post-mortem* (pH45, pH24, respectivamente), perda de peso por gotejamento (GOTEJ), perda de peso por cozimento (COZ), perda de peso total (PTOT), gordura intramuscular (GORINT), maciez objetiva (MACIEZ) e coloração da carne [luminosidade (L), índice de vermelho (A), índice de amarelo (B), tonalidade de cor (H) e índice de saturação (C)]. Foi utilizado o método de regressão por intervalo de mapeamento por meio do programa QTL Express. Foram encontrados QTLs significativos para as características pH45 e GOTEJ, e QTLs sugestivos para GOTEJ. Não foram encontrados QTLs para as demais características. Mesmos grupos gênicos localizados em torno de 76, 88 e 97 cM podem estar atuando sobre as características pH45 e GOTEJ. Nas regiões dos picos da estatística F onde se encontraram QTLs sugestivos para a característica GOTEJ, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a presença de QTLs.

Palavras-chave: QTL, cruzamento divergente, genética, marcador molecular, melhoramento animal

Mapping quantitative trait loci on chromosome 6 (SSC6) in a F2 pig population: III – meat quality traits

Abstract: The objective this study was to perform QTL mapping on swine chromosome 6 (SSC6) associated with meat quality traits. The F2 population was produced by outbred crossing using two native Brazilian breed Piau sires with 18 commercial dams (Landrace x Large White). A total of 557 F2 animals was genotyped for 13 microsatellite markers. The traits evaluated on F2 population were: pH evaluated at 45 minutes and at 24 hours “*post-mortem*” (pH45, pH24, respectively), drip loss (GOTEJ), cooking loss (COZ), total loss (PTOT), intramuscular fat content (GORINT), objective tenderness (MACIEZ) and muscle color Minolta measurements: lightness (L), redness (A), yellowness (B), hue angle (H) and chroma (C). Data were analyzed by multiple regression developed for analysis of outbred lines crosses, using QTL Express software. Significant QTL were detected for pH45 and GOTEJ traits, and suggestive QTL for GOTEJ. It was not found QTL for another traits. The traits pH45 and GOTEJ may be under the influence of a gene or gene group located about 76, 88 and 97 cM. In the peaks of the F-values where suggestive QTLs for GOTEJ trait were detected, more markers should be included, in order to verify if they are real QTLs.

Key words: QTL, outbred cross, genetic, molecular marker, animal breeding

INTRODUÇÃO

Experimentos para mapeamento de locos de característica quantitativa (QTLs) estão sendo conduzidos em muitas espécies de animais de interesse econômico. O principal objetivo dos estudos de QTLs é mapear locos que poderão ser utilizados em programas de melhoramento pela seleção assistida por marcadores (MAS). Para se proceder a um mapeamento de QTLs, deve-se mapear marcadores moleculares no genoma que se pretende estudar, e então buscar por associações estatísticas entre a variação do genótipo marcador e o fenótipo de interesse. A utilização dos marcadores moleculares tem tornado possível dissecar a variação das características quantitativas e identificar QTLs que influenciam as características economicamente importantes.

Quanto mais saturado o mapa de ligação, ou seja, quanto maior o número de marcadores distribuídos no genoma, mais eficiente será o mapeamento de QTLs. O genoma suíno possui cerca de 2800 cM, distribuídos em 18 cromossomos autossômicos mais os cromossomos sexuais, onde podem ser utilizados cerca de 1000 marcadores genéticos efetivos, permitindo um mapeamento genômico com distância média entre marcadores de aproximadamente 2,8 cM (ROSLIN INSTITUTE, 2003). Desta forma, podem ser determinados, com grande acurácia, os QTLs que atuam sobre determinada característica.

Dentre as vantagens da utilização dos marcadores moleculares, pode-se destacar a obtenção precoce da informação sobre uma futura manifestação fenotípica do indivíduo, não sendo necessário, por exemplo, que o indivíduo chegue à idade adulta para se obter informação sobre seu desempenho fenotípico. Outra vantagem é em relação às características cujos valores fenotípicos só podem ser obtidos após o abate dos animais. A utilização das informações dos marcadores moleculares pode permitir que se obtenha informações sobre determinada característica, composição de carcaça ou qualidade de carne, por exemplo, sem que haja a necessidade de se abater o animal.

A qualidade da carne é muito importante. A melhoria em características como maciez, suculência e coloração visa atender ao crescente e cada vez mais exigente mercado consumidor de produtos suínos.

A maioria dos cruzamentos em suínos para formação de uma população divergente F2 para o estudo de QTLs, é obtida pelo acasalamento entre porco selvagem europeu ou porco chinês e raças comerciais, como Landrace, Large White e Pietrain, (ROSLIN INSTITUTE, 2003, ROTHSCCHILD, 2003). Este é o primeiro estudo envolvendo o cruzamento entre raças comerciais e o suíno nativo brasileiro.

Muitos estudos têm sido voltados para a busca de QTL afetando características de qualidade de carne em suínos (ANDRESSON-EKLUND et al., 1998; WANG et al., 1998; HARLIZIUS et al., 2000; GRINDFLEK et al., 2001; MALEK et al., 2001; ÓVILO et al., 2002), sendo que a maioria deles tem encontrado QTL com efeito significativo sobre a variação fenotípica das características ou QTL com efeito sugestivo sobre as características quantitativas.

O objetivo deste trabalho foi mapear, no cromossomo 6 de suínos, QTLs associados às características de qualidade de carne, a partir de uma população F2, obtida por cruzamento divergente.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos dados e delineamento utilizado

A formação das famílias e obtenção dos dados fenotípicos foram realizadas na Granja de Melhoramento de Suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, Brasil, no período de novembro de 1998 a julho de 2001.

Foi utilizado o delineamento de F2 para a obtenção de desequilíbrio de fase de ligação entre os marcadores e os QTLs.

Para tanto, foram construídas duas famílias provenientes do cruzamento de dois machos da raça nativa brasileira Piau com 18 fêmeas de linhagem desenvolvida na UFV pelo acasalamento de animais das raças comerciais Landrace x Large White x Pietrain, selecionadas para características de desempenho. A geração F1 nasceu entre os meses de março e maio de 1999. Dentre os machos F1, foram selecionados ao acaso 11 varrões, provenientes de diferentes leitegadas, que foram acasalados (monta natural) com 54 fêmeas. Estes animais foram acasalados entre os meses de

fevereiro e outubro de 2000 para a produção da geração F2, que nasceu entre junho de 2000 e fevereiro de 2001. Assim, foram obtidos 617 animais F2, divididos em cinco lotes:

- lote 1 = animais nascidos entre 20/06/00 e 03/07/00;
- lote 2 = animais nascidos entre 03/08/00 e 23/08/00;
- lote 3 = animais nascidos entre 16/09/00 e 01/11/00;
- lote 4 = animais nascidos entre 30/11/00 e 25/12/00;
- lote 5 = animais nascidos entre 19/01/01 e 12/02/01.

Os três primeiros lotes foram constituídos de animais nascidos de matrizes de primeira parição e os demais, de segunda parição.

Os machos foram castrados aos 10 dias de idade e desmamados aos 21 dias de idade.

O abate foi realizado na própria granja onde os animais foram criados, à medida em que atingiram 65 kg de peso vivo, cerca de 150 dias de idade. Os animais permaneceram em jejum por cerca de 18 horas antes do abate, período em que tiveram pleno acesso à água fresca.

Após o período de jejum, os animais foram conduzidos à sala de abate e submetidos à insensibilização elétrica, posicionando-se os eletrodos do insensibilizador (Sulmaq, Modelo 7654) na porção dorsal do pescoço dos animais e aplicando-se uma voltagem de 300 volts, por cerca de 5 segundos. A sangria foi realizada imediatamente após a insensibilização, pela punção do coração por meio de inserção sob a axila esquerda do animal.

A seguir, os animais foram chamuscados e as cerdas manualmente raspadas com faca sob fluxo de água. As carcaças foram, então, suspensas pelas patas traseiras, eventradas, evisceradas, lavadas, serradas longitudinalmente, inclusive a cabeça, e pesadas. A meia-carcaça direita de cada animal foi resfriada em freezers horizontais a uma temperatura de 4°C, por 24 horas. Após este período, foi retirada uma amostra do músculo *Logíssimus dorsi*, a partir do qual foram obtidas as características de qualidade de carne.

Características avaliadas

As seguintes características de qualidade de carne foram avaliadas na geração F2: pH medido 45 minutos e 24 horas *post-mortem* (pH45 e pH24, respectivamente), perda de peso por gotejamento (GOTEJ), perda de peso por cozimento (COZ), perda de peso total (PTOT), gordura intramuscular (GORINT), maciez objetiva (força de cisalhamento – MACIEZ) e coloração. A coloração foi determinada pelo sistema HUNTER LAB, sendo medidos a luminosidade (L), o índice de vermelho (A) e o índice de amarelo (B), em espectrofotômetro. Foram, então, calculados os índices de saturação [$C = (A^2 + B^2)^{1/2}$] e de tonalidade ($H = \arctang B/A$).

Maiores informações sobre a metodologia empregada na análise das características de qualidade da carne foram apresentadas por BENEVENUTO JÚNIOR (2001).

Os números de observações, as médias e os desvios-padrão destas características são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Número de observações, média e desvio-padrão para as características de carcaça

Característica	Unidade	Número de observações	Média	Desvio-padrão
pH45	pH	543	6,4955	0,2636
pH24	pH	555	5,7098	0,1526
GORINT	%	504	1,5537	0,6375
GOTEJ	%	557	3,1891	1,6861
COZ	%	550	32,6281	2,5292
PTOT	%	439	34,2324	2,6646
MACIEZ	Kg	431	5550,6300	873,9267
L	Absorb.	495	45,0064	2,0245
A	Absorb.	485	0,6739	0,6024
B	Absorb.	491	6,6191	0,5517
H	Absorb.	416	84,0738	5,5618
C	Absorb.	429	6,6973	0,5215

pH45 - pH 45 minutos após o abate; pH24 - pH 24 horas após o abate; GORINT - porcentagem de gordura intramuscular; GOTEJ - perda de peso por gotejamento; COZ – perda de peso por cozimento; PTOT - perda de peso total; MACIEZ - maciez objetiva (força de cisalhamento); L - luminosidade; A - índice de vermelho; B - índice de amarelo; H - tonalidade de cor; e C - índice de saturação.

Extração de DNA

A análise genotípica foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. O DNA dos animais parentais, F1 e F2 foi extraído do sangue dos mesmos, coletado imediatamente após o abate. O DNA foi extraído de acordo com a técnica descrita a seguir:

EXTRAÇÃO DE DNA COM SAL A PARTIR DE CÉLULAS BRANCAS

A – Obtenção dos Leucócitos

1. Coletar \pm 10mL de sangue em EDTA 0,5%.
2. Centrifugar 15 por minutos, a 3500 rpm e descartar o plasma.
3. a) Guardar em \pm 1mL de NET 100 e congelar;
b) Lavar as células com PBS 1X por duas vezes;
c) Centrifugar e descartar o sobrenadante.
4. Completar o tubo com solução de hemólise \pm 2mL, (10mM Tris pH 7.5, 5mM MgCl₂, 10mM NaCl), homogeneizar, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C.
5. Desprezar ou aspirar o sobrenadante, ressuspender o pellet em 2mL de solução de lise, passar no Vórtex, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C.
6. Repetir o passo 5 até obter um pellet branco. Neste passo podemos passar para tubos eppendorfs marcados para fazer as lavagens, utilizando 14000 rpm por 20 segundos.
7. Ressuspender o pellet em 200 μ L do tampão de proteinase K (5X), 20 μ L de proteinase (20mg/mL), 26 μ L de SDS 20% e 744 μ L de H₂O destilada. Volume final 1000 μ L.
8. Incubar a 55°C até dissolver o pellet (4–6 horas ou *over night*).

B – Precipitação do DNA com o sal

9. Dividir cada amostra em mais dois tubos. Adicionar 110 μ L NaCl 5M e homogeneizar por 15 segundos. Centrifugar a 14000 rpm por 5 minutos.
10. Transferir o sobrenadante para um novo tubo e adicionar 1mL de etanol absoluto. Ressuspender e centrifugar por 5 minutos a 14000 rpm.
11. Descartar o sobrenadante, secar o pellet, ressuspender em 100 a 200 μ L de TR e incubar em banho-maria a 37°C por 30 minutos.

As soluções de DNA para uso (na concentração aproximada de 25 η g/ μ L) foram mantidas a 4°C.

Obtenção dos genótipos marcadores

Os *primers* de microsatélites foram doados pelo Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Genômico Suíno Norte Americano (ROTHSCHILD, 2003).

Foram utilizados *primers* para cobrir o cromossomo 6 de suínos a um intervalo médio de 12,7 cM. A Tabela 2 apresenta os *primers* com algumas características específicas a cada um deles, como localização, fluorescência, faixa da variação de tamanho, em pares de base (pb), e número de alelos.

Tabela 2 – *Primers* utilizados na varredura do cromossomo 6 de suínos

Marcador	Posição ¹ (cM)	Fluorescência	Temp. anel. ²	Mínimo alelo (pb)	Máximo alelo (pb)	Número de alelos
S0035	7,3	Tet	62	178	186	4
SW973	18,6	Hex	58	171	183	2
SW1353	29,2	Hex	58	154	168	4
SW1841	41,5	Fam	58	175	236	7
SW1057	47,1	Hex	56	150	188	7
SW1067	71,4	Hex	60	136	175	7
SW122	83,3	Fam	56	110	132	8
DG94	93,0	Hex	56	174	190	4
S0003	102,0	Hex	56	131	162	6
S0228	105,2	Tet	56	221	241	5
SW1881	121,1	Fam	58	151	183	5
SW1680	153,9	Tet	65	118	158	7
SW607	165,7	Fam	56	152	172	3

¹ = segundo (ROTHSCHILD, 2003), ² = temperatura de anelamento em °C.

Para as amplificações, foram utilizados os termocicladores MJ Reseach, Inc. modelo PTC-100/96. As reações foram constituídas de Taq polimerase 1 U, dNTPs 0,2 mM, *primers forward* e *reverse* 0,2 µM cada, Tris-HCl pH 8,3 20mM e KCl 50 mM. As concentrações de Mg variaram de 2 a 43 mM, em função do padrão de amplificação dos *primers*. Foram utilizados 25 ng de DNA genômico por reação, em um volume final de 10µL. Os programas de amplificação variaram para cada par de *primer*, constituindo-se basicamente dos seguintes passos:

- 1- desnaturação inicial = 94°C/3 min.;
- 2- desnaturação = 94°C/1min.;
- 3- anelamento do *primer* = temperatura variável (Tabela 2) por um minuto;

- 4- polimerização = 72°C/1 min.; (repetindo-se os passos 2, 3 e 4 por 25 a 35 vezes, de acordo com o *primer*);
- 5- polimerização final = 72°C/5 min.

O padrão de amplificação dos marcadores foi inicialmente observado em gel de poliacrilamida a 5%, aplicando-se 5 µL de cada reação. Após a corrida em cuba de eletroforese, foi realizada a coloração com nitrato de prata. Confirmadas as amplificações, os produtos foram congelados a -20°C para posterior análise dos fragmentos. Estas análises foram feitas por meio de eletroforese em géis de poliacrilamida a 5%, utilizando-se seqüenciador automático ABI Prism 377 do Núcleo de Biologia Aplicada da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil.

A detecção e discriminação dos fragmentos polimórficos amplificados foram realizadas pelo programa GenScan. Posteriormente, os dados foram extraídos e convertidos em um arquivo de saída pelo programa Genotyper v.2.0, ambos da Applied Biosystems.

Análises estatísticas

Foram utilizadas as distâncias de consenso do mapa de ligação de suínos (ROTHSCHILD, 2003). O mapeamento de QTLs foi realizado pelo programa QTL Express (SEATON et al., 2002), que emprega o método de regressão por intervalo de mapeamento desenvolvido para análises de cruzamentos entre raças divergentes (HALEY et al., 1994).

No modelo estatístico, assume-se que o QTL é dialélico, com alelos alternativos fixados em cada raça parental (HALEY et al., 1994). Considerou-se o genótipo QQ para os animais comerciais, com efeito a, qq para os animais nativos, com efeito -a, e Qq para os animais F1, com efeito d. A probabilidade de cada indivíduo F2 apresentar cada um dos três genótipos do QTL, é calculada condicionalmente aos marcadores, a intervalos de 1 cM ao longo do cromossomo. Estas probabilidades são usadas para se fazer a regressão das características nos coeficientes aditivos e de dominância do QTL em estudo, para cada animal.

Os valores da razão F foram plotados e os pontos com os maiores valores para a estatística do teste foram apresentados como a possível posição do provável QTL. Os níveis de significância ($\alpha=0,10, 0,05$ ou $0,01$) ao longo do cromossomo foram obtidos pelo teste de permutação (CHURCHILL e DOERGE, 1994), utilizando-se um total de 10000 permutações para cada característica. O teste de permutação foi executado pelo programa QTL Express (SEATON et al., 2002) e, posteriormente, foi utilizado o “Proc Univariate” do SAS (SAS INSTITUTE INCORPORATION, 1990) para se obterem os níveis de significância a 1 e 5% (QTL significativo) e a 10% (QTL sugestivo) de probabilidade, a partir das informações de todas as características simultaneamente.

Foi adotado o seguinte modelo estatístico:

$$y_{ijkl} = S_i + L_j + H_k + (C_{ijkl} - \bar{C})b + c_a a + c_d d + e_{ijkl}$$

em que:

y_{ijkl} = fenótipo;

S_i = efeito fixo do sexo i , $i = 1$ (macho), 2 (fêmea);

L_j = efeito fixo do lote ou época de parição j , $j = 1, 2, 3, 4, 5$;

H_k = efeito fixo do genótipo do halotano k , $k = 1$ (NN), 2 (Nn);

$(C_{ijkl} - \bar{C})b$ = ajustamento para a covariável idade ao abate;

c_a e c_d foram calculados da seguinte maneira:

$$c_a = P(QQ) - P(qq)$$

$$c_d = P(Qq)$$

em que:

$P(QQ)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem homozigotos com origem comercial;

$P(qq)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem homozigotos com origem nativa;

$P(Qq)$ = probabilidade de os alelos do QTL serem heterozigotos.

O modelo anterior foi utilizado para estimar a regressão do fenótipo nos coeficientes c_a e c_d , variando a posição do QTL a cada cM. Para cada

posição, foi calculada uma razão F, comparando o modelo que considera a presença do QTL (modelo completo) ao modelo sem o QTL (modelo reduzido). As estimativas para a e d foram calculadas como a melhor posição estimada com a maior razão F correspondente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 é apresentado um resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os prováveis QTLs, além das estimativas dos efeitos aditivos e de dominância, com os respectivos erros-padrão.

Nas Figuras 1, 2 e 3 são apresentadas as distribuições das estatísticas F ao longo do cromossomo, sendo que os picos das curvas indicam as posições, em cM em que os prováveis QTLs estão localizados.

Constata-se, na Tabela 3 e na Figura 1, que foram detectados quatro QTLs significativos ($P < 0,05$) para pH45, cujo $F_{\max} = 6,71$, posicionado em 61 cM, além dos demais picos com valores da estatística F de 5,89, 6,14 e 6,67, nas posições de 75, 88 e 97 cM, respectivamente. No entanto, estes picos adjacentes podem ser QTLs fantasmas que podem aparecer como artefato das análises estatísticas e, portanto, devem ser investigados mais detalhadamente. Não foram encontrados na literatura relatos de trabalhos utilizando pH45, talvez pela dificuldade de mensuração desta característica, que deve ser realizada ainda no frigorífico. No entanto, esta característica é muito importante, pois influencia várias outras características de qualidade de carne, principalmente perda de peso (água), coloração e maciez.

Ainda de acordo com a Tabela 3 e Figura 1, verifica-se que não foi detectado QTL para pH24. Os valores da estatística F foram muito baixos, sendo o $F_{\max} = 2,06$, localizado a 83 cM, não significativo. MALEK et al. (2001) executaram uma varredura genômica para identificação de locos influenciando características economicamente importantes e encontraram QTLs para pH24 nos cromossomos 5, 14 e 15. QTL significativo para pH24 foi encontrado por ÓVILO et al. (2002) no cromossomo 3, ao trabalharem com os 18 cromossomos autossômicos suínos. Por outro lado, ANDERSSON-EKLUND et al. (1998), ao utilizarem 236 marcadores para cobrir os 18 cromossomos autossômicos, não encontraram QTL significativo para pH24.

Tabela 3 – Resumo das estatísticas F máximas e suas posições (cM) para os QTL e respectivas estimativas dos efeitos aditivos e de dominância

Característica	Posição (cM)	F _{max}	Aditivo (\pm EP ¹)	Dominância (\pm EP)
pH45	61	6,71*	0,10113 \pm 0,0328	0,0827 \pm 0,0436
pH24	83	2,06	-0,0018 \pm 0,0155	-0,0377 \pm 0,0187
GORINT	67	2,59	-0,0832 \pm 0,0652	-0,1482 \pm 0,0815
MACIEZ	41	3,03	103,0854 \pm 78,3866	247,4514 \pm 117,2985
GOTEJ	97	6,47*	-0,5226 \pm 0,1530	-0,2218 \pm 0,2334
COZ	18	1,47	-0,1731 \pm 0,2582	0,5864 \pm 0,3938
PTOT	96	2,43	-0,5619 \pm 0,2565	-0,0350 \pm 0,3878
L	153	3,22	-0,2728 \pm 0,1561	0,3938 \pm 0,2258
A	107	3,69	-0,0093 \pm 0,0499	0,2115 \pm 0,0778
B	126	3,55	-0,1217 \pm 0,0531	-0,0972 \pm 0,0892
H	108	3,40	0,0323 \pm 0,4658	-1,9389 \pm 0,7439
C	126	3,79	-0,1300 \pm 0,0503	-0,0694 \pm 0,0845

* = significativo a 5% de probabilidade. ¹ EP = erro-padrão

pH45 - pH 45 minutos após o abate; pH24 - pH 24 horas após o abate; GORINT - porcentagem de gordura intramuscular; GOTEJ - perda de peso por gotejamento; COZ - perda de peso por cozimento; PTOT - perda de peso total; MACIEZ - maciez objetiva (força de cisalhamento); L - luminosidade; a - índice de vermelho; b - índice de amarelo; h - tonalidade de cor; e c - índice de saturação.

Para a característica gordura intramuscular (GORINT) (Tabela 3 e Figura 1), não foi encontrado QTL significativo. Os valores da estatística F foram muito baixos ($F_{max} = 2,59$). Resultados estes discordantes dos encontrados por GRINDFLEK et al. (2001) e OVILO et al. (2002), que localizaram QTLs no cromossomo 6, e por HARLIZIUS et al. (2000), que localizaram QTL no cromossomo X.

Não foi encontrado QTL significativo para maciez objetiva da carne (MACIEZ) (Tabela 3 e Figura 1), em que o $F_{max} = 3,03$ (41cM). Resultados semelhantes foram obtidos por WANG et al. (1998), que trabalharam com maciez subjetiva. No entanto, GRINDFLEK et al. (2001) encontraram QTLs significativos para maciez subjetiva (cromossomo 6) e MALEK et al. (2001) (cromossomo 2, 14 e 15) também encontraram QTLs significativos para maciez subjetiva e maciez objetiva.

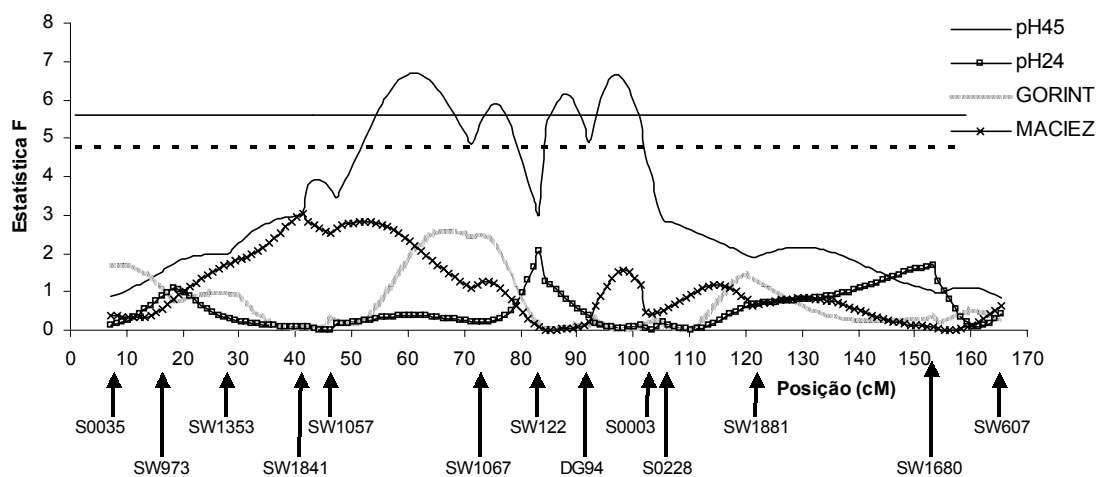


Figura 1 – Estimativas da estatística F para as características pH45, pH24, GORINT e MACIEZ. As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

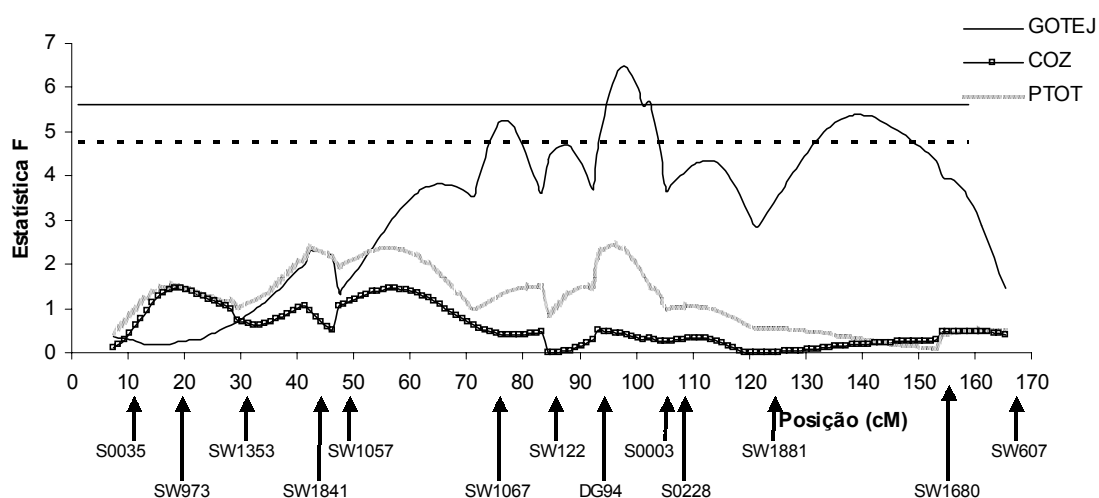


Figura 2 – Estimativas da estatística F para as características perda de peso por gotejamento (GOTEJ), perda de peso por cozimento (COZ) e perda de peso total (PTOT). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

QTLs significativos foram encontrados para perda de peso por gotejamento (GOTEJ), que apresentou três picos, sendo um significativo e dois sugestivos (Figura 2 e Tabela 3). O $F_{\max} = 6,47$, a 97 cM, foi significativo a 5% de probabilidade, e os outros dois picos indicando QTLs sugestivos ($P < 0,10$),

cujas estatísticas F foram 5,24 (77 cM) e 5,38 (139 cM). Há, portanto, evidências de três locos influenciando a característica GOTEJ no SSC6. No entanto, deve-se investigar mais detalhadamente estes picos, pois podem ser QTLs fantasmas, nos quais os picos surgiram a partir do pico significativo ($F_{\max} = 6,47$, a 97 cM). O pico apresentado na região de 139 cM também deveria ser melhor estudado, posicionando-se mais marcadores no intervalo compreendido entre os microssatélites SW1881 (121 cM) e SW1680 (154 cM). MALEK et al. (2001) encontraram QTLs significativos para perda de peso por gotejamento nos cromossomos 1, 2 e 11, enquanto ANDRESSON-EKLUND et al. (1998), nos cromossomos 1, 2 e 12.

Analisando simultaneamente as Figuras 1 e 2, verifica-se que há coincidência de picos significativos e, ou, sugestivos para a estatística F das características pH45 e GOTEJ, nas regiões próximas a 76, 88 e 97 cM. Estes resultados sugerem que um mesmo grupo de genes pode estar atuando em ambas as características, exercendo, portanto, efeito pleiotrópico nestas. BENEVENUTO JÚNIOR (2001) encontrou correlação fenotípica entre pH45 e GOTEJ alta e significativa (0,66), confirmando a hipótese de pleiotropia como uma fonte de correlação genética e, conseqüentemente, fenotípica.

As características perda de peso por cozimento (COZ) e perda de peso total (PTOT) apresentaram valores da estatística F muito baixos, $F_{\max} = 1,47$, em 18 cM, e $F_{\max} = 2,43$, em 96 cM, respectivamente. Não foram encontrados QTLs significativos ou sugestivos para nenhuma destas características. Não foram encontrados trabalhos na literatura utilizando essas características.

Não foram encontrados QTLs para as características relacionadas à coloração de carne (Tabela 3 e Figura 3). WANG et al. (1998) também não encontraram QTL para cor ao investigarem os cromossomos 4 e 7, embora tenham usado valores de cor subjetivos.

As características luminosidade (L), índice de vermelho (A) e índice de amarelo (B) apresentaram valores de F_{\max} iguais a 3,22 (153 cM), 3,69 (107 cM) e 3,55 (126 cM), respectivamente, sendo todos não significativos ($P > 0,10$). ÓVILO et al. (2002) também não encontraram, em uma varredura nos cromossomos autossômicos, QTL para B. No entanto, encontraram QTL significativo para L, nos cromossomos 4 e 7, e para A, nos cromossomos 4 e 8.

Para as características índice de saturação (C) e de tonalidade (H) (Tabela 3 e Figura 3), verifica-se que não foram encontrados QTLs significativos ($P > 0,10$), sendo os valores de F_{max} iguais a 3,40 (108 cM) e 3,79 (126 cM), respectivamente. QTL para H e C também não foram encontrados por ÓVILO et al. (2002).

Verifica-se que a estatística F das características A e H (picos a 106 cM) e B e C (picos a 126 cM) são praticamente coincidentes. Estes resultados, embora não significativos, devem ter ocorrido em razão do método de estimação das características C e H, obtidas em função das características A e B. BENEVENUTO JÚNIOR (2001) encontrou correlações fenotípicas altas e significativas entre A e H (0,98) e entre B e C (0,88). Constata-se na Figura 3, que estas correlações fenotípicas certamente têm um componente genético forte.

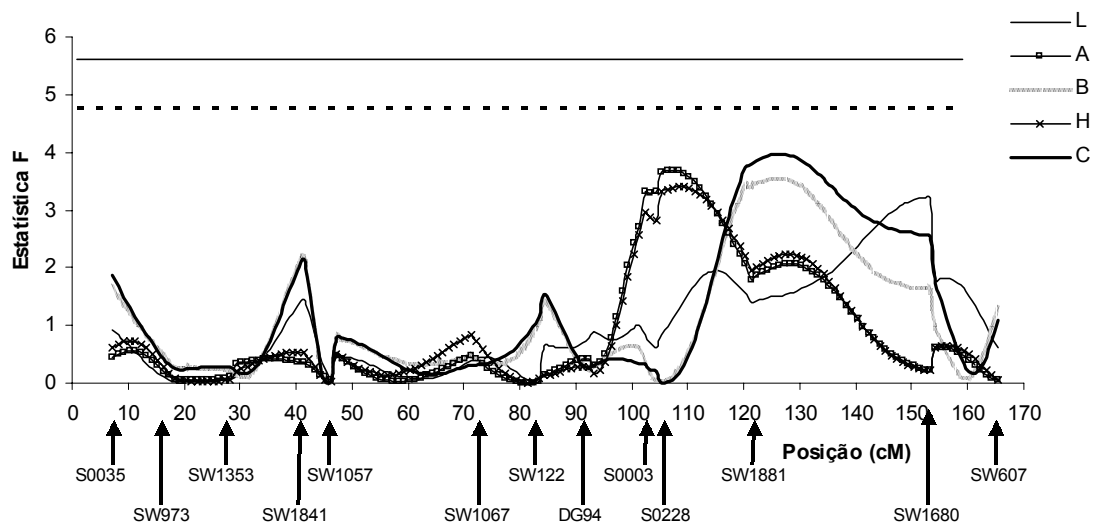


Figura 3 – Estimativas da estatística F para as características luminosidade (L), índice de vermelho (A), índice de amarelo (B), saturação (C) e tonalidade (H). As linhas horizontais indicam os níveis de significância ao longo do cromossomo para QTL significativo (5% = linha contínua) e QTL sugestivo (10% = linha tracejada).

CONCLUSÕES

Foram encontrados QTLs significativos para as características de qualidade de carne pH45 e perda de peso por gotejamento.

Mesmos grupos gênicos, localizados em torno de 76, 88 e 97 cM, podem estar atuando sobre as características pH45 e perda de peso por gotejamento.

Nas regiões dos picos da estatística F onde se encontraram QTLs sugestivos, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a presença dos QTLs.

Agradecimento

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais) pelo financiamento do projeto.

À Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, em especial à pesquisadora Dra. Cláudia Teixeira Guimarães, pela disponibilização do seqüenciador automático utilizado para as genotipagens.

Ao Dr. Max F. Rothschild, coordenador do Projeto Norte Americano de Mapeamento Genômico de Suínos, pela doação dos *primers* de microssatélites.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSSON-EKLUND, L., MARKLUND, L., LUNDSTRÖM, K., HALEY, C.S., ANDERSSON, K., HANSSON, I., MOLLER, M., ANDERSSON, L. 1998. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a Wild Boar x Large White intercross. **Journal of Animal Science**, v.76, p.694-700.
- BENEVENUTO JÚNIOR, A. A. 2001. **Avaliação de rendimento de carcaça e de qualidade da carne de suínos comerciais, de raça nativa e cruzados**. Dissertação de mestrado, 93 p., Dep. de Tecnologia de Alimentos, UFV. 98p.
- CHURCHILL, G.A., DOERGE, R.W. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v.138, p.963-971.
- GRINDFLEK, E., SZYDA, J., LIU, Z., LIEN, S. 2001. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. **Mammalian Genome**, v.12, p.299-304.

- HALEY, C.S., KNOTT, S.A., ELSEN, J.M. 1994. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. **Genetics**, v.36, p.1195-1207.
- HARLIZIUS, B., RATTINK, P., de KONING, D.J., FAIVRE, M., JOOSTEN, R.G., van ARENDONK, J.A.M., GROENEN, M.A.M. 2000. The X Chromosome harbors quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636.
- MALEK, M., DEKKERS, C.M.J., LEE, H.K., BAAS, T.J., ROTHSCHILD, M.F. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636.
- ÓVILO, C., CLOP, A., NOGUERA, J.L., OLIVER, M.A., BARRAGÁN, C., RODRÍGUEZ, C., SILIÓ, L., TORO, M.A., COLL, A., FOLCH, J.M., SÁNCHEZ, A., BABOT, D., VARONA, L., PEREZ-ENCIZO, M. 2002. Quantitative trait locus for meat quality traits in an Iberian x Landrace F2 pig population. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2801-2808.
- ROHRER, G.A., KEELE, J.W. 1998. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine: II - Muscling and wholesale product yield traits. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2255-2262.
- ROSLIN INSTITUTE. 2003. **Pig genome mapping**. Disponível em: <<http://www.projects.roslin.ac.uk>>. Acessado em: 15 de janeiro de 2003.
- ROTHSCHILD, M.F. 2003. **U.S. Pig gene mapping coordination program**. Disponível em: <<http://www.genome.iastate.edu/pig>>. Acessado em: 20 de janeiro de 2003.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION. **SAS/STAT® user's guide: version 6. 4** ed. Cary, NC:1990.
- SEATON, G., HALEY, C.S., KNOTT, S.A., KEARSEY, M., VISSCHER, P.M. 2002. QTL express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. **Bioinformatics**, v.18, n.2, p.339-340. Disponível em: <<http://qtl.cap.ed.ac.uk>>. Acessado em 21 e 22 de janeiro de 2003.
- WANG L., YU, T.-P., TUGGLE, C.K., LIU, H.-C., ROTHSCHILD, M.F. 1998. A direct search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2560-2567.

RESUMO e CONCLUSÕES

O modelo infinitesimal tem sido usado para descrever o comportamento das características quantitativas, pressupondo que um número infinito de genes, com pequenos efeitos, seja responsável por suas variações genéticas. Em muitos casos, porém, esse modelo tem sido substituído por outros nos quais poucos genes são responsáveis por uma grande proporção da variação genética das características. O mapeamento dos locos de características quantitativas (QTLs) permite que se determine a localização e os efeitos destes genes. O mapeamento de QTL é, portanto, uma das alternativas para se identificarem genes que causam variações fenotípicas em características economicamente importantes.

Mapeamento de locos de características quantitativas é basicamente uma inferência genômica do relacionamento entre os valores fenotípicos das características quantitativas e os genótipos do QTL. Este relacionamento inclui número e posição dos QTLs, efeitos destes, interação dentro dos alelos do QTL (dominância) e entre os alelos de locos dos QTL (epistasia), além dos efeitos pleiotrópicos e da interação com o ambiente.

O objetivo deste estudo foi realizar o mapeamento de QTLs no cromossomo 6 de suínos (SSC6), associados às diversas características de crescimento, carcaça e qualidade de carne. Uma população F2 composta por 617 animais, obtida do inter cruzamento da geração F1, produzida pelo cruzamento divergente de dois machos da raça nativa brasileira Piau e 18 fêmeas comerciais (Landrace x Large White), foi genotipada com 13 marcadores microssatélites. As características avaliadas na população F2 foram: 1 – desempenho: número de tetas (NT); peso ao nascimento (PN); peso aos 21, 42, 63, 77 e 105 dias de idade (P21, P42, P63, P77 e P105); peso ao abate (PA); consumo de ração (CR); conversão alimentar (CA) e ganho de peso médio diário (GPD) dos 77 aos 105 dias de idade e idade ao abate (IDA); 2 – carcaça: comprimento de carcaça pelos métodos brasileiro e americano, peso e rendimento de carcaça, espessura de toucinho na região da copa, espessura de toucinho imediatamente após a última costela, espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar, menor espessura de toucinho na região acima da última vértebra lombar e espessura de toucinho

imediatamente após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar, espessura de bacon, profundidade de lombo, área de olho de lombo, pesos de órgãos internos (coração, pulmões, fígado, baço e rim) e comprimento de intestino; e 3 – qualidade de carne: pH medido 45 minutos e 24 horas *post-mortem* (pH45, pH24, respectivamente), perda de peso por gotejamento (GOTEJ), perda de peso por cozimento (COZ), perda de peso total (PTOT), gordura intramuscular (GORINT), maciez objetiva (MACIEZ) e coloração da carne [luminosidade (L), índice de vermelho (A), índice de amarelo (B), tonalidade de cor (H) e índice de saturação (C)]. Foi utilizado o método de regressão por intervalo de mapeamento por meio do programa QTL Express. Os níveis de significância ao longo do cromossomo foram obtidos pelo teste de permutação em um total de 10.000 permutações para cada característica. Os dados foram obtidos, para o teste de permutação, pelo programa QTL Express e, posteriormente, foi feita uma análise por meio do “Proc Univariate” do SAS, para se obter os níveis de significância a 1 e 5% (QTL significativo) e a 10% de probabilidade (QTL sugestivo), a partir das informações de todas as características simultaneamente.

Foi encontrado um QTL significativo associado a CR, a 99 cM no cromossomo 6 suíno. Para a característica P42, foi encontrado um QTL sugestivo localizado a 55 cM. Um mesmo gene ou grupo gênico, localizado em torno de 100 cM, pode estar atuando sobre as características CR, GPD e IDA. Embora com resultados não significativos, os genes ou grupos de genes que atuam sobre as características peso corporal podem ser diferentes, dependendo da idade em que for medida tal característica. Foram encontrados QTLs sugestivos para as características de carcaça comprimento de carcaça e espessura de bacon, além de QTL significativo para peso do rim. QTLs sugestivos foram encontrados também para peso de pernil limpo, peso de paleta, peso de lombo e peso de filezinho. Foram encontrados QTLs significativos para as características pH45 e GOTEJ e QTLs sugestivos para GOTEJ. Não foram encontrados QTLs para as demais características. Mesmos grupos gênicos, localizados em torno de 76, 88 e 97 cM, podem estar atuando sobre as características pH45 e GOTEJ. Nas regiões dos picos da estatística F onde se encontraram QTLs sugestivos, devem ser incluídos mais marcadores, para se confirmar a presença real dos mesmos.