

FELIPE JOSÉ DE CARVALHO CORRÊA

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SELEÇÃO TRADICIONAIS, ASSISTIDA
POR MARCADORES MOLECULARES E POR GENES CANDIDATOS, COM
DADOS SIMULADOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2001

FELIPE JOSÉ DE CARVALHO CORRÊA

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SELEÇÃO TRADICIONAIS, ASSISTIDA POR
MARCADORES MOLECULARES E POR GENES CANDIDATOS, COM
DADOS SIMULADOS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, para obtenção
do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 16 de março de 2001.

Prof. Paulo Sávio Lopes
(Conselheiro)

Prof. Robledo de Almeida Torres
(Conselheiro)

Prof.^a Carmen Silva Pereira

Prof. Pedro Crescêncio Souza Carneiro

Prof. Ricardo Frederico Euclides
(Orientador)

Aos meus pais Nélia Maria de Carvalho Corrêa e Plácido Corrêa,

Ao meu irmão Plácido Corrêa Filho,

Ao meu tio George Moraes de Carvalho (*in memoriam*)

Ao meu pai viçosense José Schitini Rubim (*in memoriam*)

A minha namorada Suzana de Deus Moura,

A DEUS,

E a todos que de alguma forma essa tese possa ser de alguma valia.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização do curso.

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

Ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da UFV, pelo apoio.

Ao professor Ricardo Frederico Euclydes, pelos valiosos ensinamentos, pela orientação, pelo estímulo e pela amizade.

Aos professores conselheiros Paulo Sávio Lopes e Robledo de Almeida Torres, pelo apoio e valiosas sugestões durante a realização do trabalho.

Aos membros da Banca Examinadora, Professora Carmen Silva Pereira e Professor Pedro Crescêncio Souza Carneiro, ao suplente, Professor José Ivo Ribeiro Júnior, e a Professora Simone Eliza Facioni Guimarães pela atenção e pelas sugestões.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, em especial para o Adilson, Cláudio Paulon, Celeste, Márcia, Raimundo, Rosana, Venâncio, Wagner e Magno (Cantina) e funcionárias do xerox, Rosiane, Natalia e Raquel, pelo apoio e agradável convívio.

Aos amigos do hotel Rubim, família Rubim, Jésus, Luciano, Cida, Beth, Gerson e Flávia pelo acolhimento e agradável convivência durante toda minha graduação.

Aos companheiros de República Danilo, Marcos, Uislei e Tabaco, pela amizade, companheirismo e presteza, durante o mestrado.

A Kyara, pelos momentos de carinho, amizade, alegria e tormenta.

A todas da minha família e amigos que mesmo à distância, sempre me apoiaram e acreditaram no meu potencial.

Aos colegas da graduação que se mantiveram unidos na pós-graduação Acyr, Anderson, Carlinha, Eduardo, Fernanda, Júnior e Priscila pela amizade.

Aos colegas do melhoramento Aldrin, Amauri, Cláudio, Elizangela, Elivalto, Fabiano, Fausto, Giselle, Jaime, Maria Amélia, Marcos Vinícius, Paulinho, Paulo Nobre, Policarpo, Renata, Renato, Ricardinho, Urbano e William pelo apoio e principalmente pela ajuda em todos os momentos.

Ao Rodolphinho a minha eterna gratidão pela colaboração e principalmente pela amizade e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao “Zangado”, Cláudio, Júnior e “Nando” pela amizade e por me receber como agregado da casa nos fins de semana.

Ao Bob Kane criador do BATMAN, único vestígio da minha infância que ainda perpetua através das histórias em quadrinhos mensais.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FELIPE JOSÉ DE CARVALHO CORRÊA, filho de Plácido Corrêa e Nélia Maria de Carvalho Corrêa, nasceu no Rio de Janeiro-RJ, em 12 de dezembro de 1975.

Em março de 1994, iniciou na Universidade Federal de Viçosa o curso de graduação em Zootecnia, concluído em março de 1999.

Em Abril de 1999, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de Melhoramento Animal, nessa mesma Universidade, submetendo-se à defesa de tese no dia 16 de março de 2001.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Simulação de dados	3
2.2. Métodos de seleção tradicionais	5
2.2.1. Seleção individual.....	5
2.2.2. Melhor predição linear não-viesada (BLUP)	6
2.3. Métodos de seleção moleculares	7
2.3.1. Marcadores moleculares	9
2.3.1.1. Seleção assistida por marcadores.....	13
2.3.2. Genes candidatos.....	14
2.3.2.1. Seleção por genes candidatos	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Simulação dos dados	23
3.1.1. Simulação do genoma.....	23
3.1.2. Simulação das populações-bases	24
3.1.3. Simulação das populações iniciais	25
3.1.4. Populações selecionadas	25
3.2. Cálculo dos componentes de variância	25
3.3. Métodos de seleção.....	26
3.3.1. Seleção assistida por marcadores (MAS)	26

3.3.2. Seleção individual (IND)	27
3.3.3. Seleção individual com marcadores moleculares (MAS+IND)	27
3.3.4. Seleção baseada na melhor predição linear não-viesada (BLUP) ..	28
3.3.5. Seleção por genes candidatos (CGS).....	29
3.4. Parâmetros avaliados	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

RESUMO

CORRÊA, FELIPE JOSÉ DE CARVALHO, M. S., UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, MARÇO DE 2001. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SELEÇÃO TRADICIONAIS, ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES, E POR GENES CANDIDATOS, COM DADOS SIMULADOS. ORIENTADOR: RICARDO FREDERICO EUCLYDES. CONSELHEIROS: PAULO SÁVIO LOPES E ROBLEDO DE ALMEIDA TORRES.

Como o objetivo do melhoramento animal é o aumento da frequência dos alelos favoráveis relacionados com características de importância econômica, os melhores indivíduos são selecionados, de forma a transmitir esses alelos favoráveis às gerações futuras. Para este objetivo, vários métodos de seleção foram propostos e aperfeiçoados, como a seleção individual, o índice de seleção e a seleção baseada na melhor predição linear não-viesada, BLUP. Porém, nos últimos anos, avanços observados na biotecnologia têm indicado revolução nas metodologias de seleção. Isto é feito pela seleção assistida por marcadores (MAS) e seleção por genes candidatos (CGS). Apesar da seleção ser importante ferramenta, o tempo e a necessidade de animais e laboratórios que aumentam os custos, se tornam fatores limitantes, dificultando a realização de alguns trabalhos. Assim, pesquisadores utilizam técnicas de simulação, permitindo a obtenção de grande volume de dados em

um curto período de tempo, sem os elevados custos de animais e de laboratórios. Este trabalho visou verificar, na condição de dez marcas moleculares polimórficas, uma característica quantitativa de herdabilidade baixa (0,10), durante 20 gerações; os desempenhos dos métodos de seleções tradicionais (individual e baseada no BLUP), dos métodos de seleções moleculares (assistida por marcadores moleculares e por genes candidatos) e da combinação dos dois (associação da seleção individual e a assistida por marcadores), na tentativa de apresentar a superioridade dos métodos de seleção moleculares. Foi simulado um genoma (GENESYS 2000) composto de 200 locos. Seis populações-base de 1000 animais cada (500 machos e 500 fêmeas) foram criadas, a partir do mesmo genoma, com alterações nos efeitos aditivos (aleatórios no intervalo de $-1,258$ a $1,258$, fixados nos valores -2 e 2 e fixado nos valores -5 e 5) dos genes próximos aos marcadores, e da transformação dos marcadores em candidatos. Para cada população base, foi construída uma população inicial, na qual teve início o processo de avaliação genética. Os parâmetros avaliados foram: ganho fenotípico, porcentagem de homozigotos, variância genética aditiva, porcentagem de alelos desfavoráveis e favoráveis fixados e limite de seleção. Com o uso do BLUP, obtiveram-se, para os três grupos de efeitos aditivos dos genes, os maiores ganhos fenotípicos, após as 20 gerações simuladas. À medida que se fixaram os valores dos efeitos aditivos dos genes, o desempenho dos métodos de seleção moleculares (seleção assistida por marcadores e seleção por genes candidatos), melhorou, sendo superior as respostas dos métodos de seleção tradicionais até a quinta geração. Em todas as respostas analisadas, as variâncias genéticas aditivas decresceram, sendo que, a maior queda foi observada quando foram usados métodos de seleção moleculares. Os resultados das porcentagens de locos fixados com alelos desfavoráveis e favoráveis, mostraram que os métodos de seleção moleculares foram semelhantes para os grupos de efeitos aditivos dos genes e superiores aos demais métodos tanto na fixação dos locos com alelos favoráveis quanto desfavoráveis. Conclui-se que os métodos de seleção tradicionais são melhores que os de seleção moleculares, durante 20 gerações, sem genes de grande efeito aditivo. Entretanto, aumentando o efeito aditivo dos genes, os métodos de seleção moleculares são as melhores opções até cinco gerações.

ABSTRACT

CORRÊA, FELIPE JOSÉ DE CARVALHO, M. S., UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, MARCH 2001. *EVALUATION OF TRADITIONAL SELECTION METHODS, MOLECULAR MARKERS ASSISTED SELECTION, AND CANDIDATE GENES SELECTION, WITH SIMULATED DATA.* ADVISER: RICARDO FREDERICO EUCLYDES. COMMITTEE MEMBERS: PAULO SÁVIO LOPES AND ROBLEDO DE ALMEIDA TORRES.

AS THE AIM OF ANIMAL IMPROVEMENT IS TO INCREASE THE FREQUENCY OF FAVORABLE ALLELES RELATED TO ECONOMICALLY RELEVANT CHARACTERISTICS, THE BEST INDIVIDUALS ARE SELECTED IN ORDER TO TRANSMIT THESE FAVORABLE ALLELES TO FUTURE GENERATIONS. SEVERAL METHODS HAVE BEEN PROPOSED AND IMPROVED FOR THIS OBJECTIVE, SUCH AS THE INDIVIDUAL SELECTION, THE SELECTION INDEX AND THE BEST LINEAR UNBIASED PREDICTION (BLUP) BASED SELECTION. IN THE RECENT YEARS, HOWEVER, BIOTECHNOLOGICAL ADVANCES HAVE ALLOWED A BREAK-THROUGH IN SELECTION METHODS. THIS IS THE CASE OF THE MARKERS ASSISTED SELECTION (MAS) AND THE CANDIDATE GENES SELECTION (CGS). SELECTION IS INDEED AN IMPORTANT TOOL, HOWEVER ITS TIME DEMAND AND THE HIGH COST RELATED TO THE

NEED OF ANIMALS AND LABORATORIES BECOME LIMITING FACTORS, MAKING IT HARDER FOR SOME WORKS TO BE CARRIED ON. THEREFORE, RESEARCHERS MAKE USE OF SIMULATION TECHNIQS, ALLOWING THE OBTENTION OF A LARGE AMOUNT OF DATA WITHIN A SHORT PERIOD OF TIME, AS WELL AS AVOIDING THE COST ASSOCIATED TO THE USE OF ANIMALS AND LABORATORIES. FOR A GIVEN CONDITION OF TEN POLYMORPHIC MOLECULAR MARKS AND A LOW HERITABILITY (0,10) QUANTITATIVE CHARACTERISTIC, THIS WORK EVALUATED THE PERFORMANCE OF TRADITIONAL SELECTION METHODS (INDIVIDUAL AND BASED ON BLUP), MOLECULAR SELECTION METHODS (MARKER ASSISTED SELECTION AND CANDIDATE GENE SELECTION) AND THE COMBINATION OF BOTH (INDIVIDUAL SELECTION ASSOCIATED TO MARKER ASSISTED SELECTION), IN THE ATTEMPT OF PRESENTING THE SUPERIORITY OF THE MOLECULAR SELECTION METHODS, DURING 20 GENERATIONS. IN ORDER TO ACCOMPLISH THIS TASK, A GENOME WAS SIMULATED (GENESYS 2000) COMPOSED BY 200 LOCUS. SIX BASE-POPULATIONS OF 1000 ANIMALS EACH (500 MALES AND 500 FEMALES) WERE CREATED FROM THE SAME GENOME, WITH CHANGES ON THE ADDICTIVE EFFECTS (RANDOMIZED IN THE INTERVAL FROM -1,258 TO 1,258, FIXED ON VALUES -2 AND 2 AND FIXED ON VALUES -5 AND 5) OF THE GENES CLOSE TO THE MARKERS AND OF THE CONVERSION OF MARKERS INTO CANDIDATES. FOR EACH BASE-POPULATION AN INITIAL POPULATION WAS BUILT IN WHICH THE GENETIC EVALUATION PROCESS BEGAN. THE EVALUATED PARAMETERS WERE: PHENOTYPIC GAIN, HOMOZYGOUS PERCENTAGE, ADDICTIVE GENETIC VARIANCE, FIXED FAVORABLE AND UNFAVORABLE ALLELES PERCENTAGE AND SELECTION LIMIT. WITH THE USE OF BLUP, THE HIGHER PHENOTYPIC GAINS WERE ACHIEVED FOR THE THREE GROUPS OF GENES ADDICTIVE EFFECTS, AFTER THE 20 GENERATIONS SIMULATED. WHEN THE VALUES OF THE GENES ADDICTIVE EFFECTS WERE FIXED THE PERFORMANCE OF THE MOLECULAR BASED SELECTION METHODS (MARKERS ASSISTED SELECTION AND CANDIDATE GENES SELECTION) IMPROVED, THESE METHODS BEING BETTER THAN THE TRADITIONAL

SELECTION METHODS UNTIL THE FIFTH GENERATION. FOR ALL EVALUATED RESPONSES THE ADDICTIVE GENETIC VARIANCE DECREASED, AND THE BIGGEST DECREASE WAS OBSERVED WHEN THE MOLECULAR SELECTION METHODS WERE APPLIED. THE FIXED FAVORABLE AND UNFAVORABLE ALLELES PERCENTAGE RESULTS OBSERVED DURING THE GENERATIONS SHOWED THAT THE MOLECULAR SELECTION METHODS WERE SIMILAR CONCERNING THE DIFFERENT GROUPS OF GENES ADDICTIVE EFFECTS AND MORE EFFICIENT CONCERNING LOCUS FIXATION WITH FAVORABLE ALLELES. THE MOLECULAR SELECTION METHODS, NEVERTHELESS, WERE BETTER THAN THE OTHER METHODS CONCERNING LOCUS FIXATION WITH UNFAVORABLE ALLELES. THE CONCLUSION WAS THAT TRADITIONAL SELECTION METHODS ARE BETTER THAN MOLECULAR SELECTION METHODS, DURING 20 GENERATIONS AND IN THE ABSENCE OF MAJOR GENES. NEVERTHELESS, AS THE GENES EFFECT IS INCREASED THE MOLECULAR SELECTION METHODS BECOME THE BEST OPTIONS UNTIL THE FIFTH GENERATION.

1. INTRODUÇÃO

O sucesso dos programas de melhoramento depende de rigorosas pesquisas (HETZEL e MOORE, 1995; EUCLYDES, 1996). Um dos objetivos principais do melhoramento animal é o aumento da produtividade mediante o progresso genético, que se resume no aumento da frequência dos alelos favoráveis relacionados com as características de importância econômica desejada. Assim, os programas de melhoramento buscam selecionar os melhores indivíduos, de forma a transmitir esses alelos favoráveis às gerações futuras.

Para atingir este objetivo, a principal ferramenta que os melhoristas possuem é a seleção. Vários métodos de seleção foram propostos e aperfeiçoados ao longo dos anos, como a seleção individual, o índice de seleção e a seleção baseada na melhor predição linear não-viesada (BLUP), dentre outros. Esses métodos buscam prever os valores genéticos de forma mais precisa, para a identificação dos melhores animais para uma ou várias características.

Porém, nos últimos anos, avanços observados na biotecnologia, têm sugerido uma revolução nas metodologias de seleção (EUCLYDES e GUIMARÃES, 1997). Como principal proposta cita-se do “melhoramento molecular”, que visa selecionar os reprodutores que possuem os alelos favoráveis a determinada característica, diretamente pela avaliação do seu genoma. A seleção assistida por marcadores (MAS) e a seleção por genes candidatos (CGS) são os principais métodos utilizados no “melhoramento molecular”. Entretanto, os trabalhos sobre a eficiência relativa desses métodos ainda não são conclusivos.

Apesar da seleção ser uma importante ferramenta para os melhoristas, o tempo e a necessidade de animais e laboratórios que aumentam os custos, se tornam fatores limitantes no estudo do melhoramento animal, dificultando muitas vezes a realização de determinados trabalhos de pesquisa. Para contornar este problema, muitos pesquisadores utilizam técnicas de simulação, que permitem a obtenção de um grande volume de dados em um curto período de tempo, sem os elevados custos de animais e de laboratórios.

Este trabalho visou verificar, em populações simuladas, os desempenhos dos métodos de seleções tradicionais (individual e

baseada no BLUP), dos métodos de seleções moleculares (assistida por marcadores moleculares e por genes candidatos) e da combinação dos dois (associação da seleção individual e a assistida por marcadores), na tentativa de apresentar a superioridade dos métodos de seleção moleculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Simulação de dados

No estudo do melhoramento animal, o tempo se torna um fator limitante, visto que, algumas das características a serem melhoradas somente são observadas em animais adultos, que geralmente possuem longo intervalo de geração. Além do tempo, a necessidade de animais e laboratórios aumentam os custos, dificultando muitas vezes a realização de determinados trabalhos de pesquisa.

Para contornar este problema, muitos pesquisadores utilizam técnicas de simulação, que permitem a obtenção de um grande volume de dados em um curto período de tempo, sem os elevados custos de animais e de laboratórios. Estas técnicas vão desde a utilização de animais com menor intervalo de geração à utilização de dados simulados por computadores e devem ser utilizadas em estudos nos quais a obtenção de dados reais seja difícil ou em casos onde se queira comparar metodologias utilizando dados reais e dados simulados.

A simulação pode ser em nível de indivíduo ou em nível de gene. No primeiro caso, as informações dadas são as médias e variâncias do valor fenotípico dos indivíduos da população e o sistema se encarrega de fazer a seleção dos melhores indivíduos e acasalá-los ao acaso até a geração desejada. No segundo caso, o sistema recebe as características de um

genoma, e é responsável pelos processos de formação do mesmo, gametogênese, zigotogênese e como anteriormente, a seleção dos melhores indivíduos para posterior acasalamento até a geração desejada.

FRAZER (1957) foi o pioneiro no uso de computadores para investigação de problemas teóricos da genética quantitativa. Ele usou “bits” de memória, como genes, e simulou todos os passos da reprodução, da recombinação, da fertilização, efeitos de ambiente e seleção baseada no fenótipo.

A simulação, em nível de gene, foi usada por ROBERTSON (1970), num estudo sobre efeitos das ligações gênicas no limite da seleção e por NICHOLAS e ROBERTSON (1980), num estudo sobre o conflito entre as seleções natural e artificial.

MADALENA e HILL (1972), trabalhando com simulação, compararam a resposta à seleção de uma grande população com uma série de pequenas populações, parcialmente, ou totalmente isoladas.

ZHANG e SMITH (1992) utilizaram a simulação, em nível de genes, em um estudo de seleção assistida por marcadores. Eles simularam um genoma, contendo 20 cromossomos, cada um com 100 centimorgans de comprimento, 100 locos quantitativos com efeitos aditivos e 100 locos marcadores. Desse genoma, foram simuladas populações, que permitiram comparar as seleções: 1) baseada em marcadores, 2) baseada no BLUP e 3) baseada nos dois métodos combinados.

SORENSEN e KENNEDY (1984), BELONSKY e KENNEDY (1988), ROBINSON et al. (1989) e WOOD et al. (1991) utilizaram-se de populações simuladas, por meio de médias e variâncias, para compararem métodos de seleção.

Na comparação de estratégias, para obtenção do BLUP do valor genético de coelhos, executada por MARTINS (1995), foram simuladas populações, com base em informações em nível de gene. Segundo o mesmo autor, dados simulados a partir de modelos genéticos, definidos por meio de média e variância genética, isto é, simplificações de modelos em nível de gene, exigem menor esforço computacional. Entretanto, esta simplificação pode alterar possíveis diferenças entre métodos a serem testados em populações, submetidas à seleção por determinado número de gerações.

EUCLYDES (1996) utilizou a simulação em nível de gene (Sistema GENESYS), para avaliar os desempenhos de métodos de seleção clássicos e associados a marcadores moleculares: 1) com uma característica quantitativa com duas herdabilidades (0,10 e 0,50), 2) com duas características quantitativas, cujas herdabilidades foram combinações de 0,10 e 0,50, considerando os casos de correlações positiva e negativa e 3) com duas características quantitativas, ambas de herdabilidade 0,10, considerando os casos de correlações positiva e negativa e influenciadas pelos efeitos fixos de meio.

CARNEIRO (1998), CARNEIRO (1999) e FONSECA (1999) utilizaram o sistema GENESYS (EUCLYDES, 1996) para verificar o efeito de erros de pedigree, o efeito do grau de conexidade dos dados e o efeito da violação de pressuposições da metodologia de modelos mistos, na avaliação genética animal, respectivamente.

2.2. Métodos de seleção tradicionais

2.2.1. Seleção individual

Na seleção individual, os indivíduos são selecionados apenas de acordo com seus valores fenotípicos. Este método é, usualmente, o mais simples para operar e, em muitas circunstâncias, produz rápida resposta.

QUINTON et al. (1992), em um estudo que comparava métodos de seleção, com mesma taxa de endogamia, mostraram que a seleção pelo fenótipo, apresenta melhor resposta que os demais métodos de seleção estudados, quando o objetivo é manter uma baixa taxa de endogamia (1% por geração).

2.2.2. Melhor predição linear não-viesada (BLUP)

Na Melhor Predição Linear Não-Viesada (BLUP), pressupõe-se apenas o conhecimento das variâncias e co-variâncias populacionais. As médias são obtidas, por meio de estimativas de quadrados mínimos generalizados (GLS). Os valores genéticos são considerados aleatórios, uma vez que existe segregação gênica. As soluções dos efeitos fixos são obtidas pelo método dos quadrados mínimos generalizados e as correlações entre os valores genéticos são consideradas. Caso estas correlações não fossem consideradas, as estimativas obtidas para a esperança dos valores fenotípicos, seriam distorcidas, comprometendo assim, as predições dos valores genéticos.

O BLUP é não-tendencioso e utiliza em seus cálculos vetores e matrizes de modo a minimizar o quadrado médio do erro de predição e maximizar a correlação entre as predições dos valores genéticos e os valores genéticos verdadeiros, quando os animais são avaliados nas mesmas condições ambientais (MARTINS et al., 1997).

O BLUP pode avaliar indivíduos sem observações, com observações perdidas ou com observações em apenas algumas características (no caso de análises multivariadas), por meio de modelos mistos. A seleção de animais pelo valor genético, obtido por meio de modelos mistos, seria o método de seleção mais eficiente, uma vez que leva em conta o parentesco entre os indivíduos pelo uso da matriz de parentesco (TORRES, 1998).

HENDERSON (1990) já afirmava que o BLUP pela metodologia de modelos mistos era o método padrão de avaliação em rebanhos bovinos (leite e carne) e suínos em várias nações.

BELONSKY e KENNEDY (1988) analisaram os efeitos dos métodos de seleção no mérito genético, na endogamia e variância genética, em dados simulados de rebanhos fechados de suínos. Os métodos de seleção foram: 1) individual, 2) individual combinada com um descarte adicional (IND-C), 3) baseada no BLUP, 4) baseada no BLUP combinado com um descarte adicional (BLUP-C), e 5) o controle (acasalamento ao acaso). Para o mérito genético, os menores ganhos foram os do controle e os maiores foram conseguidos com BLUP-C, em consequência do descarte adicional. Para a variância genética, a menor queda da variância foi com o controle e a maior foi apresentada pelo

BLUP-C. O BLUP-C também foi o que apresentou maior taxa de endogamia. A endogamia apresentou maiores valores para característica de baixa herdabilidade (0,10).

ROBINSON et al. (1989) em uma simulação de seleção e estratégias de acasalamento para rebanhos de gado de corte, compararam o progresso genético atingido após 20 gerações, através da avaliação dos animais pelo BLUP e por dois índices de seleção (um “modelo” animal com informações do próprio animal, dos meio-irmãos paternos e maternos, pai, mãe, e progênie quando disponível e um “modelo” com efeito materno com informações do próprio animal e seus irmãos e irmãs-completas, de todos os sobrinhos e sobrinhas e tias paternas e maternas, e das bisnetas quando disponível). Os resultados mostraram que o BLUP obteve melhores resultados que o índice de seleção para as características estudadas (facilidade de parto, peso ao nascimento, a desmama e ao ano). O BLUP foi 18,7% geneticamente melhor no ganho econômico total que o índice de seleção. Entretanto, o índice de seleção e o BLUP, conferiram somente 42,7 e 50,6%, respectivamente, da resposta a seleção do verdadeiro ganho econômico.

ARMERO et al. (1995) em um estudo de seleção para tamanho de ninhada em coelhos, mostraram que a seleção baseada no BLUP reduzido (com informações apenas de duas gerações) ou de um índice de família apresentaram resultados semelhantes, porém, com perdas de 8% em relação à seleção baseada no BLUP completo (com informações de todas as gerações).

2.3. Métodos de seleção moleculares

Desde a redescoberta dos trabalhos de Mendel, no início do século XX, os geneticistas e melhoristas têm procurado estabelecer regras simples que expliquem a transmissão dos caracteres em animais e plantas. O termo "Melhoramento Molecular" foi usado segundo RAFALSKI e TINGEY (1993) para descrever programas de melhoramento de plantas e animais que usam, como suporte, diagnósticos, baseados no DNA.

A maioria das características de importância econômica nos animais é controlada por mais de um gene (herança quantitativa). A diferença entre características qualitativas e quantitativas é consequência da magnitude

relativa do efeito da substituição de um alelo. Grandes efeitos da substituição de um alelo por outro significam que se trata de herança qualitativa. Por outro lado, pequenos efeitos, em relação à variação total, podem ser conseqüências de efeitos de numerosos genes ou porque grande porção da variação fenotípica é causada pelo ambiente. Os procedimentos biométricos clássicos, de modo geral, fornecem informações sobre as características quantitativas, mas pouco contribuem na determinação do número de locos envolvidos na expressão da característica, na localização desses locos nos cromossomos e na quantificação da contribuição individual de cada loco na expressão fenotípica (EUCLYDES, 1996).

A variação nas características quantitativas é conseqüência da ação de vários genes ou locos de características quantitativas (QTL's) e em alguns casos, aos efeitos ambientais (HETZEL et al., 1997). O objetivo dos métodos de seleção moleculares é selecionar os animais superiores através da identificação de genes de médio e grande efeito, associados à determinada característica de interesse, o que facilitará a seleção, a introgressão dos mesmos dentro de outras linhas (HETZEL e MOORE, 1995) e o monitoramento da presença desses genes, incorporando-os em esquemas de avaliação genética e programas de melhoramento (BECKMAN, 1990).

Técnicas de genética molecular podem ser usadas na identificação de genes associados com características de importância econômica, onde os mesmos são marcados e usados na seleção de animais geneticamente superiores; e na construção de perfis genéticos para diferentes populações, permitindo assim explicar suas similaridades genéticas, mesmo se, diferentes fenotipicamente (HETZEL e MOORE, 1995). Recentemente, novos marcadores, que prometem sistematizar os diagnósticos genéticos, têm sido propostos (EUCLYDES, 1996).

2.3.1. Marcadores moleculares

Os primeiros estudos de marcadores para localização de características quantitativas datam do início do século XX (Sax, 1923; citado por EUCLYDES, 1996). O princípio básico é tomar o marcador molecular, um ponto de referência de um segmento cromossômico e acompanhar esse segmento por gerações. O uso de marcadores morfológicos, não é apropriado para este objetivo, sendo os marcadores moleculares mais vantajosos pelas seguintes razões: 1) os marcadores moleculares são fenotipicamente neutros, dificultando o surgimento de interações epistáticas desfavoráveis (exceto se a marca é o gene); 2) podem ser avaliados em vários tipos de tecido; 3) podem apresentar alelos múltiplos; 4) apresentam codominância (com exceção dos obtidos por RAPD); e 5) o número de marcadores morfológicos possíveis de serem acompanhados, dentro da população, é limitado.

As grandes metas dos estudos de marcadores moleculares são mapear e, ao mesmo tempo, manipular locos associados com a expressão das características qualitativas e quantitativas (EUCLYDES e GUIMARÃES, 1997). Se as herdabilidades dessas características são baixas ou moderadas, o uso de marcadores genéticos podem aumentar a resposta à seleção (BECKMAN, 1990).

Marcadores genéticos, para alelos de interesse econômico, incluindo QTL's, têm potencial para aumentar a eficiência do ganho genético (Soller e Beckmann, 1982; Weller et al., 1990; citados por WOMACK, 1996 e SMITH e SIMPSON, 1986). A marca ideal para um programa de melhoramento, seria um gene diretamente ligado à característica.

Existem dois grupos de marcadores moleculares: os protéicos e os genômicos. Dentre os mais representativos entre os protéicos, estão os grupos sanguíneos e as isoenzimas. Os grupos sanguíneos foram os primeiros marcadores moleculares estudados, e têm seus fatores diagnosticados por reação antígeno-anticorpo. Os antígenos eritrocitários são geneticamente determinados, e apresentam herança Mendeliana simples, sendo portanto, sua identificação equivalente ao fenótipo do indivíduo, revelando assim, o possível genótipo. A variação molecular revelada pela eletroforese das isoenzimas pode ser considerada como correspondente à variação genética, baseando-se em

duas suposições: 1) as alterações na mobilidade eletroforética das proteínas refletem as modificações ocorridas na sequência de DNA; e 2) os genes cujas proteínas estão sendo analisadas têm expressão codominante, de forma que a partir dos fenótipos eletroforéticos pode-se inferir os genótipos dos indivíduos (GUIMARÃES e EUCLYDES, 1997).

Os marcadores genômicos, ao contrário dos protéicos, revelam a variação existente no genótipo, não sendo necessário para isso fazer-se inferências a partir do fenótipo protéico, e são divididos em marcadores gerados por DNA (RFLP-“Restriction Fragment Length Polymorphism”, RAPD-“Random Amplification of Polymorphic DNA” e microssatélites, entre outros) e por RNA.

A técnica do RFLP desenvolvida na década de 80, resulta da digestão específica do DNA genômico. Os fragmentos são separados por tamanho através de eletroforese em géis de agarose ou poliacrilamida. Esses fragmentos obtidos da segregação de um grande número de locos possibilitaram a construção de mapas densos de numerosas espécies animais.

A identificação das diferenças é feita por desnaturação e imobilização do DNA em papel e posterior hibridização com sonda marcada. Os marcadores são codominantes, isto é, o heterozigoto pode ser diferenciado do homozigoto, o que fornece informações genéticas completas de um simples loco. A quantidade de DNA exigida para análise, é relativamente alta (de 5 a 10 µg), porém detecta variações nucleotídicas presentes nos sítios de restrição e grandes inserções e deleções (BECKMANN e SOLLER, 1983).

Essa técnica tem apresentado alguns problemas: 1) existe a necessidade de laboratórios modernos e sondas radioativas; 2) o procedimento é demorado; 3) poucas amostras podem ser analisadas no mesmo gel; 4) não detecta pequenas variações nucleotídicas; 5) a automatização é difícil; 6) os polimorfismos, quando encontrados, são freqüentemente limitados e di-alélicos e; 7) a tipificação de grande número de locos é muito difícil (EUCLYDES, 1996).

Ainda assim, com o sucesso do desenvolvimento dos mapas genéticos com base na técnica de RFLP, ficou demonstrado que os marcadores moleculares podem ser de grande utilidade no melhoramento dos animais.

Pelas técnicas baseadas em marcadores moleculares, tem-se aumentado consideravelmente o entendimento das bases genéticas da variação observada nas características quantitativas. Marcadores localizados lateralmente a genes que determinam características de interesse econômico podem ser usados para acompanhar estas características em cruzamentos (EUCLYDES e GUIMARÃES, 1997).

RAPD, também chamada de "Arbitrarily-primed polymerase chain reaction" (AP-PCR) e "DNA amplification fingerprint" (DAF), é uma técnica que se tornou popular pela simplicidade e não necessitar de laboratórios muito equipados. Sua análise é executada do DNA genômico com o uso de "primers" de oligonucleotídeos, produzindo várias seqüências de DNA distintas (EUCLYDES, 1996).

O uso do RAPD é muito atrativo, já que é facilmente automatizado, em função da pequena quantidade de DNA exigida (15 a 25 ng); os "primers" são obtidos facilmente; não há uso de radioatividade e apresenta os resultados rapidamente.

Como os marcadores, obtidos por esta técnica, são dominantes, isto é, o alelo é identificado pela presença ou ausência da banda no zimograma, nas aplicações de diagnóstico e nos mapas genéticos, deve-se levar em consideração o fato de os marcadores estarem em fase de aproximação ou de repulsão, em relação aos genes, ou outros marcadores, procurando sempre maximizar as informações para o uso nos programas de melhoramento (EUCLYDES, 1996).

Na década de 90, foram identificados os microssatélites, também chamados de seqüências simples repetidas (SSR); que são seqüências de DNA constituída de mono-, di-, tri-, tetra-, penta- ou hexanucleotídeos repetidos em tandem, amplificados por PCR utilizando como "primers" as regiões flangeadoras (BOICHARD et al., 1998). No caso particular, os dinucleotídios (AC)_n, (AG)_n e (AT)_n, têm sido apresentados como abundantes e com alto grau de polimorfismo. A utilização dos mesmos como marcadores genéticos, tem sido proposta como ferramenta para o mapeamento molecular de organismos eucariotos. A grande variabilidade apresentada pelas SSR, faz desses elementos, marcadores ideais para estudos genéticos de populações (EUCLYDES, 1996). Além disso, são amplamente espalhados pelo genoma;

apresentam multi-alelismo e herança Mendeliana, apresentando altas taxas de heterozigotidade e são facilmente encontrados e rapidamente tipificados.

Porém, a correta identificação dos alelos é feita em eletroforese em géis de poliacrilamida, necessitando muitas vezes de analisadores automáticos, que são caros (EUCLYDES e GUIMARÃES, 1997).

As pesquisas, envolvendo o estudo de microssatélites, de modo geral, têm sido basicamente conduzidas, usando-se três métodos: banco de dados, sondas radioativas e genotipagem automática.

Os marcadores genômicos de DNA, podem ser indiretos e diretos. Nos indiretos, a seqüência marcadora encontra-se fora dos limites dos genes, estando entretanto, ligada a eles (linkage), sendo então o gene conhecido e marcado pela herança do marcador (como exemplo os microssatélites). Já para as características monogênicas, pode-se trabalhar diretamente com o gene e seus alelos (marcador direto), pois nestas características há, na maioria das vezes, um produto bioquímico e um mRNA definido, o que possibilita a clonagem e a identificação das mutações.

Os marcadores de DNA, além de gerarem maiores valores de polimorfismo que os protéicos, contam ainda com a facilidade de manipulação e a estabilidade do DNA, o que o está transformando no material de eleição, não apenas para comparações biológicas, mas também para uso como marcador de produção (GUIMARÃES e EUCLYDES, 1997).

A eficiência da seleção assistida por marcadores (MAS), pode ser aumentada pela identificação de marcas flaqueadoras à característica de importância econômica desde que a recombinação na região flaqueada pelas duas marcas possa ser detectada (WOMACK, 1996).

2.3.1.1. Seleção assistida por marcadores

LANDE e THOMPSON (1990) mostraram uma maior eficiência da seleção assistida por marcadores em relação ao índice de seleção, para características de baixa herdabilidade e grande efeito comum de família. Neste mesmo trabalho, os autores mostraram a existência de uma fórmula para obtenção do número mínimo de locos marcadores localizados em todo genoma.

Segundo ZHANG e SMITH (1992 e 1993), a resposta à seleção assistida por marcadores é melhor que a resposta apresentada pelo BLUP quando a seleção do marcador era combinada com informações do fenótipo.

De acordo com HETZEL et al. (1997), alguns QTL's significativos para as características de carcaça e qualidade de carne em rebanhos tropicais, utilizando microssatélites, SSCP ("Single Strand Conformational Polimorphism") e RFLP; foram observados quando o marcador está a 20 cM do QTL.

GIMELFARB e LANDE (1994), estudando o efeito de diversos fatores (número de marcadores, tamanho de população, herdabilidade, etc) na efetividade da seleção assistida por marcadores (proposta por LANDE e THOMPSON, 1990), comparado com seleção individual, mostraram que a seleção assistida por marcadores é mais eficiente que a seleção individual para, pelo menos, as 10 primeiras gerações, quando o coeficiente de regressão é re-estimado a cada geração.

HABERFELD et al. (1993), trabalhando com gado leiteiro e a técnica de "DNA fingerprint", utilizaram cinco sondas de DNA na descoberta de características quantitativas importantes. Das cinco sondas avaliadas, todas marcaram determinados locos independentes de interesse, porém, três delas marcaram os mesmos locos além dos independentes. Porém, os autores concluíram que o número de marcas proporcionadas pelas sondas e o nível de polimorfismo das mesmas foram baixos.

EUCLYDES (1996) no estudo da avaliação de métodos de seleção clássicos e associados a marcadores moleculares, com dados simulados, em nível de gene, mostrou que na ausência de genes com grandes efeitos aditivos, a seleção assistida por marcadores moleculares apresentou as menores respostas para ganho fenotípico em relação aos demais métodos analisados.

Segundo BOECKLEN e HOWARD (1997), ao analisar o número de marcas e o poder de resolução desse número, concluiu que quatro ou cinco marcas são suficientes para documentar a existência de hibridização ou, grosseiramente, classificar os animais em pais, F1 e simples retrocruzamentos. Porém se o objetivo é discriminar a diferença entre retrocruzamentos avançados e linhas puras, então é requerido maior número de marcas (podendo chegar a mais de 70).

ROCHA e BARATA (1997), fizeram uma revisão sobre a implicação dos marcadores moleculares no melhoramento animal e estratégias para detecção de locos quantitativos, e concluíram, que este tipo de investigação requer a ação conjunta de diversos cientistas das mais variadas e sofisticadas áreas, o que não será uma tarefa fácil.

2.3.2. Genes candidatos

Genes candidatos para uma determinada característica são genes seqüenciados de ação biológica conhecida que estão envolvidos com características de desenvolvimento ou de fisiologia e alvos dos estudos de marcadores. Estes genes podem ser estruturais ou de uma via regulatória ou bioquímica que afetam a expressão das características. A hipótese do gene candidato afirma que uma proporção significativa do QTL que afeta a variação da característica em uma população compreende genes candidatos associados com aquela característica (ROTHSCHILD e SOLLER, 1997).

Entretanto, com base nesta suposição, a probabilidade que um determinado gene candidato venha de um QTL, parece ser muito pequena. As razões para isto, segundo ROTHSCHILD e SOLLER (1997) são as seguintes:

- 1) Dependendo da sua herdabilidade, apenas 10 QTL's segregantes provavelmente deverão contribuir para a existência de variação genética apreciável em uma característica;

- 2) O número total de genes em um genoma de vertebrado foi estimado em aproximadamente 30.000;

- 3) É aceito como evidência por muitos geneticistas que, por causa de pleiotropismo, todos os genes poderiam afetar potencialmente todas as características. Então, um gene candidato provavelmente faz conexão com a

fisiologia de uma característica de importância econômica. Combinados os primeiros dois argumentos, a probabilidade que um gene candidato seja um dos 10 QTLs segregantes é $10 \times 1/30.000$, isto é, aproximadamente 0,0003. Com este argumento, um gene candidato na identificação de um QTL mostra ser difuso e raro.

Independente das justificativas teóricas *a priori*, a utilização dos genes candidatos é uma proposta interessante, porque pode dar uma rápida resposta no ganho genético. As conclusões operacionais dos resultados experimentais acumulados são que uma significativa proporção da variação dentro da população de características genéticas, pode realmente conduzir à presença de um gene candidato, o que é extremamente importante. A metodologia do estudo do gene candidato não é onerosa e tem muitas vantagens, em relação ao mapa de ligação, para identificação de QTL's dentro de uma população com seleção assistida por marcador.

LANDE e THOMPSON (1990), mostraram teoricamente que a eficiência da seleção pode aumentar mais de 400% com MAS. As suposições utilizadas para esta eficiência são: 1) A geração e a manutenção de uma população com grande desequilíbrio de ligação, 2) QTL's com altos efeitos ainda segregando na população, 3) ação do gene aditivo, 4) ausência de efeitos pleiotrópicos negativos do QTL em outras características de importância econômica, 5) falha na comparação do ganho genético, dependendo do método de seleção, para características limitadas ao sexo (tais como o BLUP).

Além das já citadas, uma das limitações principais do MAS em seleção dentro de família, está no grande número de progênie necessária de cada acasalamento. VAN DER BECK e VAN ARENDONK (1996) relataram outros fatores que influenciam a MAS: 1) a quantidade da variação explicada pelo QTL, 2) distância no mapa entre o marcador e QTL, 3) polimorfismo dos marcadores, 4) estrutura do programa de melhoramento e 5) característica de seleção (limitada pelo sexo ou não).

Em contraste, a seleção por genes candidatos (CGS) não possui as mesmas limitações da MAS porque o desequilíbrio de ligação não é necessário. Portanto, CGS pode ser aplicada a amostras da população e em famílias de pequeno tamanho. Entretanto, CGS assume que existem QTL's com grande efeito, segregando na população, e que estes QTL's podem ser

localizados. Em alguns casos CGS é uma ótima perspectiva para a MAS; em si, CGS pode ser visto como um refinamento da MAS (MUIR, 1997).

Algumas das vantagens dos genes candidatos são: poder estatístico, ampla aplicabilidade, baixo custo, simplicidade operacional e aplicação conveniente para MAS (ROTHSCHILD e SOLLER, 1997).

Desde que, uma análise de gene candidato, esteja baseada no estudo de uma ampla população, esta análise tem todo o poder estatístico de uma geração F₂, derivada de um cruzamento entre duas linhas isoladas, sem qualquer perda de poder devido à recombinação (existente na MAS). As análises de genes candidatos são feitas em uma única geração, e assim podem ser implementadas em qualquer população que possa ser fenotipada, sem o requerimento de duas ou três gerações.

Uma análise para investigação de gene candidato é aceita como mais cara que uma análise baseada em marcadores genômicos de microssatélite (principalmente devido ao custo dos “primers” e identificação dos sítios polimórficos dentro do gene candidato), embora não seja verdade (ROTHSCHILD e SOLLER, 1997).

A unidade de investigação, em análise de gene candidato, é um único gene em lugar de um genoma. A grande virtude de uma análise de gene candidato é que pode ser incluída dentro de uma população comercial.

Apesar das vantagens anteriormente apresentadas, os genes candidatos também possuem algumas limitações. Somente uma pequena proporção da variação gênica devido aos genes candidatos é atualmente conhecida. Alguma fração desconhecida de variação genética, pode ainda ser derivado de genes candidatos que não foram identificados e seqüenciados. Porém, esta limitação será removida rapidamente com o projeto genoma humano e o de rato, sendo uma fonte abundante de genes candidatos novos para estudos na próxima década (ROTHSCHILD e SOLLER, 1997).

Embora já tenha sido relatado que o custo de investigação do gene candidato seja baixo, o custo do desenvolvimento de “primers” para amplificação e identificação de sítios polimórficos dentro de um gene candidato pode ser o mesmo ou consideravelmente maior que o custo para descobrir e mapear um novo marcador. Estes “primers” e sítios polimórficos para um gene candidato, uma vez descoberto, podem ser usados para análises de gene

candidato em muitas populações, reduzindo o custo em análises posteriores. A identificação de um efeito de gene candidato pode ser possível para genes maiores, mas em casos de genes com efeitos quantitativos secundários, a identificação das diferenças de sítios, associada com um determinado efeito do gene candidato, pode não ser possível (ROTHSCHILD e SOLLER, 1997).

Análises de genes candidatos podem também ser efetuadas através de análises de ligações de QTL's. Uma vez que os QTL's estão mapeados em regiões cromossômicas, possíveis genes candidatos podem ser identificados por genes já mapeados naquela região ou utilizando informações sobre os genes presentes em regiões do cromossomo com sintenia conservada em outra espécie. O procedimento posterior, denominado de análise posicional comparativa de gene candidato, confia na comparação de espécies com mapas ricos (como de humano e de rato) com mapas de animais domésticos, objetivando a identificação dessas regiões sintênicas.

Porém, de acordo com MUIR (1997), existem três importantes questões que necessitam ser respondidas: 1) Os QTL's com "major effects" são encontrados facilmente?, 2) Qual o método ideal para incorporar "major genes" em programas de melhoramento? e 3) Qual é a real vantagem de incorporar genes candidatos em programas de melhoramento quando comparada com a seleção tradicional?

Em resposta a primeira pergunta, LIN et al. (1992) e SEHESTED e MAO (1992) concluíram que não se espera encontrar algum loco com "major effects" para uma característica que tenha sofrido seleção a longo prazo. Com a seleção fenotípica, genes com grandes efeitos, são fixados mais rapidamente que aqueles com pequenos efeitos, e após várias gerações de seleção, a probabilidade de encontrar genes com "major effects" é muito baixa. A presença de locos com "major effects", após seleção por várias gerações, somente existirá se o gene possuir efeito pleiotrópico negativo (LIN et al., 1992). Assim, se são encontrados genes com grandes efeitos segregando em populações, altamente selecionadas, há probabilidades de que a seleção do gene possa ter efeito negativo sobre toda produtividade. Entretanto, ligação, mutação, correlações genéticas, e efeitos genéticos não-aditivos (como sobre-dominância) podem manter genes segregando na população (MUIR, 1997).

Porém, outros trabalhos mostram o contrário. DENTINE (1994) e MOODY et al. (1994) obtiveram sucesso em suas pesquisas, observando que um único QTL ou agrupamentos de QTL's com "major effects" ainda estão segregando até mesmo em rebanhos leiteiros e rebanhos destinados a produção de carne altamente selecionados.

ROTHSCHILD et al. (1996), analisando a associação do loco para receptores de estrógeno (gene ERS) como um "major gene" para tamanho de leitegada, observaram que em ambas as raças utilizadas (Meishan e Large White), as fêmeas homozigotas para o alelo, obtiveram 2,3 e 1,2 leitões a mais nascidos vivos, respectivamente, na primeira parição. No total de partições das fêmeas analisadas as médias observadas foram 1,2 e 0,9 leitões a mais nascidos vivos. Concluíram que o gene ERS é um "major gene" eficiente associado à característica de tamanho de leitegada.

Ainda neste mesmo estudo, o gene ERS foi associado com características de performance de crescimento e desenvolvimento (ganho médio diário, espessura de toucinho e número funcional de tetas), não apresentando nenhum resultado significativo, sendo no entanto, o número de dados muito pequeno para se obter uma conclusão. E, de fato, observou-se que genótipos homozigotos para o gene apresentaram redução da média de ganho de peso diário e aumento da espessura de toucinho.

Similarmente, Webb e Jordan (1978) citados por MUIR (1997) encontraram que o gene do halotano, um "major gene" em suínos, possui efeito antagônico com percentagem de carne magra, qualidade de carne e mortalidade. Estes resultados demonstram que, QTL's de grande efeito podem ser mantidos segregando na população devido aos efeitos pleiotrópicos negativos.

Para a análise de uma característica em linhagens de poedeiras, segregando para dois alelos para hormônio de crescimento, KUHNLEIN e ZADWORNÝ (1994) descobriram que a resistência à doença Marek foi co-selecionada com características de produção. Entretanto, o alelo para resistência foi associado com a tardia maturidade sexual e alta taxa de produção de ovos, assim como a susceptibilidade à doença, foi associada com a idade precoce a primeira postura e à baixa taxa de produção de ovos.

Com relação à segunda pergunta, isto é, qual o método ideal para incorporar genes importantes em um programa de melhoramento; HILLEL (1994) afirma que após um alelo favorável ser identificado, esforços devem ser feitos para aumentar sua frequência na população a ser melhorada ou mesmo levá-lo à fixação, rapidamente. Em seguida, esforços devem ser feitos para localizar alelos melhores nestes locos em particular, em diferentes linhagens genéticas e para marcadores ligados a outro loco que controle a mesma característica.

Contrariamente, Muir e Stick (1997) citado por MUIR (1997) mostram que a fixação do alelo favorável o mais rápido possível, não é a solução adequada. Os autores examinaram a CGS usando a estratégia de melhoramento genético sugerida por HILLEL (1994) em uma simulação de Monte Carlo para uma característica que podia ser medida em ambos os sexos. Os autores em um conjunto de simulação, na seleção por genes candidatos (CGS), selecionaram o alelo com o maior efeito para fixação. Isto foi comparado a outro conjunto de simulações baseadas na seleção fenotípica. Em uma simulação final, CGS e a seleção fenotípica foram combinados usando um índice irregular, dando 100 vezes mais peso para o gene candidato do que para o fenótipo. Cada conjunto de simulações foi conduzido para cada uma das três herdabilidades, 1, 10 e 40%.

Os resultados apresentados, mostraram que com herdabilidade muito baixa (1%) a combinação dos métodos foi superior a seleção fenotípica, que foi superior ao CGS em todas as gerações. Com uma herdabilidade de 10 e 40%, a seleção fenotípica foi superior a combinação dos métodos que foi superior ao CGS. Estes resultados mostram que colocar muita ênfase nos genes candidatos é prejudicial ao programa de melhoramento. Além disto, a comparação do número de alelos favoráveis perdidos devido à oscilação genética aleatória era sempre maior com CGS, seguido pelo combinado e por último a seleção fenotípica. Finalmente, para herdabilidades de 1 e 10% a taxa de consangüinidade era sempre maior com CGS e menor para a seleção fenotípica. Na herdabilidade de 40% foram pequenas as diferenças na consangüinidade entre os métodos.

De acordo com os resultados obtidos, resultados reais seriam piores. O estudo dos autores indica que quando os genes candidatos são identificados, o

programa ideal não é fixar o gene o mais rápido possível. Fazendo isto, animais com muitos alelos favoráveis também serão descartados.

O programa ideal para seleção de gene candidato ainda está para ser demonstrado, contudo, a teoria genética quantitativa clássica indicaria que deveria ser usado um índice que estime o valor do gene candidato proporcional ao seu valor genético e à sua correlação com o melhoramento geral. Este valor será aproximadamente a proporção da variação genética que é estimada pelo QTL. Contudo, tal estimativa é apenas uma aproximação, pois parâmetros genéticos associados com o gene candidato mudarão rapidamente à medida que as frequências gênicas mudarem (MUIR, 1997).

Para a terceira questão, Muir e Stick (1997) e Smith e Webb (1981) citados por MUIR (1997) obtiveram resultados semelhantes quando compararam a eficiência da seleção direta nos "major genes", da seleção fenotípica, e de um índice combinando os dois. Os autores concluíram que a eficiência depende da relação entre a variância genética aditiva devido ao loco principal e a variância genética aditiva total. Quando a seleção fenotípica é efetiva (alta herdabilidade), a longo prazo, as informações de "major genes" poderão pouco adicionar à taxa de melhoramento. Se a seleção fenotípica não é muito efetiva (características com baixa herdabilidade), ou a seleção indireta deve ser usada (seleção de características correlacionadas com a característica de interesse); então a seleção por genes candidatos pode melhorar a taxa de melhoramento genético (Smith e Webb, 1981; citado por MUIR, 1997). Estes resultados não podem ser levados em consideração se os efeitos do gene são antagônicos para diferentes características. Em cada caso podem existir pequenas respostas se a seleção para duas características é balanceada, ou existe uma indesejável correlação na resposta a seleção (Smith e Webb, 1981; citado por MUIR, 1997).

Os resultados de Muir e Stick (1997) citado por MUIR (1997) são contrastados com os de GIBSON (1994). Este, conduziu simulações usando um modelo aditivo infinitesimal adicionado a um simples loco dialélico. MAS obteve a melhor resposta à curto prazo, enquanto a seleção fenotípica obteve a melhor resposta a longo prazo. Semelhantemente, Ruane e Colleua (1995) citado por MUIR (1997) observaram em suas simulações que, MAS resultou

em uma melhora substancial na presença do gene candidato em relação à seleção pelo BLUP, mas com baixa resposta poligênica.

MEUWISSEN e VAN ARENDONK (1992) concluíram que a seleção individual pode ser superior a MAS a longo prazo, porque a seleção individual designa menor diferencial de seleção à fixação dos "major genes" e maior diferencial de seleção a poligenes com pequenos efeitos.

2.3.2.1. Seleção por genes candidatos

VISSCHER e HALEY (1995) constataram que o número de genes candidatos disponíveis para programas de introgressão, era relativamente pequeno; embora "major genes" para cor de pele, tamanho de leitegada, qualidade de carne e gordura intramuscular tenham sido relatados para suínos.

CASAS-CARRILO et al. (1997) examinaram a contribuição de regiões do cromossomo ligados ao hormônio do crescimento (GH) e IGF-1, na variação do crescimento e composição de carcaça em suínos. As características estudadas foram: ganho médio diário pré-desmame e pós-desmame, para crescimento; e peso da carcaça, espessura de toucinho, área de olho de lombo e pH do músculo (carne), para características de carcaça. Não foi observada nenhuma associação do GH com qualquer das características, porém algumas evidências sugerem a ligação do IGF-1 com ganho médio pós-desmama e com a espessura de toucinho.

De acordo com YU et al. (1995), o PIT1 pode vir a ser um gene candidato para características de importância econômica em suínos. O PIT1 é um gene responsável pela regulação do hormônio de crescimento, prolactina e hormônio β estimulador tireotrófico. No estudo dos polimorfismos de PIT1 como gene candidato associado com crescimento e características de carcaça em suínos, os autores isolaram e testaram três polimorfismos do PIT1 (BamHI, MspI e RsaI), cada qual com as características do estudo (peso ao nascimento, 21, e 42 dias; média de ganho diário aos 42 dias; medidas de espessura de toucinho; área de olho de lombo; cor do músculo; marmoreio; firmeza da carne). Dos três polimorfismos o que apresentou melhor resultado foi o PIT1-MspI, e dentro dele o genótipo CC (o alelo C é melhor que o alelo D) que foi melhor para o genótipo DD, que por conseguinte foi melhor que o CD. O

genótipo CC representa primariamente, alelos de raças chinesas, que podem ser muito usados no futuro para ganhos genéticos em linhas sintéticas envolvendo suínos de raças chinesas e americanas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Simulação dos dados

Os dados utilizados neste trabalho foram simulados com o sistema computacional GENESYS 2000. Esta é uma versão atualizada do GENESYS (EUCLYDES, 1996), utilizada em várias teses na Universidade Federal de Viçosa. O novo sistema é constituído de 11 programas, escrito para o compilador FORTRAN e permite a simulação de genomas para estudos de métodos de seleção, testes de pressuposições, avaliações de novas metodologias de seleção, etc, sem os elevados custos de animais e laboratórios. Maiores detalhes sobre o programa GENESYS são apresentados por EUCLYDES (1996).

3.1.1. Simulação do genoma

Para este estudo, foi simulado um genoma que possuía os seguintes parâmetros:

- a) quinze pares de cromossomos de tamanhos aleatórios;
- b) dois mil centimorgans de comprimento;
- c) uma característica quantitativa de baixa herdabilidade (0,10), governada por 200 locos;
- d) dez marcadores moleculares;

- e) os efeitos aditivos dos locos quantitativos foram simulados, segundo a distribuição normal;
- f) os locos quantitativos foram dialélicos e não possuíram desvios de dominância nem interações entre si;
- g) o genoma não possuía cromossoma sexual e as frequências gênicas iniciais foram diferentes entre os sexos;
- h) a distribuição matemática usada para a simulação das frequências iniciais dos locos quantitativos nas populações foi a uniforme, com média de 0,50;
- i) as frequências gênicas iniciais para os marcadores moleculares seguiam distribuição uniforme;
- j) os marcadores moleculares foram simulados com dois alelos;
- k) um efeito fixo foi utilizado, possuindo 10 níveis ou classes;
- l) os efeitos de ambiente não controláveis foram simulados conforme a distribuição normal.

3.1.2 Simulação das populações-bases

Seis populações base de 1000 animais cada (500 machos e 500 fêmeas) foram criadas, a partir do mesmo genoma, com alterações nos valores dos efeitos aditivos (todos simulados aleatoriamente no intervalo de $-1,258$ a $1,258$, 10 genes com efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e os demais simulados aleatoriamente entre $-1,258$ e $1,258$ e 10 genes com efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e os demais simulados aleatoriamente entre $-1,258$ e $1,258$) dos genes próximos aos marcadores, e na transformação dos marcadores em candidatos (as marcas eram os genes). Com base no número de machos e fêmeas, simularam-se os gametas (espermatozóides e óvulos), os quais foram pareados para a formação dos zigotos.

Não existiu parentesco entre os membros de cada população base, uma vez que os gametas foram gerados num processo diferente do que ocorre em animais; os gametas não foram resultados de segregações mendelianas e sim, produzidos ao acaso.

A definição do sexo destes animais foi determinada pela geração de um número aleatório, uniformemente distribuído e dentro de um intervalo de

zero a um, sendo declarado como macho, o zigoto cujo número aleatório simulado estava no intervalo de 0 a 0,5; e como fêmea, valores simulados maiores que 0,5.

3.1.3. Simulação das populações iniciais

Para cada população base, foi construída uma população inicial escolhendo-se, de forma aleatória 10 machos, 10 fêmeas/macho e 5 filhos/fêmea, resultando em populações de 500 animais. Neste caso, os gametas foram produzidos segundo a segregação mendeliana.

Escolhidos os pais, iniciava-se o processo de gametogênese, e posteriormente a zigotogênese para formação das novas gerações.

3.1.4. Populações selecionadas

A PARTIR DAS POPULAÇÕES INICIAIS, TEVE INÍCIO O PROCESSO DE AVALIAÇÃO GENÉTICA DOS ANIMAIS, SENDO SELECIONADOS 10 MACHOS E 100 FÊMEAS. ESTE PROCESSO SE ESTENDEU AO LONGO DE 20 GERAÇÕES E FORAM FEITAS 20 REPETIÇÕES PARA REDUZIR O EFEITO DA FLUTUAÇÃO GÊNICA.

3.2. Cálculo dos componentes de variância

Os componentes de variância genética e fenotípica para a característica estudada foram calculados a cada geração (componentes de variância reais), com base nos valores genéticos e fenotípicos, segundo a fórmula:

$$\hat{\sigma}_a^2 = \frac{\sum_{i=1}^n a_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n a_i \right)^2 / n}{n - 1}$$

em que $\hat{\sigma}_a^2$ representa o estimador da variância genética aditiva; a_i é o valor genético do indivíduo i ; e n é o número total de indivíduos na população.

As estimativas das variâncias fenotípicas (σ_p^2) foram obtidas pela substituição dos valores de a_i por p_i (valor fenotípico).

3.3. Métodos de seleção

3.3.1. Seleção assistida por marcadores (MAS)

A seleção dos reprodutores neste método, foi baseada no estabelecimento de regressões lineares simples dos valores fenotípicos, em função dos genótipos identificados por marcadores:

$$P_i = a + b_k G_{ik} + e_i$$

em que P_i representa o fenótipo do indivíduo i ; a é o intercepto; b_k é o coeficiente de regressão para o genótipo do indivíduo i , medido no marcador k (G_{ik}); e e_i é o erro experimental. Os genótipos foram identificados pelos códigos 0, 1 ou 2, para as combinações alélicas aa, Aa e AA, respectivamente.

Após o ajustamento das k regressões, foram escolhidas somente aquelas que apresentavam a significância mínima de 5% pelo teste F da análise de variância da regressão. Os valores dos coeficientes de regressão padronizados (β) foram, então, usados como ponderadores dos valores dos genótipos dos marcadores moleculares na construção de um índice (IS):

$$IS_i = \sum_{k=1}^n (\beta_k G_{ik}) \quad e$$

$$\beta_k = b_k (\sigma_k / \sigma_p)$$

em que, n representa o número de marcadores moleculares selecionados para ponderar os valores de G_k ; b_k é o coeficiente de regressão para o marcador k ; σ_k é o desvio padrão para os valores de G_k ; e σ_p é o desvio padrão fenotípico.

Os valores de IS foram calculados para todos os machos e fêmeas da população. Os dez machos e as 100 fêmeas que apresentaram os maiores valores de IS foram selecionados para produzirem a próxima geração.

3.3.2. Seleção individual (IND)

A ESCOLHA DOS INDIVÍDUOS, POR ESTE MÉTODO, FOI BASEADA SIMPLEMENTE NOS SEUS VALORES FENOTÍPICOS. A ESCOLHA DOS CANDIDATOS A REPRODUÇÃO FORAM BASEADAS NUM ÍNDICE (I_i) QUE CONTINHA O VALOR FENOTÍPICO PADRONIZADO (X_i^*) DESTA CARACTERÍSTICA DA SEGUINTE MANEIRA:

$$I_i = X_i^* \quad \text{E} \quad X_i^* = \frac{(X_i - \bar{X})}{\sigma_X}$$

EM QUE X_i REPRESENTA O VALOR FENOTÍPICO DO INDIVÍDUO i ; $\bar{X}$, A MÉDIA FENOTÍPICA PARA A CARACTERÍSTICA; E σ_X , O DESVIO-PADRÃO FENOTÍPICO PARA A CARACTERÍSTICA.

OS VALORES DE I SERÃO CALCULADOS PARA CADA MACHO E CADA FÊMEA E ORDENADOS DE FORMA DESCENDENTE. OS DEZ PRIMEIROS MACHOS E AS 100 PRIMEIRAS FÊMEAS SERÃO SELECIONADOS E ACASALADOS PARA FORMAREM A PRÓXIMA GERAÇÃO.

A PADRONIZAÇÃO DOS VALORES FENOTÍPICOS FOI REALIZADA PARA CORRIGIR POSSÍVEIS PROBLEMAS DE ESCALA DESTES VALORES. APÓS, A SELEÇÃO DOS REPRODUTORES, PROCEDEU-SE À GAMETOGÊNESE E ZIGOTOGÊNESE, OBTENDO-SE ASSIM A POPULAÇÃO DA GERAÇÃO SEGUINTE.

3.3.3. Seleção individual com marcadores moleculares (MAS+IND)

Para avaliar a combinação da seleção com base no fenótipo do indivíduo (seleção individual) e a seleção com o uso de marcadores moleculares, foi construído o seguinte índice:

$$I_i = cX_i^* + \sum_{k=1}^n \beta_k G_{ik}$$

em que, I_i , é o valor do indivíduo i , após a ponderação pelo valor fenotípico e pelos efeitos de marcadores moleculares; c , é o valor de ponderação da característica quantitativa; X_i^* , é o valor fenotípico padronizado

do indivíduo i ; β_k , é o coeficiente de regressão padronizado para o marcador molecular k , conforme definido anteriormente; e G_{ik} , é o valor do marcador molecular (0, 1 ou 2) observado no indivíduo i para o marcador k .

Os valores de I foram ordenados do maior para o menor. Os machos que obtiverem os dez primeiros maiores valores deste índice e as 100 primeiras fêmeas com maiores valores foram selecionados para formarem a geração seguinte.

3.3.4. Seleção baseada na melhor predição linear não-viesada (BLUP)

Para seleção baseada no BLUP, foi utilizada a metodologia dos modelos mistos ("Mixed Model Methodology"). Foi considerado o seguinte modelo estatístico:

$$\underset{\sim}{y} = \underset{\sim}{X} \underset{\sim}{\beta} + \underset{\sim}{Z} \underset{\sim}{g} + \underset{\sim}{e}$$

em que, $\underset{\sim}{y}$, é vetor da observações das características; $\underset{\sim}{X}$, é a matriz de incidência de efeitos fixos; $\underset{\sim}{\beta}$, é o vetor dos efeitos fixos; $\underset{\sim}{Z}$, é a matriz diagonal de incidência dos valores genéticos, contendo 1 ou 0 se a característica foi medida ou não no indivíduo; $\underset{\sim}{g}$, é o vetor dos valores genéticos; e $\underset{\sim}{e}$, é o vetor de resíduos. Assumindo que $\underset{\sim}{y}$, $\underset{\sim}{g}$ e $\underset{\sim}{e}$ tenham distribuição normal multivariada, os valores de $\underset{\sim}{\beta}$ e $\underset{\sim}{g}$ foram obtidos pela resolução do sistema de equações:

$$\begin{bmatrix} \underset{\sim}{\beta} \\ \underset{\sim}{g} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \underset{\sim}{X}' \underset{\sim}{R}^{-1} \underset{\sim}{X} & \underset{\sim}{X}' \underset{\sim}{R}^{-1} \underset{\sim}{Z} \\ \underset{\sim}{Z}' \underset{\sim}{R}^{-1} \underset{\sim}{X} & \underset{\sim}{Z}' \underset{\sim}{R}^{-1} \underset{\sim}{Z} + \underset{\sim}{G}^{-1} \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} \underset{\sim}{X}' \underset{\sim}{R}^{-1} \underset{\sim}{y} \\ \underset{\sim}{Z}' \underset{\sim}{R}^{-1} \underset{\sim}{y} \end{bmatrix}$$

$$\beta_{\sim}^0 = [X' R^{-1} X - X' R^{-1} Z (Z' R^{-1} Z + G^{-1})^{-1} Z' R^{-1} X]^{-1} \\ [X' R^{-1} y - X' R^{-1} Z (Z' R^{-1} Z + G^{-1})^{-1} Z' R^{-1} y] \\ \hat{g}_{\sim} = (Z' R^{-1} Z + G^{-1})^{-1} Z' R^{-1} (y - X \beta_{\sim}^0)$$

em que, $G = A\sigma_a^2$; $R = I\sigma_e^2$; A , é a matriz do numerador dos coeficientes de parentesco entre os indivíduos; σ_a^2 , é a variância genética aditiva da característica; σ_e^2 , é a variância residual da característica; e I , é uma matriz identidade. As variâncias σ_a^2 e σ_e^2 foram obtidas utilizando-se os valores genéticos e de ambiente para cada indivíduo. O vetor $y_{\sim}$, no modelo univariado, foi montado da seguinte forma:

$$y_{\sim} = [y_i, y_{i+1}, \dots, y_n]$$

sendo y_i o valor fenotípico da característica medida no indivíduo i . MARTINS et. al. (1997) apresentaram uma descrição completa dos algoritmos usados para obtenção da matriz de parentesco, bem como a sua inversa (A^{-1}). Estes algoritmos, propostos por HENDERSON (1976) e desenvolvidos por QUAAS (1976), foram usados neste trabalho. Na escolha dos reprodutores, será adotado o seguinte índice (Ib):

$$Ib_i = \sum_{k=1}^n c \hat{g}_i$$

em que, c , representa os valores de ponderação para a característica, fornecidos ao GENESYS, sendo inicializados como $c = 1$, e $\hat{g}_i$ o valor genético do indivíduo i medido na característica.

3.3.5. Seleção por genes candidatos (CGS)

Neste método, o que foi utilizado para seleção é o próprio gene. Todos os animais foram analisados quanto ao número de alelos favoráveis existentes no genoma, independente se os mesmos se encontravam em homozigose ou heterozigose. O animal que possuía maior número de alelos favoráveis foi selecionado.

Existindo empate, quanto ao número de alelos favoráveis entre dois animais, o critério utilizado como desempate era o número de genótipos heterozigotos. O animal, em heterozigose para determinado gene, possui a chance de passar a seus descendentes o maior número de alelos favoráveis. Persistindo o empate, o animal era escolhido aleatoriamente.

3.4. Parâmetros avaliados

Para comparação dos métodos de seleção, usaram-se os seguintes parâmetros:

- a) Valor fenotípico – é a media dos valores fenotípicos dos indivíduos de cada população;
- b) Variância genética aditiva – é a medida da variabilidade causada pelos efeitos aditivos dos alelos;
- c) Percentagem de alelos desfavoráveis fixados – é a relação entre o número locos com alelos desfavoráveis fixados e o número total de locos quantitativos para a característica, em percentagem;
- d) Percentagem de alelos favoráveis fixados – é a relação entre o número locos com alelos favoráveis fixados e o número total de locos quantitativos para a característica, em percentagem;
- e) Percentagem de homozigotos – é a relação entre o número de locos com um dos alelos fixados (seja desfavorável ou favorável) e o número total de locos quantitativos para a característica, em percentagem; e
- f) Limite de seleção – limite genético de seleção são os valores genéticos máximos que podem ser obtidos, representando portanto, a fixação de todos os alelos favoráveis.

Estes parâmetros foram obtidos pela média das 20 repetições, medidas a cada uma das 20 gerações.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de valores fenotípicos, apresentados pelo uso da seleção com base no fenótipo dos indivíduos (IND), em marcadores moleculares (MAS), nos genes candidatos (CGS), no BLUP e no fenótipo dos indivíduos e informações de marcadores (IND+MAS), para os valores dos efeitos aditivos dos genes próximos aos marcadores, simulados aleatoriamente no intervalo de -1,258 a 1,258, 10 genes fixados nos valores -2 e 2 e 10 genes fixados nos valores -5 e 5, são apresentados na Figura 1 (A, B e C, respectivamente).

Como pode ser observada, a seleção baseada no BLUP apresentou, para os três grupos de efeitos aditivos dos genes, os maiores valores fenotípicos, ao final das 20 gerações simuladas. Este fato pode ser explicado pela eficiência do BLUP, para características de baixa herdabilidade (0,10), na escolha dos melhores indivíduos para a reprodução. Para o segundo e o terceiro lugar houve uma alternância entre a seleção individual e seleção individual associada a marcadores, seguida dos genes candidatos e pela seleção baseada em marcadores moleculares.

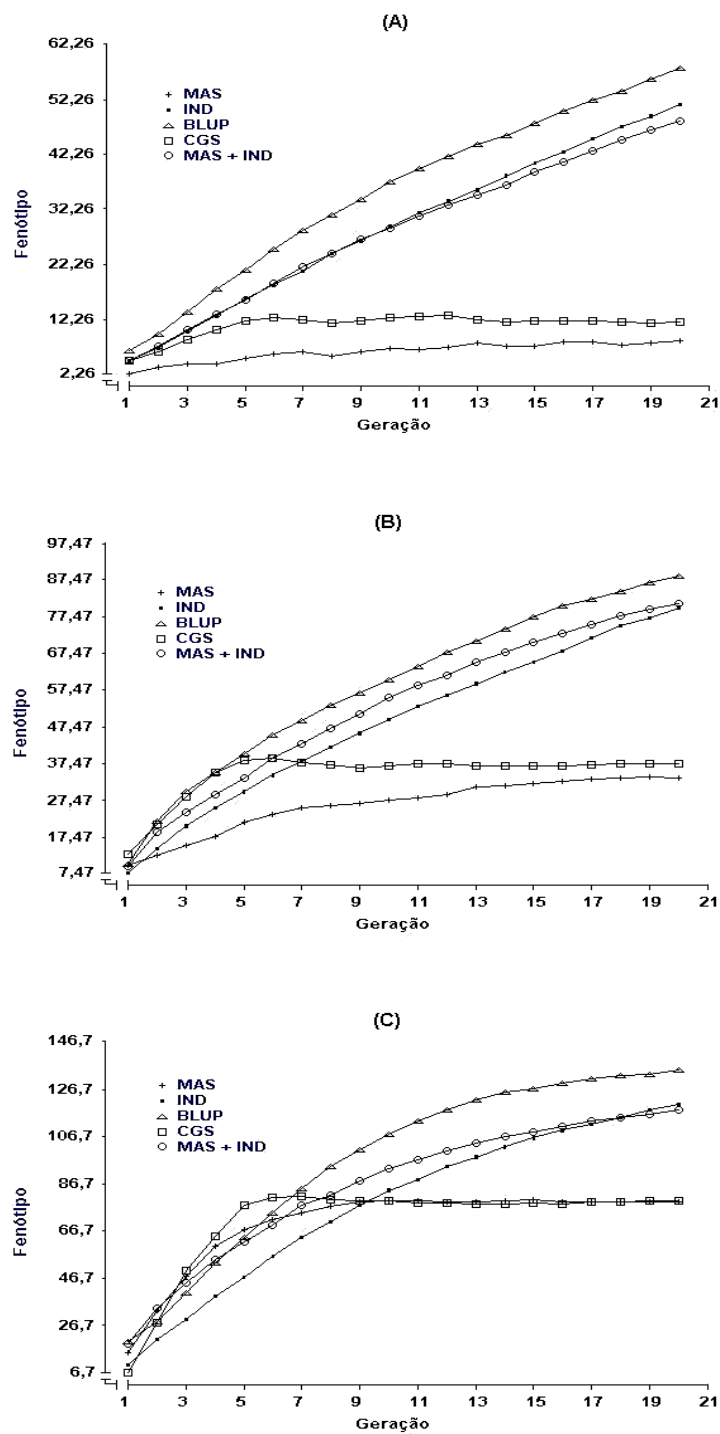


Figura 1 - Valores fenotípicos das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para (A) todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, (B) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e (C) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

Pela Figura 1A, observa-se que a MAS apresentou os menores valores fenotípicos em comparação com os demais métodos de seleção, em qualquer uma das 20 gerações simuladas, quando os valores dos efeitos aditivos dos genes foram simulados aleatoriamente (todos os genes com pequenos efeitos aditivos). Isto, se deve ao fato dos genes marcados possuírem pequena expressão na característica e/ou a grande distância entre a marca e o gene, possibilitando assim a ocorrência de “crossing-over”, levando ao equilíbrio de ligação. Outra possível explicação para estes valores, seria o número de marcas utilizadas no estudo (dez marcas). Entretanto, resultados semelhantes foram obtidos por EUCLYDES (1996), trabalhando com 50 e 200 marcas.

Pode-se observar também que para CGS, apesar da seleção ser o próprio gene (não ocorre a possibilidade de “crossing-over”), o incremento na resposta foi maior somente à seleção por marcadores, mostrando que valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente (todos os genes com pequenos efeitos), não são detectados por este método de seleção.

IND+MAS apresentou resposta inferior à seleção individual. Uma explicação para essa resposta seria que, com “crossing-over”, alguns genes marcados são desfavoráveis à característica; e mesmo assim, animais são selecionados pelo seu alto valor fenotípico, devido ao efeito positivo de ambiente, e não ao genético.

Na Figura 1B, o efeito aditivo de dez genes foi fixado nos valores -2 e 2 e os demais simulados aleatoriamente. Com isso, ocorreu a presença de médio efeito afetando a característica estudada. Observa-se que, a seleção assistida por marcadores, também apresentou os menores resultados no aumento do valor fenotípico, porém, os resultados foram melhores que os apresentados pelos efeitos aditivos simulados aleatoriamente (Figura 1A). Assim, a marcação de genes com médio efeito fazem com que a seleção para marcadores seja mais eficiente, uma vez que os genes selecionados afetam de forma significativa a característica.

IND+MAS apresentou incremento na resposta, sendo melhor que a seleção individual, ao final das 20 gerações simuladas, mostrando que os genes com médios efeitos tornam-se uma importante ferramenta de auxílio, quando associada às informações do próprio indivíduo (seleção individual).

Pode-se notar que, a seleção por genes candidatos apresentou resultados semelhantes aos resultados apresentados pelo BLUP até a quinta geração, onde se estabilizou. Estes resultados mostram que os animais selecionados são aqueles que possuem os genes favoráveis para a característica, no caso, genes com médios efeitos. Os valores fenotípicos se estabilizaram, após a quinta geração, provavelmente, como consequência da fixação dos genes com médios efeitos.

A Figura 1C mostra o valor do efeito aditivo de dez genes fixados nos valores -5 e 5 e os demais simulados aleatoriamente. MAS, neste caso, foi melhor que IND+MAS e BLUP até a quinta geração, e melhor que IND até a nona geração, onde se estabilizou. A presença de genes de grande efeito aditivo foi a causa dessa melhora. A seleção individual, ao final das 20 gerações, foi melhor que a seleção individual associada com marcadores, mostrando que a partir deste ponto, este método tende a se estabilizar. CGS foi a que apresentou as melhores respostas até a sétima geração, porém, se estabilizou na quinta geração.

Provavelmente, a estabilização precoce dos valores fenotípicos, produzida pela seleção assistida por marcadores moleculares e genes candidatos, é consequência da acentuada percentagem de homozigose observada (Figura 2), fixação de alelos (Figuras 4 e 5) e também pelo equilíbrio alcançado entre os locos, no caso da seleção assistida por marcadores. Resultados semelhantes foram obtidos por EUCLYDES (1996).

Pode-se observar que à medida que os valores dos efeitos aditivos dos genes aumentam, a resposta a MAS e CGS melhoram, sendo melhores que os métodos de seleção tradicionais e suas combinações, nas gerações iniciais. Entretanto, MAS não foi semelhante à seleção por genes candidatos, devido a: 1) possibilidade de ocorrer “crossing-over” na seleção assistida por marcadores, consequência da distância entre a marca e o gene, 2) o marcador ou o QTL estar em homozigose na população e 3) o gene selecionado não ser referente à característica (SMITH e SIMPSON, 1986).

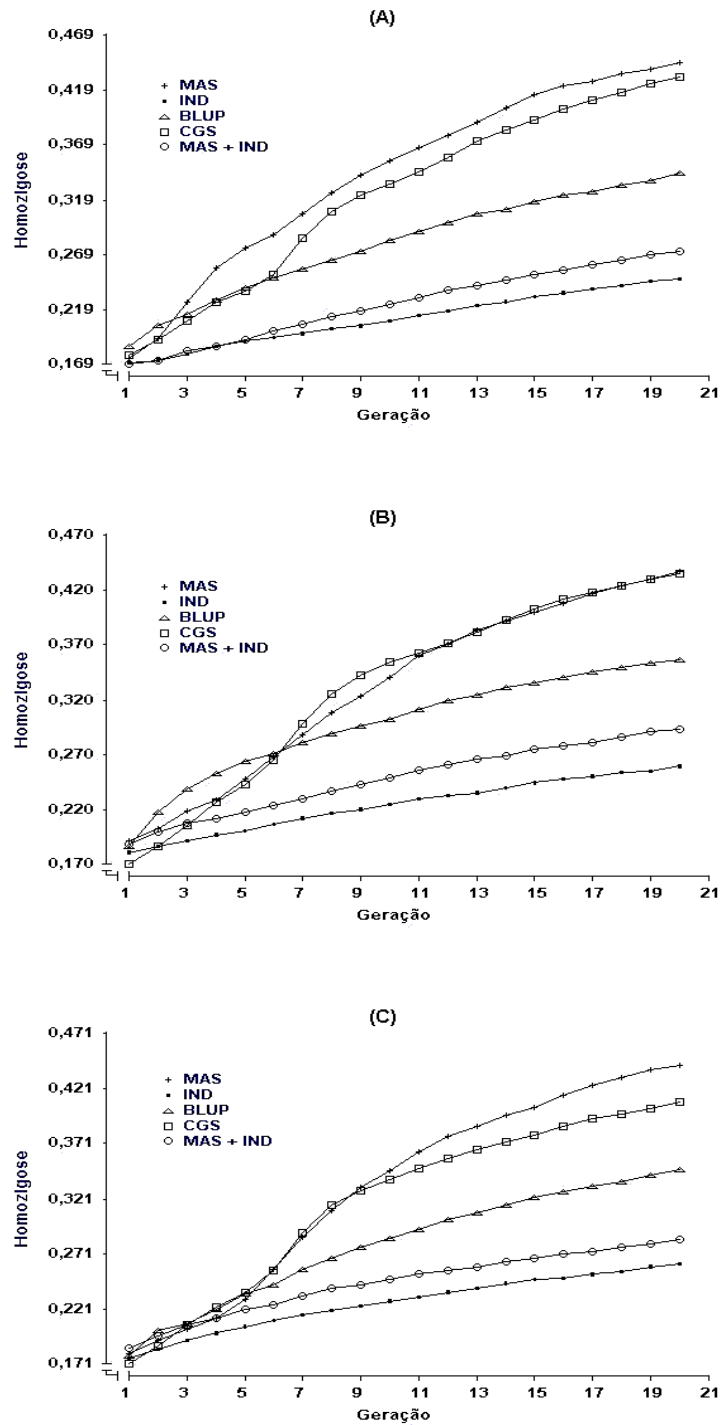


Figura 2 – Percentagem de homozigotos das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para (A) todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, (B) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e (C) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

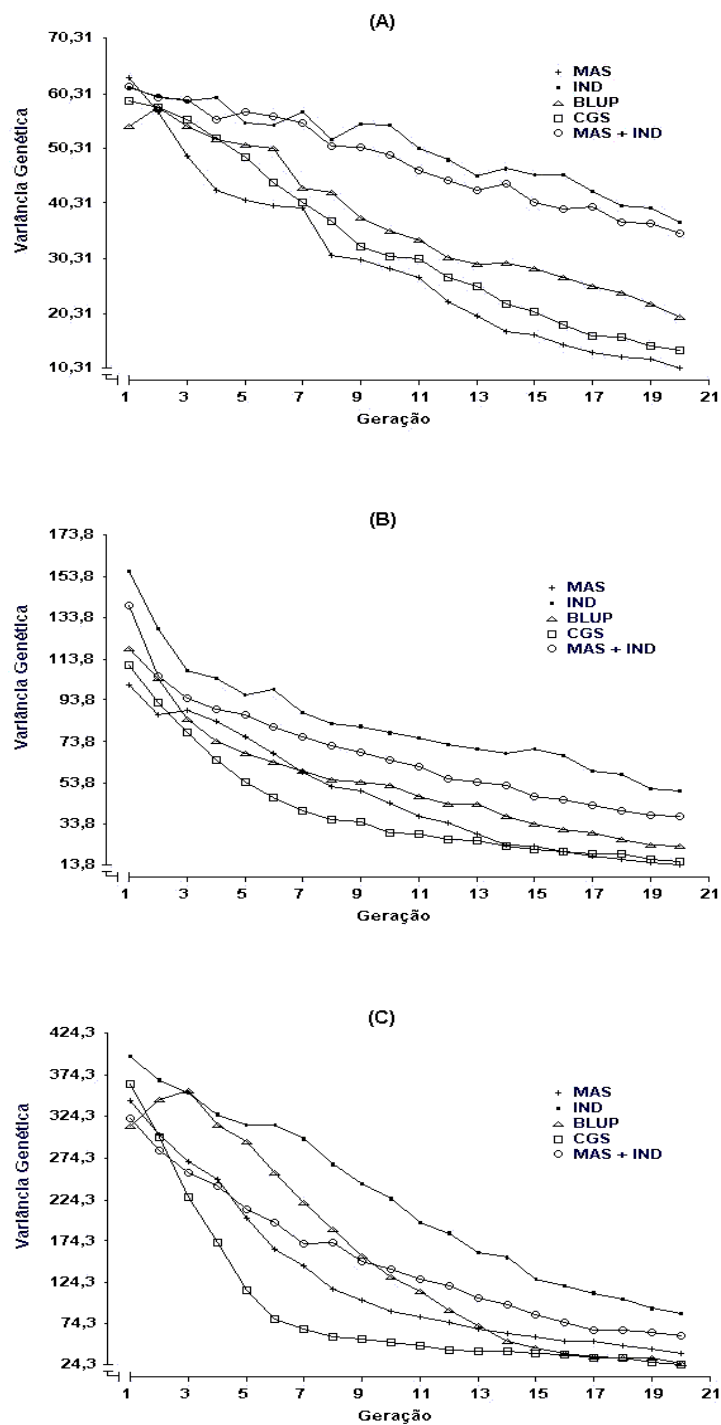


Figura 3 – Variância genética das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para (A) todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, (B) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e (C) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

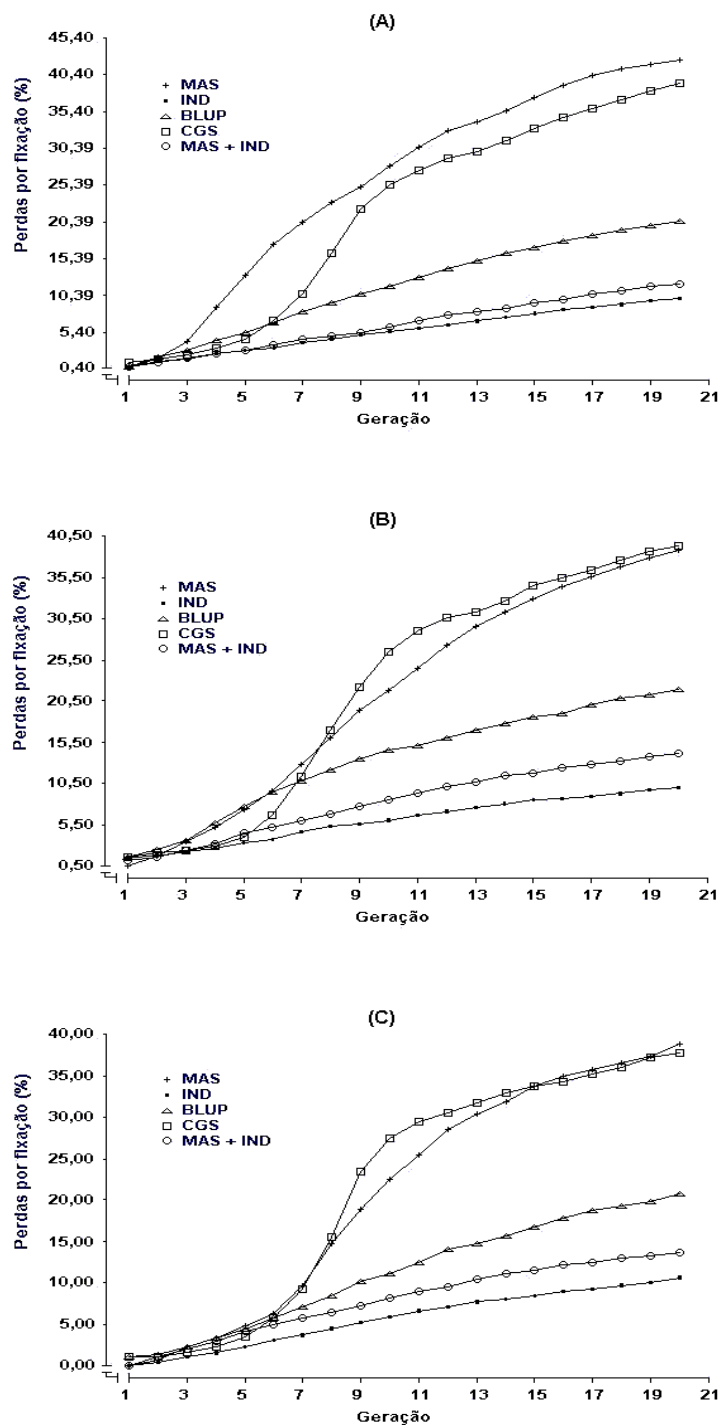


Figura 4 – Percentagem de alelos desfavoráveis fixados das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para (A) todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, (B) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e (C) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

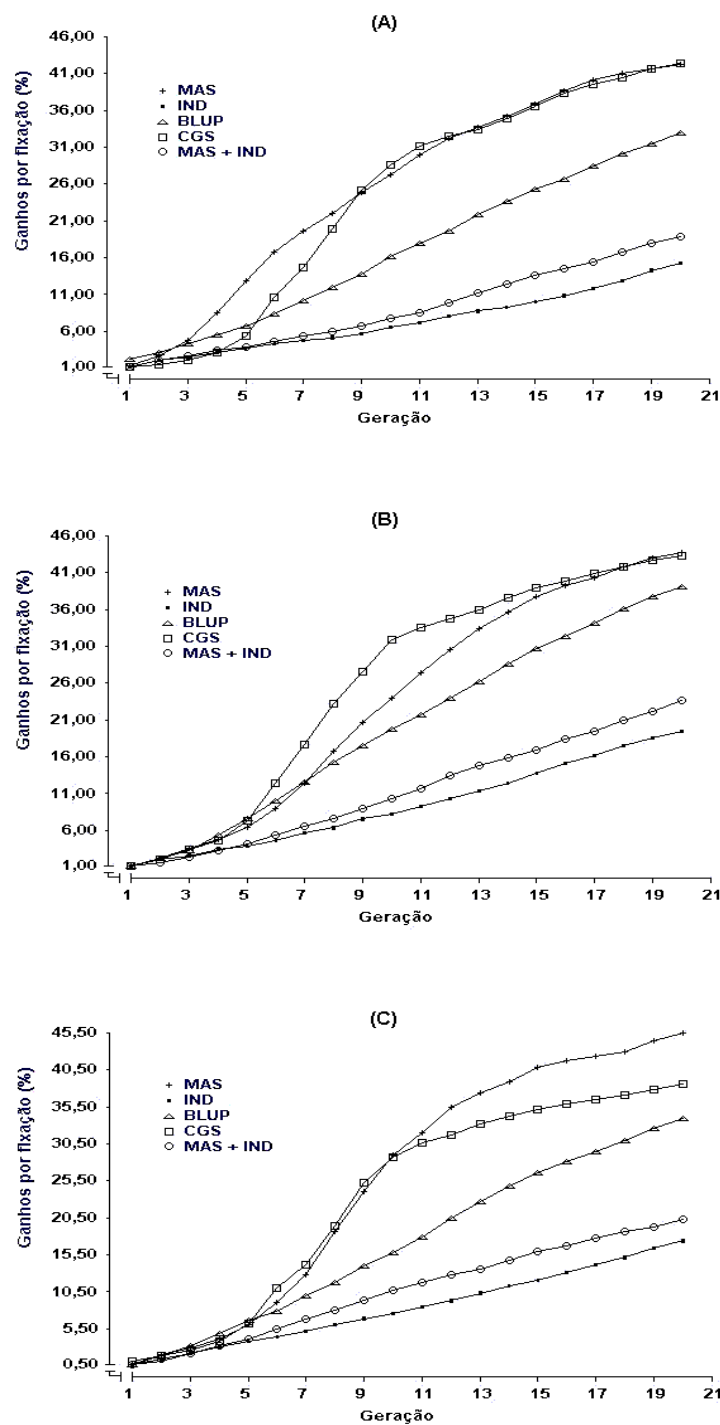


Figura 5 – Percentagem de alelos favoráveis fixados das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para (A) todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, (B) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e (C) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

As percentagens de homozigotos para os três grupos de efeitos aditivos dos genes são apresentadas na Figura 2. A seleção assistida por marcadores foi a que apresentou maior resposta, provavelmente devido à fixação não somente dos alelos favoráveis, mas também, dos alelos desfavoráveis e de menores efeitos.

A Figura 3 mostram o comportamento das variâncias genéticas aditivas para os métodos de seleção estudados e os diferentes valores dos efeitos aditivos dos genes. As variâncias genéticas aditivas decresceram, em uma tendência linear para o efeito aditivo de todos os genes simulados aleatoriamente (Figura 3A) e em uma tendência exponencial para os efeitos aditivos de 10 genes fixados nos valores -2 e 2 e os demais simulados aleatoriamente e para os efeitos aditivos de 10 genes fixados nos valores -5 e 5 e os demais simulados aleatoriamente (Figuras 3B e 3C).

O decréscimo não-linear da variância genética aditiva, no passar das gerações, para as Figuras 3B e 3C, também foi observado por BELONSKY e KENNEDY (1988) e MARTINS (1995). Possivelmente este fenômeno é causado pela intensidade de fixação de alelos produzida pela seleção, uma vez que o comportamento das variâncias aditivas foi o inverso do observado para as percentagens de homozigose (Figura 2). Na Figura 3A, a linearidade do decréscimo da variância aditiva para os efeitos aditivos dos genes simulados aleatoriamente, provavelmente é decorrente da baixa expressão que os alelos possuem, retardando a sua fixação. O decréscimo da variância genética aditiva, também foi relatado por EUCLYDES (1996), CARNEIRO (1998), CARNEIRO (1999), FONSECA (1999), entre outros.

Outras observações que podem ser feitas na Figura 3A, em relação aos métodos de seleção, são que, o BLUP se apresenta semelhante às seleções assistida por marcadores e seleção por genes candidatos. Os métodos de seleção moleculares, apresentam a diminuição da variância genética aditiva, devido o aumento rápido da taxa de homozigose e da fixação de alelos (Figuras 2, 4 e 5). Para o BLUP, é devido ao alto grau de parentesco entre os animais selecionados. Além disso, pode-se notar que o resultado para IND+MAS se apresentou semelhante à seleção individual, devido à pequena expressão dos genes marcados. À medida que alguns destes genes foram

aumentando seus valores dos efeitos aditivos (Figuras 3B e 3C), esse método foi se assemelhando aos métodos de seleção moleculares.

Pode-se ver na Figura 3, que IND é o que apresenta menor queda na variância genética aditiva, devido ser o método com menor homozigose e fixação de alelos (Figuras 2, 4 e 5). MAS e CGS foram as que possuíram maiores quedas, visto que os mesmos tendem a aumentar, a taxa de homozigose, e a fixar, rapidamente, os alelos favoráveis para a característica (Figuras 2 e 5). Além disso, com a presença de genes de médio e grande efeito, a queda era mais acentuada. ROBERTSON (1986), relatou que linhas, cuja seleção é aplicada para aumentar o valor fenotípico, terão uma redução na variância genética aditiva, devido à fixação dos alelos favoráveis.

Nas Figuras 4 e 5, são apresentadas as perdas por fixação em razão da percentagem de locos fixados com alelos desfavoráveis e favoráveis, respectivamente, para todos métodos de seleção e grupos de efeitos aditivos dos genes estudados.

Na Figura 5, observa-se que os métodos de seleção moleculares, apresentam-se de forma semelhante para os diferentes grupos de efeitos aditivos do gene, exceto para os valores dos efeitos aditivos de 10 genes fixados nos valores -5 e 5 e os demais simulados aleatoriamente, onde MAS foi melhor ao final das 20 gerações, provavelmente pela fixação de alelos com pequenos efeitos, além dos com grandes efeitos. Como era de se esperar, os métodos de seleção moleculares foram os mais eficientes na fixação dos locos com alelos favoráveis. Entretanto, foram também aqueles que superaram os demais métodos na fixação de locos com alelos desfavoráveis (Figura 4).

Este fenômeno, parece estar bastante associado à percentagem de homozigose. Como podem ser verificados na Figura 2, os métodos de seleção moleculares, foram os métodos de maior percentagens de homozigose; assim como os de maior fixação de alelos desfavoráveis e favoráveis (Figuras 4 e 5). Segundo FALCONER (1981), durante a seleção, em termos teóricos, a endogamia tende a aumentar a frequência de fixação de alelos desfavoráveis.

Outra explicação para este fenômeno, seria a existência de correlações genéticas entre alelos favoráveis e desfavoráveis. Quando se fixam alelos favoráveis, que possuem correlações genéticas positivas com alelos desfavoráveis, estes também são fixados.

Os resultados dos limites de seleção e suas reduções percentuais, para todos métodos de seleção e grupos de efeitos aditivos dos genes estudados, são apresentados na Figura 6 e Tabela 1, respectivamente.

Na figura 6 (A, B e C) nota-se que, para os três grupos de efeitos aditivos dos genes, todos os métodos de seleção estudados apresentam as mesmas tendências, embora os valores máximos do limite de seleção alcançados aumentaram com a passagem de pequenos para grandes efeitos aditivos dos genes. Os métodos de seleção moleculares, apresentaram os menores limites de seleção ao final das 20 gerações simuladas. A seleção individual foi o método de maior limite de seleção, acompanhado da associação MAS+IND e da seleção baseada no BLUP. A queda acentuada do limite de seleção nos métodos de seleção moleculares ocorreu a partir da quinta geração, provavelmente pela fixação dos alelos (Figuras 4 e 5).

As observações feitas na Figura 6 podem ser confirmadas na Tabela 1. Para pequenos efeitos aditivos dos genes, o valor máximo alcançado pela MAS, ao final das 20 gerações simuladas, foi apenas 20,70% do limite de seleção inicial da população. Para CGS, o valor máximo do limite de seleção foi de 27,32%. Para IND, BLUP e MAS+IND os valores máximos do limite de seleção foram 87,24, 67,60 e 82,56%, respectivamente, mostrando que para estes métodos, ainda existe um grande potencial de melhoramento. Com o aumento dos efeitos aditivos dos genes estes valores também aumentam, entretanto, possuem as mesmas tendências.

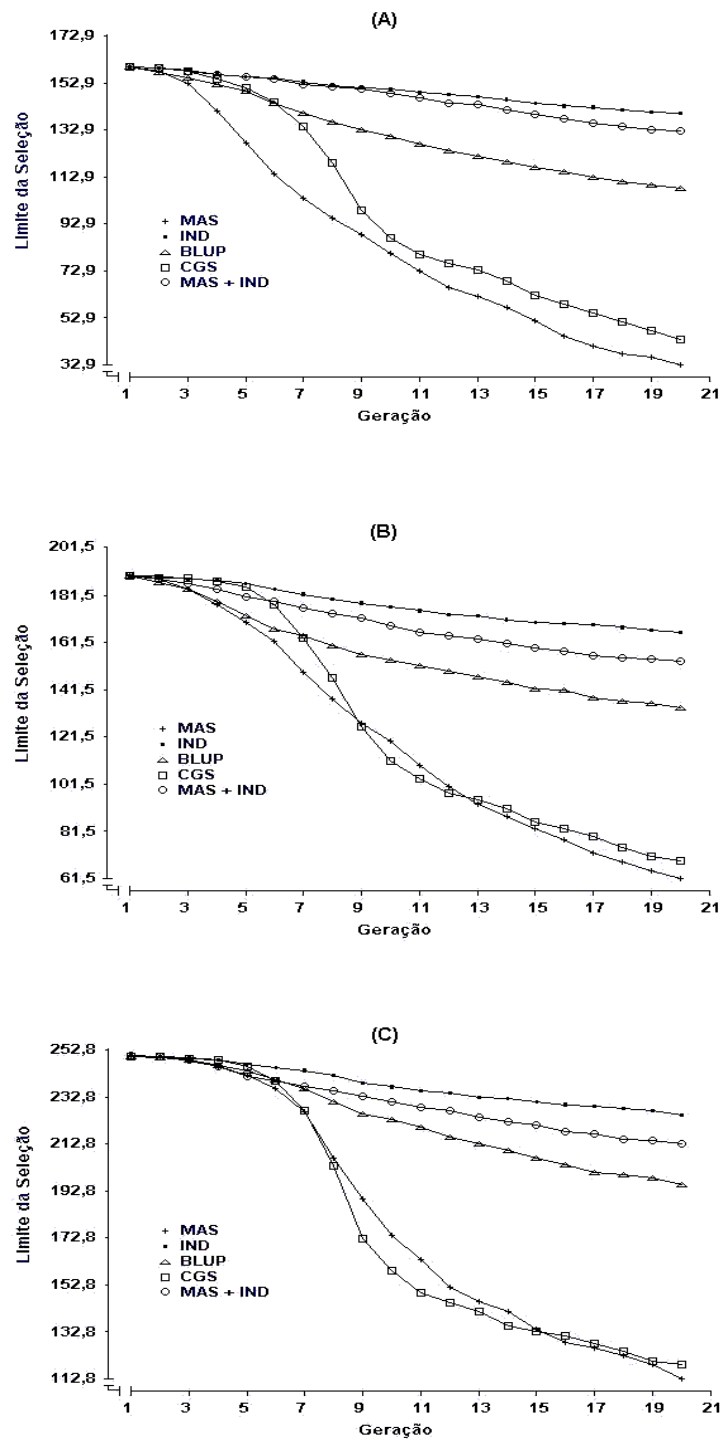


Figura 6 – Limites de seleção das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para (A) todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, (B) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e (C) 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

Tabela 1 – Reduções percentuais do limite de seleção das populações submetidas aos métodos de seleção, baseados em marcadores (MAS), individual (IND), BLUP, genes candidatos (CGS) e individual e marcadores (IND+MAS) por geração, para todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente, 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores –2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores –5 e 5 e demais simulados aleatoriamente.

Gerações	EFEITOS ADITIVOS ALEATÓRIOS				
	MAS (%)	IND (%)	BLUP (%)	CGS (%)	MAS+IND (%)
1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
2	98,66	99,39	98,40	99,66	99,55
3	95,79	98,72	96,90	98,67	98,59
4	88,31	97,88	95,20	96,65	97,98
5	79,85	97,31	93,57	94,39	97,28
6	71,40	96,78	90,14	90,72	96,51
7	64,98	95,89	87,30	84,01	95,17
8	59,70	94,94	85,19	74,29	94,41
9	55,51	94,17	82,90	61,82	93,62
10	50,33	93,74	81,45	54,53	92,69
11	45,46	92,98	79,43	49,84	91,48
12	41,26	92,53	77,60	47,52	90,17
13	38,85	91,63	75,95	46,04	89,63
14	35,62	90,94	74,50	42,74	88,38
15	32,27	90,23	73,19	38,99	87,12
16	28,15	89,51	72,02	36,78	86,19
17	25,72	88,91	70,69	34,42	84,62
18	23,73	88,35	69,20	31,93	83,87
19	22,41	87,66	68,39	29,67	83,14
20	20,70	87,24	67,60	27,32	82,56
Gerações	EFEITOS ADITIVOS FIXADOS EM –2 E 2				
	MAS (%)	IND (%)	BLUP (%)	CGS (%)	MAS+IND (%)
1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
2	99,12	99,93	98,58	99,82	99,32
3	96,78	99,54	97,04	99,70	98,17
4	93,29	99,02	94,27	98,91	97,00
5	89,32	98,13	91,17	97,73	95,25
6	85,10	97,20	88,33	93,78	94,23
7	78,24	95,96	86,64	86,29	92,80
8	72,41	94,98	84,46	77,18	91,66
9	67,03	93,93	82,54	66,38	90,38
10	63,06	93,24	81,15	58,77	88,92
11	57,72	92,16	80,07	54,69	87,48
12	52,77	91,42	78,85	51,55	86,62
13	48,87	91,08	77,45	50,17	85,83
14	46,29	90,38	76,19	48,16	84,86
15	43,48	89,74	75,04	45,11	84,03
16	40,73	89,42	74,48	43,45	83,21
17	38,11	89,12	73,02	41,72	82,22
18	35,90	88,69	72,10	39,39	81,70
19	33,91	87,86	71,36	37,40	81,38
20	32,47	87,54	70,53	36,43	80,84
Gerações	EFEITOS ADITIVOS FIXADOS EM –5 E 5				
	MAS (%)	IND (%)	BLUP (%)	CGS (%)	MAS+IND (%)
1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
2	99,78	99,81	99,89	99,99	99,75
3	98,86	99,61	99,42	99,71	99,07
4	98,05	99,14	98,60	99,36	98,01
5	96,62	98,51	97,71	98,31	96,31
6	94,30	97,83	96,18	95,94	95,72
7	90,17	97,38	94,71	90,88	94,68
8	82,41	96,61	92,41	81,43	94,00
9	75,73	95,32	90,34	68,99	93,05
10	69,42	94,63	89,23	63,47	91,98
11	65,20	93,89	87,95	59,86	91,17
12	60,65	93,46	86,28	58,25	90,54
13	58,20	92,91	85,26	56,75	89,38
14	56,37	92,58	84,09	54,20	88,71
15	53,41	92,04	82,77	53,14	88,06
16	51,34	91,67	81,78	52,45	87,03
17	50,16	91,32	80,49	51,25	86,57
18	48,82	90,84	79,89	49,89	85,83
19	47,44	90,38	79,37	48,21	85,54
20	45,14	89,81	78,18	47,61	84,98

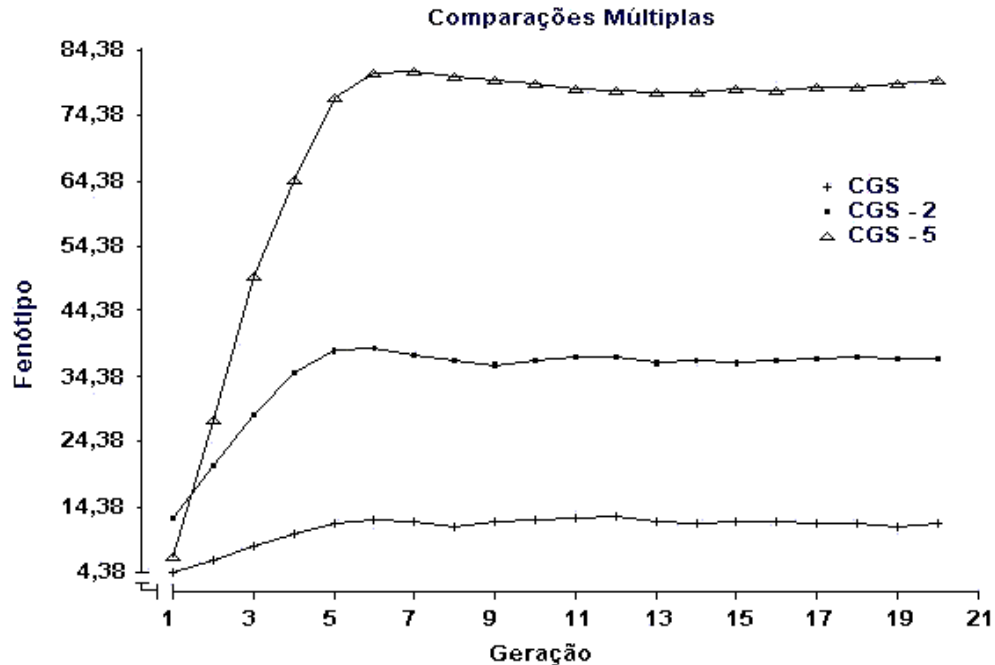


Figura 7 – Comparação das populações submetidas à seleção por genes candidatos, por geração, para todos os genes com valores dos efeitos aditivos simulados aleatoriamente (CGS), 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente (CGS - 2) e 10 genes com valores dos efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente (CGS - 5).

Comparando os desempenhos do CGS, para os diferentes grupos de efeitos aditivos dos genes (Figura 7), observa-se que os valores fenotípicos estabilizaram, aproximadamente, na quinta geração de seleção, independente do efeito aditivo dos genes (seja com pequeno, médio ou grande efeito). Isto é, um indicativo de que a seleção por genes candidatos só deve ser usada nas primeiras gerações. Entretanto, com o aumento dos efeitos aditivos, os valores fenotípicos na estabilização também aumentaram, devendo ser feitos maiores estudos com relação ao tamanho da população, o número de gerações e o número de marcas, para se obter uma melhor conclusão sobre o ponto de estabilização dos métodos de seleção moleculares.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Com o objetivo de avaliar os métodos de seleção tradicionais (IND e baseada no BLUP), os métodos de seleção moleculares (MAS e CGS) e uma combinação dos dois (IND+MAS) foram utilizada a técnica de simulação gênica, através do sistema computacional GENESYS 2000.

Para tal, foi simulado um genoma, composto de 200 locos, distribuídos em 15 pares de cromossomos. Seis populações base de 1000 animais cada (500 machos e 500 fêmeas) foram criadas, a partir do mesmo genoma, com alterações nos valores dos efeitos aditivos (simulados aleatoriamente no intervalo de $-1,258$ a $1,258$, 10 genes fixados nos valores -2 e 2 e demais simulados aleatoriamente e 10 genes fixados nos valores -5 e 5 e demais simulados aleatoriamente) dos genes próximos aos marcadores, e na transformação dos marcadores em candidatos. Um efeito fixo foi utilizado, e os efeitos de ambiente foram simulados conforme a distribuição normal. Para cada população base, foi construída uma população inicial onde teve início o processo de avaliação genética. As populações submetidas aos métodos de seleção possuíam 500 indivíduos (10 machos acasalando com 10 fêmeas cada, produzindo cinco descendentes). Este processo foi conduzido durante 20 gerações consecutivas com 20 repetições cada.

Os parâmetros avaliados foram: ganho fenotípico, variância genética aditiva, percentagem de alelos desfavoráveis e favoráveis fixados, e percentagem de homozigotos.

O BLUP apresentou, para os três grupos de efeitos aditivos dos genes, os maiores ganhos fenotípicos, ao final das 20 gerações simuladas. Para os efeitos aditivos dos genes próximos aos marcadores simulados aleatoriamente no intervalo de -1,258 a 1258, MAS e CGS possuíram os piores resultados, devido ao pequeno efeito de cada gene (ausência de genes com grande efeito).

À medida que se fixaram os valores dos efeitos aditivos de dez genes nos valores -2 e 2 e nos valores -5 e 5, a resposta dos métodos de seleção moleculares, melhoraram, sendo melhores que as respostas dos métodos tradicionais e suas combinações nas gerações iniciais.

Notou-se também que, a presença de genes com grande efeito tornaram-se uma importante ferramenta de auxílio, quando associada às informações do próprio indivíduo (seleção individual).

Para todos os métodos analisados, as variâncias genéticas aditivas decresceram, entretanto, o decréscimo foi maior para os métodos de seleção moleculares. As variâncias genéticas aditivas dos métodos moleculares de seleção, assemelham-se às do BLUP. Além disso, com a presença de genes com médio e grande efeito, a queda era mais acentuada. À medida que os efeitos aditivos dos genes eram modificados (de aleatórios para fixados nos valores -2 e 2 e valores -5 e 5), IND+MAS, que se mostrava semelhante à seleção individual, passa a se mostrar semelhante aos métodos moleculares de seleção.

Os resultados, durante as 20 gerações simuladas, da percentagem de locos fixados com alelos desfavoráveis e favoráveis, mostram que os métodos de seleção molecular apresentam-se de forma semelhante para os diferentes grupos de efeitos aditivos do gene, exceto para os efeitos aditivos fixados nos valores -5 e 5, e foram as mais eficientes na fixação dos locos com alelos favoráveis. Entretanto, foram também aqueles que superaram os demais métodos na fixação de locos com alelos desfavoráveis.

Com base nestes resultados, concluiu-se que, os métodos de seleção tradicionais são melhores que os métodos de seleção moleculares, durante as 20 gerações, na ausência de “major genes”. Entretanto, à medida que se aumenta o efeito dos genes, os métodos de seleção moleculares, são as melhores opções a curto prazo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMERO, E.; BASELGA, M.; CIFRE, J. Selecting for litter size in rabbits: analysis of different strategies. **World-Rabbit-Science**. v. 3, p. 179-186; 1995.
- BECKMANN, J. S. Genomic genetics: an essential link between conventional and transgenic breeding. In: THE EXPERT CONSULTATION ON THE APPLICATION OF BIOTECHNOLOGY IN LIVESTOCK PRODUCTION AND HEALTH IN DEVELOPING COUNTRIES 1990, Havana, Cuba, **Proceedings...** Havana, Cuba: [s.n.], 1990, p. 45-57.
- BECKMANN, J. S. and SOLLER, M. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs. **Theoretical Applied Genetics**. v. 67, p. 35-43, 1983.
- BELONSKY, G. M. and KENNEDY, B. W. Selection on individual phenotype and best linear unbiased predictor of breeding value in a closed swine herd. **Journal of Animal Science**.v. 66, p. 1124-1131, 1988.
- BOECKLEN, W. J. and HOWARD, D. J. Genetic analysis of hybrid zones: numbers of markers and power of resolution. **Ecology**. v. 78, p. 2611-2616; 1997.
- BOICHARD, D.; LE ROY, P.; LEVEZIEL, H.; ELSSEN, J. M. Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale. **Productions-Animales** v. 11, p. 67-80, 1998.

- CAHANER, A. Poultry improvement: Integration of present and new genetic approaches for broilers. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTON 4. Guelph, Ontário, Canadá, **Proceedings...** Ontário, v 20, p.25-32, 1994.
- CARNEIRO, A. P. S., **Efeito do Grau de Conexidade dos Dados sobre a Avaliação Genética Animal**. Viçosa, MG: UFV, 1999, 62p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- CARNEIRO, P. L. S., **Efeito de Erros de Pedigree na Avaliação Genética Animal**. Viçosa, MG: UFV, 1998, 79p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- CASAS-CARRILLO, E.; PRILL-ADAMS, A.; PRICE, S. G.; CLUTTER, A. C.; KIRKPATRICK, B. W. Relationship of growth hormone and insulin-like growth factor-1 genotypes with growth and carcass traits in swine. **Animal Genetics**. v. 28, p. 88-93, 1997.
- CUNNINGHAM, E. P. **Animal breeding theory**. Vollebekk OSLO, Landbruksbokhandlen Universitetsforlaget, 1960. 272 p.
- DENTINE, M. R. Effects of single loci on performance during lactation. In: PROC. 5º WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 21, 1994, GUELF. **Proceeding...** University of Guelf, Guelf, Ontario CA: 1994. p. 237-240.
- EUCLYDES, R. F. **Uso do sistema para simulação Genesys na avaliação de métodos de seleção clássicos e associados a marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 1996. 150 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.
- EUCLYDES, R. F.; MUIR, W. M.; SILVA, M. A. O sistema para simulação *Genesys*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, I, 1996, RIBEIRÃO PRETO, SÃO PAULO. **Simpósio...** Ribeirão Preto, SP, 1996.
- EUCLYDES, R. F. e GUIMARÃES, S. E. F. Associação dos métodos tradicionais de seleção à seleção assistida por marcadores moleculares. I Fórum Nacional de Equideocultura In: REVISTA BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 21, 1997, BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS. **Fórum...** Belo Horizonte, MG, 1997, p. 89-96.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Tradução de M. A. Silva e J. C. Silva. Viçosa, MG: UFV, Imprensa. Universitária., 1981. 279 p.

- FONSECA, R. **Efeito da Violação de Pressuposições da Metodologia de Modelos Mistos na Avaliação Genética Animal**. Viçosa, MG: UFV, 1999, 57p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- FRAZER, A. S. Simulation of genetic systems. I. Introduction. **Australian Journal of Biological Sciences**. v.10, p.484-491, 1957.
- GIBSON, J. P. Short-term gain at the expense of long-term gain response with selection of identified loci. In: PROC. 5º WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 21, 1994, GUELF. **Proceeding...** University of Guelph, Guelph, Ontario CA: 1994. p. 201-204.
- GIMELFARB, A. and LANDE, R. Simulation of marker assisted selection in hybrid populations. **Genetical Research**. v. 63, p. 39-47; 1994.
- GODDARD, M. E. A mixed model for analysis of data multiple genetic markers. **Theoretical Applied Genetics**. v. 83, p. 878-886, 1992.
- GUIMARÃES, S. E. F. e EUCLYDES, R. F. Uso de marcadores genômicos na seleção e na reprodução animal. I **Fórum Nacional de Equideocultura** In: REVISTA BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Belo Horizonte, MG. v. 21, p. 83-89, 1997.
- HABERFELD, A.; KALAY, D.; WEISBERGER, P.; GAL, O.; HILLEL, J. Application of multilocus molecular markers in cattle breeding. 1. Minisatellites and microsatellites. **Journal of Dairy Science**. v. 76, p. 645-652; 1993.
- HAZEL, L. N. The basis for constructing selections indexes. **Genetics**. v. 28, p.476-490, 1943.
- HENDERSON, C. R. Statistical methods in animal improvement: historical overview. In: GIANOLA, D., HAMMOND, K. (Ed.) **Advances in statistical methods for genetic improvement of livestock**. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1990, p. 2-14 (Advanced Series in Agricultural Science v. 18)
- HETZEL, D. J. S. and MOORE, S. S. Applications of molecular genetic technologies in livestock improvement. In: EXPLORING APPROACHES TO RESEARCH IN THE ANIMAL SCIENCES IN VIETNAM, 1995, HUE, VIETNAM. **Proceedings...** Canberra: Australian Center of International Agricultural Research, [1995]. p. 115-119.

- HETZEL, D. J. S.; DAVIS, G. P.; CORBET, N. J.; SHORTHOSE, W. R.; STARK, J.; KUYPERS, R.; SCACHERI, S.; MAYNE, C.; STEVENSON, R.; MOORE, S. S.; BYRNE, K. Detection of gene markers linked to carcass and meat quality traits in a tropical beef herd. In: CONFERENCE, 12, DUBBO, NSW, AUSTRALIA. **Proceedings...** Dubbo, Australia: Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics, 1997, Pt. 1, p. 442-446.
- HILLEL, J. DNA markers for quantitative production traits. In: PROC. 5^o WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 20, 1994, GUELF. **Proceeding...** University of Guelf, Guelf, Ontario CA: 1994. p. 112-119.
- KUHNLEIN, U. and ZADWORNÝ, D. Disease resistance genetics: selection at the DNA level. In: PROC. 5^o WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 20, 1994, GUELF. **Proceeding...** University of Guelf, Guelf, Ontario CA: 1994. p. 249-256.
- LANDE, R. L. and THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**. v. 124, p. 743-756, 1990.
- LIN, C. Y.; SABOUR, M. P.; LEE, A. J. direct typing of milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: a review. **Animal Breeding Abstracts**. v. 60, p. 1-10; 1992.
- MADALENA, F. E., HILL, W. G. Population structure in artificial selection programmes: simulation studies. **Genetical Research**. v. 20, p. 75-99, 1972.
- MARTINS, E. N. **Desenvolvimento de uma estratégia computacional para seleção de coelhos, usando a melhor predição linear não-viesada**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- MARTINS, E. N.; LOPES, P. S.; SILVA, M. A.; TORRES FILHO, R. A. A. **Uso de modelos mistos na avaliação genética animal**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 121p.
- MEUWISSEN, T. H. E. and VAN ARENDONK, J. A. M. Potencial improvements in rate of genetic gain from marker-assisted selection in dairy cattle breeding schemes. **Journal of Dairy Science**. v. 75, p. 1651-1659, 1992.
- MOODY, D. E.; POMP, D.; NEWMAN, S.; MACNEIL, M. D. Characterization of DNA polymorphisms and their associations with growth and maternal traits in line 1 Hereford cattle. In: PROC. 5^o WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 21, 1994, GUELF. **Proceeding...** University of Guelf, Guelf, Ontario CA: 1994. p. 221-224.
- MUIR, W. M. Candidate gene selection. In: SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM ZOOTECNIA, 1, 1997, Juiz de Fora, Minas Gerais, **Simpósio...** Juiz de Fora, MG: SBZ, 1997, p. 79-91.

- NICHOLAS, F. W., ROBERTSON, A. The conflict between natural and artificial selection in finite populations. **Theoretical Applied Genetics**. v. 56, p. 57-64, 1980.
- QUINTON, M.; SMITH, C.; GODDARD, M. E. Comparison of selection methods at the same level of inbreeding. **Journal of Animal Science**. v. 70, p. 1060-1067, 1992.
- RAFALSKI, J. A. and TINGEY, S. V. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPD. In: MICROSATELLITES and Machines, S.I.: s.n., 1993.
- RATHJE, T. A.; ROHRER, G. A.; JOHNSON, R. K. Evidence for quantitative trait loci affecting ovulation rate in pigs. **Journal of Animal Science**. v. 75, p. 1486-1494, 1977.
- ROBERTSON, A. A theory of limits in artificial selection with many linked loci. In: _____. Mathematical topics in population genetics. Berlin, Germany: Springer, 1970, p.248-288.
- ROBERTSON, A. The analysis of long-term selection experiments. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 3, 1986, Lincoln. **Proceeding...** Lincoln: 1986. p. 141-141.
- ROBINSON, J. A. B., WILTON, J. W., SCHAEFFER, L. R. Accuracy of selection index and best linear unbiased prediction for within-herd selection with assortative mating of beef cattle. **Canadian Journal Animal Science**. v. 69, p. 315-322, 1989.
- ROCHA, J. L. e BARATA, G. N. Marcadores moleculares ao nível da cadeia de ADN: suas implicações no melhoramento genético animal. II. Estratégias para a detenção de locus quantitativos. **Revista-Portuguesa-de-Ciências-Veterinárias**. v. 92, p. 130-137; 1997.
- ROTHSCHILD, M.; JACOBSEN, C.; VASKE, D.; TUGGLE, C.; WANG, L. H.; SHORT, T.; ECKARDT, G.; SASAKI, S.; VINCENT, A.; MCLAREN, D.; SOUTHWOOD, O.; STEEN, H.; MILEHAM, A.; PLASTOW, G. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. **Proceedings of National Academic of Science USA**. v. 93, p. 201-205, 1996.
- ROTHSCHILD, M. F. and SOLLER, M. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. **Probe-Newsletter for Agricultural Genomics**. v. 8, p. 13-20, 1997.
- SEARLE, S. R. **Matrix algebra for the biological sciences**. New York, John Wiley & Sons, 1966. 296 p.
- SEHESTED, E. and MAO, I. L. Response to selection on genotypic or phenotypic values in the presence for genes with major effects. **Theoretical Applied Genetics**. v. 85, p. 403-406, 1992.

- SMITH, C. and SIMPSON, S. P. The use of genetic polymorphisms in livestock improvement. **Journal of Animal Breeding and Genetics**. v. 103, p. 205-217, 1986.
- SOLLER, M. and BECKMANN, J. S. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. **Theoretical Applied Genetics**. v. 67, p. 25-33, 1983.
- SORENSEN, D. A., KENNEDY, B. W. Estimation of response to selection using least squares and mixed model methodology. **Journal of Animal Science**. v. 58, p. 1097-1106, 1984.
- TORRES, R. A. **Efeito da Heterogeneidade de Variância na Avaliação Genética de Bovinos da Raça Holandesa no Brasil**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1998, 124p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, 1998.
- VAN DER BECK, A. and VAN ARENDONK, J. A. M. Marker-assisted selection in a outbred poultry breeding nucleus. **Animal Science**. v. 62, p. 171-180, 1996.
- VISSCHER, P. M. and HALEY, C. S. Utilizing genetic markers in pig breeding programmes. **Animal Breeding Abstracts**. v. 63, p. 1-8; 1995.
- YU, T. P.; TUGGLE, C. K.; SCHMITZ, C. B.; ROTHSCCHILD, M. F. Association of PIT1 polymorphisms with growth and carcass traits in pigs. **Journal of Animal Science**. v. 73, p. 1282-1288, 1995.
- WOMACK, J. E. Genome analysis in farm animals. In: STADLER GENETICS SYMPOSIUM, 21, 1996, NEW YORK. **Symposium...** New York: Plenum Press, c1996, p. 127-137.
- WOOD, C. M., CHRISTIAN, L. L., ROTHSCCHILD, M. F. Use of animal model in situation of limited subclass number and high degree of relationship. **Journal of Animal Science**. v. 69, p. 1420-1427, 1991.
- ZHANG, W.; SMITH, C. Computer simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium. **Theoretical Applied Genetics**. v. 83, p. 813-820, 1992.
- ZHANG, W.; SMITH, C. Simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium: the effects of several additional factors. **Theoretical Applied Genetics**. v. 86, p. 492-496, 1993.