

MARCELO JANGARELLI

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES NÍVEIS DE  
SIGNIFICÂNCIA NA IDENTIFICAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES  
MOLECULARES NO MELHORAMENTO GENÔMICO**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

J33a  
2007

Jangarelli, Marcelo, 1979-

Avaliação de diferentes níveis de significância na  
identificação e caracterização de marcadores moleculares  
no melhoramento genômico / Marcelo Jangarelli.

– Viçosa, MG, 2007.  
xvi, 70f. : il. ; 29cm.

Orientador: Ricardo Frederico Euclides.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 68-70.

1. Melhoramento genético - Métodos estatísticos.  
2. Bioestatística. 3. Marcadores genéticos. 4. Locos de  
caracteres quantitativos. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

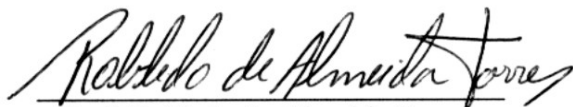
CDD 22.ed. 576.50727

MARCELO JANGARELLI

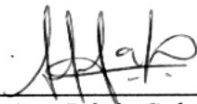
**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES NÍVEIS DE  
SIGNIFICÂNCIA NA IDENTIFICAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES  
MOLECULARES NO MELHORAMENTO GENÔMICO**

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

APROVADA: 6 de março de 2007.



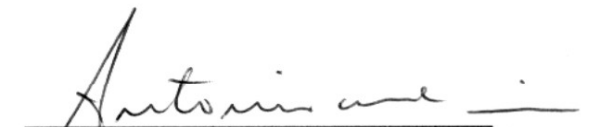
Prof. Robledo de Almeida Torres  
(Co-Orientador)



Prof. Ana Lúcia Salaro



Prof. Paulo Roberto Cecon



Prof. Antonio Policarpo Souza Carneiro



Prof. Ricardo Frederico Euclides  
(Orientador)

*Aos meus pais Antonio Jangarelli e Dinair Miranda da Silva Jangarelli.*

*A minha irmã Márcia Rejane Jangarelli.*

*A Pietra.*

*Dedico esta obra.*

*“Na vida, não tenha receio dos grandes problemas e/ou empreendimentos, pois se estamos acostumados a resolver os pequenos, também resolveremos os grandes. Não basta saber ou querer, precisamos realizar nossos objetivos para alcançar as pequenas ou grandes vitórias, pois não será com palavras bonitas ou promissoras que iremos convencer, mas sim com o testemunho da ação, sendo que este dispensa comentários”.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, fonte de toda minha fé, sabedoria e discernimento, sendo ele o meu refúgio e minha fortaleza, a quem confio e serei eternamente grato, pois está sempre iluminando e encaminhando-me por onde quer que eu vá e/ou por tudo que eu faço.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento.

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

Ao professor Ricardo Frederico Euclides, pelo desenvolvimento do programa de simulação Genesys, pela amizade, apoio, conselhos e credibilidade a minha pessoa.

Aos professores Paulo Roberto Cecon e Robledo de Almeida Torres pelos conselhos, amizade e confiança no decorrer do meu mestrado.

Aos professores Paulo Sávio Lopes e Antonio Policarpo Souza Carneiro por participarem da banca examinadora e pelas valiosas sugestões, aprimorando este trabalho.

Aos meus professores de graduação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) pelos ensinamentos básicos,

apoios e reconhecimento do meu esforço e da minha determinação para que eu pudesse conquistar mais esta vitória.

Aos amigos capixabas, em especial aos da graduação, que mesmo de longe, sempre acreditaram retribuindo-me confiança e respeito e que, a cada gratidão a mim direcionada, fortalecia-me para que eu continuasse nesta trajetória árdua.

À Lidiane Gomes e Stefanie Alvarenga, pelo acolhimento e apoio inicial, assim como pela amizade conquistada no decorrer do mestrado.

A todos os novos colegas conquistados nesta nova caminhada, das mais diversas partes do Brasil, onde mesmo nas dificuldades, o apoio mútuo prevaleceu.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, fazendo com que esta conquista possa ser comemorada por todos nós.

Obrigado a todos!

## **BIOGRAFIA**

MARCELO JANGARELLI, filho de Antonio Jangarelli e Dinair Miranda da S. Jangarelli, nasceu em Colatina, Estado do Espírito Santo, em 24 de fevereiro de 1979.

Em Dezembro de 2001, iniciou o curso de graduação em Zootecnia, na Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, em Alegre, ES, concluindo o mesmo em Dezembro de 2005. Durante este período desenvolveu trabalhos de monitoria nas disciplinas: Bioquímica para Ciências Agrárias no período de abril de 2003 até janeiro de 2004; Estatística Básica no período de abril de 2003 até dezembro de 2005; e Estatística Experimental no período de setembro de 2003 até dezembro de 2005. Desenvolveu também estágio na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, MG, na área de Melhoramento Genético Animal, nos meses de setembro e outubro de 2004.

Em março de 2006, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa – UFV, em Viçosa, MG, realizando estudos na área de Genética e Melhoramento Animal.

No dia 06 de março de 2007 submeteu-se a defesa de tese.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	.....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b>	.....	<b>xv</b>
<b>1.0</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>2.0</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>04</b>
2.1	O melhoramento genético.....	04
2.2	Genômica nos programas de melhoramento genético.....	06
2.3	Utilização de marcadores moleculares no mapeamento de QTLs.....	07
2.4	Associação estatística na detecção de QTLs.....	10
2.5	Inferência estatística.....	12
2.6	Perspectivas de aplicação da MAS.....	14
2.7	O sistema para simulação “GENESYS”.....	15
<b>3.0</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
3.1	Simulação dos Genomas.....	17
3.2	Níveis de significância utilizados na MAS.....	19
3.3	Parâmetros Avaliados.....	21
<b>4.0</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>23</b>
4.1	Característica de baixa herdabilidade: $h^2 = 0,10$ .....	23

4.1.1	Valor fenotípico.....	23
4.1.2	Endogamia média.....	27
4.1.3	Número de marcadores usados e fixados na MAS.....	30
4.1.4	Alelos favoráveis e desfavoráveis fixados.....	35
4.1.5	Limite de seleção.....	38
4.2	Característica de média herdabilidade: $h^2 = 0,35$ .....	41
4.2.1	Valor fenotípico.....	41
4.2.2	Endogamia média.....	45
4.2.3	Número de marcadores usados e fixados na MAS.....	47
4.2.4	Alelos favoráveis e desfavoráveis fixados.....	51
4.2.5	Limite de seleção.....	53
4.3	Característica de alta herdabilidade: $h^2 = 0,60$ .....	55
4.3.1	Valor fenotípico.....	55
4.3.2	Endogamia média.....	59
4.3.3	Número de marcadores usados e fixados na MAS.....	60
4.3.4	Alelos favoráveis e desfavoráveis fixados.....	63
4.3.5	Limite de seleção.....	65
<b>5.0</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>68</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Valores fenotípicos médios para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>25</b>
<b>Figura 2</b>	Endogamia média para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>29</b>
<b>Figura 3</b>	Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>32</b>
<b>Figura 4</b>	Número médio de marcadores fixados para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>33</b>
<b>Figura 5</b>	Porcentagem de alelos favoráveis fixados para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>37</b>

<b>Figura 6</b>	Porcentagem de alelos desfavoráveis fixados para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>38</b>
<b>Figura 7</b>	Limite de seleção para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>40</b>
<b>Figura 8</b>	Valores fenotípicos médios para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>43</b>
<b>Figura 9</b>	Endogamia média para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>46</b>
<b>Figura 10</b>	Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>48</b>
<b>Figura 11</b>	Número médio de marcadores fixados para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>49</b>
<b>Figura 12</b>	Porcentagem de alelos favoráveis fixados para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>52</b>
<b>Figura 13</b>	Porcentagem de alelos desfavoráveis fixados para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>53</b>
<b>Figura 14</b>	Limite de seleção para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>54</b>

<b>Figura 15</b>	Valores fenotípicos médios para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>57</b>
<b>Figura 16</b>	Endogamia média para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>59</b>
<b>Figura 17</b>	Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>61</b>
<b>Figura 18</b>	Número médio de marcadores fixados para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>61</b>
<b>Figura 19</b>	Porcentagem de alelos favoráveis fixados para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>64</b>
<b>Figura 20</b>	Porcentagem de alelos desfavoráveis fixados para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>64</b>
<b>Figura 21</b>	Limite de seleção para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>65</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Valores fenotípicos médios para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>26</b>
<b>Tabela 2</b>	Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>34</b>
<b>Tabela 3</b>	Valores fenotípicos médios para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>44</b>
<b>Tabela 4</b>	Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>50</b>
<b>Tabela 5</b>	Valores fenotípicos médios para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>58</b>

<b>Tabela 6</b>	Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).....	<b>62</b>
-----------------	--	-----------

## RESUMO

JANGARELLI, Marcelo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2007.  
**Avaliação de diferentes níveis de significância na identificação e caracterização de marcadores moleculares no melhoramento genômico.**  
Orientador: Ricardo Frederico Euclides. Co-Orientadores: Robledo de Almeida Torres e Paulo Sávio Lopes.

A era genômica veio para transformar a ciência como um todo. Objetivou-se com esse trabalho avaliar diferentes níveis de significância na identificação de marcadores moleculares relacionados com características quantitativas de baixa, média e alta herdabilidade ( $h^2$ ) de interesse no melhoramento genético. Uma comparação entre os níveis de significância de 1%, 5%, 10% e 20% foi realizada por meio de um sistema computacional de simulação genética (Genesys), utilizado para a simulação de três genomas, onde cada qual era constituído de uma única característica de baixa, média ou alta  $h^2$ , respectivamente. A partir de cada um dos genomas, simulou-se uma população base de 1000 animais (500 machos e 500 fêmeas). Em seguida, foi obtida uma população inicial para cada uma das populações base, totalizando três populações iniciais com 1000 animais cada (10 machos, 10 fêmeas/macho e 10 filhos/fêmea/macho). Após a obtenção desta população, iniciou-se o processo de avaliação dos quatro níveis de significância considerados, utilizando a seleção assistida por marcadores (MAS), onde os marcadores eram identificados por uma análise de regressão linear admitindo-se um nível mínimo de significância

para a análise. Um total de quatro processos de seleção a partir da população inicial, de acordo com a significância adotada, foi conduzido por 20 gerações consecutivas, repetindo-se cada qual por 10 vezes para minimizar os efeitos da oscilação genética. A análise da diferença dos quatro níveis de significância foi realizada individualmente para cada um dos três caracteres através do ganho fenotípico médio, buscando, além de verificar a existência de distinção nos ganhos, se esta diferença também se apresenta simultaneamente nas características de baixa, média e alta herdabilidade. Para complementar e melhor esclarecer os resultados fenotípicos obtidos, outros parâmetros genéticos foram considerados, tais como o coeficiente de endogamia, o número de marcadores usados na seleção, o número de marcadores fixados, a fixação de alelos favoráveis e desfavoráveis e o limite da seleção. Os resultados observados indicaram superioridade dos níveis de significância de maior magnitude (10% e 20%) em relação aos de menores valores (1% e 5%), quanto aos ganhos fenotípicos obtidos após a seleção assistida por marcadores moleculares além de benefícios nos parâmetros genéticos (menor coeficiente endogâmico; maior número de marcadores utilizados; menor fixação de marcadores; menor porcentagem de alelos desfavoráveis fixados; e menores limites de seleção) para todas as três características, embora de forma mais expressiva para o caráter de baixa herdabilidade e menos para o de alta  $h^2$ . Assim, mesmo que os níveis menores (1% e 5%) apresentem uma maior precisão na detecção de marcadores - QTLs (*quantitative trait loci*), eles deixam a desejar no que diz respeito às melhorias genéticas, resultando em ganhos fenotípicos e genéticos inferiores, fazendo com que a escolha de uma determinada significância estatística seja aceitável de acordo com o objetivo e a interdisciplinaridade da pesquisa em questão. É notório a relevância de associações estatísticas na identificação de marcadores ligados a QTLs e, conseqüentemente, na otimização de programas de melhoramento genômico.

## ABSTRACT

JANGARELLI, Marcelo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2007.  
**Evaluation of different significance levels on the identification and characterization of molecular markers in genomic improvement.** Adviser: Ricardo Frederico Euclides. Co-Advisers: Robledo de Almeida Torres and Paulo Sávio Lopes.

The genomic era came to transform science as a whole. The intention of this work was to evaluate different significance levels on the identification of the molecular markers, related with its quantitative characteristics of low, medium and high heritability ( $h^2$ ), aiming genetic improvement. A comparison between the significance levels of 1%, 5%, 10% and 20% was accomplished through a computer system of genetic simulation (Genesys), used for the simulation of three genomes, where each was constituted by only one low, medium or high  $h^2$  characteristic, respectively. First from each of these genomes, was simulated a base population of 1000 animals (500 males and 500 females). Next, it was obtained an initial population for each one of the base population, totalizing three initial populations of 1000 animals each (10 males, 10 female/males and 10 son/female/males). After obtaining this population, was initiated the evaluation process of the four significance levels considered, using the selection assisted by markers (MAS), where the markers were identified by a linear regression analysis, admitting a minimum significance level for it. A total of four selection processes based on the initial

population, according to the significance level adopted, was conducted through 20 consecutive generation, repeating each one 10 times to minimize the genetic oscillation effects. The analysis of the four significance level's differences was performed individually for each of the three characters, through a medium phenotype gain, looking forward to, besides checking the existence of gain distinction, if this difference will also appear simultaneously in the low, medium and high heritability characteristics. To complement and better explain the phenotype results obtained, other genetic parameters were considered, such as the endogamy coefficient, the number of markers used in the selection, the number of set alleles, the favorable and adverse allele setting and the selection's limit. The results obtained, indicated superiority in the significance level of higher magnitude ( 10% and 20%) related to the lower values ones (1% and 5%), and the phenotypic gains obtained after the assisted selection by the molecular marker, besides its benefits on the genetic parameter (lower endogamy coefficient; higher number of markers used, lower markers setting, lower percentage of adverse alleles set, and lower selection limits) for all three characteristics, although in an more expressive way for the low heritability character, and less for the high  $h^2$ . That way, even if the lower levels (1% and 5%) present a higher precision on the markers detection -QTLs ( quantitative trait loci), they are not satisfying enough related to the genetic benefits, resulting in a lower phenotypic and genotypic gain, making the choice of a certain statistic significance acceptable according to its aim and to the interdisciplinary research in question. It is notorious the relevance of statistics association on the identification of markers related to the QTLs and, consequently on the optimization of genomic improvement programs.

## **1.0 - INTRODUÇÃO**

O estudo sistemático de genomas completos iniciou-se com a proposta de utilizar a tecnologia de DNA para expandir o conceito básico de mapeamento genético proposto por A. H. Sturtevant no começo do século XX. Assim, por meio da construção de mapas genéticos completos dos cromossomos iniciou-se uma caminhada com passos cada vez mais largos na direção de mapear genes individuais e, por fim, de todo o repertório gênico de uma espécie (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Projetos de Genoma de animais domésticos estão sendo desenvolvidos por equipes distribuídas em vários países, disponibilizando um grande número de informações genéticas. Dentre os mapas genéticos mais adiantados, destacam-se o dos bovinos, suínos e o das aves. O principal objetivo desses projetos de mapeamento em animais é a localização de genes envolvidos com a variação genética para fenótipos economicamente importantes, que possam ser diagnosticados diretamente ou por meio de marcadores genômicos.

O melhoramento genético molecular (MGM) é visto como uma área que visa integrar as metodologias e técnicas empregadas no melhoramento genético tradicional com as tecnologias e estratégias da biologia molecular. Mais

recentemente, o MGM passou a considerar e a utilizar diferentes ferramentas, também disponibilizadas pela ciência genômica.

Os marcadores moleculares são seqüências de DNA que podem ser identificadas e mapeadas, sendo utilizados para identificar e localizar genes específicos nos cromossomos. Dentre os vários tipos de marcadores (morfológicos, isoenzimáticos, protéicos e DNA) que podem ser utilizados para confirmar a presença de um gene ou até mesmo para localizar sua posição no cromossomo, destacam-se os marcadores moleculares de DNA, permitindo ao geneticista "enxergar" os genes e o seu arranjo nos cromossomos, sem ter que confiar apenas na expressão da característica.

O uso da Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (MAS) em modernos programas de melhoramento, baseia-se no princípio de que, se um gene ou conjunto de genes está associado a um marcador molecular de fácil identificação, então a seleção para este marcador será mais eficiente do que para a própria característica (HAYWARD *et al.*, 1994). A MAS consiste de dois passos principais: identificação de associações entre locos marcadores e QTLs (*quantitative trait loci*), que são regiões cromossômicas relacionadas com a variação fenotípica das características quantitativas, e o uso destas associações para o desenvolvimento de populações melhoradas. Entretanto, a MAS deve ser encarada como uma ferramenta auxiliar e não substituta dos métodos tradicionais de melhoramento (LANDE e THOMPSON, 1990).

A informação genômica permite melhorar a precisão da avaliação fenotípica, podendo-se então determinar a localização e o efeito dos locos que influenciam as características economicamente importantes (QTLs).

Como poucos *loci* economicamente importantes são conhecidos, e os QTLs não têm suas bases moleculares definidas, estes atualmente têm sido referidos mais como uma associação estatística do que como uma entidade biológica, sendo a herança acompanhada pelos marcadores (GUIMARÃES e PINHEIRO, 1996).

Os procedimentos para localização e estimação de um QTL são tipicamente baseados em testes estatísticos, detectando alterações nas médias das

características entre classes de indivíduos definidas por um marcador ou por um intervalo entre marcadores (BURROW e BLAKE, 1998).

Desta forma, este trabalho trata de assuntos relacionados à genética não só por meio de fundamentações biogenéticas, mas também, alicerçado a associações estatísticas.

Ao se adotar uma determinada significância estatística o pesquisador não deve basear-se apenas em revisões de literatura e/ou em trabalhos realizados em sua área, devendo sim questionar o que procura pesquisar, qual a melhor forma de lidar com suas observações ou mesmo de explicar seus resultados, tendo em vista o não comprometimento da integridade de sua pesquisa. Também não devemos esquecer de que a estatística não representa apenas números, mas números com um contexto que buscam explicações de fenômenos da melhor forma possível, sejam eles da área biológica, biomédica, social/humana ou exata.

Em virtude dos argumentos apresentados, objetivou-se com este trabalho avaliar a identificação / detecção de marcadores moleculares (QTLs) ao utilizar diferentes níveis de significância sob seleção assistida por marcadores moleculares para características de baixa, média e alta herdabilidade.

## **2.0 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 - O melhoramento genético**

A genética quantitativa, aliada ao uso de técnicas computacionais e a estatística, tem assegurado ganho genético contínuo para um grande número de espécies. A maioria do progresso genético obtido nas características quantitativas tem sido decorrente da seleção baseada no fenótipo do animal ou na estimativa do valor genético aditivo derivado do fenótipo. Essa seleção é realizada sem o conhecimento do número e do efeito dos genes que atuam na característica de interesse.

Por isso, a arquitetura genética das características tem sua função e fisiologia pouco conhecida, quando se utiliza a genética quantitativa no melhoramento animal (DEKKERS, 1999). Apesar disto, as taxas de ganho genético que foram e ainda estão sendo obtidas em programas de melhoramento demonstram claramente o poder do uso da genética quantitativa na seleção.

O desenvolvimento de técnicas moleculares tem permitido o avanço no conhecimento de como determinados genes influenciam características de interesse econômico. Nos últimos anos, essa nova dimensão tem tornado mais acessível à análise genética de animais através da habilidade de clonagem e

seqüenciamento dos genes responsáveis pela expressão de características de produção, o que facilitou o reconhecimento e o uso de polimorfismos de DNA como marcadores genéticos. Novas biotecnologias têm permitido a identificação e manipulação direta de seqüências de DNA em grande escala. Nos próximos anos, o conhecimento sobre o controle genético de características de importância econômica irá aumentar drasticamente, possibilitando a complementação dos métodos tradicionais de melhoramento, visando ganhos genéticos adicionais.

O melhoramento genético, através da seleção e cruzamentos, busca, a cada nova geração, aumentar a freqüência de genes associados às características fenotípicas desejáveis, gerando um aumento de produção. O avanço no conhecimento de técnicas moleculares tem permitido a identificação e manipulação direta de seqüências de DNA.

A maioria das características quantitativas são determinadas por muitos genes, cada um deles com pequeno efeito. Entretanto, alguns desses genes podem ter maior importância no controle de determinada característica fenotípica. Neste caso, é possível identificar o QTL (*loci* para característica quantitativa) através da utilização de marcadores genéticos em uma população. O mapeamento de QTLs tem sido utilizado para mapear genes para várias características em diferentes espécies. A capacidade de detecção de QTLs é limitada pelo tamanho da população, exigência estatística para detecção dos locos, número de marcadores utilizados no mapeamento e herdabilidade da característica em estudo.

A identificação de QTLs contribui para o conhecimento do genoma, trazendo informações sobre a regulação gênica envolvida no controle de características de importância econômica. Uma vez localizado, o QTL pode ter maiores informações quanto aos seus efeitos na característica em estudo, podendo estas serem utilizadas na seleção assistida por marcadores genéticos, que em conjunto com a seleção por métodos quantitativos poderá trazer ganhos genéticos maiores em menor espaço de tempo.

## 2.2 - Genômica nos programas de melhoramento genético

A habilidade do melhorista em reconhecer aqueles animais que possuem alelos ou combinação de alelos que aumentam a produção é muito limitada. A seleção clássica é baseada no fenótipo do indivíduo e, em muitas situações, o fenótipo não se expressa no indivíduo para características ligadas ao sexo (leite e produção de ovos) ou em características de difícil mensuração (eficiência alimentar, resistência a doenças, adaptação). Em muitas situações, o fenótipo não é uma indicação precisa do genótipo. Isto deriva do fato de que a variação genética em produtividade depende da variação alélica em um grande número de locos e a expressão gênica destes locos é altamente afetada pelos fatores do meio ambiente. Nesta situação, diz-se que a variação da característica ou a variação genética é de natureza quantitativa e os locos individuais que afetam a expressão da característica são denominados QTL (locos de característica quantitativa) (GELDERMANN, 1975).

O marcador molecular de DNA é uma técnica que permite detectar diferenças na seqüência do DNA, possibilitando a seleção indireta para genes de interesse no melhoramento. O ganho genético, para características de difícil mensuração, baixa herdabilidade e limitadas pelo sexo, poderá ser aumentado com a utilização de marcadores moleculares no auxílio à seleção. A identificação individual em nível molecular irá certamente contribuir para uma melhor utilização dos recursos genéticos. Estas novas ferramentas genômicas, baseadas na tecnologia do DNA, irão possibilitar entender a biologia dos genes envolvidos nas características de interesse.

Assim, com o desenvolvimento da biotecnologia, estão sendo disponibilizadas ferramentas para elucidar o controle genético de características quantitativas complexas, como é o caso das características de produção. Dentre essas ferramentas incluem-se a identificação de regiões cromossômicas associadas à QTLs e mutações funcionais (causais). A genética molecular poderá então ser utilizada como complemento aos métodos tradicionalmente empregados, através da seleção assistida por marcadores (MAS), para melhorar a eficiência dos programas de melhoramento. Algumas limitações da seleção baseada no fenótipo

poderão ser parcialmente eliminadas com o uso da informação molecular, possibilitando a seleção diretamente pelo genótipo (DNA), resultando em uma seleção mais acurada ou precoce, ou ainda, de mais baixo custo (DEKKERS e HOSPITAL, 2002), dependendo da característica em questão.

A Genômica é uma ciência que estuda o genoma aplicado a sistemas biológicos (LANDER e WEINBERG,2000). De acordo com BURT (2002), existem quatro áreas de interesse na genômica: 1. Identificação e mapeamento de marcadores genéticos, 2. Mapeamento de QTL, 3. Identificação de genes candidatos e 4. Descoberta de genes.

Um mapa rico em informações sobre marcadores é imprescindível para a identificação e mapeamento de QTLs em populações. O próximo passo após o mapeamento é a busca por genes nestas regiões, que podem explicar a variação fenotípica determinada por estes QTLs. Entendendo, como eles funcionam e como influenciam as características econômicas, será possível buscar novos direcionamentos para melhorar o desempenho e a qualidade do produto final. A comparação entre mapas genômicos de espécies distintas tem auxiliado a procura por genes importantes e potencialmente úteis. Com os avanços na genômica funcional, será possível a descoberta de novos genes, a partir de estudos de expressão gênica, facilitando a dissecação de características poligênicas.

### **2.3 – Utilização de marcadores moleculares no mapeamento de QTLs**

Como a localização e a identificação de um QTL não são conhecidas *a priori*, não há como discriminar os genótipos do QTL dos indivíduos parentais ou de sua progênie.

Assim, são empregadas marcas com localização genômica conhecida, marcadores moleculares, estrategicamente dispostos ao longo do genoma. A hipótese empregada para a localização de um QTL é de que estas marcas, ou marcadores moleculares polimórficos, estarão próximas e, portanto, suficientemente ligadas ao QTL, de forma que, na maioria das progênies de um

indivíduo heterozigoto para o marcador, será possível associar as variações na característica quantitativa de interesse com o genótipo do marcador, que será indicativo do genótipo do QTL. A associação entre os genótipos do QTL e do marcador não ocorrerá quando tiver ocorrido “crossing-over” na meiose da formação de gametas da geração anterior, indicativo do desequilíbrio da ligação. A frequência de ocorrência de recombinação causada por “crossing-over” dos cromossomos dos indivíduos parentais permitirá estabelecer a estimativa da distância genética entre o marcador e o QTL. Como a localização do marcador é conhecida, desta forma será possível conhecer a estimativa da localização do QTL.

A disponibilidade de marcadores moleculares tem possibilitado estudos de genética quantitativa, tais como a determinação do número de genes afetando um caráter, a localização e o percentual da variância explicada por tais genes, o tipo de ação gênica associada, a importância da epistasia e o efeito ambiental em cada gene. Para características quantitativas, vários marcadores são geralmente envolvidos (SAGHAI-MAROOOF et al., 1996; DUDLEY, 1997). QTLs têm o mesmo significado da herança quantitativa para o melhoramento clássico, ou seja, seu controle é condicionado por vários genes, e o fenótipo dos indivíduos é definido em termos de variâncias. O propósito do mapeamento de QTLs é inferir os genótipos de um QTL, a fim de poder estimar os efeitos e a localização de QTLs a partir das associações com marcadores genéticos conhecidos (LIU, 1998).

Para o mapeamento de QTLs, são criados mapas de ligação com marcadores moleculares, que fornecem os dados de ordenamento e as distâncias de mapa entre estes marcadores na população segregante estudada. A análise de QTLs tem prosseguimento com a construção de duas planilhas de dados, uma com a caracterização genotípica de cada indivíduo da população através de marcadores moleculares, e a outra com seu respectivo valor fenotípico. Se determinado marcador se correlaciona favoravelmente a determinada característica mais seguidamente do que se esperaria por acaso, provavelmente este marcador estará muito próximo ao gene responsável pela expressão desta característica. Os marcadores independentemente associados a um QTL para uma determinada característica contribuem apenas com uma porção variável no valor final da

característica. Os marcadores identificados podem ou não corresponder a genes de fato, podendo ser compostos por parte do gene ou, inclusive, por uma região adjacente ao gene de interesse. Neste caso, quanto mais afastado estiverem estes marcadores dos genes responsáveis pela expressão da característica, maior a chance de que, em uma meiose, estes marcadores segreguem independentemente do gene, perdendo-se a relação entre a presença do marcador e o alelo favorável.

A análise de QTLs, como visto anteriormente, envolve a procura por associações significativas entre a expressão do caráter e os marcadores moleculares mapeados. Existem várias metodologias para detectar estas associações, baseadas em procedimentos estatísticos, como teste-t, regressão linear simples ou múltipla, regressão não-linear e mapeamento por intervalo. A identificação de associações significativas entre QTLs e marcadores nem sempre tem significado biológico devido à multiplicidade de problemas que envolvem os testes estatísticos. Outros fatores podem influenciar na detecção de QTLs, como o número de genes envolvendo a expressão do caráter, a existência de interações gênicas, a herdabilidade do caráter, o número de genes segregando na população de mapeamento, o tipo e tamanho da população de mapeamento e o número de marcadores presentes no mapa de ligação (LIU, 1998).

O mapeamento de QTLs é considerado uma importante ferramenta de apoio ao melhoramento genético por possibilitar que regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres importantes sejam identificadas.

Uma das estratégias para aumentar o poder de identificação de QTLs é justamente o modo pelo qual são construídas as populações de mapeamento. A utilização de populações  $F_2$  permite obter as três dosagens gênicas de um loco (AA, Aa, aa, por exemplo), possibilitando estimar os efeitos aditivos e desvios de dominância para QTLs individuais. A resolução da localização de QTLs é fortemente influenciada pelo número de meioses estudadas, a qual depende do número de indivíduos analisados na população, efeitos ambientais, erros de medida, segregação de outros QTLs e interação entre QTLs. Populações  $F_2$  são mais informativas do que de retrocruzamentos de mesmo tamanho, uma vez que o dobro de meioses são estudadas em cada indivíduo.

Uma importante constatação é que os QTLs, na maioria das vezes, não são coincidentes entre populações constituídas por diferentes parentais. Estas variações detectadas pela análise de QTLs, segundo HUANG et al. (1996), são devidas a: 1) Falta de expressão gênica em algumas populações devido aos diferentes conjuntos de genes; 2) não há variação entre os dois parentais para alguns QTLs, assim, não há segregação para estes QTLs; 3) efeitos ambientais confundem a expressão de alguns QTLs, especialmente para populações F<sub>2</sub> onde QTLs com efeitos muito pequenos não podem ser detectados sem experimentos replicados. Além disto, sob condições ambientais que variam de um experimento para outro, os QTLs variam até mesmo entre populações que utilizam os mesmos parentais.

Desta forma, a utilização de marcadores moleculares na análise de QTLs e seleção assistida deve ser vista com algumas ressalvas, apesar de alguns resultados serem bastante promissores. O fato de a análise de QTLs não identificar necessariamente um gene, mas uma região genômica que pode conter diversos outros genes, incluindo os desfavoráveis para uma certa característica, faz com que os resultados forneçam apenas uma idéia aproximada das regiões que a controlam. Estudos posteriores visando à identificação dos principais genes e o ambiente específico onde estes são expressos são necessários.

#### **2.4 – Associação estatística na detecção de QTLs**

Por definição, QTLs são regiões cromossômicas relacionadas com a variação fenotípica das características quantitativas. Como poucos *loci* economicamente importantes são conhecidos, e os QTLs não têm suas bases moleculares definidas, estes têm sido referidos mais como uma associação estatística do que propriamente como entidade biológica, sendo sua herança acompanhada pelos marcadores. Portanto, os QTLs têm sido identificados como associações estatísticas entre dados relativos a uma região genômica e a variabilidade fenotípica existente entre populações segregantes (LI, 1998).

Por serem assim caracterizados, eles podem ter a magnitude de seus efeitos mensurada e avaliada em diferentes níveis de significância. Em populações endogâmicas, a detecção de QTLs seria prejudicada, pois, caso este se encontre fixado ou próximo da fixação, a variabilidade existente não será suficiente para detecção estatística do mesmo. Por este motivo, faz-se necessário a construção de grandes famílias geneticamente divergentes para mapeamento.

Dentre os principais problemas encontrados para o mapeamento destes QTLs, CHURCHILL e DOERGE (1998) citam a dificuldade na detecção de todos os fatores genéticos que possuem efeitos sobre a característica estudada e estão segregando independentemente na população, sua localização em relação ao marcador genômico empregado e, por fim, a estimação de seus efeitos e suas interações.

Como mencionado no tópico anterior, os procedimentos para localização e estimação de um QTL são tipicamente baseados em testes estatísticos que possuem algum poder para detecção de alterações nas médias das características entre classes de indivíduos definidas por um marcador ou por um intervalo entre marcadores. Um grande número de metodologias estatísticas para análise tem sido apresentado pela literatura, sendo a maioria baseada em métodos de regressão e verossimilhança. A localização de um dado QTL pode ser inferida pela identificação de marcadores mais fortemente associados com o surgimento de um determinado fenótipo.

Desta forma, o mapeamento de *loci* envolvidos no controle gênico de caracteres quantitativos (QTLs) difere dos demais tipos de experimentos conduzidos em genética, por tratar-se, basicamente, de um procedimento de testes múltiplos, uma vez que consiste em distribuir marcadores moleculares por todo o genoma e, em seguida, realizar uma varredura ou "screening" dessas marcas, no intuito de verificar qual (is) está (ão) ligada(s) a QTLs, no caso de estar-se utilizando a análise de marcas simples, ou de posições relativas no intervalo entre duas marcas ao utilizar-se o mapeamento por intervalo (LANDER e BOTSTEIN, 1989).

Existem dois tipos de erros na inferência estatística que podem acontecer na detecção dos QTLs. O primeiro é o erro tipo I ou erro alfa ( $\alpha$ ), que acontece

quando não existe QTL ligado a um dado marcador, mas incorretamente o teste estatístico detecta sua presença. O erro tipo II ocorre quando existe ligação QTL - marcador, mas o teste estatístico falha na detecção. O erro tipo I é originado pelo teste estatístico utilizado devido ao não estabelecimento de limites adequados de significância estatística. Já o erro tipo II pode ser originado por número insuficiente de amostragem, principalmente quando associado com QTLs de pequeno efeito.

Um problema decorrente deste tipo de análise refere-se à significância a ser adotada, também chamada nível de significância genômico, visto que, este é definido pelo pesquisador.

O nível de significância de um teste estatístico é definido como a probabilidade de se cometer um erro Tipo I (rejeitar uma hipótese de nulidade verdadeira). No presente caso, a hipótese de nulidade testada é a de não existência de QTL associado à marca. No mapeamento de QTLs, cometer um erro Tipo I implica admitir a existência de um QTL inexistente (QTL fantasma). Assim, a importância da análise estatística é estabelecer qual a probabilidade (significância) de o acaso ser responsável pelo resultado encontrado na pesquisa.

Desta forma, a localização e caracterização de importantes marcadores estão condicionadas ao nível de significância adotado, que é de extrema relevância, visto que, o desenvolvimento tecnológico na área de marcadores moleculares tem sido fascinante e extremamente rápido, representando um ícone para os programas avançados de melhoramento animal, fornecendo a mais alta precisão na identificação individual e estudos de vínculo genético.

## **2.5 – Inferência estatística**

A significância estatística de um resultado é uma medida estimada do grau em que este resultado é "verdadeiro" (no sentido de que seja realmente o que ocorre na população, ou seja, no sentido de "representatividade da população").

Mais concretamente, no teste de hipóteses com base em frequência estatística, a significância de um teste é a probabilidade máxima de rejeitar acidentalmente uma hipótese base verdadeira (uma decisão conhecida como erro do tipo I). A significância de um resultado é também chamada de valor p (p-value).

Em testes de hipóteses, na Estatística, um erro do tipo I consiste em rejeitar uma hipótese nula que é verdadeira, por outras palavras, chegar a um resultado que tem significância estatística quando na verdade ele aconteceu por acidente.

Um teste com alta especificidade terá menores erros do tipo I. O símbolo para a probabilidade de um erro do tipo I é  $\alpha$  (alpha).

Se o nível de significância é menor, o valor é menos provavelmente um extremo em relação ao valor crítico. Deste modo, um resultado que é "significante ao nível de 1%" é mais significativo do que um resultado que é significativo "ao nível de 5%". No entanto, um teste ao nível de 1% é mais susceptível de padecer o erro do tipo II do que um teste de 5 %, e por isso terá menor poder estatístico.

Na Estatística, em teste de hipóteses, um erro do tipo II consiste em falhar na rejeição de uma hipótese nula inválida (ou seja, falsamente aceitar uma hipótese inválida). Esta hipótese nula é uma hipótese que é presumida verdadeira até que provas estatísticas sob a forma de testes de hipóteses indiquem o contrário. É uma hipótese que você está interessado em confrontar com os fatos. Muitas vezes é uma afirmação quanto a um parâmetro que é propriedade de uma população, sendo que é impossível observar toda a população, e o teste é baseado na observação de uma amostra aleatória da população. Tal parâmetro é frequentemente a média ou o desvio padrão.

O símbolo para a probabilidade de um erro do tipo II é  $\beta$  (beta). O poder de um teste estatístico é definido como  $1 - \beta$ . Um teste com alta sensibilidade terá menos erros do tipo II. No entanto, à medida que a probabilidade do erro de tipo II diminui, aumenta a susceptibilidade da ocorrência do erro de tipo I.

Não há meio de evitar arbitrariedade na decisão final de qual nível de significância será tratado como realmente "significante". Ou seja, a seleção de um nível de significância acima do qual os resultados serão rejeitados como inválidos

é arbitrária. Na prática, a decisão final depende usualmente de: se o resultado foi previsto a priori ou apenas a posteriori no curso de muitas análises e comparações efetuadas no conjunto de dados; no total de evidências consistentes do conjunto de dados; e nas "tradições" existentes na área particular de pesquisa. Tipicamente, em muitas ciências resultados que atingem nível-p 0,05 são considerados estatisticamente significantes, mas este nível ainda envolve uma probabilidade de erro razoável (5%). Resultados com um nível-p 0,01 são comumente considerados estatisticamente significantes, e com nível-p 0,005 ou nível-p 0,001 são freqüentemente chamados "altamente" significantes. Estas classificações, porém, são convenções arbitrárias e apenas informalmente baseadas em experiências gerais de pesquisa. Uma consequência óbvia é que um resultado considerado significativo a 0,05, por exemplo, pode não sê-lo a 0,01, mas, uma vez significativo ao nível de 0,01, com certeza será significativo a 0,05.

## **2.6 - Perspectivas de aplicação da MAS**

Todas as informações geradas a partir de estudos genômicos serão essenciais para incorporação em programas que visem melhorar a produção e qualidade do produto final. Entretanto, SPELMAN e BOVENHUIS (1998) salientam que para a utilização de QTLs em programas de melhoramento é importante combinar informações obtidas em diferentes populações e conduzir estudos de validação destes QTLs.

As informações provenientes da genética molecular podem ser usadas para implementar estratégias de melhoramento através da seleção assistida por marcadores (MAS). A MAS pode ser utilizada em conjunto com a seleção fenotípica, na introgressão de determinada característica de uma população para outra, mantendo as características desejáveis da população receptora, e também, na predição do desempenho e heterose da progênie resultante de cruzamentos.

A introgressão gênica é uma estratégia de melhoramento genético utilizada quando se quer introduzir um gene ou um QTL específico de uma população com

baixa produção (doadora) para outra de alta produtividade (receptora) que não apresenta aquele gene em particular. Os genes indesejáveis do genoma do doador devem ser excluídos o mais rápido possível do genoma do receptor. Esta estratégia envolve apenas retrocruzamento e seleção, porém, marcadores moleculares podem melhorar a eficiência da introgressão pela identificação de portadores do gene de interesse, assim como acelerando o processo de reconstituição da composição genética do receptor (DEKKERS e HOSPITAL, 2002).

Além da MAS, a genética molecular pode ser aplicada para verificação ou identificação de parentesco e em programas de conservação genética, para identificar populações genéticas únicas e quantificar a diversidade genética (DEKKERS e HOSPITAL, 2002).

## **2.7 – O sistema para simulação “GENESYS”**

Nos últimos anos, a simulação computacional vem assumindo uma importância cada vez maior como ferramenta de aquisição de conhecimento.

A simulação de populações por meio de programas computacionais tem sido usada por um grande número de geneticistas e melhoristas, viabilizando trabalhos que na prática demandariam certo tempo, tempo este crucial para otimizar programas de melhoramento genético.

O programa computacional de simulação genética – Genesys (versão 2006), desenvolvido por EUCLYDES (1996) é escrito na linguagem de programação FORTRAN, permitindo a criação de genomas de certa complexidade, que podem ser utilizados para formação de populações de acordo com a estrutura desejada, sob influência de questionamentos propostos a serem analisados, sejam através de métodos de seleção, pressuposições estatísticas, sistemas de acasalamentos, dentre outros fatores, dispensando, portanto, animais e laboratórios. Este programa vem sendo utilizado em vários trabalhos desenvolvidos na Universidade Federal de Viçosa, principalmente quando

objetiva-se comparar metodologias de seleção ao longo de várias gerações, sob certas particularidades relacionadas à estrutura genética e/ou matemática da população, em que não é possível a utilização de dados reais.

### **3.0 - MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 - Simulação dos Genomas**

Para o presente estudo, foram simulados genomas semelhantes ao da espécie avícola (frangos de corte), possibilitando estudar os efeitos dos diferentes níveis de significância em características de herdabilidades baixa, média e alta, sobre os ganhos fenotípicos, número de marcadores usados na seleção e demais parâmetros genéticos, calculados em populações, submetidas à seleção assistida por marcadores moleculares.

Utilizando-se o programa Genesys, foram simulados três genomas, cada qual contendo 80 marcadores. Cada genoma era constituído de uma característica quantitativa, designada simplesmente como peso (kg), governada por 200 locos quantitativos. Cada genoma também foi usado para a construção de duas populações, nas quais a característica quantitativa possuía herdabilidade de 0,10, 0,35 e 0,60, respectivamente.

Todos os genomas simulados, para este estudo, possuíam os seguintes parâmetros em comum:

- a) genomas com 958 centimorgans de comprimento;
- b) 40 cromossomos de tamanho aleatório;

- c) os efeitos aditivos dos locos quantitativos foram simulados, segundo a distribuição normal;
- d) os locos quantitativos foram dialélicos e não possuíam desvios de dominância e nem interações entre si;
- e) não possuíam cromossoma sexual e as freqüências gênicas iniciais eram iguais para ambos os sexos;
- f) as freqüências gênicas iniciais para os locos quantitativos seguiam a distribuição normal, apresentando valores próximos a 0,5;
- g) as freqüências gênicas iniciais para os marcadores moleculares seguiam distribuição uniforme, apresentando valores próximos a 0,5;
- h) os efeitos de ambiente foram simulados, conforme a distribuição normal;
- i) a média fenotípica e o desvio padrão foram iguais para os três genomas, 2,00 kg e 0,20 kg, respectivamente.

Para as três estruturas genômicas simuladas, foram construídas populações bases compostas, cada uma, de 500 machos e 500 fêmeas. Com os 1000 descendentes, obtidos pelo cruzamento de 10 machos e 100 fêmeas, escolhidos aleatoriamente nestas populações bases, formaram-se as populações iniciais que, por sua vez, foram submetidas ao método de seleção assistida por marcadores moleculares (MAS), onde nesta seleção, os reprodutores foram selecionados com base nos genótipos de um número de marcadores moleculares, que estariam estatisticamente associados a locos quantitativos. Este método de seleção foi testado por 20 gerações consecutivas com 10 repetições cada qual visando minimizar os erros e efeitos da oscilação / flutuação genética, sendo que cada repetição começava sempre na mesma população inicial.

A cada geração, os 10 machos e as 100 fêmeas, que obtiveram os melhores desempenhos, foram acasalados ao acaso produzindo 1000 descendentes (dez filhos por acasalamento) que, por sua vez, formavam a geração seguinte.

Para cada genoma constituído de uma característica de baixa, média ou alta herdabilidade, foram praticados quatro seleções assistida por marcadores moleculares, onde a distinção de cada qual estava no nível de significância adotado para a identificação de marcadores associados aos QTLs de interesse,

sendo que esta identificação dava-se através de uma análise de regressão linear simples entre os genótipos dos marcadores com os valores fenotípicos dos descendentes dos acasalamentos, buscando verificar uma possível inclinação na reta de regressão que evidencia-se a influência dos genótipos dos marcadores sobre os valores fenotípicos observados nas progênies.

É válido lembrar que, a cada nova geração, a começar da geração zero ou população inicial, foram realizadas avaliações consecutivas para detectar possíveis marcadores associados à *loci* quantitativos, validando os marcadores a cada nova geração ao longo das 20 gerações. Na prática isto não é observado, fazendo-se tal validação de marcas em intervalos de gerações variáveis, de acordo com a espécie considerada, onde, uma vez detectado marcas de interesse, estas são utilizadas por um determinado número de gerações até que se proceda uma nova avaliação para a detecção de outras marcas.

### **3.2 – Níveis de significância utilizados na MAS**

Os níveis de significância que caracterizavam os quatro processos de MAS por genoma / população inicial foram:

**Nível de significância de 1 %** - Este nível é considerado de alta significância, onde somente os marcadores que estiverem mais fortemente relacionados ao genótipo dos QTLs e, conseqüentemente, ao fenótipo da característica de interesse, serão selecionados e usados na MAS. O nível de 1 % trabalha com uma maior precisão, visto que, têm-se 99 % de probabilidade de que o resultado seja verdadeiro, ou seja, que o marcador tenha realmente efeitos sobre a expressão fenotípica do caráter considerado, resultando conseqüentemente, em um menor número de marcadores usados na seleção em função da forte ligação exigida entre as associações dos genótipos do marcador - QTL ao fenótipo. Contudo, como o nível de significância representa um erro, ter-se-á uma probabilidade de 1 % de que o resultado encontrado seja ao acaso, sendo assim, um possível erro (falha na detecção) poderia trazer grandes efeitos prejudiciais

sobre os parâmetros genéticos e fenotípicos, como consequência de uma detecção altamente significativa, porém desfavorável.

**Nível de significância de 5 %** - Neste caso, os resultados são ditos como significativos, selecionando os marcadores - QTLs até o nível de 5%, ou seja, compreendendo os marcadores significativos a nível de 1%, assim como também os significativos para maiores valores de significância genômica, por exemplo, para 2%, 3%, 4% ou 5%. Desta forma, um número igual ou maior de marcadores será selecionado, em comparação ao nível de 1%, em virtude da menor precisão exigida na ligação entre o marcador - QTL. Contudo, um maior erro estará associado a tais detecções, onde mesmo existindo um maior número de falhas, estas terão menores efeitos sobre os parâmetros em função de detecções menos significativas entre os genótipos do marcador - QTL, em comparação com o nível de 1%.

**Nível de significância de 10 %** - Os marcadores - QTLs selecionados a este nível são referidos como sugestivos, tornando-se indicadores de possíveis associações entre seu genótipo com as expressões fenotípicas nos indivíduos. Como consequência, um maior número de marcas será selecionado neste nível, visto que, ele irá compreender os marcadores que são altamente significativos ( $\alpha = 1\%$ ), os significativos ( $\alpha = 5\%$ ), assim como os sugestivos ( $\alpha = 10\%$ ). É válido lembrar que as falhas na detecção serão mais pronunciadas neste nível, pois estamos trabalhando com um maior erro, em comparação com os dois níveis anteriores, entretanto, apesar disto, uma menor ligação / relação será exigida entre os marcadores - QTLs com os valores fenotípicos. Desta forma, detectada uma eventual falha, esta terá menores efeitos em virtude da menor significância genômica exigida na MAS.

**Nível de significância de 20 %** - Também neste caso, os marcadores - QTLs selecionados serão referidos como sugestivos, sendo assim indicadores de possíveis associações do genótipo do marcador - QTL com o fenótipo da característica em questão, porém são menos preferidos do que os sugestivos a nível de 10% em função do maior erro a ele associado, visto que, têm-se uma certeza de 80% de que o resultado seja verdadeiro e, conseqüentemente, um erro de 20%, erro este bem superior aos relacionados com as significâncias genômicas

anteriores. O número de marcas associadas aos QTLs a serem selecionadas será igual ou, na maioria dos casos, superior ao número de marcas selecionadas nos níveis anteriores, pois, neste nível, serão selecionados os marcadores moleculares que são significativos em relação a todos os níveis inferiores a 20%, ou seja, compreenderá um número de marcadores selecionados que representa a soma dos que foram significativos aos níveis de 1%, 5% e de 10%, visto seu efeito acumulativo, disponibilizando assim um maior número de informações, contudo, com uma menor precisão. Também teremos uma maior falha na detecção de marcas, detectando marcadores - QTLs que sejam indiferentes ou mesmo prejudiciais a expressão fenotípica, contudo, conforme informado anteriormente, os marcadores exclusivos selecionados neste nível são aqueles que foram significativos entre os níveis de 10% e 20%, representando assim pouco efeito nos parâmetros, uma vez que, na detecção, é exigido uma fraca ligação entre os genótipos dos marcadores - QTLs com o valor fenotípico da característica, em comparação com os três níveis de significância citados anteriormente, selecionando assim marcadores - QTLs de menor efeito.

### **3.3 – Parâmetros avaliados**

Para comparação dos quatro diferentes níveis de significância utilizados na seleção assistida por marcadores (MAS), para identificação e caracterização de marcadores moleculares associados à QTLs, usaram-se os seguintes parâmetros:

- a) valor fenotípico;
- b) endogamia média;
- c) número de marcadores usados na seleção;
- d) número de marcadores fixados;
- e) porcentagem de locos fixados na direção do alelo favorável;
- f) porcentagem de locos fixados na direção do alelo desfavorável;
- g) limite de seleção.

Em cada parâmetro foi considerado um valor médio, obtido da soma do valor do parâmetro em cada animal dividido pelo respectivo número de animais presente na geração (1000). Porém, como foram utilizados 10 repetições, este valor médio obtido em cada geração também foi somado e dividido por 10 (nº. de repetições) para representar um valor único de acordo com o total de 1000 animais por geração e 10 repetições por geração, ou seja, a média de cada parâmetro era oriunda de 10000 observações.

É válido lembrar que foram realizados doze processos de MAS, quatro em cada característica que se relacionava à mesma população (estrutura genômica), porém distinguindo apenas na significância. Contudo, entre as três características, os processos seletivos eram independentes, visto que, eram praticados em populações distintas.

## **4.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 – Característica de baixa herdabilidade: $h^2 = 0,10$**

#### **4.1.1 - Valor fenotípico**

Na figura 1 são apresentados os valores fenotípicos médios obtidos pela seleção assistida por marcadores moleculares (MAS) no decorrer de 20 gerações, realizando 10 repetições com objetivo de reduzir os efeitos de oscilação genética. Os resultados também são apresentados em valores numéricos na tabela 1.

A distinção dos quatro processos de seleção (MAS) executados estava no nível de significância adotado, evidenciando ser a identificação e caracterização de marcadores uma questão onde a estatística apresenta grande relevância, não devendo restringir os resultados apenas aos aspectos biológicos dos marcadores - QTLs.

Todos os quatro processos de seleção partiram de um mesmo valor fenotípico, que foi de 2,014 kg, referindo-se a característica peso de baixa herdabilidade ( $h^2 = 0,10$ ), progredindo no decorrer das gerações. A seleção visa

aumentar o peso, objetivo alcançado em maior magnitude para os níveis de 5%, 10% e, em especial, para o nível de 20%. Nota-se que a partir da 10<sup>a</sup> geração, a significância de 1% apresentou uma uniformidade no progresso fenotípico, resultante da aproximação do limite máximo da seleção, redução da variabilidade genética e diminuição do número de marcadores moleculares utilizados na seleção em virtude da fixação da maioria dos *loci* alélicos.

É interessante notar que a partir da 6<sup>a</sup> / 7<sup>a</sup> geração do processo de seleção, ao adotar níveis de significância de maior magnitude, obtém-se os melhores resultados fenotípicos em relação ao nível de menor magnitude (1%).

Para características de baixa herdabilidade os processos de seleção mais indicados são aqueles que não se baseiam apenas no fenótipo do indivíduo, visto que, devido à herdabilidade baixa, o valor fenotípico não representa o valor genético do indivíduo de forma confiável. Neste caso, a seleção fenotípica ou individual não é muito recomendada, exceto para algumas particularidades, tais como para características que se expressão em apenas um dos sexos, características de difícil mensuração ou mesmo quando o objetivo é uma seleção mais precoce.

Desta forma, para otimizar o melhoramento genético, a seleção por marcadores moleculares (MAS) torna-se um bom indicativo para esta característica, pois as avaliações são em nível de genoma, proporcionando uma maior precisão nos resultados. Contudo, apesar de sua maior acurácia em relação aos outros métodos seletivos, sua eficiência não chega a ser muito superior em função de a característica referida ser de baixa herdabilidade, onde a parte genética não chega a ser de grande importância, já que representa um caráter pouco herdável e altamente influenciado pelo ambiente.

Isto pode ser comprovado em função do baixo ganho fenotípico obtido ao término das 20 gerações de seleção, mas diferente de acordo com a significância admitida, diferença esta bem representativa, com uma superioridade de aproximadamente 62% no ganho fenotípico médio ao adotar-se um nível de 20% (ganho de peso de 0,4701 kg) com relação ao nível de 1% (ganho de peso de 0,2897 kg).

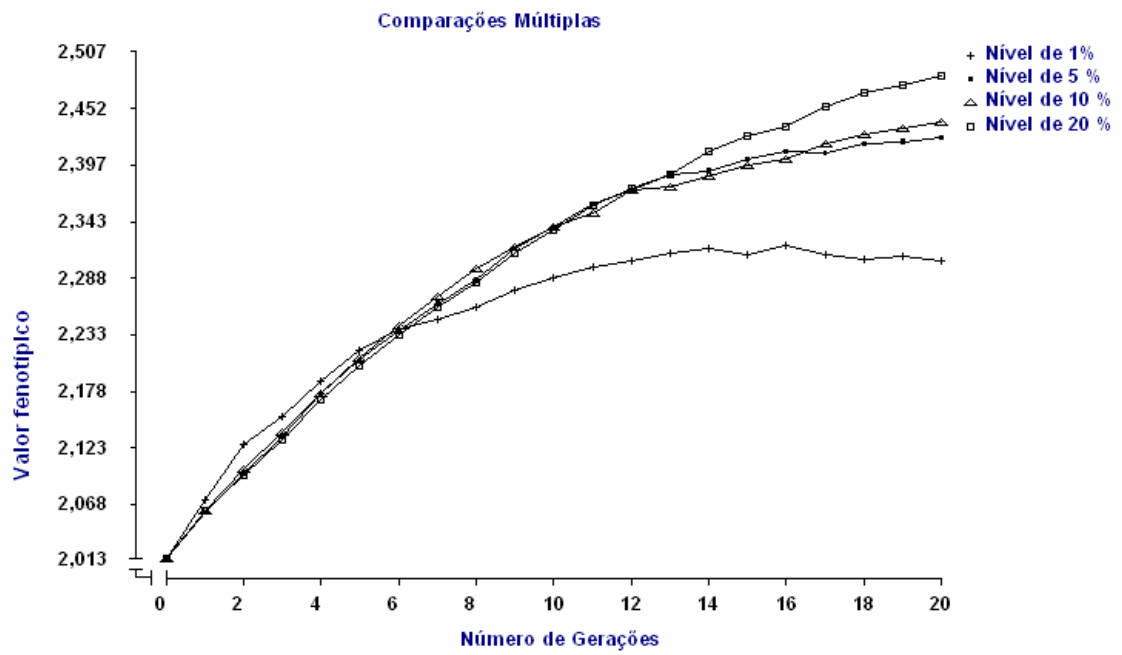


Figura 1: Valores fenotípicos médios para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Tabela 1: Valores fenotípicos médios para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Parâmetro: Valor fenotípico

Característica: Peso

Geração	Nível de 1%	Nível de 5 %	Nível de 10 %	Nível de 20 %
0	2.0140±0.0000	2.0140±0.0000	2.0140±0.0000	2.0140±0.0000
1	2.0701±0.0057	2.0582±0.0073	2.0597±0.0051	2.0611±0.0062
2	2.1256±0.0069	2.0972±0.0206	2.1002±0.0124	2.0943±0.0084
3	2.1507±0.0225	2.1333±0.0269	2.1360±0.0192	2.1280±0.0192
4	2.1851±0.0211	2.1739±0.0402	2.1745±0.0182	2.1695±0.0283
5	2.2161±0.0197	2.2067±0.0443	2.2095±0.0231	2.2010±0.0433
6	2.2364±0.0308	2.2352±0.0432	2.2405±0.0290	2.2307±0.0450
7	2.2467±0.0407	2.2623±0.0452	2.2696±0.0220	2.2575±0.0445
8	2.2573±0.0459	2.2839±0.0384	2.2967±0.0269	2.2834±0.0394
9	2.2743±0.0506	2.3142±0.0473	2.3160±0.0300	2.3108±0.0485
10	2.2859±0.0523	2.3356±0.0479	2.3356±0.0316	2.3348±0.0472
11	2.2982±0.0577	2.3578±0.0444	2.3495±0.0285	2.3561±0.0473
12	2.3042±0.0624	2.3718±0.0490	2.3721±0.0328	2.3735±0.0496
13	2.3102±0.0565	2.3871±0.0439	2.3748±0.0296	2.3878±0.0469
14	2.3148±0.0615	2.3916±0.0431	2.3848±0.0305	2.4102±0.0506
15	2.3089±0.0674	2.4030±0.0411	2.3956±0.0299	2.4251±0.0548
16	2.3179±0.0747	2.4091±0.0397	2.4030±0.0348	2.4351±0.0546
17	2.3087±0.0837	2.4087±0.0420	2.4173±0.0325	2.4532±0.0581
18	2.3053±0.0822	2.4175±0.0465	2.4278±0.0376	2.4669±0.0619
19	2.3065±0.0774	2.4199±0.0504	2.4324±0.0397	2.4745±0.0701
20	2.3037±0.0747	2.4233±0.0505	2.4392±0.0508	2.4841±0.0824

É aceitável que o nível de significância preestabelecido pelo pesquisador para a identificação e caracterização de marcadores moleculares (QTLs) seja relevante para obtenção de melhorias na avaliação genômica, pois, a detecção de marcas ligadas aos QTLs de interesse está mais associada à estatística do que a função biológica, onde o efeito do marcador - QTL sobre a expressão do caráter será estimado pela sua significância, uma vez que os marcadores selecionados sob níveis elevados de significância genômica (1% ou até mesmo 5%) terão grande efeito sobre o fenótipo em questão, ao passo que, para os níveis de menores valores (10% e 20%), a exigência de uma relação entre o genótipo do marcador com a média fenotípica observada se reduz, tornando as marcas que forem

selecionadas exclusivamente para os níveis de maior magnitude (marcas significativas entre 5% e 10% ao adotar o nível de 10% de significância e, marcas significativas entre 10% e 20% ao adotar o nível de 20% de significância) de baixo efeito, contudo, quando consideradas em conjunto terão um efeito coletivo benéfico sobre a característica fenotípica.

Ao adotar níveis de significância de menores valores (1% e 5%), também ditos erros do tipo I, o pesquisador estará trabalhando com uma maior precisão em seus resultados, visto que, de acordo com tais níveis, espera-se que em 99% ou 95%, respectivamente, esteja-se trabalhando com resultados representativos em nível de todo o genoma. Neste caso, tem-se uma possibilidade baixa de erro quando comparada aos níveis de maior magnitude (10% e 20%). Contudo, ao se ganhar em precisão, identificando realmente os genes que estejam relacionados com melhorias para a característica, poder-se-á estar perdendo em outros parâmetros importantes para continuidade e progresso do melhoramento, tais como o coeficiente de endogamia, número de marcadores usados na seleção, fixação de marcadores, fixação de *loci* quantitativos e limite da seleção.

#### **4.1.2 – Endogamia média**

Na figura 2 são apresentados os coeficientes médios de endogamia no decorrer de 20 gerações sob utilização da MAS.

Em todos os quatro processos seletivos observou-se uma tendência crescente do coeficiente de endogamia no decorrer das gerações, o que conduziu a valores elevados nas últimas gerações, sendo que ao praticar seleção contínua sobre uma população, os coeficientes endogâmicos tendem a convergir para valores bem próximos de 1,0.

Ao término das 20 gerações os coeficientes endogâmicos mostraram-se distintos, notando-se uma maior média endogâmica para o nível de 1% já a partir da 3ª geração, perpetuando no decorrer das demais, enquanto o nível de 5% mostrou-se superior a partir da 12ª geração. Já os níveis de 10 % e 20 % não

diferiram muito e apresentaram os menores valores endogâmicos médios. Estas médias endogâmicas podem ser fundamentais para benefícios fenotípicos futuros como observado na figura 1 referente aos valores fenotípicos médios, visto que, se faz necessário a existência de variabilidade genética para otimizar a detecção de marcadores ligados aos QTLs, onde quanto maior for o nível endogâmico da população, menor será o número de marcas identificadas e posteriormente usadas na MAS.

Ao trabalhar-se com níveis de significância menores, o rigor exigido na associação do genótipo do marcador com a expressão fenotípica do caráter poderá afetar a variabilidade genética da população. Ao ser criterioso na seleção de animais que carregam apenas determinados genes de interesse com alta significância, favorecerá uma uniformidade genética entre eles, pois, de acordo com cada genoma animal, somente os que apresentam respectivos genes (QTLs) serão selecionados, uniformizando-os e propiciando a ocorrência de maiores coeficientes de endogamia, como apresentado na figura 2. Nota-se uma diferença a partir da 3ª geração entre tais coeficientes com relação aos dois níveis extremos (1% e 20%). Assim, uma das razões da superioridade do valor fenotípico em níveis maiores (10% e 20%) esta numa menor média endogâmica entre seus indivíduos, fator relevante para detecção de QTLs de interesse e para identificação e mapeamento de marcadores moleculares, bem como o polimorfismo genético. Contudo, no decorrer das gerações essa diferença tende a se reduzir, pois, independente da significância, todos convergem para um nível de endogamia próximo a um (100 %).

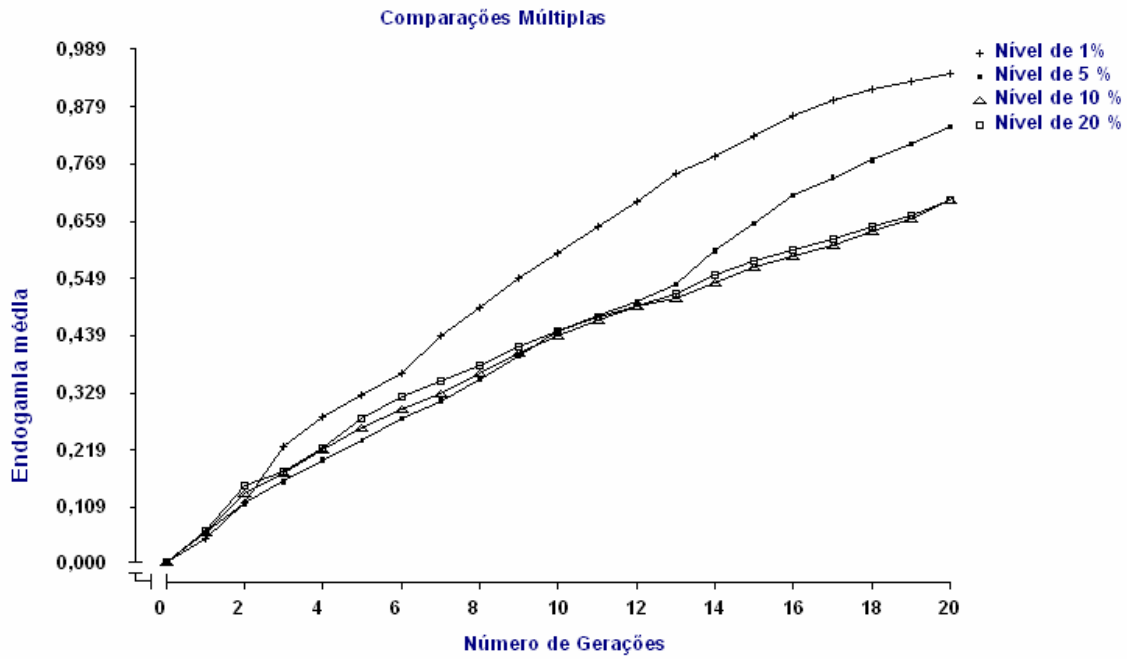


Figura 2: Endogamia média para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

#### 4.1.3 - Número de marcadores usados e fixados na MAS

O resultado do número médio de marcadores usados na MAS está apresentado na figura 3, assim como os valores médios podem ser observados na tabela 2. Já o número de marcadores fixados está apresentado na figura 4.

Considerando que a identificação de QTLs depende do desequilíbrio de ligação entre alelos de *loci* marcadores e alelos segregantes nos *loci* que influenciam as características fenotípicas, da proximidade entre estes diferentes tipos de *loci* e da magnitude da diferença entre os efeitos genéticos dos alelos do loco quantitativo, espera-se que a MAS com um maior número de marcadores selecionados apresente, também, melhores respostas fenotípicas e genotípicas, que envolvam *loci* marcadores (EUCLYDES, 1996).

Evidência-se um maior número de marcadores usados na MAS ao adotar os níveis de maiores valores (10% e 20%) em virtude do efeito acumulativo, visto que, os marcadores que são significativos ao nível de 1% também serão ao nível de 5%, onde neste nível o número de marcadores usados será no mínimo igual ou, na maioria dos casos, superior ao número usado ao nível de 1%. Assim como o nível de 10% compreende os marcadores significativos ao nível de 5% e os significativos entre 5% e 10%. Por fim temos o nível de maior valor (20%), que representa, em números de marcadores usados, a soma dos que foram altamente significativos (1%), dos significativos (5%) e dos sugestivos (10%), além dos sugestivos encontrados entre as significâncias de 10% e 20%, que são exclusivos do nível de 20%. Nesta soma devemos excluir, de acordo com o nível considerado, os marcadores que já foram identificados em níveis de menores valores, para não cometer o erro de somar-los de maneira sobreposta, ou seja, duas ou três vezes o mesmo marcador.

Nota-se, que o número de marcadores se reduz no decorrer das gerações para os quatro processos de seleção praticados de acordo com o nível de significância, como consequência da fixação de marcadores que ocorre no decorrer das gerações conforme apresentado na figura 4, que, ao serem selecionados serão utilizados nas gerações seguintes de forma contínua, favorecendo a fixação, diminuído assim, o número disponível de marcadores de

interesse a serem utilizado na MAS. A fixação de marcas foi superior para os níveis de 1% e 5% devido à exigência de grande efeito entre o genótipo das marcas e o fenótipo, assim como do número restrito de marcas selecionadas, favorecendo uma uniformidade entre os marcadores em relação ao seu genótipo e, conseqüentemente, o uso mais exaustivo destas poucas marcas selecionadas. Este fato leva a superioridade do número de marcadores fixados ao admitir os níveis de menores valores em comparação com os de maiores magnitudes.

Como características quantitativas são governadas por um grande número de genes, cada qual com pequeno efeito, onde a expressão do caráter é resultante do efeito coletivo de todos eles, ao se adotar um método de identificação de marcadores que usa níveis de menores valores (1% ou 5%) poderá estar prejudicando o efeito coletivo dos genes relacionados com a característica, pois, somente os marcadores de alta significância, que apresentam marcadores - QTLs de elevado efeito serão selecionados, desprezando demais marcadores que não apresentam grande significância. Já adotando os níveis de 10% e 20%, serão selecionados os marcadores - QTLs de maior efeito, assim como também os que apresentam efeitos de forma sugestiva sob a expressão fenotípica, que quando considerados de forma coletiva com outros marcadores - QTLs também de menor significância (sugestivos), trariam resultados benéficos para o caráter, conforme pode ser observado na figura 1.

Desta forma, ao adotar níveis de menor significância (maiores níveis), o pesquisador estaria selecionando um maior número de marcadores possivelmente relacionados com a característica, maximizando a acurácia no que diz respeito às detecções gênicas no melhoramento genômico, contudo, a possibilidade de falhas na detecção de marcas ligadas a QTLs aumenta nos níveis de 10% e 20% em comparação aos níveis de 1% e 5%. Estas falhas observadas nas detecções dos maiores níveis terão menor efeito, visto que, os marcadores selecionados exclusivamente para estes níveis terão uma significância apenas sugestiva, ou seja, de baixo efeito. Já para os níveis de menores valores (alta significância), a detecção de marcas associadas ao fenótipo terá um efeito maior em virtude da exigência estatística estabelecida e, uma possível falha atribuída à existência de erros na ordem de 1% ou 5% de probabilidade poderia resultar em maiores

prejuízos, quando comparado aos níveis de 10% e 20%, para o progresso fenotípico da característica.

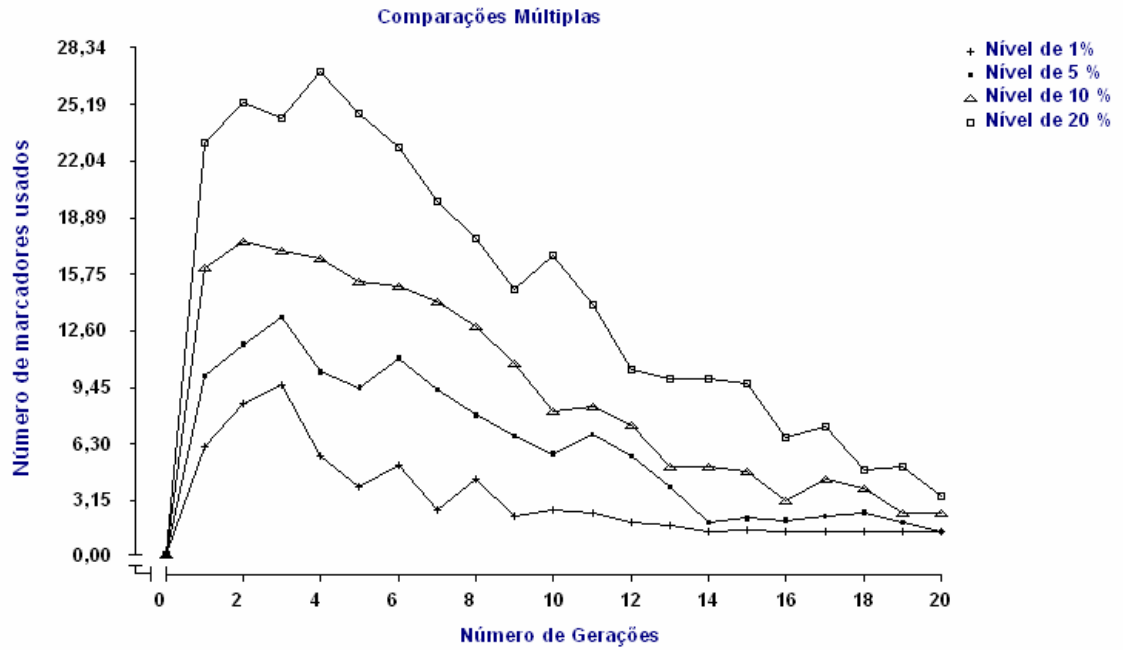


Figura 3: Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

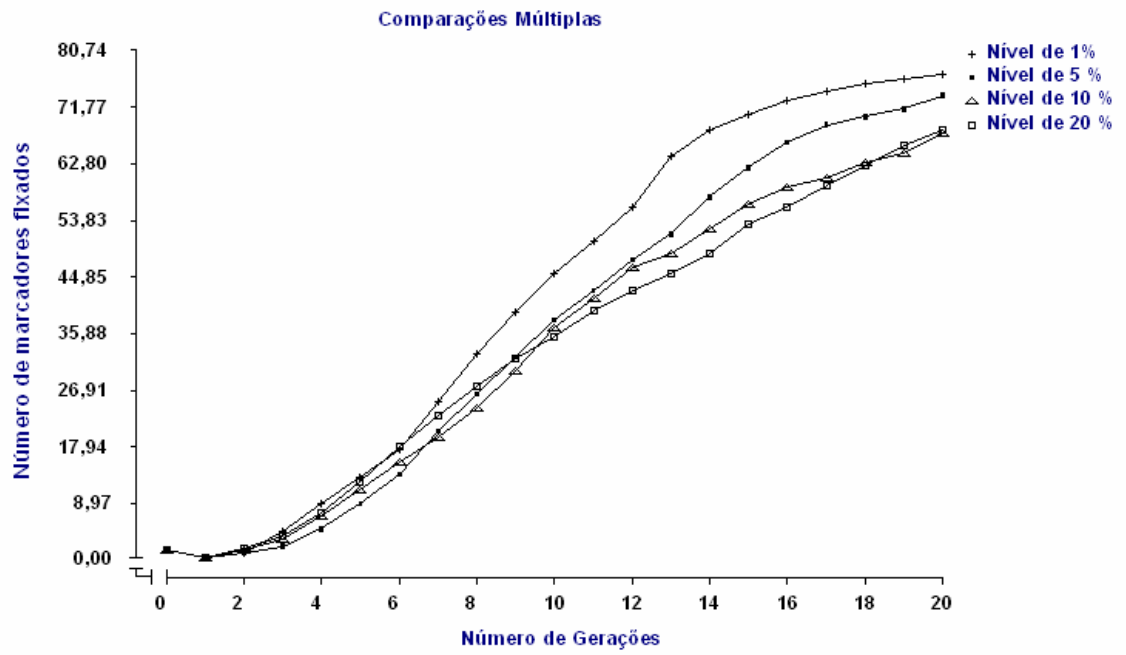


Figura 4: Número médio de marcadores fixados para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Tabela 2: Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Parâmetro: Número de marcadores usados na seleção

Característica: Peso

Geração	Nível de 1%	Nível de 5 %	Nível de 10 %	Nível de 20 %
0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0
1	6.0± 0.0	10.0± 0.0	16.0± 0.0	23.0± 0.0
2	8.5± 3.8	11.7± 5.1	17.5± 3.1	25.2± 3.5
3	9.4± 6.4	13.2± 7.3	17.0± 2.9	24.4± 4.6
4	5.5± 4.5	10.2± 5.8	16.5± 6.5	27.0± 6.6
5	3.8± 2.3	9.3± 5.3	15.2± 5.0	24.6± 4.9
6	5.0± 3.2	11.0± 3.7	15.0± 4.1	22.7± 8.3
7	2.4± 2.8	9.2± 3.9	14.1± 4.4	19.7± 5.7
8	4.2± 3.4	7.8± 7.0	12.7± 5.8	17.6± 7.4
9	2.1± 2.2	6.6± 3.7	10.6± 4.3	14.8± 6.1
10	2.4± 1.3	5.6± 3.4	8.0± 5.8	16.7± 7.1
11	2.3± 1.6	6.7± 3.2	8.2± 3.7	13.9± 6.6
12	1.8± 1.5	5.5± 3.9	7.3± 3.2	10.3± 3.9
13	1.6± 1.1	3.8± 2.4	4.9± 1.3	9.8± 4.8
14	1.3± 0.7	1.8± 1.0	4.9± 3.8	9.8± 5.6
15	1.4± 0.7	2.0± 1.2	4.6± 1.7	9.5± 5.9
16	1.3± 0.7	1.9± 0.7	3.0± 1.4	6.5± 2.8
17	1.3± 0.7	2.1± 0.7	4.2± 2.0	7.1± 4.8
18	1.3± 0.7	2.3± 1.1	3.7± 1.6	4.7± 2.6
19	1.3± 0.7	1.8± 1.2	2.3± 1.3	4.8± 3.4
20	1.3± 0.7	1.3± 0.5	2.3± 1.6	3.2± 1.8

#### 4.1.4 - Alelos favoráveis e desfavoráveis fixados

Ao se praticar seleção genética por várias gerações, seja uma seleção individual, MAS, BLUP, índice de seleção ou outra qualquer, estar-se-ia favorecendo a fixação de alelos em seus genótipos, em especial quando se trata de seleção assistida por marcadores moleculares (MAS). Nesta, devido a maior acurácia na identificação dos indivíduos, pois trabalha em nível de genoma (marcas em DNA), torna-se mais propenso tais fixações quando comparado com outras seleções, como por exemplo, seleção baseada apenas no fenótipo do animal (seleção individual).

São considerados ganhos e perdas genéticas por fixação quando *loci* com alelos favoráveis e desfavoráveis são fixados, respectivamente, ou seja, alcançam à frequência igual a um (EUCLYDES, 1996).

Os valores em porcentagem, de ganhos por fixação de alelos favoráveis e perdas por fixação de alelos desfavoráveis, são apresentados nas figuras 5 e 6, respectivamente, para seleção assistida por marcadores moleculares.

Observou-se que ocorreram aumentos nas taxas de alelos fixados nas duas direções, sentido favorável e desfavorável, para todos os quatro processos de seleção.

Entre os processos seletivos, tanto para o sentido favorável quanto para o sentido desfavorável, o nível de significância de 1% foi superior aos demais níveis em relação à fixação alélica na maioria das gerações. Conforme a figura 5, o nível de significância de 1% foi superior em relação à fixação de alelos favoráveis a partir da 2ª geração, assim como em relação à fixação dos alelos desfavoráveis, conforme a figura 6, porém, a partir da 6ª geração. Em contrapartida, os processos de seleção baseados nos níveis de maior magnitude (10% e 20%) conferiram uma menor taxa de fixação.

Ao adotarem-se níveis menores (alta significância), a hipótese de se fixar um maior número de alelos é mais expressiva do que em relação a um nível de 20%, por exemplo, em virtude da maior precisão na detecção de genes / QTLs, sendo que estes apresentaram grandes efeitos. Porém, é válido lembrar que na maioria das vezes não se fixa apenas alelos favoráveis, mas também os

desfavoráveis, pois estamos trabalhando com “certezas” sujeitas a erros na detecção de QTLs, o que resulta em uma porcentagem não tão expressiva de alelos favoráveis fixados em relação aos desfavoráveis.

Ao trabalhar com níveis de alta significância (1% e 5%) o número de marcas se restringe devido ao maior rigor exigido na detecção de marcadores - QTLs que influenciam a característica, disponibilizando um menor número de informações, contudo, com uma maior precisão. Estas informações, apesar de precisas, também estarão sujeitas a possíveis erros, embora pequenos, comparando-os com os níveis de menor significância (sugestivos). Este número limitado de marcadores selecionados ao nível de 1% e sua exaustiva utilização nas gerações posteriores favorece uma uniformidade entre os indivíduos em relação ao seu genótipo e, conseqüentemente, uma superação em relação à fixação de alelos favoráveis (figura 5), assim como de alelos desfavoráveis (figura 6), em comparação aos outros níveis de maior magnitude.

Observando as figuras 5 e 6 verifica-se uma maior porcentagem de alelos favoráveis fixados em relação aos desfavoráveis, que estão em menor porcentagem.

É válido lembrar que, em características de baixa herdabilidade, os efeitos ambientais tornam-se mais relevantes na expressão fenotípica em virtude do baixo valor genético aditivo relacionado ao caráter. Desta forma, a característica designada como peso, de baixa herdabilidade ( $h^2 = 0,10$ ), fica mais sujeita aos efeitos de ambiente, ou seja, aos erros na identificação e caracterização de marcadores ligados aos QTLs, mesmo sendo as avaliações em nível de genoma, pois nesta, também se faz necessário o valor fenotípico do caráter para a identificação de possíveis marcadores relacionados aos *loci* quantitativos. Este efeito ambiental favorece a identificação de alelos que não estejam relacionados ao caráter em estudo, ou até mesmo, que sejam selecionados indivíduos que carreguem alelos indiferentes ou prejudiciais à característica e que, uma vez fixados, resultaram em um menor ganho fenotípico, exemplificando o porquê do pequeno progresso do caráter de baixa  $h^2$  sob MAS.

Assim, de acordo com as figuras 2, 5 e 6, ocorrem aumentos nas taxas de perdas de variabilidade genética causada tanto pelo aumento da endogamia quanto pelo aumento da fixação alélica, em todos os processos de seleção considerados.

Neste caso de fixação alélica para caráter de baixa herdabilidade, apesar dos níveis de menor magnitude levarem vantagens quanto a fixação alélica relacionada à característica (alelos favoráveis) em comparação a fixação de alelos desfavoráveis, tal vantagem é inferior ao relacionar com as fixações, em ambos os sentidos, porém, adotando-se níveis de 10% ou 20% de significância. Estes níveis de maior magnitude levaram benefícios aos ganhos fenotípicos em virtude de uma maior superioridade de alelos favoráveis fixados em relação aos desfavoráveis.

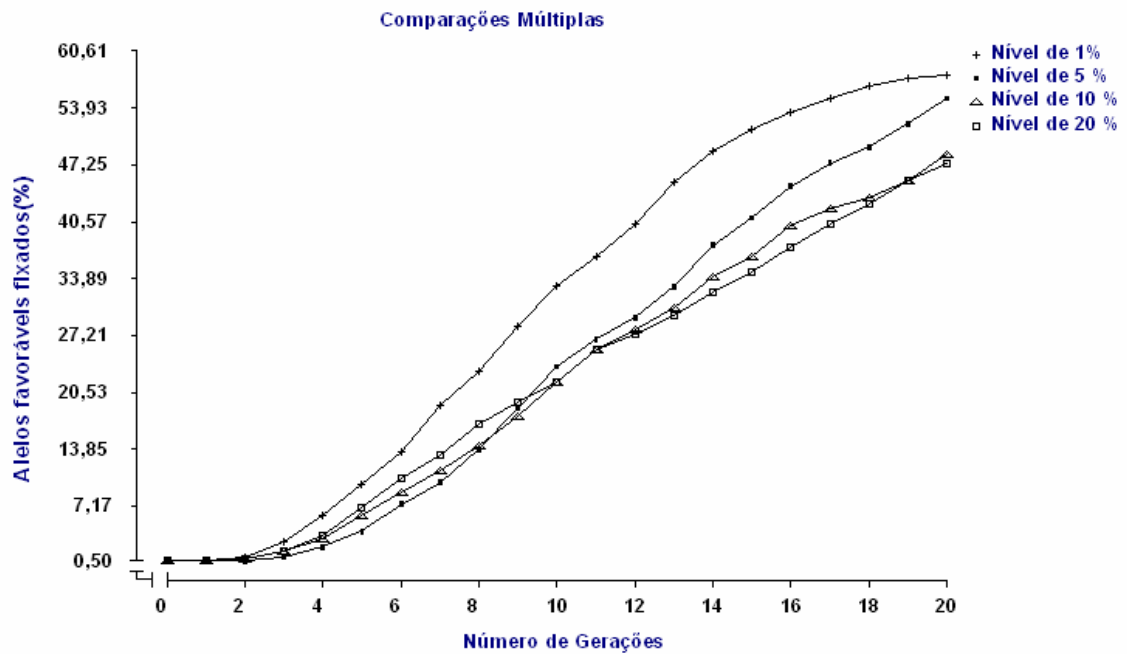


Figura 5: Porcentagem de alelos favoráveis fixados para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

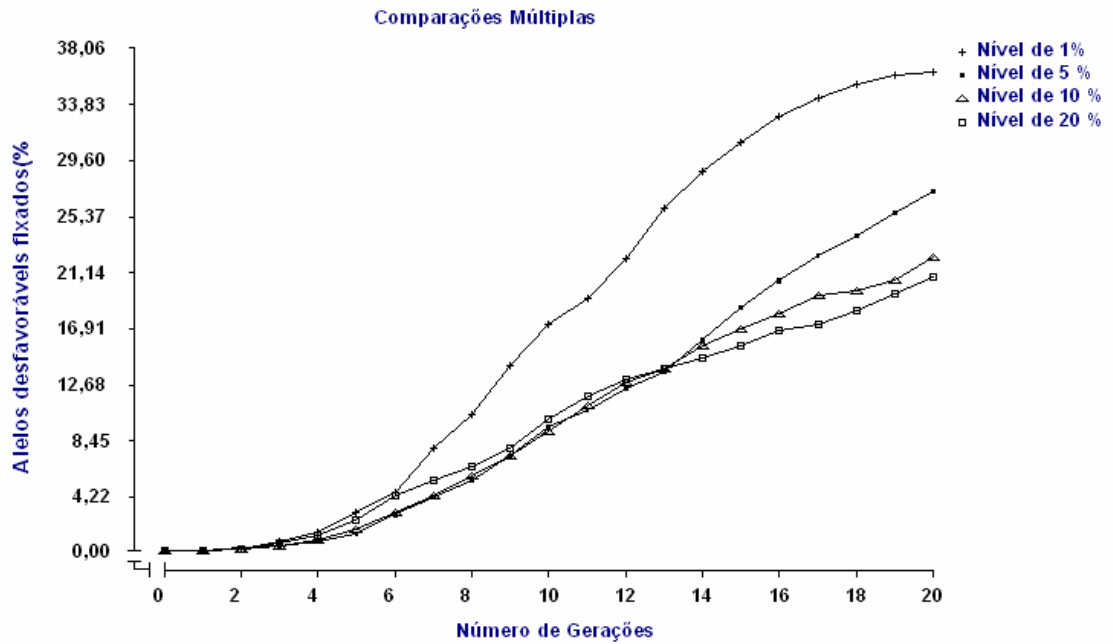


Figura 6: Porcentagem de alelos desfavoráveis fixados para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

#### 4.1.5 - Limite de seleção

Os valores referentes ao limite de seleção podem ser vistos na figura 7, nos variados níveis de significância admitidos.

De maneira geral, em todos os quatro processos seletivos foram observados decréscimos quanto aos valores fenotípicos limites a serem selecionados, ou seja, a menor resposta a seleção para o progresso do valor fenotípico ao longo das gerações foi decorrente do estabelecimento de um limite à seleção.

Os decréscimos foram visualizados já a partir da 4ª geração de seleção, como era de se esperar, pois foi a partir desta geração que a fixação alélica tornou-se mais pronunciada, evidenciando uma redução na variabilidade genética em função do aumento gradual de alelos fixados. O limite de seleção praticamente não foi alterado até esta 4ª geração devido a não observação de uma fixação

alélica expressiva até então, podendo isto ser comprovado observando as figuras 5 e 6.

De acordo com FALCONER (1987), não se pode esperar respostas à seleção de forma indefinida, sendo que, após um determinado número de gerações sob seleção todos os alelos favoráveis tendem a serem fixados. À medida que os alelos favoráveis se aproximam da fixação, há redução na resposta à seleção, de maneira que, ao cessar a resposta, a população é dita estar no limite da seleção.

Desta forma, os processos seletivos conduzem à fixação de alelos favoráveis, assim como, em uma menor escala, os alelos desfavoráveis, promovendo conseqüentemente uma perda na variabilidade genética.

Ao adotar um nível de significância de menor magnitude (1% por exemplo), favorecerá a fixação alélica e o aumento da endogamia, resultando em maiores perdas na variância genética, o que torna conseqüentemente mais lenta a resposta à seleção ao longo das gerações, como observado na figura 1.

Em contrapartida, significâncias de ordem maior (20% por exemplo) aumentam o limite da seleção de forma mais gradativa, proporcionando maiores ganhos com a seleção, devido aos impactos nos parâmetros citados anteriormente serem menores e até mesmo benéficos, o que promove uma redução menos drástica na variabilidade genética da população, prolongando os progressos a serem obtidos com o uso de eficientes métodos de seleção.

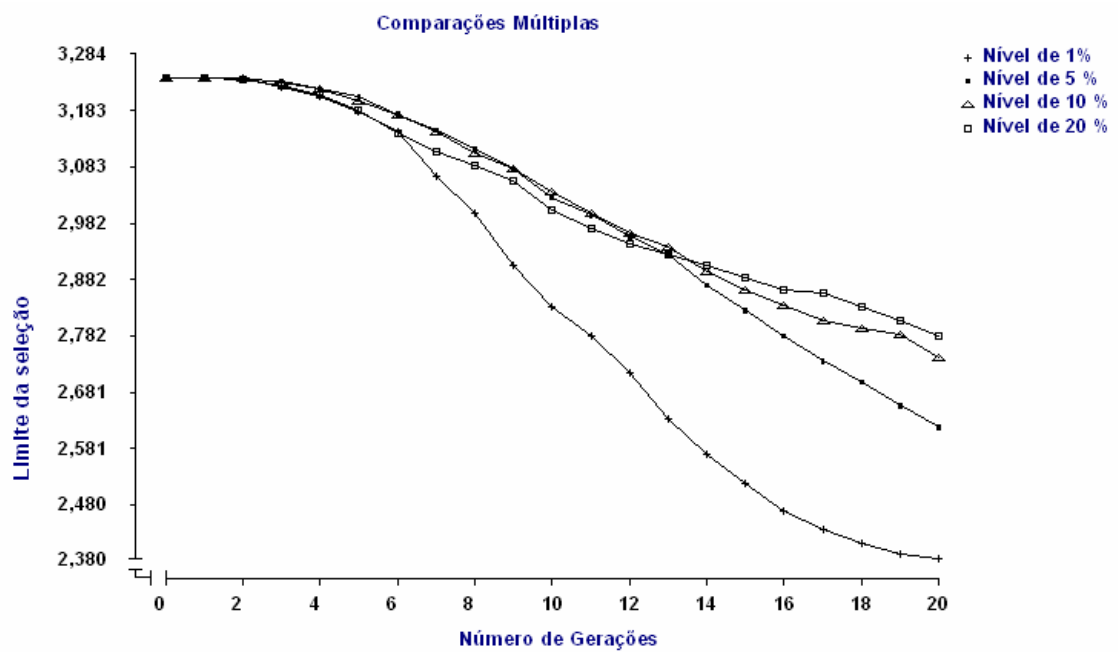


Figura 7: Limite de seleção para a característica de baixa herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

## 4.2 – Característica de média herdabilidade: $h^2 = 0,35$

### 4.2.1 - Valor fenotípico

Na figura 8 são apresentados os valores fenotípicos médios obtidos pela seleção assistida por marcadores moleculares (MAS) no decorrer de 20 gerações, com 10 repetições. Os resultados também são apresentados em valores numéricos de acordo com a tabela 3.

A distinção dos quatro processos seletivos executados estava no nível de significância adotado, evidenciando ser a identificação e caracterização de marcadores uma questão de ordem estatística e não apenas sob aspectos biológicos dos marcadores ligados aos QTLs.

Todos os quatro processos de seleção partiram de um mesmo valor fenotípico para peso (de 2,03 kg), progredindo no transcorrer das gerações. A seleção visa aumentar o ganho de peso, objetivo este alcançado em maior potencial até aproximadamente a 17ª geração para os níveis de 5%, 10% e 20% de significância, onde a partir do qual houve uma uniformidade nas taxas do progresso fenotípico para estes procedimentos de seleção. Já para o nível de 1%, a uniformidade no ganho de peso já pôde ser observada a partir da 13ª geração, resultante da aproximação, de forma mais rápida em comparação com os demais níveis, do limite máximo de seleção, redução da variabilidade genética, dentre outros parâmetros a serem abordados.

É interessante notar que, conforme obtido para a característica de baixa herdabilidade ( $h^2 = 0,10$ ), durante todo o processo de seleção, ao adotar níveis de significância de maior magnitude, aqui considerados 10% e 20%, obtêm-se os melhores resultados fenotípicos em relação aos demais níveis de menor magnitude, em especial ao nível de 1%. Contudo, em virtude do caráter ser de média herdabilidade ( $h^2 = 0,35$ ), as distinções entre os processos seletivos que adotaram significâncias de 1% e 20% tornam-se menos pronunciadas.

Na característica de baixa herdabilidade, a diferença no ganho fenotípico ao término de 20 gerações entre os dois limites extremos de significância admitidos foi de aproximadamente 62%, já para a característica de média herdabilidade, o ganho obtido com o maior valor do nível de significância (20%) foi superior em cerca de 30% ao comparar com o nível de 1% (menor valor).

Para características de média herdabilidade, os processos de seleção que se baseiam no fenótipo do indivíduo podem ser otimizados com a introdução de outras metodologias, como a MAS.

Um caráter de herdabilidade média, como este considerado, faz com que o valor fenotípico observado no indivíduo seja, de certa forma, representativo de seu valor genético, porém não altamente confiável. Neste caso, pode ser recomendada a seleção fenotípica, entretanto, se possível for, complementado por outro processo que proporcione uma maior acurácia aos resultados seletivos, como por exemplo, a seleção assistida por marcadores moleculares.

Assim, a seleção assistida por marcadores moleculares (MAS) pode ser também um bom indicativo para esta característica, pois ela trabalha em nível de genoma, proporcionando uma maior precisão aos resultados quando comparado à seleção individual.

A diferença entre os processos de seleção, de acordo com a significância adotada, torna-se mais expressiva a partir da 10ª geração, pois, antes desta, parâmetros genéticos como o nível endogâmico, fixação alélica e limite de seleção, não diferiram muito, conforme pode ser observado nas figuras 9, 12, 13 e 14, levando a uma relativa uniformidade no valor fenotípico até então para os quatro processos seletivos.

O equilíbrio entre os parâmetros citados anteriormente se reduz a partir da 10ª geração evidenciando uma superioridade no ganho fenotípico ao adotar-se os níveis de 5%, 10% e 20%. O progresso quase estagnado do valor fenotípico para o nível de 1% após a 13ª geração é decorrente do limite de seleção ter alcançado sua maximização, conseqüentemente, redução da variabilidade genética.

Assim, é aceitável que o nível de significância preestabelecido pelo pesquisador para a identificação e caracterização de marcadores moleculares seja

relevante para obtenção de melhorias na avaliação genômica, visto a associação estatística na detecção de tais marcas ligadas aos QTLs.

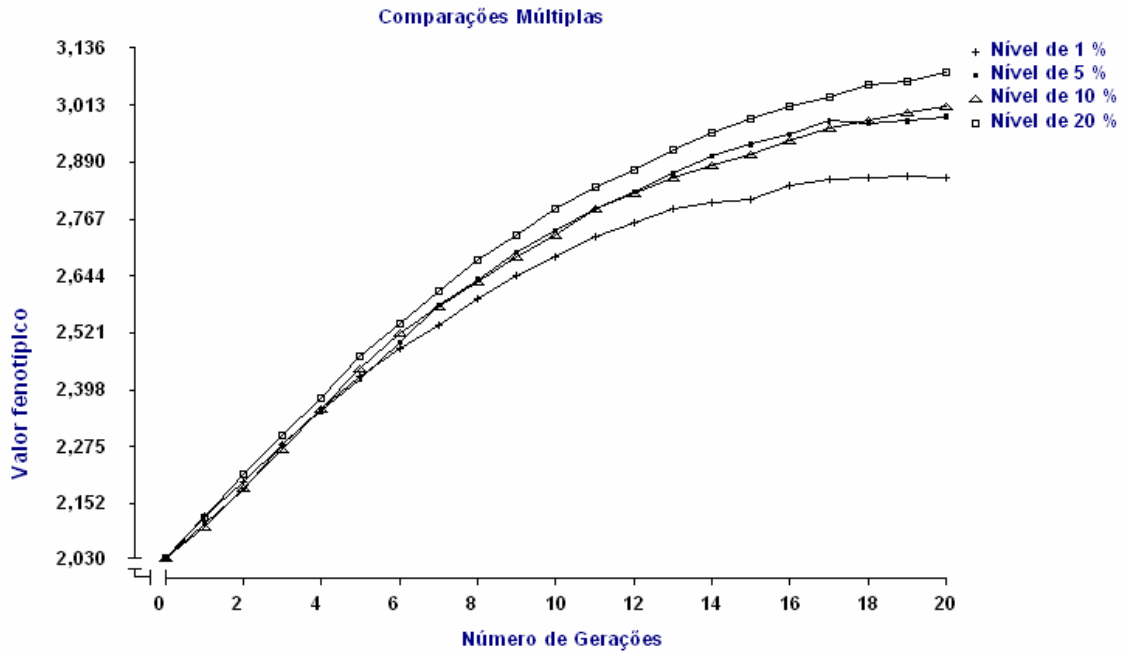


Figura 8: Valores fenotípicos médios para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Tabela 3: Valores fenotípicos médios para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Parâmetro: Valor fenotípico

Característica: Peso

Geração	Nível de 1 %	Nível de 5 %	Nível de 10 %	Nível de 20 %
0	2.0300±0.0000	2.0300±0.0000	2.0300±0.0000	2.0300±0.0000
1	2.1231±0.0063	2.1040±0.0056	2.0968±0.0045	2.1152±0.0078
2	2.1953±0.0188	2.1776±0.0251	2.1799±0.0138	2.2100±0.0196
3	2.2741±0.0337	2.2745±0.0414	2.2646±0.0380	2.2969±0.0272
4	2.3518±0.0438	2.3465±0.0394	2.3500±0.0319	2.3781±0.0418
5	2.4240±0.0466	2.4165±0.0446	2.4418±0.0439	2.4664±0.0419
6	2.4822±0.0455	2.4953±0.0459	2.5167±0.0525	2.5369±0.0426
7	2.5327±0.0497	2.5759±0.0578	2.5737±0.0478	2.6071±0.0387
8	2.5905±0.0780	2.6331±0.0751	2.6267±0.0482	2.6757±0.0484
9	2.6408±0.0905	2.6932±0.0850	2.6854±0.0548	2.7315±0.0454
10	2.6838±0.1134	2.7381±0.1017	2.7291±0.0593	2.7837±0.0371
11	2.7258±0.1176	2.7838±0.1054	2.7866±0.0615	2.8310±0.0495
12	2.7563±0.1184	2.8220±0.1090	2.8213±0.0689	2.8719±0.0506
13	2.7869±0.1217	2.8630±0.1172	2.8524±0.0729	2.9127±0.0594
14	2.7963±0.1132	2.9004±0.1133	2.8780±0.0831	2.9506±0.0629
15	2.8088±0.1068	2.9263±0.1111	2.9053±0.0947	2.9835±0.0647
16	2.8351±0.1011	2.9483±0.1220	2.9332±0.0910	3.0062±0.0679
17	2.8503±0.1011	2.9764±0.1205	2.9601±0.1007	3.0270±0.0664
18	2.8537±0.1074	2.9738±0.1296	2.9763±0.1148	3.0528±0.0726
19	2.8586±0.1147	2.9758±0.1342	2.9949±0.1265	3.0634±0.0827
20	2.8521±0.1199	2.9838±0.1258	3.0063±0.1338	3.0841±0.0824

#### 4.2.2 - Endogamia média

Na figura 9 são apresentados os coeficientes médios de endogamia no decorrer de 20 gerações sob utilização da MAS.

Em todos os quatro processos seletivos observou-se uma tendência crescente do coeficiente de endogamia no decorrer das gerações, o que conduziu a valores elevados nas últimas gerações.

Nota-se que a partir da 5ª geração o processo de seleção que adotou o nível de significância de 1 % teve, em média, uma endogamia igual ou superior ao nível de 5%, já em relação aos maiores níveis (10% e 20%), ele mostrou uma superioridade a partir da 5ª geração.

Menores níveis de endogamia podem ser fundamentais para melhorias fenotípicas, conforme apresentado na figura 8, visto que, as diferenças fenotípicas tornaram mais evidentes a partir da 12ª geração, justamente a geração onde a endogamia média entre os níveis tende a se diferenciar mais, evidenciando uma possível correlação entre esses dois parâmetros.

Assim, uma das razões da superioridade do ganho fenotípico em níveis de maiores valores (10% e 20%) está numa menor média endogâmica entre seus indivíduos, visto que, para a identificação e mapeamento de marcadores moleculares se faz necessário uma máxima variabilidade genética, bem como o polimorfismo genético. Contudo, no decorrer das gerações, essa diferença tende a se reduzir, pois, independente da significância, todos convergem para um nível de endogamia próximo a um (1).

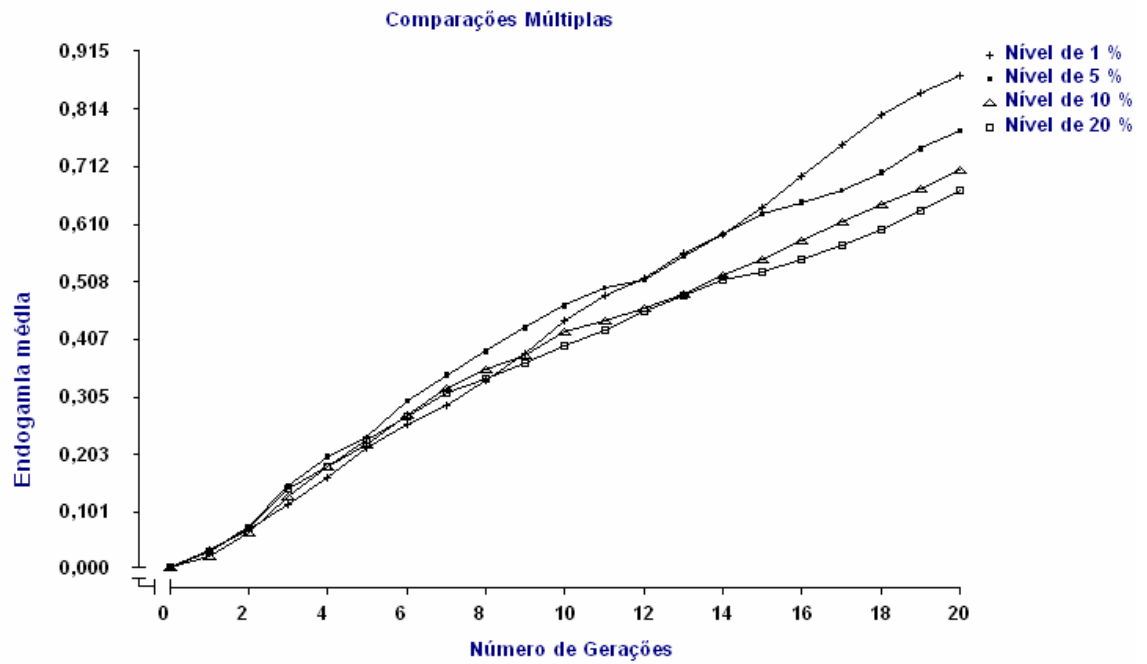


Figura 9: Endogamia média para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

### 4.2.3 - Número de marcadores usados e fixados na MAS

O resultado do número médio de marcadores usados na MAS está apresentado na figura 10, assim como os valores médios podem ser observados na tabela 4. Já o número de marcadores fixados está apresentado na figura 11.

Evidência-se um maior número de marcadores usados na MAS ao adotar os níveis de maiores valores (10% e 20%) em virtude do efeito acumulativo. Uma redução do número de marcadores usados na seleção também ocorre para os quatro processos de seleção praticados de acordo com o nível de significância, como consequência da fixação de *loci* marcadores que ocorrem no decorrer das gerações, conforme já explicado para a característica de baixa herdabilidade.

Assim como a característica anterior, esta também é governada por um grande número de genes, onde não só o efeito altamente significativo entre a ligação marcador – QTL trará benefícios, mas também o efeito coletivo das associações entre os marcadores e QTLs de menor significância (sugestivos) resultaram em melhores valores fenotípicos para o caráter.

Desta forma, ao adotar níveis de menor significância (níveis de maior valor), o pesquisador estaria selecionando um maior número de marcadores possivelmente relacionados com a característica, maximizando a acurácia no que diz respeito às detecções gênicas no melhoramento genômico, contudo, a possibilidade de falhas na detecção de marcas ligadas a QTLs aumenta nos níveis de 10% e 20% em comparação aos níveis de 1% e 5%. Estas falhas observadas nas detecções dos maiores níveis terão menor efeito, visto que, os marcadores selecionados exclusivamente para estes níveis terão uma significância apenas sugestiva, ou seja, de baixo efeito, ao contrário dos níveis de menores valores (alta significância) onde, uma vez detectado marcas associadas ao fenótipo, estas terão um efeito maior e, uma possível falha atribuída à existência de erros na ordem de 1% ou 5% de probabilidade, poderia resultar em prejuízos para o progresso fenotípico da característica.

É válido lembrar que para esta característica de média herdabilidade trabalha-se com o mesmo número de marcadores (80) atribuído para o caráter de baixa  $h^2$ , porém, o número de marcadores identificados é maior para o caráter de

média  $h^2$ . A razão para este maior número de marcas identificadas está em sua detecção, que se baseia na regressão entre o genótipo do marcador e o fenótipo da característica. Como o caráter é de média herdabilidade, a expressão fenotípica será mais condizente com o genótipo do indivíduo favorecendo a identificação de marcas e, conseqüentemente, de um maior número de marcas ligadas aos QTLs de interesse, em comparação com a característica de baixa herdabilidade.

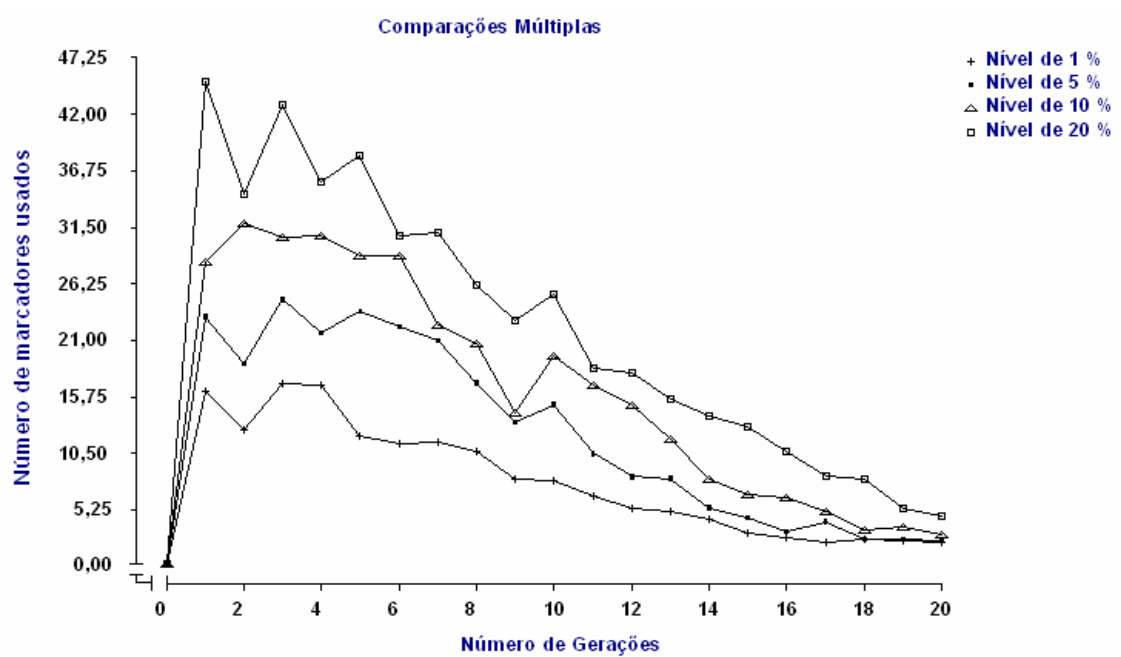


Figura 10: Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

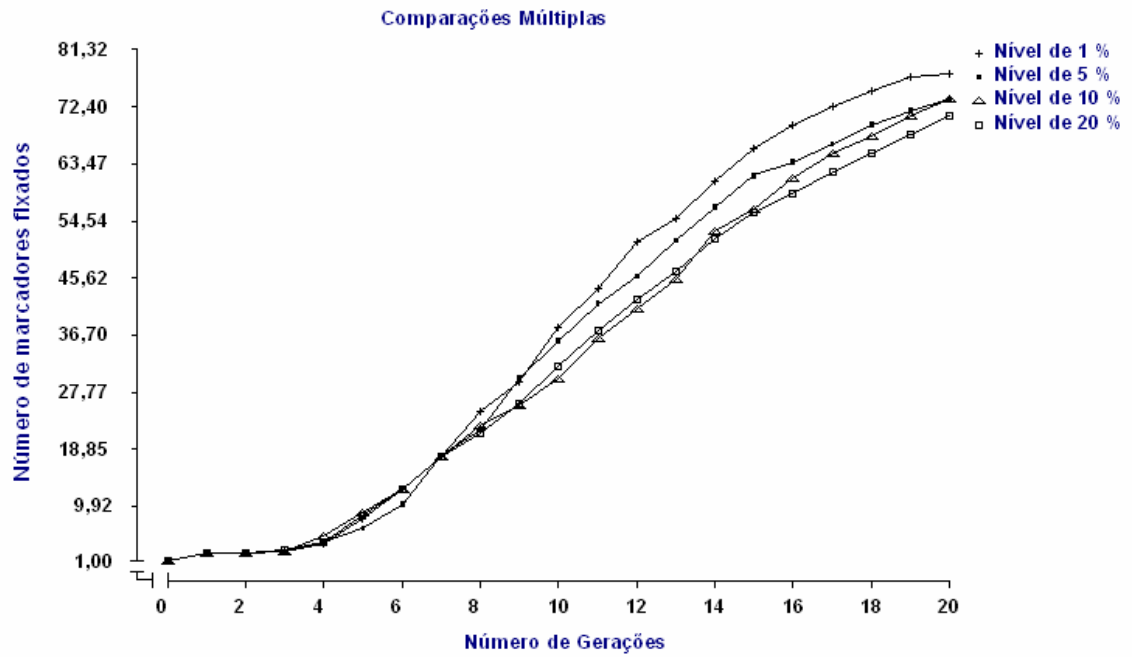


Figura 11: Número médio de marcadores fixados para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Tabela 4: Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Parâmetro: Número de marcadores usados na seleção

Característica: Peso

Geração	Nível de 1 %	Nível de 5 %	Nível de 10 %	Nível de 20 %
0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0
1	16.0± 0.0	23.0± 0.0	28.0± 0.0	45.0± 0.0
2	12.4± 4.1	18.7± 3.0	31.7± 4.7	34.5± 4.9
3	16.9± 6.3	24.6± 8.9	30.5± 7.1	42.8± 8.1
4	16.7± 6.3	21.6± 9.4	30.6± 6.3	35.6± 4.5
5	11.9± 4.1	23.6± 7.2	28.7± 5.9	38.1± 7.4
6	11.2± 6.3	22.1± 7.4	28.6± 9.3	30.6± 6.7
7	11.3± 4.0	20.8± 6.5	22.3± 8.7	30.8± 6.4
8	10.5± 6.8	16.8± 6.9	20.5± 5.6	25.9± 7.8
9	7.9± 3.2	13.1± 6.5	14.0± 3.4	22.6± 4.1
10	7.8± 6.8	14.8± 3.6	19.3± 9.1	25.2± 4.9
11	6.2± 3.1	10.2± 3.6	16.7± 9.1	18.2± 3.0
12	5.1± 3.2	8.1± 3.6	14.9± 7.9	17.8± 4.2
13	4.9± 3.2	7.9± 2.7	11.6± 3.4	15.4± 4.7
14	4.0± 3.1	5.2± 4.4	7.9± 5.5	13.7± 4.4
15	2.8± 2.5	4.2± 2.5	6.5± 3.1	12.8± 3.2
16	2.5± 2.3	3.0± 2.8	6.1± 3.8	10.4± 5.0
17	1.9± 2.2	3.9± 3.0	4.8± 2.0	8.0± 5.2
18	2.2± 2.1	2.3± 1.2	3.2± 2.9	7.9± 4.7
19	2.1± 2.2	2.2± 1.0	3.3± 2.2	5.1± 2.8
20	1.9± 2.2	2.0± 1.2	2.7± 1.8	4.4± 4.2

#### **4.2.4 - Alelos favoráveis e desfavoráveis fixados**

Os valores, em porcentagem, de ganhos por fixação de alelos favoráveis e perdas por fixação de alelos desfavoráveis, são apresentados nas figuras 12 e 13, respectivamente, para seleção assistida por marcadores moleculares.

Observou-se que ocorreram aumentos nas taxas de alelos fixados nas duas direções, sentido favorável e desfavorável, para todos os quatro processos de seleção.

Entre os processos seletivos em ambos os sentidos de fixação, favorável e desfavorável, o nível de 1% e, em menor grau o de 5%, foram superiores aos demais níveis em relação à fixação alélica na maioria das gerações. Em contrapartida, os processos de seleção baseados nos níveis de maior magnitude conferiram uma menor taxa de fixação.

Ao adotar níveis de alta significância (1% e 5%), o número de marcas se restringe devido ao maior rigor exigido na detecção de marcadores que influenciam a característica, contudo, apesar de sua maior precisão, sempre estará acompanhado de possíveis erros, que quando acometidos ficarão propícios à fixação. Esta é uma das razões de sua superioridade em relação à fixação de alelos favoráveis (figura 12), assim como também de alelos desfavoráveis (figura 13), em comparação aos outros níveis de maior magnitude.

Observando as figuras 12 e 13 verifica-se uma maior porcentagem de alelos favoráveis fixados em relação aos desfavoráveis que estão em menor porcentagem. Para esta característica de média herdabilidade, a porcentagem de alelos desfavoráveis fixados ao longo das gerações, para praticamente todos os quatro processos de seleção, foi inferior ao comparar com o resultado obtido para fixação alélica desfavorável do caráter de baixa herdabilidade. Isto é justificado pelo maior efeito genético aditivo sobre o caráter e, conseqüentemente, um menor efeito ambiental, fazendo-se com que a expressão fenotípica da característica seja mais confiável, o que resulta uma detecção de marcas de forma mais precisa.

Assim teremos uma redução dos erros na identificação e caracterização de marcadores associados aos QTLs, visto que, o efeito aditivo favorece a

identificação de alelos que estejam relacionados ao caráter em estudo, e que, uma vez fixados, resultaram em benefícios quanto ao valor fenotípico do caráter.

Observando as figuras 9, 11, 12 e 13, nota-se uma redução na variabilidade genética causada tanto pelo aumento da endogamia, quanto pelo aumento da fixação de marcadores e fixação alélica, em todos os processos de seleção considerados. Contudo, os resultados confirmam uma melhor indicação dos níveis de maiores valores (10% e 20%) na identificação de marcadores, em função do aumento, de forma mais gradativa, do coeficiente endogâmico e da fixação alélica de marcadores, ao compará-los com os níveis de alta significância (menores valores).

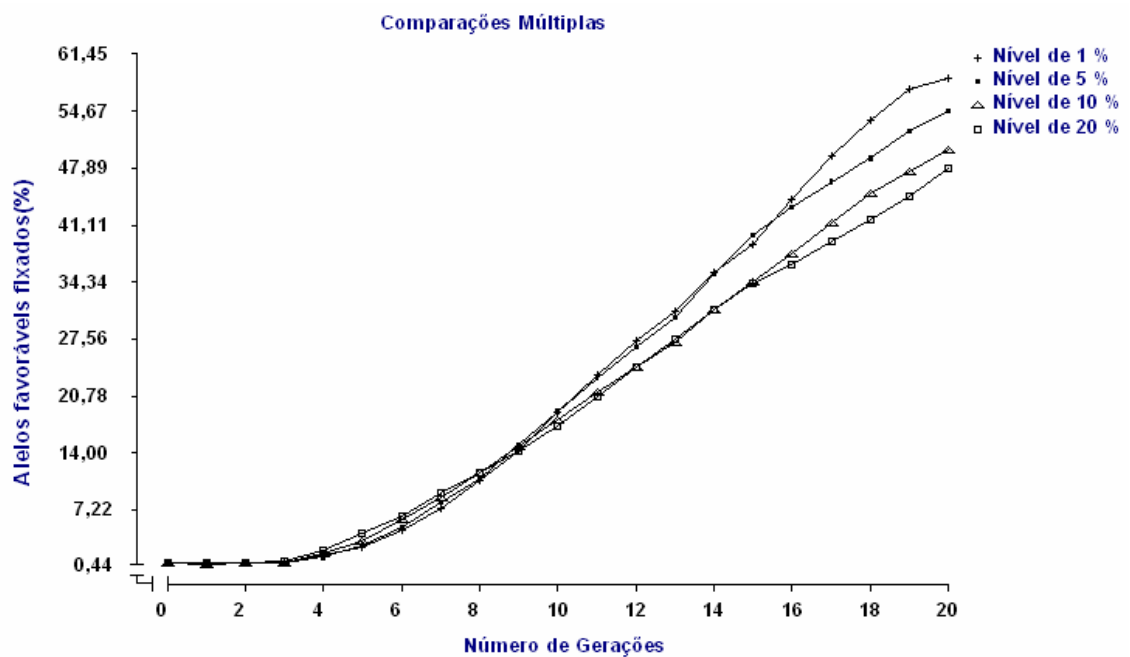


Figura 12: Porcentagem de alelos favoráveis fixados para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

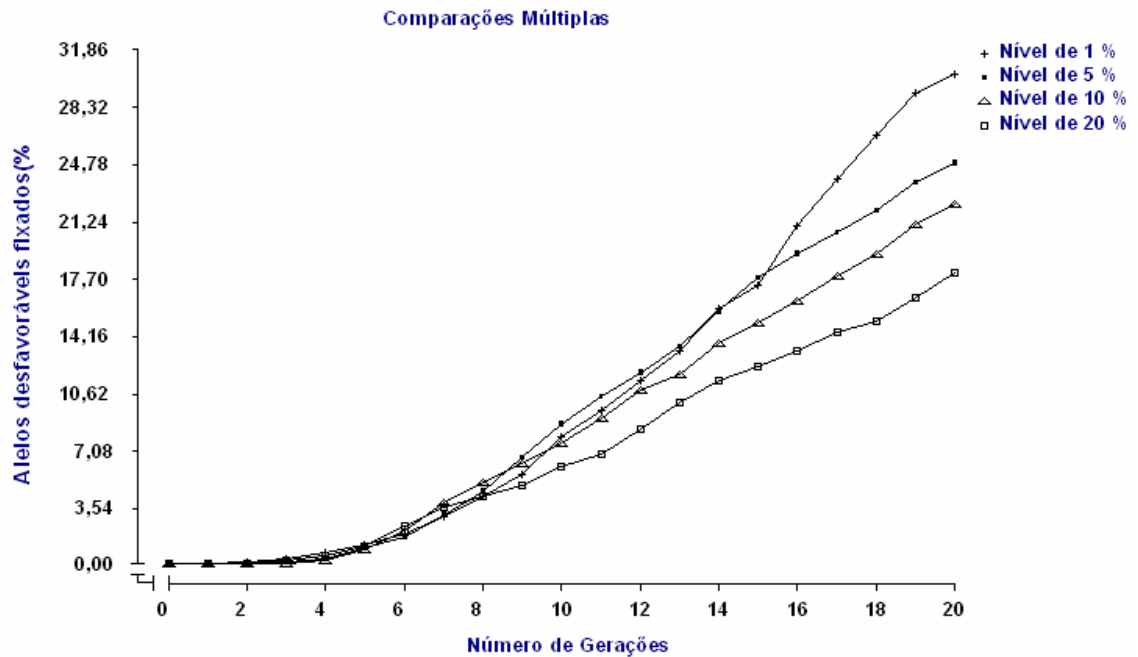


Figura 13: Porcentagem de alelos desfavoráveis fixados para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

#### 4.2.5 - Limite de seleção

Os valores referentes ao limite de seleção podem ser vistos na figura 14, para os respectivos processos de seleção sob MAS nos variados níveis de significância admitidos.

De maneira geral, em todos os quatro processos seletivos foram observados decréscimos nos valores fenotípicos limites a serem obtidos, ou seja, a menor resposta a seleção para o progresso do valor fenotípico ao longo das gerações foi decorrente do estabelecimento de um limite à seleção.

Os decréscimos foram visualizados já a partir da 5<sup>a</sup> / 6<sup>a</sup> geração de seleção, como era de se esperar, pois foi a partir destas gerações que a fixação alélica tornou-se mais pronunciada, evidenciando uma redução na variabilidade genética em função do aumento gradual de *loci* fixados. O limite de seleção praticamente

não foi alterado até estas gerações devido a não observação de fixação alélica, podendo isto ser comprovado visualizando as figuras 12 e 13.

Também neste caráter de média herdabilidade, ao adotar o nível de menor valor (1%), obtêm-se uma menor resposta a seleção (maior limite de seleção) conforme obtido para a característica de baixa herdabilidade. Como este nível (1%) favorece a fixação alélica e o aumento da endogamia, ele resulta em maiores perdas na variância genética, o que torna conseqüentemente mais lenta a resposta à seleção ao longo das gerações, conforme observado na figura 8.

Em contrapartida, significâncias de maior valor (20%) levam ao aumento do limite da seleção de forma mais gradativa, proporcionando maiores ganhos com a seleção, devido aos impactos nos parâmetros citados anteriormente serem menores ou até mesmo benéficos, o que promove uma redução menos drástica na variabilidade genética.

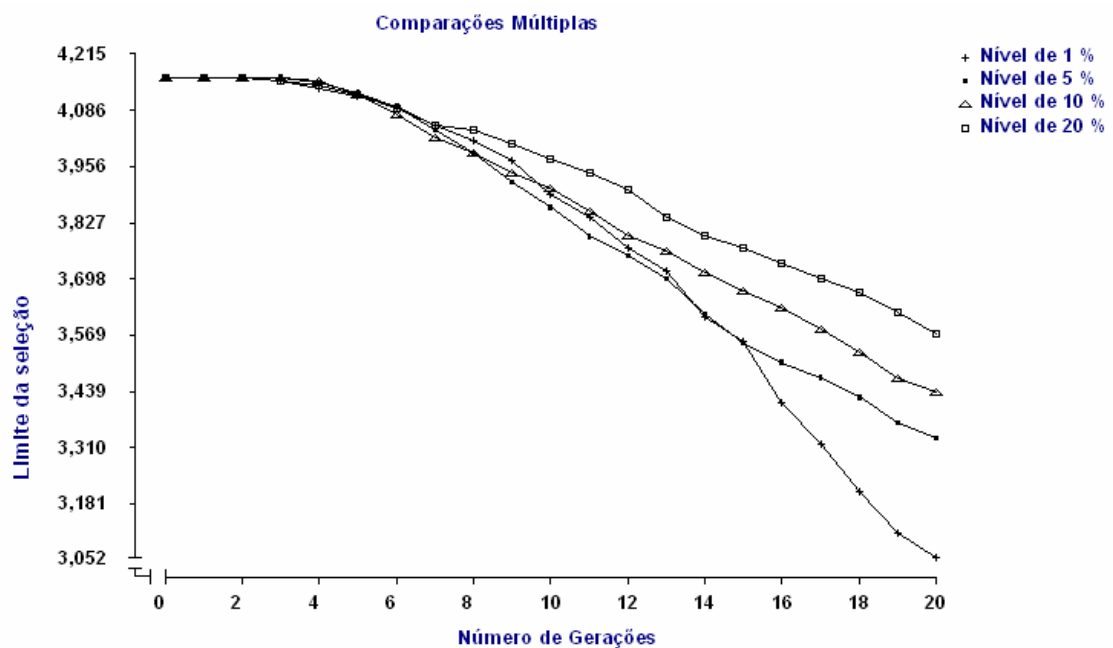


Figura 14: Limite de seleção para a característica de média herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

### **4.3 – Característica de alta herdabilidade: $h^2 = 0,60$**

#### **4.3.1 - Valor fenotípico**

Na figura 15 são apresentados os valores fenotípicos médios obtidos pela seleção assistida por marcadores moleculares (MAS) no decorrer de 20 gerações, com 10 repetições. Os resultados também são apresentados em valores numéricos de acordo com a tabela 5.

A distinção dos quatro processos seletivos executados está no nível de significância adotado, evidenciando ser a identificação e caracterização de marcadores uma questão de ordem estatística e não apenas sob aspectos biológicos dos QTLs - marcadores. No entanto, a amplitude na distinção entre os níveis de significância não foi tão expressiva quanto à apresentada para as características de baixa e média herdabilidade, que mostraram amplitudes entre os níveis extremos (1% e 20%), referente aos valores fenotípicos, de aproximadamente 62% e 30%, respectivamente.

Para esta característica de alta herdabilidade, o valor fenotípico foi superior em aproximadamente 10% ao se adotar o nível de significância de 20% em comparação ao nível de menor magnitude (1%).

Observa-se também que esta referida superioridade dos níveis de menor significância (10% e 20%) é obtida apenas a partir da 14ª geração, sendo que, antes desta geração, podemos considerar que a amplitude entre os níveis, em relação aos valores fenotípicos, pode ser desconsiderada e atribuída ao acaso, em especial até aproximadamente a 12ª geração.

Todos os quatro processos de seleção partiram de um mesmo valor fenotípico comum (1,978 kg de peso), com um progresso expressivo no decorrer das gerações, pois se refere a um caráter de alta herdabilidade. A seleção visa aumentar o peso, objetivo alcançado em maior magnitude até aproximadamente a 16ª geração para todos os níveis de significância, onde a partir da qual houve uma

uniformidade para os níveis de 10% e 20%, assim com uma quase estagnação para os níveis de 1% e 5%, referente ao progresso fenotípico.

Esta estagnação no aumento do peso para os níveis de menores valores, em comparação com os de maiores magnitudes, deve-se a redução mais pronunciada do limite da seleção, bem como do maior aumento da endogamia média e da fixação de *loci* alélicos e moleculares selecionados, fatores que contribuíram para a diminuição da variabilidade genética para significâncias de 1% e 5%.

É interessante notar que, conforme obtido para as características de baixa e média herdabilidade, ao término das 20 gerações sob seleção, ao adotar níveis de significância de maior magnitude, obtêm-se melhores resultados fenotípicos em relação aos demais níveis de menor magnitude, em especial o nível de 1%. Contudo, como estamos trabalhando com um caráter de alta herdabilidade ( $h^2 = 0,60$ ), as diferenças entre os processos seletivos que adotaram níveis de significância variados tornam-se menos pronunciadas como mencionado anteriormente.

Para características de alta herdabilidade, os processos de seleção que se baseiam no fenótipo do indivíduo são seguros e preferidos para otimizar os programas de melhoramento, já que o valor fenotípico expresso no indivíduo é um bom indicativo de seu valor genético, pois estamos trabalhando com um caráter de alta herança genética. Assim, existe um grande vínculo entre o fenótipo e o genótipo do animal e, demais processos seletivos como a MAS são menos indicados, exceto em algumas particularidades das características a serem selecionadas, pois trariam resultados inferiores ao obtido pela seleção individual (fenotípica).

Desta forma, os resultados para esta característica de alta  $h^2$  vieram a confirmar que o uso da MAS é de maior interesse para características de baixa e média herdabilidade, não sendo de grande importância sua aplicação em caracteres de alta  $h^2$ , razão pela qual pouca distinção foi dada aos diferentes níveis de significância admitidos nos quatro processos de seleção. Como a MAS baseia-se na significância dos marcadores relacionados aos QTLs e, não encontrou-se uma amplitude expressiva entre os níveis adotados quanto aos valores fenotípicos, evidencia-se assim uma menor relevância da associação estatística na

identificação dos marcadores moleculares em caracteres de alta herdabilidade e, de uma forma indireta, a menor importância da MAS para o referido caráter de alta  $h^2$ .

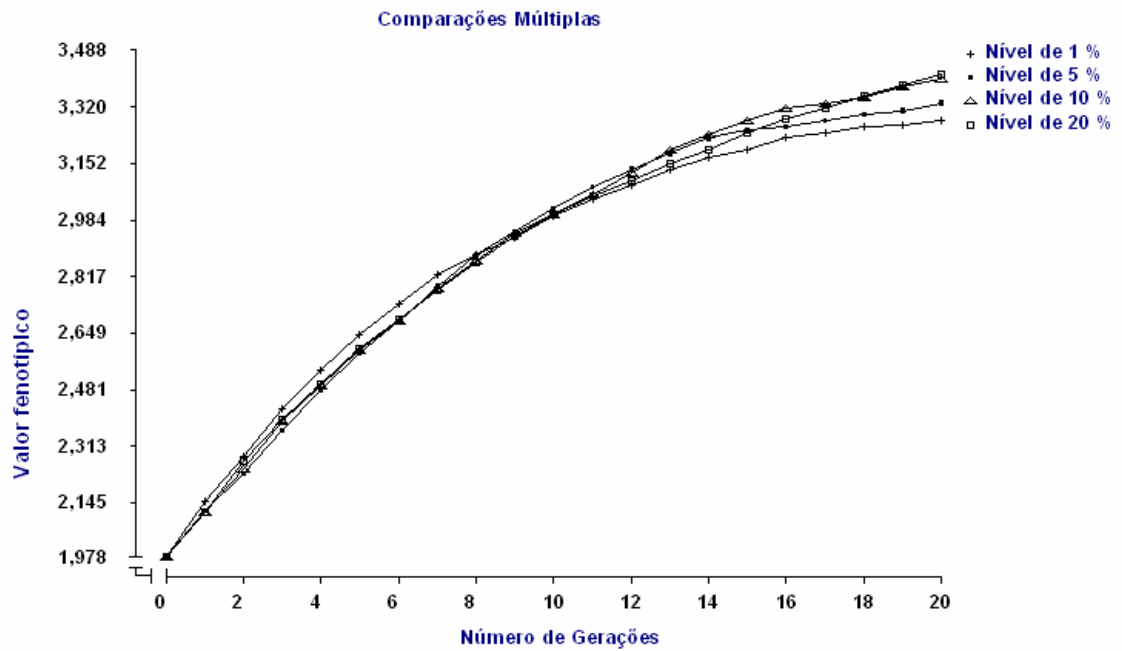


Figura 15: Valores fenotípicos médios para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Tabela 5: Valores fenotípicos médios para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Parâmetro: Valor fenotípico

-----  
 Característica: Peso  
 -----

Geração	Nível de 1 %	Nível de 5 %	Nível de 10 %	Nível de 20 %
0	1.9780±0.0003	1.9780±0.0003	1.9780±0.0003	1.9780±0.0003
1	2.1420±0.0080	2.1136±0.0092	2.1091±0.0050	2.1077±0.0058
2	2.2784±0.0213	2.2274±0.0333	2.2374±0.0246	2.2592±0.0098
3	2.4138±0.0395	2.3554±0.0369	2.3816±0.0336	2.3847±0.0224
4	2.5354±0.0599	2.4763±0.0478	2.4886±0.0481	2.4902±0.0361
5	2.6361±0.0765	2.5861±0.0574	2.5915±0.0536	2.5995±0.0479
6	2.7319±0.0941	2.6764±0.0594	2.6774±0.0655	2.6847±0.0488
7	2.8203±0.0753	2.7827±0.0651	2.7746±0.0604	2.7686±0.0644
8	2.8780±0.0787	2.8750±0.0800	2.8575±0.0595	2.8506±0.0745
9	2.9299±0.0799	2.9458±0.0919	2.9401±0.0639	2.9329±0.0805
10	2.9889±0.0698	3.0135±0.0845	2.9958±0.0699	2.9948±0.0835
11	3.0438±0.0846	3.0772±0.0795	3.0529±0.0693	3.0520±0.0788
12	3.0874±0.1004	3.1332±0.0821	3.1176±0.0659	3.0934±0.0760
13	3.1323±0.1064	3.1779±0.0810	3.1877±0.0561	3.1474±0.0829
14	3.1671±0.1017	3.2252±0.0894	3.2367±0.0541	3.1904±0.0835
15	3.1903±0.0956	3.2486±0.0840	3.2787±0.0615	3.2400±0.0945
16	3.2266±0.1002	3.2575±0.0800	3.3108±0.0701	3.2800±0.0844
17	3.2419±0.1104	3.2777±0.0916	3.3284±0.0745	3.3129±0.0823
18	3.2611±0.1214	3.2923±0.1115	3.3461±0.0849	3.3541±0.0958
19	3.2664±0.1369	3.3082±0.1204	3.3726±0.0888	3.3826±0.1013
20	3.2745±0.1526	3.3293±0.1360	3.3974±0.0852	3.4165±0.1056

-----

### 4.3.2 - Endogamia média

Na figura 16 são apresentados os coeficientes médios de endogamia no decorrer das 20 gerações sob utilização da MAS.

Em todos os quatro processos seletivos observou-se uma tendência crescente do coeficiente de endogamia no decorrer das gerações.

Mais uma vez evidencia-se uma superioridade dos coeficientes endogâmicos médios para os níveis de detecção de menores magnitudes (1% e 5%) em relação aos de maiores valores (10% e 20%). Esta superação, ao término das 20 gerações, é de menor amplitude, ao comparar com a superioridade obtida para as duas características anteriores (de baixa e média  $h^2$ ), além de uma maior uniformidade nas últimas gerações (a partir da 16ª geração), confirmando a menor importância deste processo seletivo (MAS) para caracteres de alta herdabilidade.

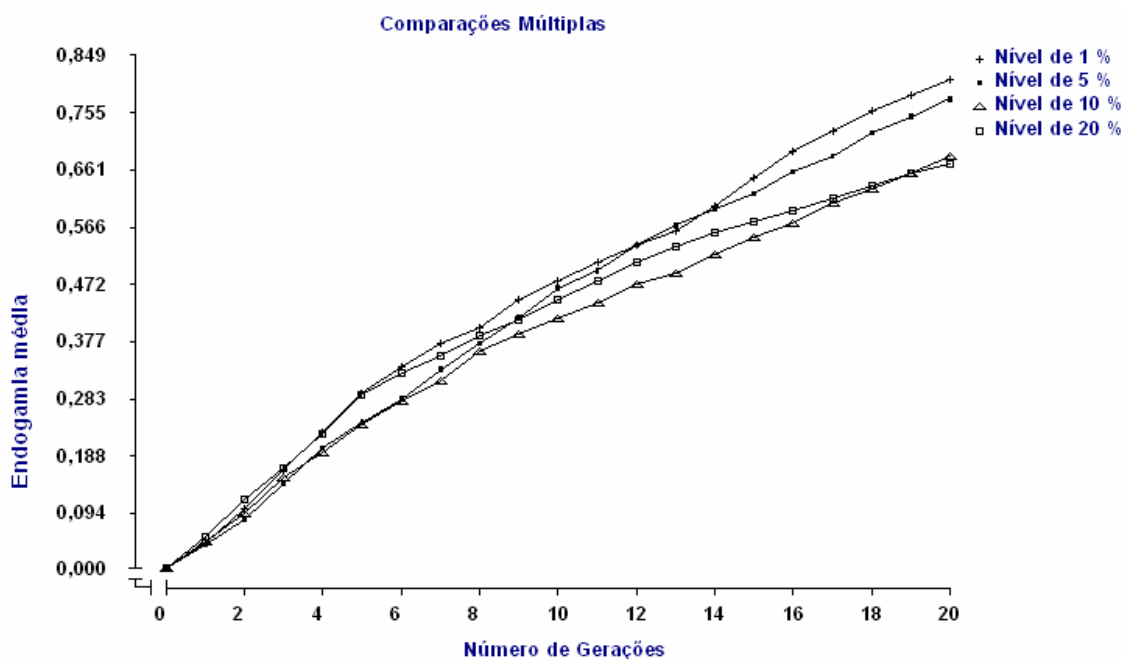


Figura 16: Endogamia média para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

### 4.3.3 - Número de marcadores usados e fixados na MAS

O resultado do número médio de marcadores usados na MAS está apresentado na figura 17, assim como os valores médios podem ser observados na tabela 6. Já o número de marcadores fixados está apresentado na figura 18.

Conforme mencionado para as características anteriores, evidência-se um maior número de marcadores usados na MAS ao adotar os níveis de maiores valores (10% e 20%), por motivos já explicados anteriormente.

O número de marcadores também se reduz no decorrer das gerações, para os quatro processos de seleção praticados de acordo com o nível de significância, como consequência da fixação de marcadores que ocorre no decorrer das gerações conforme apresentado na figura 18. A fixação de marcas foi superior para os níveis de 1 % e 5 % devido ao maior efeito dos marcadores sobre o fenótipo.

Também é válido lembrar que para esta característica de alta herdabilidade trabalha-se com o mesmo número de marcadores (80) atribuídos para as características de baixa e média  $h^2$ , porém, o número de marcadores identificados é ainda maior. As razões para este maior número de marcas identificadas referem-se à alta  $h^2$ , onde as detecções de marcadores - QTLs serão mais eficiente em função da expressão fenotípica ser bastante condizente com o genótipo do indivíduo.

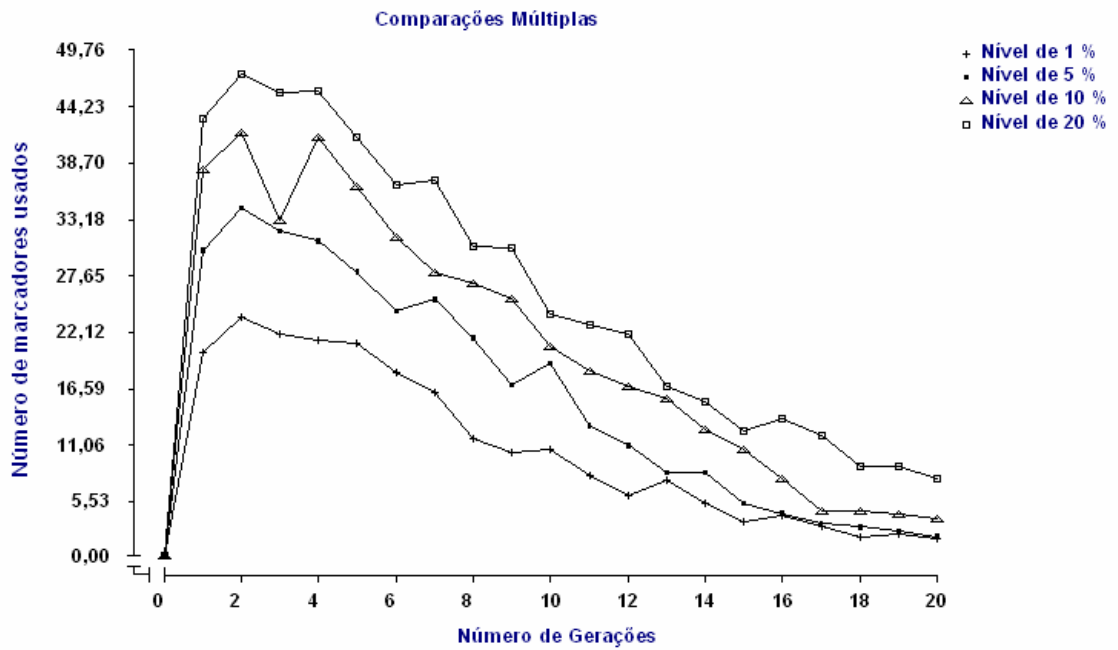


Figura 17: Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

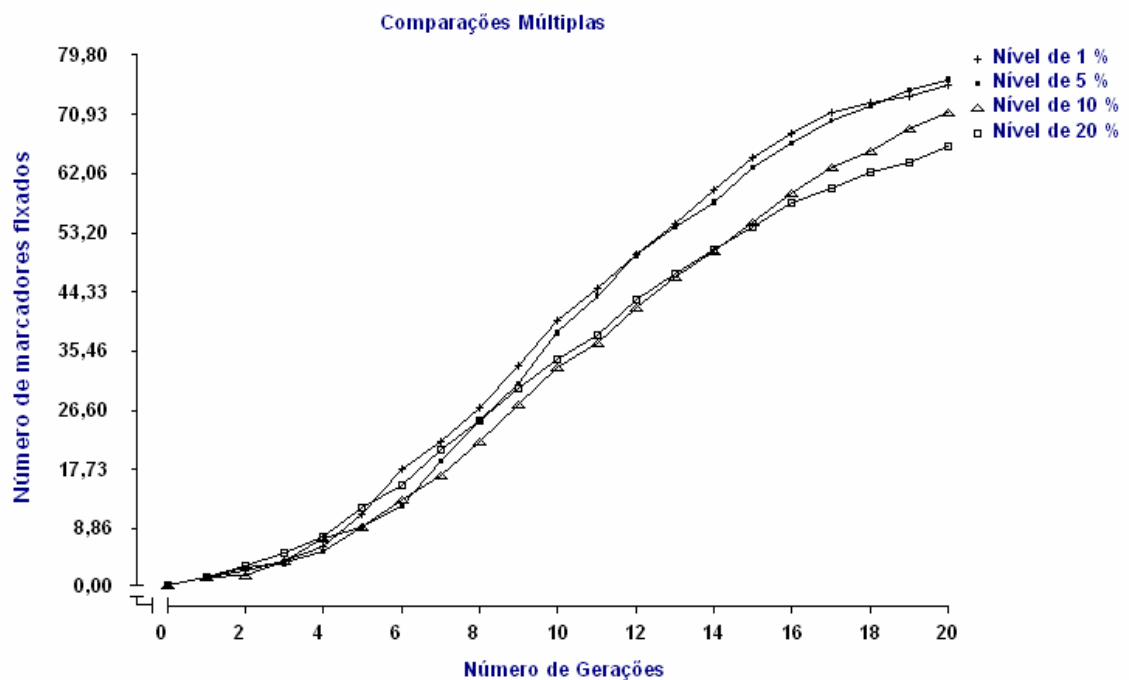


Figura 18: Número médio de marcadores fixados para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Tabela 6: Número médio de marcadores usados na seleção para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

Parâmetro: Número de marcadores usados na seleção

Característica: Peso

Geração	Nível de 1 %	Nível de 5 %	Nível de 10 %	Nível de 20 %
0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.0
1	20.0± 0.0	30.0± 0.0	38.0± 0.0	43.0± 0.0
2	23.4± 3.0	34.2± 2.6	41.7± 3.6	47.4± 4.6
3	21.7± 5.9	31.8± 6.8	33.1± 5.5	45.5± 3.4
4	21.2± 4.5	31.0± 5.5	41.0± 7.5	45.6± 6.6
5	20.8± 6.9	27.8± 7.8	36.2± 8.1	41.0± 6.8
6	17.9± 9.3	24.0± 7.4	31.3± 5.9	36.5± 6.6
7	16.0± 4.4	25.1± 7.7	27.8± 6.6	36.8± 5.6
8	11.4± 3.8	21.4± 5.3	26.7± 5.3	30.3± 5.6
9	10.1± 3.7	16.8± 6.6	25.1± 6.8	30.1± 4.2
10	10.5± 3.1	18.9± 4.6	20.6± 2.8	23.6± 7.1
11	7.7± 5.0	12.8± 5.2	18.1± 6.0	22.6± 7.3
12	5.9± 2.8	10.9± 3.8	16.6± 3.6	21.7± 8.2
13	7.3± 3.5	8.2± 3.9	15.4± 3.8	16.6± 6.3
14	5.0± 4.4	8.2± 3.4	12.4± 4.8	15.0± 1.8
15	3.4± 3.0	5.0± 3.1	10.4± 3.4	12.2± 3.6
16	4.0± 2.8	4.2± 3.8	7.5± 3.7	13.5± 3.5
17	2.7± 2.1	3.1± 1.9	4.4± 3.0	11.7± 4.9
18	1.8± 1.2	2.8± 2.3	4.4± 2.5	8.8± 4.9
19	2.0± 1.6	2.4± 1.5	4.1± 2.4	8.8± 4.7
20	1.6± 0.8	1.8± 1.3	3.5± 2.8	7.6± 3.0

#### 4.3.4 - Alelos favoráveis e desfavoráveis fixados

Os valores, em porcentagem, de ganhos por fixação de alelos favoráveis e perdas por fixação de alelos desfavoráveis, são apresentados nas figuras 19 e 20, respectivamente, para seleção assistida por marcadores moleculares.

Observou-se que ocorreram aumentos nas taxas de alelos fixados nas duas direções, sentido favorável e desfavorável, para todos os quatro processos de seleção.

Entre os processos seletivos, em ambos sentidos de fixação, favorável e desfavorável, os níveis de significância de 1% e 5% foram superiores aos níveis de maiores valores em relação à fixação alélica na maioria das gerações, conforme obtido para as duas características anteriores.

As razões desta superação são as mesmas apresentadas para as características de baixa e média  $h^2$ .

Observando as figuras 19 e 20, verifica-se uma maior porcentagem de alelos favoráveis fixados em relação aos desfavoráveis que estão em menor porcentagem. Para esta característica de alta herdabilidade, a porcentagem de alelos desfavoráveis fixados ao longo das gerações, para praticamente todos os quatro processos de seleção, foi inferior ao comparar com os resultados obtidos para fixação alélica dos caracteres de baixa e média herdabilidade. Isto é justificado pelo maior efeito genético aditivo sobre o caráter, assim como um menor efeito ambiental, fazendo com que a expressão fenotípica da característica seja mais confiável, o que resulta numa detecção de marcas de forma mais precisa, reduzindo o número de alelos desfavoráveis selecionados e, conseqüentemente, fixados.

Assim teremos uma redução dos erros na identificação e caracterização de marcadores associados aos QTLs, visto que, o efeito aditivo favorece a identificação de alelos que estejam relacionados ao caráter em estudo (favoráveis), e que, uma vez fixados, resultaram em benefícios quanto ao valor fenotípico do caráter, exemplificando o porquê do maior ganho fenotípico para este caráter de alta herdabilidade.

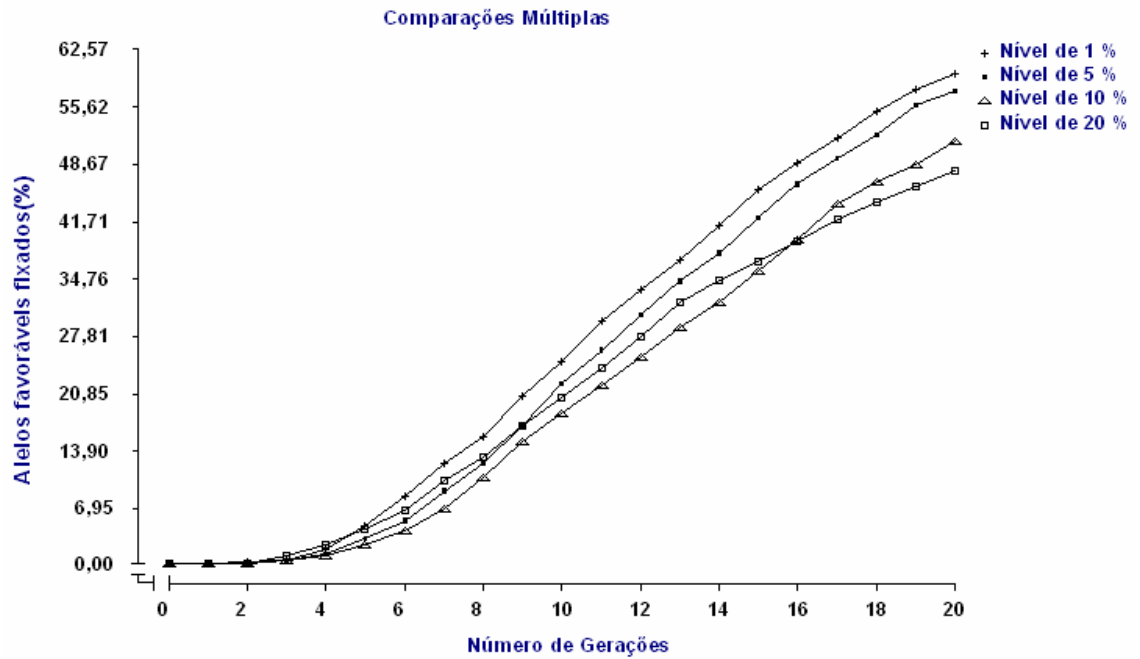


Figura 19: Porcentagem de alelos favoráveis fixados para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

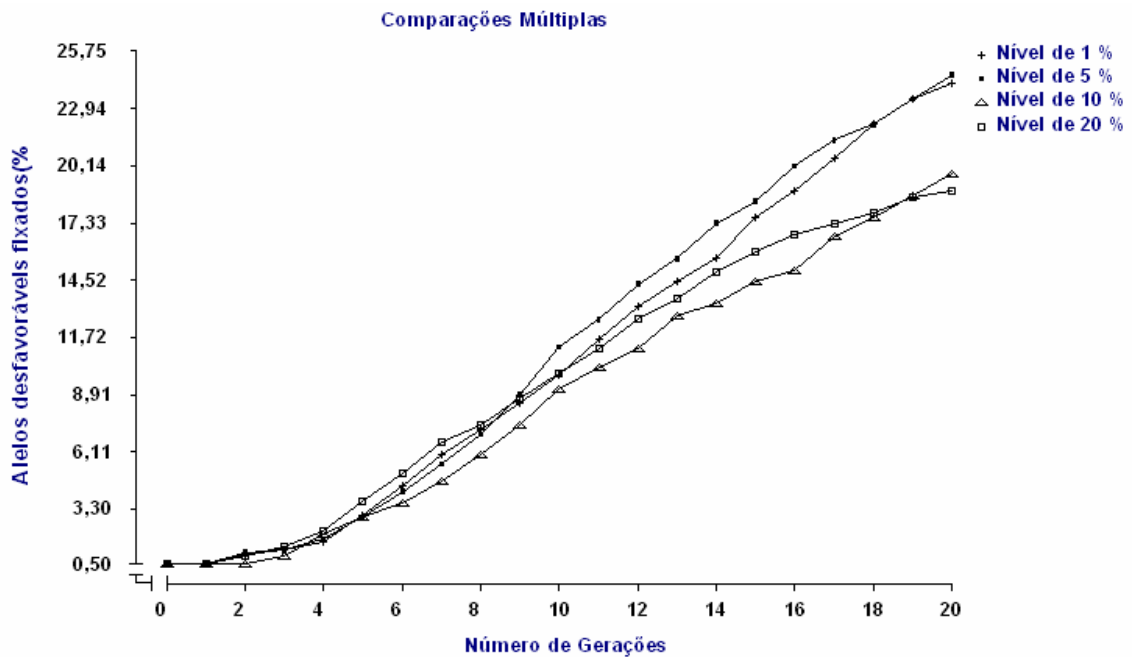


Figura 20: Porcentagem de alelos desfavoráveis fixados para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

### 4.3.5 - Limite de seleção

Os valores referentes ao limite de seleção podem ser vistos na figura 21, nos respectivos processos de seleção sob MAS nos variados níveis de significância admitidos.

De maneira geral, em todos os quatro processos seletivos foram observados decréscimos quanto aos valores fenotípicos limites a serem selecionados.

Igualmente ao observado nas duas características anteriores, ao adotar níveis de menores magnitudes (1% e 5%), favorecerá a fixação alélica e o aumento da endogamia, resultando em maiores perdas na variância genética, o que leva a uma menor resposta à seleção ao longo das gerações, ou mesmo, um maior limite a seleção.

Embora de forma menos expressiva para caracteres de alta  $h^2$ , significâncias de maiores valores (10% e 20%) levaram ao aumento do limite da seleção de forma mais gradativa, ao comparar com os níveis de 1% e 5%.

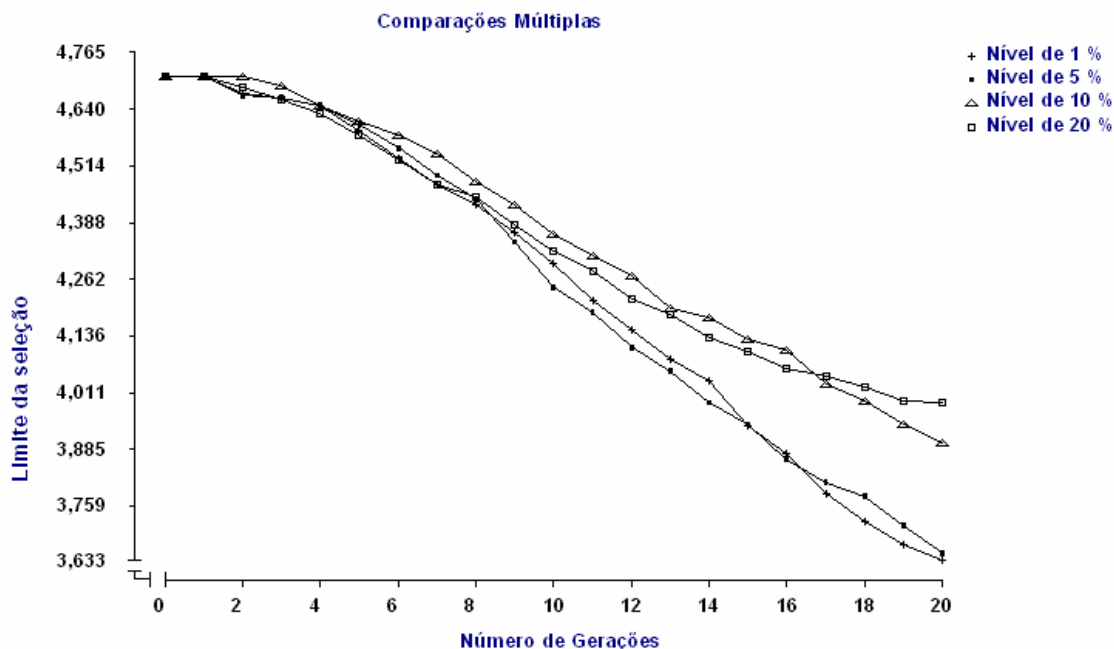


Figura 21: Limite de seleção para a característica de alta herdabilidade durante 20 gerações sob MAS de acordo com o nível de significância adotado (1%, 5%, 10% e 20%).

## 5.0 – CONCLUSÕES

Adotando diferentes níveis de significância na MAS obteve-se ganhos fenotípicos distintos como resposta a seleção, em especial, a partir da 10<sup>a</sup> geração. Para os níveis de menores valores (1% e 5%) observaram-se os piores resultados, já para os níveis de 10% e 20% as melhores respostas. Ao relacionar com a herdabilidade da característica, estes resultados mostraram-se mais expressivos para o caráter de baixa  $h^2$ , onde a distinção entre os dois níveis extremos (1% e 20%) foi de aproximadamente 62% em relação aos valores fenotípicos. Já para os caracteres de média e alta  $h^2$  as diferenças foram de 30% e 10%, respectivamente, evidenciando a menor relevância da MAS para características de alta  $h^2$ , sendo que para as características de baixa  $h^2$ , mostra-se de grande importância.

Estudando os parâmetros genéticos, ao admitir níveis de alta significância (1% e 5%) um menor número de marcadores foi selecionado, assim como também se observou uma maior fixação alélica e de *loci* marcadores, o que levou a uma maior média endogâmica, resultando em maiores limites da seleção, ou seja, minimizando as respostas a serem alcançadas sob a MAS. Em contrapartida, os níveis de baixa significância (10% e 20%) levaram a menores médias endogâmicas e de fixação alélica, além de um maior número de marcadores usados na seleção, trazendo como consequência, maiores respostas a seleção.

O sucesso da implementação de estratégias para a seleção assistida por marcadores (MAS - seleção baseada em marcadores ligados a QTLs) é dependente da ação conjunta de áreas como a biogenética e a estatística, que quando assim consideradas otimizarão os programas de melhoramento genômico.

Entretanto, é necessário salientar que a maioria desses resultados de pesquisa estão sendo obtidos através de simulações, com modelos genéticos e estruturas de acasalamento simplificados. Muitas das pressuposições estabelecidas para realização dessas simulações não ocorrem na prática. Por isso, pesquisas visando otimizar o uso de informação oriunda da genética molecular na seleção em situações mais realistas ainda se fazem necessárias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURROW, M.D.; BLAKE T.K. Molecular tools for the study of complex traits  
In: **Molecular dissection of complex traits**. 1ª ed. CRC, p. 13-30. 1998.
- BURT, D.W. Applications of biotechnology in the poultry industry. **World's Poultry Science Journal**, v. 58 (1), p. 5-13. 2002.
- CHURCHILL, G. A. e DOERGE, R. W. Mapping quantitative trait loci in experimental populations. In: **Molecular Dissection of Complex Traits**. p. 31-42. Editor: Paterson, A. H., CRC Press, Nova York, 1998.
- DEKKERS, J.C.M. Breeding in the 21th century: application of molecular technology. **Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.** , v. 13, p. 1-16. 1999.
- DEKKERS, J.C.M; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 22-32. 2002.
- DUDLEY, J. W. Quantitative genetics and plant breeding. **Advances in Agronomy**, New York, v. 59, p. 1-23, 1997.
- 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. 149p. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.

- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 2. Impressão, 1987. 279p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética**. 3ª edição. Brasília: Embrapa Cenargen, 220p. 1998.
- GELDERMANN, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. **I. Methods. Theor. Appl. Genet.** v. 46, p. 319-330. 1975.
- GUIMARAES, S.E.F.; PINHEIRO, L.E.L. Princípios básicos a utilização da genética molecular em melhoramento animal In: Pereira, J. C. C. **Melhoramento Genético Aplicado a Produção Animal**. p. 354-373. 2º. Edição. Editora da UFMG. 1996.
- HAYWARD, M.D.; *et al.* Genetic markers and the selection of quantitative traits in forage grasses. **Euphytica**, v.77, p.269-75, 1994.
- HUANG, N.; *et al.* Association of quantitative trait loci for plant height with major dwarfing genes in rice. **Heredity**, Edinburg, v. 77, n. 2, p. 130-137, Aug. 1996.
- LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, v.124, p.743-56, 1990.
- LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v.121, p.185-199, 1989.
- LANDER, E.S.; WEINBERG, R.A. Genomics: journey to the center of biology. **Science**, v. 287, p. 1777-1782. 2000.
- LI, Z. Molecular analysis of epistasis. In: **Molecular dissection of complex traits**. 1ª ed. CRC, p.119 - 130. 1998.
- LIU, B. H. **Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1998. 611 p.
- SAGHAI-MAROOF, M. A.; *et al.* Identification of quantitative trait loci controlling resistance to gray leaf spot disease in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 4, p. 539-546, Sept. 1996.

SPELMAN, R.J.; BOVENHUIS, H. Moving from QTL experimental results to the utilization of QTL in breeding programmes. **Animal Genetics**, v. 29(2), p. 77-84. Review. 1998.