

ESTIMAÇÃO DE ENDOGAMIA EM LINHAGEM DE CODORNAS DE CORTE ATRAVÉS DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

WELINTON SCHRÖDER REINKE¹; JERUSA MARTINS GERMANO²; SUZANE FONSECA FREITAS²; HEDEN LUIZ MARQUES MOREIRA²; RAFAEL ALDRIGHI TAVARES²; NELSON JOSÉ LAURINO DIONELLO³

¹Universidade Federal de Pelotas – welintonreinke19@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jerusa-mg@hotmail.com; suzane.ff@hotmail.com; heden.luiz@gmail.com; r.tavares@ufpel.edu.br

³Universidade Federal de Pelotas – dionello.nelson@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A coturnicultura tanto para produção de carne e ovos é uma atividade em ascensão no Brasil, sendo esta uma boa alternativa como alimento para população. Codornas destinadas para o abate apresentam taxas de crescimento e peso final superiores as de postura, porém no Brasil existem barreiras para sua produção, sendo a principal delas a falta de material genético de qualidade (GRIESER et al., 2015).

Programas de melhoramento genético são a principal ferramenta para se obter material genético de qualidade. Para o sucesso dos programas melhoradores é de grande importância avaliar a estrutura das populações para então definir as estratégias de seleção (TEIXEIRA et al., 2013). Quando conduzidos de forma incorreta, esses programas podem ocasionar perdas em características produtivas e reprodutivas, isto, devido à depressão endogâmica (GODINHO, 2014).

O controle da endogamia é fundamental para o planejamento de programas de melhoramento animal que visam ao ganho genético, onde por sua vez, com marcadores moleculares se tem a capacidade de otimização desde processo (ROSA & PAIVA, 2009). Segundo MENEZES et al. (2006) os marcadores microssatélites são regiões do genoma de pequenas sequências repetidas (1 a 6 nucleotídeos), abundantes e altamente polimórficas.

Atualmente não se tem registro de utilização de marcadores microssatélites em populações melhoradas de codorna de corte, portanto este trabalho tem como objetivo obter marcadores eficientes e polimórficos, para então estimar a variabilidade genética e grau de endogamia de três gerações em uma linhagem de codornas de corte.

2. METODOLOGIA

Foram analisadas 90 codornas de uma linhagem de corte desenvolvida pela Universidade Federal de Pelotas, divididas em 30 animais por geração, de um total de três gerações consecutivas (13°, 14° e 15°). A extração de DNA dos tecidos foi por separação orgânica pelo protocolo “in house” de Cloreto de Sódio proposto por BARRERO et al. (2008) com modificações. Foram utilizados três pares de primers desenhados com base no genoma da *Coturnix japonica* contido no GenBank (*NCBI - National Center of Biotechnology Information*), sendo os seguintes: Coturnix01, CcoUFPe03 e CcoUFPe04. Os microssatélites foram amplificados mediante a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), com 25 µL de volume final de uma reação: 1 µL de DNA, 0,75 µL de cloreto de magnésio, 2,5 µL de 10x buffer (taq), 0,2 µL de Taq Polimerase, 0,5 µL (10 Mm)

de DNTPs, 19,05 µL de H₂O Milli-Q e 1 µL (10 Mm) do par de *primers* (*Forward* e *Reverse*). Após o preparo, as reações foram levadas a um termociclador e submetidas às seguintes etapas de amplificação: um ciclo de desnaturação a 94°C por 5 minutos, seguidos de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos à temperatura de anelamento específica para cada par de *primer* de microssatélite (CcoUFPel03 e CcoUFPel04= 58°C, Coturnix01= 60,4°C), por 30 segundos a 72°C e o último ciclo de extensão a 72°C por 10 minutos. Realizou-se eletroforese, em gel de poliacrilamida a 8%, do material amplificado com um marcador de peso molecular de 50 pares de bases (pb). Utilizaram-se 1,1 µL de buffer de corrida (Azul de Bromofenol, Xileno Cianol, Glicerol), 1,1 µL de *Gel/Red* (*Biotium*, USA) e 4 µL de produto de PCR por amostra. A corrida foi realizada com voltagem de 120 volts por aproximadamente 1 hora e 30 minutos. Logo após imagens do gel foram capturadas através de um foto-documentador. Para estimar os parâmetros genéticos os dados foram avaliados nos seguintes softwares: Genepop 4.0 e Cervus 3.0.7.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado na análise dos três *loci* um total de 30 alelos. Os níveis de variabilidade alélica, nos três plantéis, variaram entre o máximo de 13 alelos para o *locus* CcoUFPel03 e o mínimo de 8 alelos para o *locus* Coturnix01. Para o PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica) foram obtidos para os *loci* Coturnix01, CcoUFPel03 e CcoUFPel04 os seguintes valores respectivamente 0,722, 0,843 e 0,800 (Tabela 1).

Segundo CHANG et al. (2007) o PIC é um importante índice de polimorfismo, ou seja, estima a qualidade do marcador microssatélite. De acordo com BOTSTEIN et al. (1980), marcadores com valores de PIC >0,5 são altamente polimórficos, 0,5< PIC >0,25 mediamente polimórfico e PIC <0,25 pouco polimórfico. Isto mostra que os três *loci* utilizados são altamente polimórficos e indicados para o uso.

Tabela 1. Marcadores moleculares, tamanho em pares de bases (pb), número de alelos, conteúdo de informação polimórfica (PIC) de três gerações de codornas de corte.

| Locus | Tamanho dos alelos (pb) | Número de alelos | PIC |
|------------|-------------------------|------------------|-------|
| Coturnix01 | 260-300 | 8 | 0,722 |
| CcoUFPel03 | 245-330 | 13 | 0,843 |
| CcoUFPel04 | 285-385 | 9 | 0,800 |

Os indivíduos da 14° geração apresentaram maior número de alelos, com média de 7,33, enquanto na 15° geração foi encontrado o menor número, com média de 5,66. Também se observou as médias de dois alelos privativos para 14° geração e um alelo para 13° e 15° gerações (Tabela 2). De acordo com MENEZES et al. (2006) fatores como cruzamentos direcionados; subdivisões dentro das populações; mutações; migração ou fluxo de genes a partir de outra população; método de amostragem incorreto e presença de alelos nulos não detectáveis experimentalmente podem ser as causas por essa desigualdade de alelos na população.

Em estudo realizado, CHANG et al. (2007), avaliou a partir de nove marcadores microssatélites de três populações de codornas denominadas em seu

trabalho como YJQ, YCQ e WSH obtendo as médias de 4,11 alelos para YJQ e WSH, e 4,67 para YCQ, apresentando médias menores comparado ao estudo deste trabalho.

Tabela 2. Marcadores microssatélites, grupo de ligação correspondente (Lg), número de alelos por *locus* no plantel, número de alelos privativos por *locus* no plantel (entre parênteses) e número de animais genotipados por plantel (sobrescrito), das 13°, 14° e 15° gerações de codornas de corte.

| Locus | Lg | 13° | 14° | 15° | Total |
|------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
| Coturnix01 | 1 | 6(1) ²⁵ | 6(2) ²¹ | 4(0) ¹⁹ | 8 |
| CcoUFPel03 | 1 | 9(2) ³⁰ | 8(1) ²⁶ | 9(2) ²⁸ | 13 |
| CcoUFPel04 | 1 | 5(0) ¹⁸ | 8(3) ¹⁴ | 4(1) ¹⁰ | 9 |
| Média | | 6,66(1) | 7,33(2) | 5,66(1) | 10 |

O maior valor da heterozigosidade observada (*Ho*), que representa o grau de diversidade genética dos plantéis, foi encontrado na 14° geração para o *locus* CcoUFPel04 (0,857), já o menor valor foi nas gerações 13° e 15° (0) para os *loci* Coturnix01 e CcoUFPel04. Para o coeficiente de endogamia (*F_{IS}*) foi observado valor negativo apenas na 13° geração para o *locus* CcoUFPel04 (Tabela 3).

Tabela 3. Heterozigosidade esperada (*He*), heterozigosidade observada (*Ho*), coeficiente de endogamia (*F_{IS}*) das 13°, 14° e 15° gerações de codornas de corte.

| Gerações | Coturnix01 | | | CcoUFPel03 | | | CcoUFPel04 | | |
|----------|------------|-------|-----------------|------------|-------|-----------------|------------|-------|-----------------|
| | He | Ho | F _{IS} | He | Ho | F _{IS} | He | Ho | F _{IS} |
| 13° | 0,724 | 0 | 1 | 0,824 | 0,533 | 0,357 | 0,739 | 0,777 | -0,053 |
| 14° | 0,735 | 0,095 | 0,873 | 0,849 | 0,576 | 0,324 | 0,875 | 0,857 | 0,021 |
| 15° | 0,745 | 0 | 1 | 0,853 | 0,321 | 0,6276 | 0,778 | 0 | 0,239 |

As médias de heterozigosidade observadas (*Ho*) nas três gerações foi inferior as médias de heterozigosidade esperadas, resultando em valores de coeficiente de endogamia total (*F_{IS}*) positivos. Nas três gerações se observou índices altos de *F_{IS}*, sendo o maior encontrado na 15° (0,622) e o menor na 14° geração (0,406) (Tabela 4).

Segundo CHANG et al. (2007) o valor de coeficiente de endogamia tem relação com a frequência de indivíduos heterozigotos no plantel, sendo que com um número pequeno de heterozigotos o *F_{IS}* é alto. O motivo dos valores elevados de *F_{IS}* encontrados nas três gerações são devido ao processo de seleção que a linhagem de codornas vem sofrendo.

Tabela 4. Heterozigosidade esperada média (*He*), heterozigosidade observada média (*Ho*), coeficiente de endogamia total (*F_{IS}*) das 13°, 14° e 15° gerações de codornas de corte.

| Gerações | <i>He</i> | <i>Ho</i> | <i>F_{IS}</i> |
|----------|-----------|-----------|-----------------------|
| 13° | 0,762 | 0,436 | 0,434 |
| 14° | 0,819 | 0,509 | 0,406 |
| 15° | 0,792 | 0,107 | 0,622 |

4. CONCLUSÕES

A partir das análises conclui-se que as três gerações de codornas de corte apresentam grau de endogamia elevado e os *loci* testados (*Coturnix01*, *CcoUFPel03* e *CcoUFPel04*) são polimórficos e com alta capacidade para identificar a variabilidade e a diversidade genética em codornas de corte.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRERO, N.M.L.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; GOMES, P.C.; JACOMETO, C.B.; LOPES T.S. Comparison of DNA extraction protocols of fish fin and larvae samples:modified salt (NaCl) extraction. **Ciencia e Investigacion Agraria**, v.35, n.1, p. 65-74, 2008.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, H.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment lenght polymorphisn. **American Journal of Human Genetics.**, v.32, p.314-331, 1980.

CHANG, G.B.; LIU, X.P.; ZHAO, W.M.; JI, D.J.; MAO, Y.J.; SONG, G.M.; SHI, X.K. Genetic Diversity of Wild Quail in China Ascertained with Microsatellite DNA Markers. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v.20, n. 12, p.1783-1790, 2007.

GRIESER, D. de O.; MARCATO, S.M.; FURLAN, A.C.; ZANCANELA, V.; BATISTA, E.; TON, A.P.S.; PERINE, T.P.; STANQUEVIS, C.E. Desempenho e rendimento de carcaça e partes de três diferentes linhagens de codornas. **Zootecnia Tropical**, v.33, n.1, p.61-72, 2015.

GODINHO, R.M. **Endogamia e heterose em características de desempenho e reprodutivas de codornas de corte**. 2014. 67f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais.

MENEZES, P.C.; MARTINEZ, A.M.; RIBEIRO, M.N.; PIMENTA FILHO, E.C.; BERMEJO, J.V.D. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.4, p.1336-1341, 2006.

ROSA, A. J. de M.; PAIVA, S. R. **Marcadores moleculares e suas aplicações em estudos populacionais de espécies de interesse zootécnico. Documentos/Embrapa Cerrados**. Planaltinha, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 35p. (EMBRAPA CERRADOS. Documentos, 254).

TEIXEIRA, B.B.; EUCLYDES, R.F.; TEIXEIRA, R.B.; DA SILVA, L.P.; TORRES, R. de A.; DA SILVA, F.G.; LEHNER, H.G.; DA COSTA CAETANO, G. Herdabilidade de características de produção e postura em matrizes de codornas de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.2, p.361-365, fev., 2013.