

VARIABILIDADE GENÉTICA EM UM PLANTEL COMERCIAL DE CODORNAS (*Coturnix coturnix japonica*)

Lucileide Vilela RESENDE^{1,2}; Nadja Suzana Mogyca LEANDRO²; Mariana Pires de Campos TELLES¹; Rosane Garcia COLLEVATTI¹.

¹Laboratório de Genética & Biodiversidade – Universidade Federal de Goiás;

²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal de Goiás
lvilelar@gmail.com

Palavras-chave: codorna, variabilidade genética, SSR, STR

Introdução

As codornas são originárias do norte da África, da Europa e da Ásia, pertencendo à família dos Fasianídeos (Fasianidae) e da subfamília dos Perdicionidae, sendo, portanto, da mesma família das galinhas domésticas e perdizes (MINVIELLE, 2004). No cenário da produção avícola brasileira, durante muitos anos, a coturnicultura foi considerada como atividade alternativa para pequenos produtores. Entretanto, em função do potencial dessas, sua exploração comercial cresceu e encontra-se em expansão. Porém, para atingir maior produtividade é necessário obter material genético de qualidade, para isso, são necessários programas de melhoramento bem fundamentados (DIONELLO et al., 2008). Para que estes programas sejam eficientes é necessário que se tenha variabilidade genética, e esta variabilidade pode ser atualmente identificada com o auxílio dos marcadores moleculares.

Os marcadores baseados em PCR (Reação em Cadeia da Polimerase – *Polymerase Chain Reaction*) mais amplamente utilizados no melhoramento genético são os microssatélites ou STR (Repetições curtas em série - *Short Tandem Repeats*) e os SNPs (Single nucleotide polymorphisms – polimorfismos de base única) (CAIXETA et al., 2006). STR são marcadores cujos *primers* possuem seqüências conhecidas e flanqueiam as regiões microssatélites. São bastante abundantes e dispersas ao longo do genoma de eucariotos, sendo muito utilizados para a análise de vínculo genético, parentesco, endogamia e mapeamento genético, pois apresentam alto nível de polimorfismo (CAIXETA et al., 2006; CHAMBERS & MACAVOY 2000).

Sendo assim, pesquisas que auxiliem na elucidação do perfil de grupos genéticos de codornas, podem auxiliar o coturnicultor na definição de matrizes adequadas para a melhoria do plantel comercial. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade genética existente em marcadores de regiões microssatélites desenvolvidos para *Coturnix coturnix japonica* utilizando, para tanto, indivíduos oriundo de um plantel comercial mantido pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Material e métodos

Foram utilizados no desenvolvimento do trabalho 96 animais da espécie *Coturnix coturnix japonica*, provenientes da Granja Fujikura, Suzano (SP). Destes animais foram obtidas amostras de sangue com o auxílio de um capilar de vidro.

A coleta dos dados genéticos foi realizada no Laboratório de Genética & Biodiversidade (Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas) da UFG. Para tanto, foram realizadas extrações do DNA das amostras de sangue, utilizando o protocolo descrito por TAGGART et al. (1992). Posteriormente o DNA foi quantificado, utilizando como padrão o marcador de peso molecular *Low DNA Mass Ladder* e diluído para a realização das reações em cadeia da polimerase (PCR).

Foram selecionados os 12 locos mais informativos, após testes com 24 animais em 17 locos descritos na literatura, desenvolvidos por KAYANG et al. (2002) para *Coturnix japonica*. Os fragmentos de DNA produzidos foram submetidos à eletroforese vertical em gel de poliacrilamida 6%. Em seguida, os fragmentos foram corados com nitrato de prata para a visualização dos alelos, seguindo o protocolo descrito por CRESTE et al. (2001). Após a revelação e secagem das placas, elas foram colocadas sobre a luz branca para a obtenção dos genótipos e depois escaneadas e os arquivos armazenados para posterior conferência. A identificação dos alelos foi realizada de acordo com o seu tamanho, em pares de bases, utilizando como parâmetro o marcador de peso molecular “10bp *Ladder*” do fabricante *Invitrogen*TM.

Para minimizar os possíveis erros na obtenção dos genótipos e confirmar a existência de todos os alelos, foi construída uma escada alélica, a partir de uma nova eletroforese com o número mínimo de indivíduos que contemplasse todos os alelos de cada loco.

A matriz de genótipos obtida foi utilizada para estimar os seguintes parâmetros genéticos básicos: número médio de alelos por loco, frequências alélicas em cada loco, número de alelos observados (n_a), heterozigosidade esperada sob condições do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e), heterozigosidade observada e a frequência de alelos nulos. A fim de conhecer o poder de discriminação individual dos locos, também foram estimadas as probabilidades de identidade genética (PI) e de exclusão de paternidade (PE) para cada loco e para o conjunto de locos. As análises foram realizadas utilizando o software IDENTITY 1.0 (WAGNER & SEFC, 1999).

Resultados e discussão

Os locos avaliados foram padronizados com temperaturas de anelamento para os primers que variaram entre 62°C e 66°C. Os 12 locos apresentaram-se polimórficos, com uma média igual a 8,5 alelos nos locos, variando entre 6 (GUJ0069 e GUJ0086) e 13 (GUJ0062) (Tabela 1). A confirmação dos alelos foi verificada pela escada alélica, montada para cada loco (Figura 1). As frequências alélicas, para cada loco, estão apresentadas na figura 2.

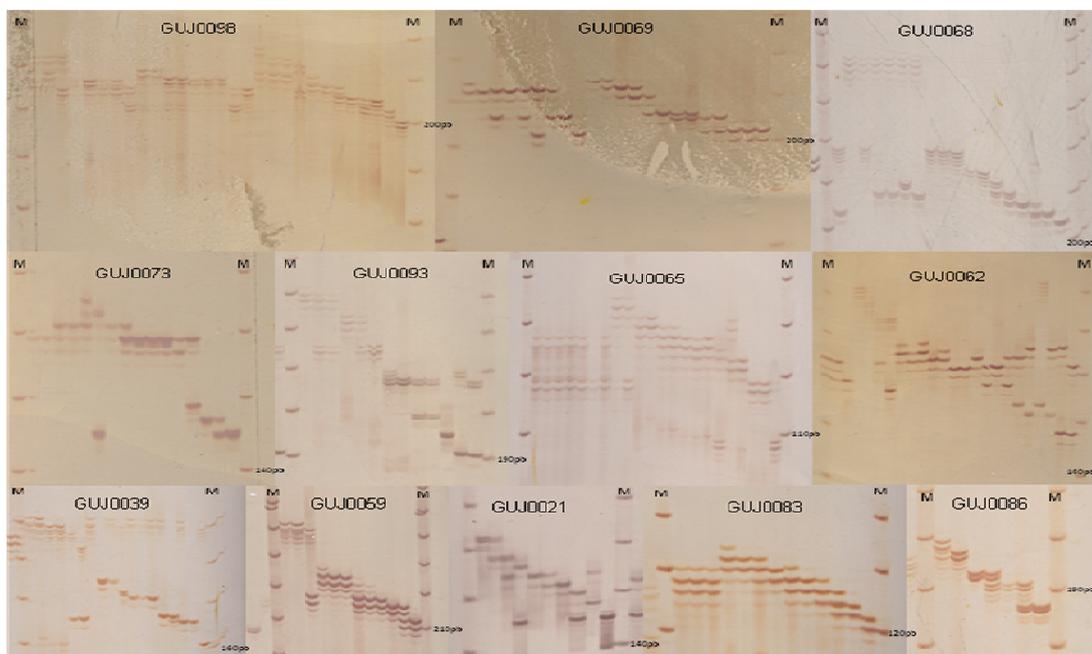


Figura 1. Escadas alélicas mostrando os alelos presentes nos 12 locos STR analisados. As colunas "M" indicam o padrão de peso molecular 10 bp.

Tabela 1 – Relação dos 12 locos STR analisados, contendo o motivo de repetição da região microssatélite e seu tamanho (MR), acesso ao GenBank, amplitude de variação do tamanho do alelo (AVTA), temperatura de anelamento (TA), número de indivíduos (n), número de alelos observados (na), heterozigosidade esperada (He) e observada (Ho), estimativa de frequência de alelos nulos (FAN), probabilidade de exclusão de paternidade (PE) e probabilidade de identidade (PI).

primer	MR	GenBank	AVTA (pb)	TA (°C)	n	na	He	Ho	FAN	PE	PI
GUJ0021	(CA)11	AB035831	145-163	64	96	9	0,75814	0,75000	0,00463	0,54473	0,1641
GUJ0039	(CA)19	AB035849	162-192	64	96	10	0,78087	0,91667	-0,07625	0,57733	0,1457
GUJ0059	(CA)10	AB063127	212-242	62	96	8	0,77246	0,81250	-0,02259	0,57923	0,1351
GUJ0062	(CA)13	AB063130	164-216	64	96	13	0,85455	0,88542	-0,01665	0,71013	0,0705
GUJ0065	(CA)13	AB063133	109-135	66	96	8	0,75532	0,75000	0,00303	0,55909	0,1443
GUJ0068	(CA)13	AB063136	204-242	68	96	10	0,86350	0,91667	-0,02853	0,72547	0,0632
GUJ0069	(CA)11	AB063137	202-214	66	96	6	0,76687	0,85417	-0,04941	0,54463	0,1707
GUJ0073	(CA)13	AB063141	144-164	64	96	8	0,76118	0,69792	0,03592	0,55049	0,1614
GUJ0083	(CA)11	AB063151	122-134	66	96	7	0,75564	0,76042	-0,00272	0,54149	0,1688
GUJ0086	(CA)19	AB063154	187-209	66	96	6	0,70622	0,63542	0,04150	0,48528	0,1986
GUJ0093	(CA)16	AB063161	191-231	62	96	9	0,78722	0,79167	-0,00249	0,60053	0,1240
GUJ0098	(CA)12	AB063166	201-215	66	96	8	0,79308	0,79167	0,00079	0,59591	0,1336
Total	-	-	-	-	96	102	-	-	-	0,99998	3,18.10-11
Média	-	-	-	-	-	8,5	0,77959	0,79688	-	-	-

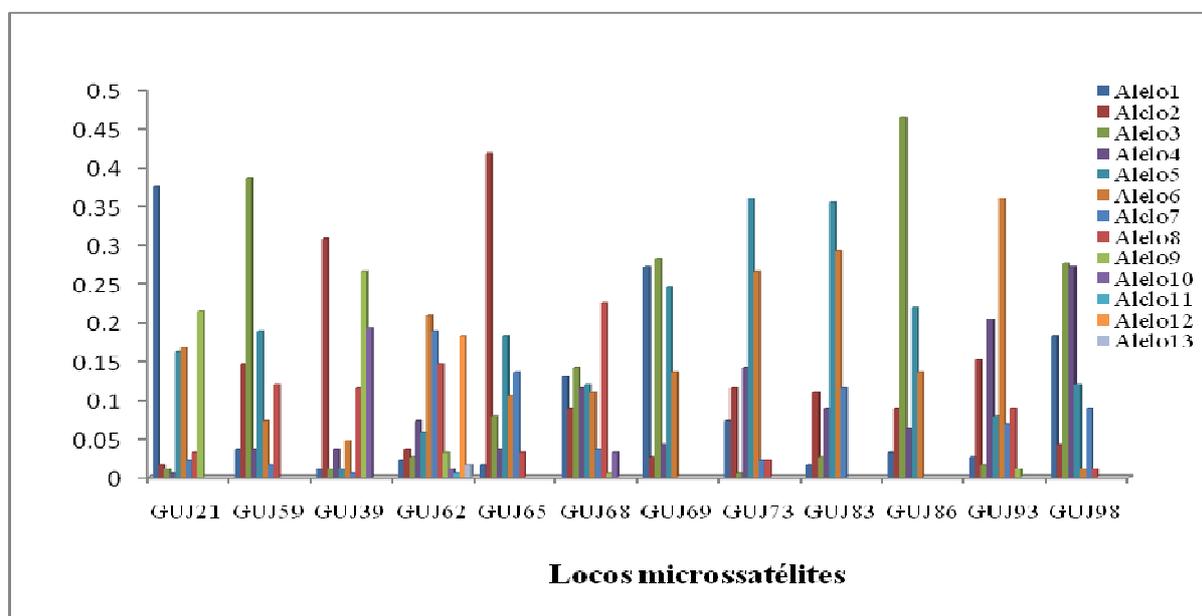


Figura 2. Frequências alélicas dos 12 locos STR, estimadas a partir dos 96 animais *Coturnix coturnix japonica*.

A heterozigosidade esperada (H_e) apresentou uma média igual a 0,779, variando entre 0,706 (GUJ0086) e 0,863 (GUJ0068). Para a heterozigosidade observada (H_o) o valor médio foi igual a 0,797, variando entre 0,635 (GUJ0086) e 0,917 (GUJ0039 e GUJ0068). A frequência de alelos nulos apresentou valores entre -0,076 (GUJ0039) e 0,042 (GUJ0086). A probabilidade de exclusão de paternidade (PE) variou entre 0,4853 (GUJ0086) e 0,7255 (GUJ0068), com PE combinada igual a 0,999978. A PI variou entre 0,0632 (GUJ0068) e 0,1986 (GUJ0086) com valor combinada igual a $3,18 \cdot 10^{-11}$. Esses valores compõem uma bateria de locos robustos para a realização de análises de vínculo genético e para estudos de sistema de cruzamento e variabilidade genética em *Coturnix coturnix japonica*.

Conclusões

A bateria de 12 locos é eficiente e satisfatória para acessar os elevados níveis de polimorfismo no plantel de *Coturnix coturnix japonica*.avaliado neste estudo

Referências bibliográficas

- CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. Tipos de Marcadores Moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T.; **Marcadores moleculares**. Editora: UFV. Viçosa – MG, 2006. cap 01. p. 09-78.
- CHAMBERS, G.K.; MACAVOY, E.S. Microsatélites: consensus and controversy. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 126, p. 455–476, 2000.
- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of Single Sequence Repeat Polymorphisms in Denaturing Polyacrylamide Sequencing Gels by Silver Staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.19, p. 299–306, 2001.
- DIONELLO, N.J.L.; CORREA, G.S.S.; SILVA, M.A.; CORREA, A.B.; SANTOS,G.G. Estimativas da trajetória genética do crescimento de codornas de corte utilizando modelos de regressão aleatória. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.454-460, 2008
- KAYANG, B.B.; INOUE-MURAYAMA, M.; HOSHI, T.; MATSUO, K.; TAKAHASHI, H.; MINEZAWA, M.; MIZUTANI, M.; ITO, S. Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. **Genetics Selection Evolution**, v.34, p.233-253, 2002.
- MINVIELLE F. The future of Japanese quail for research and production. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, p.500-507, 2004.
- TAGGART, J.B.; HYNES, R.A.; PRODOHL, P.A.; FERGUSON, A. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. **Journal of Fish Biology**, v.40, p.963-965, 1992.
- WAGNER, H.W.; SEFC, K.M. **IDENTITY 1.0** - Freeware program for the analysis of microsatellite data, Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences Vienna, 1999. 5p.

Apoio Financeiro: FAPEG/AUX PESQ CH 007/2009.