

IDENTIFICAÇÃO DOS GENÓTIPOS (AA, Aa e aa) E AVALIAÇÃO DOS SEUS EFEITOS SOBRE PARÂMETROS DE DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARÇA, E ÓRGÃOS REPRODUTORES MASCULINOS E FEMININOS DE CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*) COM 42 DIAS DE IDADE

Evandro Barboza Matos (PIBIC/CNPq), Jéssica Carolina Camargo Lopez, Angélica de Souza Khatlab, Gabriela Hernandez Granzoto, Eliane Gasparino (Orientadora),
e-mail: gasparinoeliane@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR.

Área e sub-área: Zootecnia/ Genética e Melhoramento dos Animais Domésticos

Palavras-chave: eixo somatotrópico, gene candidato, marcador molecular

Resumo:

Nosso objetivo foi identificar os genótipos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), e avaliar o efeito dos genótipos obtidos sobre o desempenho animal, características de carcaça e peso relativo de órgãos reprodutores masculinos e femininos de codornas com 42 dias de idade. Para isso, 120 codornas com 14 dias de idade (60 machos e 60 fêmeas) foram genotipadas (por meio da análise de polimorfismos na sequência avaliada do gene hormônio do crescimento, *GH*) e distribuídas em três tratamentos referentes aos genótipos (AA, Aa e aa), com quatro repetições por tratamento e dez aves por repetição. Aos 42 dias de idade todas as aves foram pesadas e abatidas por deslocamento cervical para coleta de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa sem pele), gordura abdominal e órgãos reprodutivos masculinos e femininos, que foram pesados para determinação do peso relativo. Os dados foram avaliados por meio da ANOVA, e as médias com diferenças significativas foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Não houve efeito significativo dos tratamentos sobre nenhum dos parâmetros de desempenho e peso relativo de testículos avaliados nos machos e sobre o peso relativo do ovário, oviduto e folículo pré-ovulatório fase 1 avaliado nas fêmeas. Concluímos que os genótipos (AA, Aa e aa) identificados nas codornas de postura a partir da análise de polimorfismo *GH-PvuII* não afetam as características de produção e reprodução avaliadas neste estudo. Possivelmente, esses parâmetros possam estarem associadas com polimorfismos em outras regiões do gene *GH* não avaliadas neste estudo.

Introdução

A demanda pela produção comercial de codornas está se tornando cada vez maior, e existe interesse na criação de codornas em bases comerciais devido ao menor risco e investimento inicial, quando comparado a atividade comercial de frangos (Islam et al., 2014). Contudo, a maioria dos produtores enfrentam problemas na obtenção de genitores que detém alta qualidade genética, capazes de produzir também de igual modo prole de boa qualidade genética (Islam et al., 2014). Segundo Feng et al. (1998), o hormônio do crescimento (GH) governa muitas vias metabólicas, como a do crescimento, reprodução, puberdade e respostas

imunológicas. Kazemi et al. (2018) verificaram que os genes do eixo de crescimento, incluindo o *GH*, não apenas afetam características produtivas de frangos nativos, mas também são significativamente associados a algumas características reprodutivas. Nesse sentido, este estudo foi conduzido sob a hipótese de que genótipos diferentes (AA, Aa e aa) apresentam relação direta com parâmetros de desempenho, características de carcaça e de órgãos reprodutores masculinos e femininos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) de uma mesma linhagem comercial.

Materiais e Métodos

O estudo foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA nº 6098240322). Inicialmente, 300 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) machos e fêmeas, foram alojadas em boxes com cama de papel corrugado de 1º ao 14º dia de vida. Aos 14 dias de idade, os animais foram separados por sexo (120 machos e 120 fêmeas) e identificados com microchip (ISSO FDX-B, 134,2 Khz). Em seguida, aproximadamente 500 µL de sangue foram coletados a partir do pé de cada animal em papel filtro (FTA classic card, Whatman®) para extração do DNA genômico do sangue utilizado para a análise de genotipagem.

Após análise de genotipagem e identificação dos animais portadores dos genótipos AA, Aa e aa, 120 codornas japonesas (60 machos e 60 fêmeas) foram pesadas e distribuídas em três tratamentos relacionados ao genótipo: Tratamentos 1, 2 e 3: genótipos AA, Aa e aa respectivamente. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e dez aves por repetição. Os animais foram criados de maneira convencional em gaiolas metálicas e ambiente com temperatura e iluminação controladas de acordo com as recomendações para a espécie até os 42 dias de idade.

Para extrair o DNA genômico, fragmentos do papel filtro com o sangue dos animais foram adicionadas em microtubos contendo 500 µL de tampão constituído de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). Essa mistura de amostra+CTAB foi mantida por uma hora em banho-maria a 65°C com agitações ocasionais. Em seguida 500 µL de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1) foram adicionados nos microtubos sob agitação. Na sequência, as amostras foram centrifugadas a 13.000 x g por 15 minutos. Os sobrenadantes foram transferidos para novos microtubos e precipitados pela adição de 250 µL de isopropanol, seguido de um resfriamento a 4°C por 30 minutos. O DNA precipitado foi centrifugado a 13.000 x g por 30 minutos. O pellet de DNA foi lavado duas vezes com etanol 75%, em seguida foi dissolvido em tampão tris-HCl a 10 mM pH 7,4 e ácido etilenodiamino tetraacético 1 mM pH 8,0. As amostras de DNA genômico foram quantificadas em espectrofotômetro Nanodrop 2000-c (Thermo Fisher Scientific™) no comprimento de onda de 260 nm. Em seguida as amostras de DNA foram utilizadas para amplificar o fragmento do gene *GH* (nº de acesso FJ458436.1). Os polimorfismos na sequência avaliada do gene *GH* foram detectados após a digestão dos produtos da amplificação com endonuclease de restrição *PvuII* (Invitrogen) a 37°C overnight. Após a digestão enzimática, os fragmentos clivados foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida para identificação de animais portadores ou não de polimorfismos genéticos na sequência do gene *GH* e identificação dos genótipos (AA, Aa e aa).

O desempenho animal foi avaliado por meio do consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, e a gaiola com dez aves ($n = 4$) foi considerada como uma unidade experimental. Ao final do período experimental (42 dias), as codornas foram submetidas ao período de jejum sólido de seis horas, e então seis codornas de cada tratamento escolhidas com base no peso médio da repetição, foram abatidas por deslocamento cervical. O peito e a coxa e sobrecoxa sem pele, gordura abdominal e os testículos, ovário, oviduto e folículo pré-ovulatório fase 1 foram coletados e pesados para determinação de seus pesos relativos ((peso do corte ou órgão/peso da ave)X100).

Os dados foram analisados por meio da ANOVA one-way e as médias com diferenças significativas foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) (SAS, 2002 versão 9.00, SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Resultados e Discussão

Não foi observado efeito significativo dos genótipos sobre as características de desempenho animal, peso relativo do peito sem pele, da coxa e sobrecoxa sem pele e gordura abdominal das codornas (machos) (Tabela 1).

Tabela 1. Efeitos dos genótipos AA, Aa e aa sobre o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), peso relativo do peito sem pele, coxa e sobrecoxa sem pele e gordura abdominal de codornas de postura (machos) com 42 dias de idade

	Tratamentos						Valor de P
	AA		Aa		aa		
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	
CR (g)	104,83	3,14	103,99	3,00	104,10	3,20	0,0765
GP (g)	77,95	0,46	77,89	0,43	77,30	0,40	0,0678
CA (g)	1,34	0,02	1,34	0,03	1,35	0,04	0,1005
Peito (%)	25,92	0,35	25,78	0,30	25,00	0,43	0,0786
Coxa e sobrecoxa (%)	15,12	0,08	15,04	0,09	14,96	0,091	0,0965
Gordura abdominal (%)	1,91	0,16	1,72	0,15	1,80	0,17	0,1235

Os resultados são apresentados como média e erro padrão (EP). As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando o valor de P foi menor que 5%. Para os dados desempenho a gaiola com dez aves ($n = 4$) foi considerada como uma unidade experimental. Para os dados de características de carcaça (peito relativo do peito sem pele, da coxa e sobrecoxa sem pele e gordura abdominal) a ave ($n = 6$) foi considerada uma unidade experimental.

Não houve efeito significativo do genótipo sobre o peso relativo dos testículos, ovário, oviduto e folículo pré-ovulatório fase 1 ($P > 0,05$) (Figura 1).

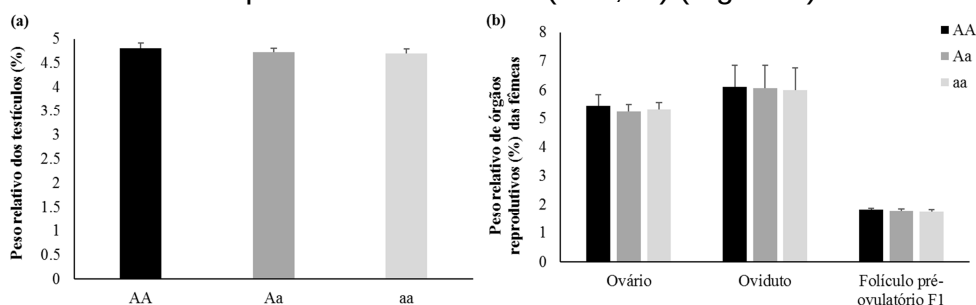


Figura 1. Efeitos dos genótipos (AA, Aa e aa) sobre o peso relativo de órgãos reprodutivos masculino (a) e feminino (b). Os resultados são apresentados como média e erro padrão. As médias foram consideradas

como significativas quando o valor de P foi menor que 5%. Nesta análise a ave ($n = 6$) foi considerada como uma unidade experimental.

Kazemi et al. (2018) verificaram que os genes do eixo de crescimento, incluindo o *GH*, afetaram características produtivas de frangos, e também foram associados a algumas características reprodutivas. Os autores sugeriram que genes relacionados ao eixo do crescimento podem ser usados como genes candidatos em programas de melhoramento genético de aves para potencializar a expressão de características produtivas e reprodutivas. Nossos resultados sugerem que possivelmente as características produtivas e reprodutivas avaliadas neste estudo possam estarem associadas com polimorfismos em outras regiões do gene *GH* não identificados neste estudo. Assim, como também essas características de interesse econômico possam ser governadas por outros genes candidatos do eixo somatotrópico. Além disso, está bem estabelecido que a produção de espécies avícolas é de ordem multifatorial e não poderia ser regulada implicando apenas um fator, seja de origem genética ou não genética (Ali et al., 2021).

Conclusões

Os genótipos (AA, Aa e aa) identificados nas codornas de postura (*Coturnix coturnix japonica*) a partir da análise de polimorfismo *GH-PvuII* não afetaram as características de produção e reprodução desses animais. Possivelmente, esses parâmetros produtivos e reprodutivos avaliados possam estarem associadas com polimorfismos em outras regiões do gene *GH* não avaliadas neste estudo.

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Maringá, ao Departamento de Zootecnia pelo apoio técnico e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa.

Referências

- ALI, D. A.; AL-SHUHAIB, M. B. S.; FARHADI, G.; AL-KAJAJY, F. R.; AL-THUWAINI, T. M.; ESMAILZADEH, A. Detection of a novel single nucleotide polymorphism in IGF2 gene with a negative impact on egg production and body weight in Japanese quail (*Coturnix japonica*). **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-9, 2021.
- FENG, X. P.; KUHNLEIN, U.; FAIRFULL, R. W.; AGGREY, S. E.; YAO, J.; ZADWORN, D. A genetic marker in the growth hormone receptor gene associated with body weight in chickens. **The Journal of Heredity**, v. 89, p. 355-359, 1998.
- ISLAM, M. S.; FARUQUE, S.; KATHUN, H.; ISLAM, M. N. Effects of quail genotypes on hatchability traits, body weight and egg production. **Journal of Bangladesh Academy of Sciences**, v. 38, n. 2, p. 219-224, 2014.
- KAZEMI, H.; REZAEI, M.; HAFEZIAN, H.; MIANJI, G. R.; NAJAFI, M. Genetic analysis of SNPs in *GH*, *GHR*, *IGF-I* and *IGFBP-II* genes and their association with some productive and reproductive traits in native breeder hens. **Gene Technology**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2018.