

DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA DOS ALELOS “A” E “B” DO GENE DE KAPPA-CASEÍNA EM BOVINOS DA RAÇA GUZERÁ

*Elaine C. Castelhana**; *Marcos Merzel**; *Irineu U. Packer**, *Alexander G. Razoock***; *Leopoldo A. Figueredo*** e *Luiz L. Coutinho**
**Laboratório de Biotecnologia Animal - Dep. de Zootecnia ESALQ/USP*
*** Instituto de Zootecnia - Sertãozinho*

Estudos conduzidos com animais da raça Holandesa indicaram que o alelo B do gene de kappa-caseína está associado com maior produção de proteína no leite. No entanto pouco se sabe sobre a frequência ou importância de diferentes alelos deste gene na raça Guzerá.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de determinar a frequência alelica do gene de kappa-caseína e a associação dos alelos com ganho de peso em bovinos da raça Guzerá. Foram analisadas amostras de sangue de 72 animais participantes da prova de ganho de peso do ano de 1995 no Instituto de Zootecnia -Sertãozinho. O DNA foi isolado a partir de amostras de sangue periférico coletadas em tubos contendo EDTA. Para a extração misturou-se 0.5 ml de sangue com 0.5 ml de tampão de lise (0,32 M de sucrose, 10 mM de Tris-HCl pH 7,5, 5 mM de MgCl₂ e 1% de Triton X-100). Após centrifugação a 13.000 g por 20 segundos, o sobrenadante foi descartado e as células foram lavadas três vezes em 1 ml de tampão de lise. O material precipitado foi então ressuspensionado em 0,5 ml de solução contendo 50 mM KCl, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 1,5 mM de MgCl₂, 1% de Triton X-100 e 60 ng de proteinase K/μl. A suspensão foi incubada a 55°C por 1 hora. Seguiu-se com a inativação da proteinase K por 10 minutos a 95°C e o material foi mantido a -20°C até o momento do uso. A amplificação do DNA foi

realizada através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Foi amplificada uma sequência de 350 pares de base no loco do gene da kappa-caseína. A reação de amplificação continha 5 µl de DNA genômico, 2,5µl de tampão de reação da taq polimerase, 200 nM de cada dNTP, 400 nM de cada primer, 0,5 unidades de taq polimerase. Foram utilizados os seguintes Primers:

Primer up: 5'-ATC ATT TAT GGC CAT TCC ACC AAA G -3'

Primer down 5'-GCC CAT TTC GCC TTC TCT GTA ACAC GA-3'

As amostras foram inicialmente desnaturadas durante 2 minutos e 20 segundos a uma temperatura de 94°C em seguida foram submetidas a 30 ciclos de: desnaturação (45" a 94°C), anelamento (1' a 55°C) e extensão (1'15" a 73°C). As amostras amplificadas foram digeridas com a enzima de restrição *Hinf*I que reconhece dois sítios de clivagem no alelo A resultando em 3 fragmentos de 132, 134 e 84 pares de base. No alelo B a enzima cliva em apenas um sítio formando 2 fragmentos de 266 e 84 pares de base. Estes fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose(3%), permitindo assim a caracterização dos diferentes alelos.

A frequência genotípica encontrada nesta população foi: AA 96% e AB 4%. A população se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg calculado pelo teste de χ^2 ($\alpha=0,05$). Comparando as frequências observadas para a raça Guzerá com as de outras raças estudadas previamente neste laboratório, observamos uma maior proximidade com aquelas encontradas em bovinos das raças Gir (87% AA e 13% AB) e Nelore (84% AA e 16% AB), já as frequências encontradas nas raças Caracu (45% AA, 52% AB e 2% BB) e Holandesa (66% AA, 29% AB e 5% BB) são mais distantes. Isto provavelmente está relacionado com o fato de Guzerá, Gir e Nelore serem raças zebuínas e Caracu e Holandesa serem raças européias. Com relação a performance dos animais não foram observadas diferenças significativas entre animais de genótipo AA ou AB para peso ao nascimento (AA $29,7 \pm 4,6$, AB $29,1 \pm 4,6$ kg), peso a desmama (AA $184,1 \pm 23,0$; AB $186,4 \pm 23,0$ kg) e peso ao final da prova de ganho de peso (AA $320,2 \pm 34,5$; AB $315,9 \pm 34,5$ kg).