

ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DO MICROSSATÉLITE FLANQUEADOR DO GENE IGF-I E DO GENE DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO BOVINO (BGH) COM CARACTERÍSTICAS PONDERAIS NA RAÇA NELORE

Sandra Beatriz Conde¹, Simone E.F. Guimarães²; Ricardo Frederico Euclides², Luiz Otávio Campos da Silva³ e Kepler Euclides Filho³

¹INTA/Castelar
Morón 1708
CC77 – Buenos Aires, Argentina
²DZO/UFV
³CNPGC/EMBRAPA

INTRODUÇÃO

O bGH pode ter funções anabólicas e catabólicas, atuando também no metabolismo de minerais e aumentando a regeneração tecidual (BURTON et al., 1994). Pode ter efeitos diretos, estimulando a incorporação de aminoácidos ao músculo esquelético em crescimento, mas quase todos seus efeitos são indiretos e mediados pelas somatomedinas, especialmente o *Insulin Like Growth Factor* –I ou IGF-I.

Por seu importante papel na fisiologia animal, vários trabalhos têm buscado polimorfismos na estrutura gênica do bGH, inclusive em animais zebuínos (RODRIGUES et al., 1997; FARIA et al., 1997). Com relação ao IGF-I, os artigos encontrados na literatura são menos numerosos, especialmente para zebuínos, podendo ser citados os trabalhos de ROSA (1997) e REGITANO et al., (1999).

MATERIAL E MÉTODOS

Coletaram-se cerca de 10ml de sangue por punção venosa de 102 animais Nelore PO (47 fêmeas e 55 machos) para extração de DNA, que foi conduzida como rotina no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa. Após a extração, o DNA devidamente diluído e acondicionado era submetido a amplificação por PCR, cujas reações para todos os sistemas testados constavam de 30ng de DNA, 1 unidade de Taq DNA polimerase, 0,2 µM de cada *primer* (os *primers* eram específicos para cada sistema amplificado), 0,2mM de cada dNTP, 20mM Tris-HCl pH 8,3, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂. O programa de amplificação constou de 35 ciclos, compostos por 94°C de desnaturação, T° específica para anelamento de cada par de primers, e 72°C de polimerização; cada passo durava 1 minuto. Após a PCR, os produtos eram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) e então corados com nitrato de prata.

Para o sistema IGF-I buscava-se na eletroforese a identificação dos alelos, que de acordo com a literatura consultada (http://sol.marc.usda.gov/cgi-bin/cattle_marker?marker=IGF-I), seriam quatro, apresentando peso entre 231 e 225pb. O sistema amplificado entre o intron C e o exon V do bGH era submetido a duas reações distintas de clivagem, na primeira utilizou-se a enzima AluI, e na outra a enzima MspI. Tanto para uma ou outra enzima, a presença ou

ausência dos fragmentos clivados indicam os alelos presentes no genoma do animal em teste. Após identificação dos polimorfismos genéticos do bGH e do microssatélite marcador do IGF – I foram obtidas as frequências genótípicas e gênicas por contagem direta. Para avaliar o efeito dos genótipos sobre os fenótipos foram usados modelos de análise de variância para associar o peso ao nascimento (PN), peso à desmama (PD) e o peso ao sobreano (PSA) com os genótipos obtidos para os polimorfismos do bGH e do IGF-I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à enzima Alu I, não foram encontrados animais polimórficos, sendo todos eles portadores do genótipo homocigoto que codifica para o aminoácido leucina, o que coincide com outros estudos na raça Nelore (FARIA et al., 1997; RODRIGUES et al., 1997; ROSA et al., 1997). A clivagem dos produtos amplificados do bGH pela enzima MSP I revelou três padrões de bandas, o que determinou os três genótipos, distintos pelo tamanho dos fragmentos amplificados, respectivamente como homocigoto recessivo (-/-) heterocigoto (+/-) e homocigoto dominante (+/+). As frequências genótípicas para os três genótipos foram : -/- 0,7111; +/- 0,2778 e +/+ 0,0111, já as frequências gênicas foram: alelo – 0,85 e alelo + 0,15. Esses resultados são similares a outros obtidos na raça Nelore (RODRIGUES et al, 1997; e FARIA et al., 1997). Não se encontrou associação dos genótipos gerados pela enzima Msp I com nenhuma das características estudadas.

Quanto ao microssatélite marcador do IGF-I, dos quatro alelos citados pela literatura consultada, apenas dois foram encontrados, havendo predominância do menor alelo, com 225pb, o que concorda com outros estudos feitos na raça Nelore (REGITANO, 1999 – comunicação pessoal). Com relação ao microssatélite, as frequências genótípicas foram, respectivamente, para animais homocigotos para o maior alelo, heterocigotos e homocigotos para o menor alelo: 0.1158, 0.3579 e 0.5263. As frequências gênicas para o maior e menor alelo foram, respectivamente, 0.29 e 0.71. Além de mais frequente, o alelo de 225pb esteve relacionado a 5% de significância com o peso à desmama. Não foram encontrados em zebuínos outros estudos que tenham procedido associações fenótipo-genótipo para variantes alélicas do microssatélite aqui relatado. Para taurinos, MOODY et al. (1994) encontraram significância, também a 5% de probabilidade, entre os genótipos do microssatélite 5' flanqueador do bIGF-I e o peso aos 365 dias para animais da raça Hereford, o que parece demonstrar que esse microssatélite poderia ser estudado mais profundamente, tentando avaliar suas potencialidades como marcador genômico em bovinos de corte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURTON, J.L.; McBRIDE, B.W.; BLOCK, E. et al., A review of bovine growth hormone. *Can. J. Anim. Sci.* v.74: 167-201, 1994
- FARIA, J.J.C.; GUIMARÃES, S.E.F.; MOURÃO, G.B. et al., Análise do exon III ao V do gene do hormônio de crescimento bovino. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.21: 188-189, 1997
- MITRA, A., SCHLEE, P.; BALAKRISHNAN, C.R. et al., Polymorphism of growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *J. Anim. Breed. Genet.* v.112, 71-74, 1995
- MOODY, D.E., POMP, D., NEWMAN, S., McNEIL, N.D. Characterization of DNA polymorphisms and their associations with growth and maternal traits in line 1 Hereford

- cattle. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 1994, Guelph. *Proceedings...* Guelph, Canadá: International Committee for World Congresses on Genetics Applied to Livestock Production, 1994, p.221-224.
- REGITANO, L.C.A.; AZEVEDO, J.L.; VENCOVSKY, R. et al, Selection for breed-specific growth hormone and IGF-I alleles in a synthetic beef cattle cross, Canchim. *Genet. Molec. Biology*, 22 (4):531-537,1999.
- RODRIGUES, C.V.; GUIMARÃES, S.E.F.; PINHEIRO, L.E.L. Frequências alélicas das variantes do hormônio de crescimento bovino por análise de polimorfismo de fragmentos de restrição (RFLP) em raças de corte. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.21, 189-192, 1997
- ROSA, A.J.M. PACKER, I.U., REGITANO, L.C.A. et al., Caracterização da raça Nelore e teste de paternidade por marcadores moleculares. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 24^o REUNIÃO ANUAL, Juiz de Fora, *Anais...* Juiz de Fora: SBZ, 1997, p. 62-64.