

Associação do polimorfismo *GH/AluI* com características de crescimento e de carcaça em bovinos de corte

Gustavo Garcia Santiago¹, Fabiane Siqueira², Roberto Augusto de Almeida Torres Junior², Gelson Luís Dias Feijó², Isabella Maiumi Zaidan Blecha³, Thiago Dutra de Carvalho⁴

¹ Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial 3 (DTI-III/CNPq) da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande/MS,

gustavo_garciasantiago@hotmail.com

² Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande/MS

³ Mestranda do Curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Campo Grande/MS

⁴ Biólogo e Mestre em Ciência Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande/MS

Resumo: Objetivou-se avaliar a ocorrência de associação entre o polimorfismo *GH/AluI* com características de crescimento e de carcaça em bovinos de corte de diferentes grupos genéticos. Foram analisados 201 produtos obtidos a partir de cruzamentos de touros Canchim, Caracu e Red Angus com matrizes cruzadas F1 filhas de touros Valdostana, Caracu e Angus com fêmeas Nelore, sendo que o touro Red Angus foi utilizado apenas em matrizes $\frac{1}{2}$ Caracu + $\frac{1}{2}$ Nelore, totalizando sete grupos genéticos. A genotipagem foi realizada pela metodologia PCR-RFLP (*Polymorphism Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) e nos estudos de associação, o efeito do marcador sobre as características de interesse estudadas foi analisado utilizando-se o procedimento *General Linear Model* (GLM) do programa estatístico SAS. As médias dos quadrados mínimos dos genótipos foram comparadas pelo teste t de *Student*. Dos 201 animais genotipados, 144 apresentaram o genótipo LL, 52 o genótipo LV e cinco animais o genótipo VV. Os resultados obtidos mostraram associação significativa ($P=0,030$) entre o genótipo VV do polimorfismo *GH/AluI* com área de olho de lombo (AOL) e associação sugestiva ($P=0,098$) entre o mesmo genótipo com peso de carcaça quente (PCQ). Não foram observadas associações significativas para as demais características fenotípicas avaliadas.

Palavras-chave: cruzamentos, gene candidato, gene do hormônio do crescimento, marcador molecular, melhoramento genético, PCR-RFLP

Association of polymorphism *GH/AluI* with growth traits and carcass in beef cattle

Abstract: The objective was to evaluate the occurrence of association between the polymorphism *GH/AluI* and growth traits and carcass in beef cattle of different genetic groups. Were analyzed 201 products obtained from crosses of bulls Canchim, Caracu and Red Angus crossed with matrices F1 daughters of bulls Valdostana, Caracu Angus with Nelore, and Red Angus bull was used only in Caracu $\frac{1}{2}$ + $\frac{1}{2}$ Nelore total of seven genetic groups. Genotyping was performed by PCR-RFLP methodology (Polymorphism chain reaction-restriction fragment length polymorphism) and in association studies, the effect on the traits of the marker of interest under study was analyzed using the General Linear Model Procedure (GLM) of the program SAS. The least squares means of genotypes were compared by Student's t test. Of the 201 animals genotyped, 144 had the LL genotype, 52 genotype LV and VV genotype five animals. The results showed a significant association ($P=0.030$) between the VV genotype polymorphism *GH/AluI* with ribeye area (AOL) and suggestive association ($P=0.098$) between the same genotype with hot carcass weight (PCQ). No significant associations were observed for other phenotypic traits evaluated.

Keywords: candidate gene, crossings, genetic improvement, growth hormone gene, molecular markers, PCR-RFLP

Introdução

O hormônio do crescimento (*Growth Hormone* - GH), direta ou indiretamente por meio do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), é o principal regulador do crescimento somático pós-natal, estimulando processos anabólicos como a divisão celular, o crescimento esquelético e a síntese de proteínas (Goodman, 1993; Curi, 2004).

Além disso, o GH regula a taxa de oxidação das gorduras (atividade lipolítica), a inibição do transporte de glicose para tecidos periféricos (atividade diabetogênica) e a atividade dos ribossomos envolvidos no processo de tradução de proteínas (Goodman, 1993). Esses processos têm implicação direta no metabolismo da partição dos nutrientes para os diferentes tecidos e, conseqüentemente, na composição e qualidade da carcaça (Schlee et al., 1994).

Há indícios de que o aumento da área de olho de lombo (AOL) e a redução na quantidade de gordura subcutânea e de marmorização têm sido observadas em animais de maior tamanho à maturidade e com elevada concentração de GH e IGF-1 (Sugisawa, 2005).

Por seu vasto efeito no organismo, o gene que codifica o hormônio do crescimento, o *GH*, tem sido sugerido como gene candidato em bovinos para diversas características relacionadas ao crescimento, à produção e à qualidade do leite e da carne. Dessa forma, variações alélicas nas sequências estrutural ou regulatória do gene *GH* são interessantes de serem estudadas, já que podem causar efeitos diretos ou indiretos no crescimento e na produção de carne e leite.

Neste contexto, objetivou-se com esse estudo avaliar a ocorrência de associação entre o polimorfismo *GH/AluI* com características de crescimento e carcaça em animais cruzados de diferentes grupos genéticos, por meio da metodologia PCR-RFLP (*Polymorphism Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na fazenda da Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande-MS. Para obtenção dos novilhos superprecoces foram utilizadas 50 matrizes ½ Valdostana + ½ Nelore (VN), 50 matrizes ½ Angus + ½ Nelore (AN) e 80 matrizes ½ Caracu + ½ Nelore (CN) nas estações de monta de 2006-2007 e 2007-2008.

Todos os animais foram pesados em jejum antes do momento do abate (PAB). Após o abate, foram feitas avaliações nas carcaças para obtenção das medidas de peso de carcaça quente (PCQ) e rendimento de carcaça quente (RCQ), dado pela relação entre PCQ e PAB.

Vinte e quatro horas após o abate foram realizadas, dentro da câmara frigorífica, entre a 12^a e 13^a costelas da meia-carcaça direita, medidas de espessura de gordura subcutânea (EGS) mensurada na carcaça com um paquímetro e área de olho de lombo (AOL) analisada no músculo *Longissimus dorsi*.

Para a determinação dos genótipos do polimorfismo *GH/AluI* foram obtidas amostras de sangue que foram colhidas em tubos a vácuo (Vacutainer) de 4,5 mL contendo K3 EDTA, no momento do abate e, em seguida, foram mantidas em geladeira até o momento da obtenção dos leucócitos.

Para a extração de DNA genômico a partir de leucócitos, o método utilizado foi descrito por Regitano e Coutinho (2001). As amostras de DNA genômico extraídas foram quantificadas por espectrofotometria em aparelho NanoDrop (Thermo Scientific) e em gel de agarose 0,8%, por meio de comparação com padrões de DNA de concentrações conhecidas (50, 100 e 200 ng/μL).

Para amplificar fragmentos de DNA genômico específicos para o gene bovino *GH* o *primer forward* utilizado foi 5'-GCTGCTCCTGAGGGCCCTTCG-3' e o *primer reverse* foi 5'-GCGGCGGCACTTCATGACCCT-3' (Schlee et al., 1994). A reação de amplificação (PCR) foi realizada em termociclador (Bio-Rad) e foi padronizada para o polimorfismo de acordo com protocolos descritos na literatura.

Para determinação dos alelos L e V do gene *GH*, um fragmento de 223 pares de bases (pb) foi amplificado e clivado com 3 U da enzima de restrição *AluI* (Promega), conforme relatado por Schlee et al. (1994). Após a clivagem, o alelo L foi caracterizado pela formação de dois fragmentos de restrição com 171 e 52 pares de bases (pb) e o alelo V foi determinado pela ausência de restrição no fragmento amplificado, apresentando-se como um fragmento não digerido com 223 pb.

Os produtos amplificados e clivados foram separados em géis de agarose 3%, corados com SyberGold (1:50.000), visualizados e fotografados por transiluminador UV-B (Loccus Biotecnologia).

Nos estudos de associação, as características relacionadas com o crescimento e composição de carcaça foram submetidas à análise de variância utilizando o procedimento GLM (*General Linear Model*) do programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2004), sob um modelo com os efeitos dos genótipos, ano de nascimento (safra), lote (formado de acordo com a época de nascimento), sexo, grupo genético, grupo genético do touro, grupo genético da vaca. Foram estimadas as médias dos quadrados mínimos e o erro padrão das médias para o polimorfismo analisado, com comparação pelo teste t de *Student*.

Resultados e Discussão

Nos sete grupos genéticos estudados foram encontradas as duas variantes alélicas (L e V) para o polimorfismo *GH/AluI*, que apresentou segregação em todos os grupos genéticos. Foram genotipados 201 animais, sendo que 144 apresentaram o genótipo LL, 52 o genótipo LV e cinco animais apresentaram o genótipo VV. Os grupos genéticos CCAN, CCVN, CRCN e RACN não apresentaram nenhum animal com o genótipo VV.

Os resultados da análise de associação mostraram-se significantes (P=0,030) apenas entre os genótipos do polimorfismo *GH/AluI* e a característica área de olho de lombo (AOL), sendo que animais com o genótipo VV apresentaram maior AOL que os animais com os genótipos LV e LL. Foi observada

também uma associação sugestiva ($P=0,098$) entre a característica peso de carcaça quente (PCQ) e o genótipo VV (Tabela 1). Não foram observadas associações significativas para as demais características fenotípicas analisadas.

Os resultados de associação obtidos por Curi (2004) em 384 animais, sendo 79 animais da raça Nelore puro, 30 animais da raça Canchim (5/8 Charolês + 3/8 Zebu), 30 animais mestiços 1/2 Simental + 1/2 Nelore, e 245 animais mestiços 1/2 Angus + 1/2 Nelore, mostraram que animais de genótipo LL apresentaram ganho de peso e peso corporal ao abate significativamente maior que os animais de genótipo LV.

Estudos de associação entre polimorfismos do gene *GH* e características produtivas em bovinos de corte mostraram influência do polimorfismo *GH/AluI* em características de desempenho. Em bovinos da raça Simental, o genótipo LV foi associado a maiores ganho de peso, enquanto que animais de genótipo VV apresentaram melhor escore de carcaça (Schlee et al., 1994).

Os resultados discordantes encontrados na literatura sugerem que o polimorfismo *GH/AluI* pode não ser o responsável direto por variações fenotípicas e que, contradições como estas, podem ser explicadas por diferenças no desequilíbrio de ligação entre marcadores e os QTLs (*Quantitative Trait Loci*) nas diferentes populações estudadas e por interações epistáticas diferentes entre as bases genéticas dessas populações e os QTLs.

Assim, tem-se que em relação ao gene *GH* há ainda um vasto campo de estudos com a descoberta de novos marcadores estreitamente ligados a esses QTLs (Ferraz et al., 2003), o que demonstra que a utilização deste polimorfismo em programas de seleção de bovinos de corte ainda é prematura.

Tabela 1. Médias de quadrados mínimos e desvio padrão para os genótipos do marcador *GH/AluI* para as características de crescimento e carcaça

Variável	Genótipos			P
	LL	LV	VV	
PCQ (kg)	223,50 ± 2,75	218,76 ± 3,83	240,77 ± 10,61	0,098
RCQ (%)	54,43 ± 0,24	54,39 ± 0,33	55,21 ± 0,91	0,687
EGS (mm)	5,50 ± 0,24	4,82 ± 0,34	4,86 ± 0,88	0,117
AOL (cm²)	60,84 ± 0,99 ^a	60,64 ± 1,41 ^a	70,54 ± 3,63 ^b	0,030

PCQ = Peso da carcaça quente; RCQ = Rendimento de carcaça quente; EGC = Espessura de gordura na região dorso-lombar medida na carcaça; AOL = Área de olho de lombo medida no músculo *Longissimus dorsi*.

Conclusões

O conjunto de dados utilizados nesse trabalho, por representar vários grupamentos genéticos, poderia identificar um efeito deste polimorfismo sobre as características quantitativas de crescimento e qualidade de carne comum a todos os grupos estudados. Entretanto, como foi detectado efeito significativo apenas com a característica AOL, esse trabalho corrobora a afirmação de Curi (2004) de que os efeitos que foram encontrados anteriormente em trabalhos que estudaram este polimorfismo podem ser atribuídos a ligações transitórias com QTLs. Portanto, a utilização deste polimorfismo em programas de seleção de bovinos de corte ainda é prematura.

Literatura citada

- CURI, R.A. **Relação entre os polimorfismos de genes envolvidos no controle do crescimento e na composição da carcaça e características de produção de bovinos de corte no modelo biológico Superprecoce**. 2004. 126 p. Tese (Doutorado) – UNESP/IB, Botucatu.
- FERRAZ, A.L.J.; FURLAN, L.R.; FERRO, J.A. et al. Polymorphism identification in the promoter region of bovine growth hormone gene. In: XXXII REUNIÃO ANUAL DA SSBq, 2003, Caxambu. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2003. p.21.
- GOODMAN, H.M. Growth hormone and metabolism. **The Endocrinology of Growth, Development, and Metabolism in Vertebrates**, p.93- 115, 1993.
- REGITANO, L.C.A. Extração de DNA para aplicação em reação de cadeia da polimerase. In: Regitano L.C.A. e Coutinho L.L. (eds). **Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 2001.
- SCHLEE, P.; GRAML, R.; ROTTMANN, O. et al. Influence of growth hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.111, p.253-256, 1994.
- SUGISAWA, L. **Identificação de genótipos superiores para crescimento e qualidade de carcaça em bovinos de corte submetidos ao modelo biológico superprecoce**. 2005. Tese (Doutorado) – UNESP/IB, Botucatu.