



ASSOCIAÇÃO DE CINCO POLIMORFISMOS NO GENE DA LEPTINA COM CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA EM SUÍNOS¹

JANE DE OLIVEIRA PEIXOTO², SIMONE ELIZA FACIONI GUIMARÃES^{3,4}, PAULO SÁVIO LOPES^{3,4}, ALDRIN VIEIRA PIRES⁵, MARIA AMÉLIA MENCK SOARES⁶, PRISCILA VENRAMINI SILVA⁷, DAIANNY SILVEIRA BARBOSA⁷, BRUNA PENA SOLLÉRO⁷

¹ Financiamento: CAPES, CNPq, FAPEMIG

² Estudante de mestrado, UFV, Viçosa, MG

³ Professor do Departamento de Zootecnia – UFV, Viçosa, MG

⁴ Professor bolsista do CNPq

⁵ Professor da FAESA, Vitória, ES

⁶ Professor da UNIOESTE, Cascavel, PR

⁷ Estudante de graduação UFV, Viçosa, MG

RESUMO - O objetivo deste estudo foi associar cinco polimorfismos no gene da Leptina com características de carcaça em suínos F2. Os polimorfismos foram detectados nas posições nucleotídicas 798, 828, 2411, 3266 e 3469. Na análise estatística foi usado o PROC GLM do SAS. Os genótipos foram estatisticamente associados com as características: peso ao abate, idade ao abate, peso da banda direita e banda esquerda, espessuras de toucinho, comprimento de carcaça pelo método brasileiro e americano. De acordo com os resultados obtidos, o gene da Leptina apresentou potencial para uso em programas de seleção assistida por marcadores.

PALAVRAS-CHAVE: cruzamento divergente, gene candidato, marcadores genéticos, PCR-RFLP

ASSOCIATION OF FIVE LEPTIN GENE POLYMORPHISMS WITH CARCASS TRAITS IN SWINE¹

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the association of five Leptin polymorphisms with carcass traits in a swine F2 population. Polymorphisms were detected at nucleotide positions 798, 828, 2411, 3266 and 3469. Statistical analyses were performed by PROC GLM of statistical package SAS. Genotypes could be statistically associated with: slaughter age, slaughter weight, right half carcass weight, left half carcass weight, backfat thickness, carcass length by the Brazilian carcass classification method and by American carcass classification method. According to the obtained results, Leptin gene presented potential to be used in marker assisted selection programs.

KEYWORDS: candidate gene, divergent crossing, genetic markers, PCR-RFLP

INTRODUÇÃO

Os últimos anos têm sido marcados por grandes avanços na pesquisa genômica, envolvendo desde o mapeamento até a análise de expressão gênica e a manipulação de genomas, gerando informações promissoras para auxiliar o melhoramento genético e a produção animal. Atualmente, a biotecnologia é uma realidade na agropecuária e como exemplo estão os vários testes em uso na indústria de suínos, incluindo testes para qualidade da carne, tamanho de leitegada, cor de pele, crescimento e resistência a doenças (Plastow, 2000). A maioria dos marcadores genéticos utilizados na indústria suinícola foi descoberta pela metodologia do gene candidato. A Leptina, produto do gene obeso, é um hormônio produzido principalmente pelo tecido adiposo e age como um sinal de saciedade no hipotálamo, regulando o peso corporal e o gasto energético (Campifield et al. 2000). Devido às funções fisiológicas desempenhadas, o gene da Leptina pode ser considerado como um gene candidato influenciando características produtivas em suínos. Assim, o objetivo desse estudo foi investigar a associação de polimorfismos no gene da Leptina com a variação em características de carcaça medidas em suínos F2.

MATERIAL E MÉTODOS

A população de estudo foi formada por meio de um delineamento F2 obtido pelo cruzamento divergente de dois machos parentais da raça nativa brasileira Piau com 18 matrizes comerciais (Landrace x Large White x Pietran). As características de carcaça avaliadas na geração F2 foram: idade ao abate (IDABATE); peso vivo ao abate (PVIVO), peso da banda direita (PBDIR), peso da banda esquerda (PBESQ), peso da carcaça (PCARC), rendimento de carcaça (RCARC), comprimento de carcaça pelo Método Brasileiro de Classificação de Carcaça (MBCC), e pelo método

americano (MLC), maior espessura de toucinho na região da copa (SH), espessura de toucinho após a última costela (UC), espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar (UL), menor espessura de toucinho na região da última vértebra lombar (L), espessura de toucinho medida após a última costela, a 6,5 cm da linha dorso-lombar (P2), profundidade de lombo (PROLOMB) e área de olho de lombo (AOL).

Os pares de *primers* usados para amplificar as regiões do gene da Leptina que continham os polimorfismos (C798T, T828C, T2411C, T3266G e T3469C, o único em região de exon), foram desenhados a partir da seqüência publicada por Bidwell et al. (1997), com número de acesso no GenBank U66254. Os sistemas das reações de PCR foram construídos para um volume final de 20 µl, contendo 25 ng de DNA genômico. As análises de PCR-RFLP foram processadas em um volume de 15,0 µl contendo 8,0 µl do material amplificado, 2,5 µl de enzima de restrição específica para cada polimorfismo, 1,5 µl de tampão da enzima, 0,15 µl de BSA e 2,85 µl de água. As reações ocorreram à temperatura de 37 °C durante duas horas. O material digerido foi submetido à eletroforese em géis de poliacrilamida a 8% e as bandas foram visualizadas a partir da revelação com o nitrato de prata.

Nas análises estatísticas para associação dos genótipos com as características fenotípicas foi usado o PROC GLM do SAS, utilizando um modelo que continha os efeitos fixos de genótipo, sexo, e de lote e o efeito aleatório de pai. Foi usada como covariável a característica peso da meia carcaça direita resfriada. As comparações entre as médias dos genótipos foram feitas pelo teste F, quando havia somente dois genótipos e quando o polimorfismo possuía os três genótipos (AA, AB e BB), pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentadas as características significativamente associadas aos genótipos pelo teste F e pelo teste Tukey, o número de animais analisados para cada polimorfismo, a média e o desvio-padrão, para cada genótipo, dentro de cada característica. Por simplificação, os genótipos para todos os polimorfismos foram padronizados como AA (homozigoto para o alelo não mutado), BB (homozigoto para o alelo mutado) e AB (heterozigoto). Os cinco polimorfismos estudados apresentaram associação com algumas das características analisadas, o que sugere que a Leptina realmente apresenta função fisiológica que influencia as características de carcaça. Observou-se que os animais portadores das mutações apresentaram as melhores médias para PVIVO, IDABATE, PBDIR, PBESQ, MBCC e MLC. Esse fato não era esperado, pois as mutações estudadas tinham origem na raça Piau, uma raça não selecionada para características de carcaça. Os animais que apresentaram os alelos mutados tenderam a apresentar maiores médias para as espessuras de toucinho. Uma possível explicação para esta aparente contradição seria o fato de os animais portadores das mutações apresentarem os maiores pesos ao abate e o maior peso das bandas devido ao maior acúmulo de gordura na carcaça.

Apesar da importância fisiológica do hormônio Leptina no metabolismo energético, são poucos os estudos envolvendo a associação dos polimorfismos no gene da Leptina com características produtivas em animais domésticos. Jiang & Gibson (1999), estudando o polimorfismo T3469C em diferentes raças, encontraram associação com espessura de toucinho na raça Large White ($p=0,0017$), sendo que a troca T→C estava associada a maior espessura. Kennes et al. (2001), encontraram associação do polimorfismo T3469C com consumo alimentar ($p=0,0078$) na raça Landrace. Na tentativa de explicar biologicamente a associação dos polimorfismos são apresentadas duas hipóteses. A primeira admite que os polimorfismos seriam diretamente responsáveis pela variação observada nas características. Sendo assim, estes polimorfismos poderiam estar envolvidos na formação de uma proteína (Leptina) mais ou menos eficiente. Uma hipótese alternativa pode ser considerada na tentativa de explicar a associação dos genótipos da Leptina com a variação nas características estudadas. Esta segunda hipótese admite que o polimorfismo estaria em desequilíbrio de ligação com outra alteração nucleotídica que seria o verdadeiro sítio causal da variação observada nas características analisadas.

CONCLUSÕES

Os polimorfismos no gene da Leptina apresentaram influência significativa na variação das características de carcaça analisadas. Portanto, polimorfismos neste gene são potenciais marcadores genéticos para uso em programas de seleção assistida por marcadores. Porém, estas associações foram detectadas em população experimental, sendo necessária a confirmação destes resultados em populações comerciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIDWELL, C.A.; CORNELIUS, S.G.; WILLIS, G.M.; SPURLOCK, M. Cloning and expression of the porcine obese gene. **Animal Biotechnology**, v 8, n 2, p.191 – 206, 1997.
- CAMPFIELD, L. A.; SMITH, F. J.; GUISEZ, Y.; DEVOS, R.; BURN, P. Recombinant mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, v. 269: 546 – 549, 1995.
- JIANG, Z.H.; GIBSON, J.P. Genetic polymorphism in the Leptin gene and their association with fatness in four pig breeds. **Mammalian Genome**, v. 10, p.191 – 193, 1999.
- KENNES, Y.M.; MURPHY, B.D.; POTHIER, F.; PALIN, M.F. Characterization of swine Leptin polymorphisms and their association with production traits. **Animal Genetics** v.32, p. 215 – 218, 2001.
- PLASTOW, G. S. Molecular Genetics in the Swine Industry. In: Anais do II **Simpósio Nacional de Melhoramento Animal**, SBMA, Belo Horizonte. P. 21, 2000.
- SAS Institut Inc. User's Guide. Statistical Analysis System. Cary, NC, USA, 1998.

TABELA 1. Número de observação, média e desvio-padrão das características de desempenho de acordo com os genótipos para cada enzima (AA e AB e BB)

Característica	Polimorfismo	Sig ¹	Genótipo AA			Genótipo AB			Genótipo BB		
			N ²	Média ³	DP ⁴	N ²	Média ³	DP ⁴	N ²	Média ³	DP ⁴
IDABATE (dias)	T3266G	0,075	185	149,4	9,71	85	146,3	9,17	–	–	–
PVIVO (kg)	T3469C	0,003	294	64,32	5,66	46	66,43	5,45	–	–	–
PBDIR (kg)	T828C	0,057	33	26,41 ^c	2,74	78	27,14 ^a	3,01	19	26,85 ^b	2,63
PBESQ (kg)	T828C	0,057	33	26,20 ^c	2,80	78	27,23 ^a	2,67	19	26,57 ^b	2,30
MBCC (cm)	T3469C	0,088	334	85,91	4,20	55	86,39	4,09	–	–	–
MLC (cm)	T3469C	0,043	331	71,56	3,22	54	71,77	3,29	–	–	–
P2 (mm)	T2411C	0,061	124	15,58 ^a	4,05	192	17,14 ^a	3,70	60	17,12 ^a	3,68
P2 (mm)	T3266G	0,074	187	16,63	3,81	86	16,90	3,85	–	–	–
UC (mm)	T3266G	0,044	187	19,62	4,71	86	19,95	4,80	–	–	–
UL (mm)	T3266G	0,072	186	27,97	6,03	86	28,37	5,83	–	–	–
UL (mm)	C798T	0,058	257	28,17	5,94	81	27,25	5,28	–	–	–

1 – Grau de significância pelo teste F, da associação genótipo:característica.

2 – Número de observações em cada característica, de cada genótipo.

3 – Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferiram pelo teste Tukey a 5% de significância, para as características que apresentaram os três genótipos (AA, AB e BB).

4 – Desvio-padrão de cada genótipo, dentro de cada característica.

IDABATE - idade ao abate; PVIVO - peso ao abate; PBDIR - peso da banda direita; PBESQ - peso da banda esquerda; MBCC - comprimento de carcaça pelo Método Brasileiro de Classificação de Carcaça; MLC - comprimento de carcaça Método Americano; P2 - espessura de toucinho a 6,5 cm da linha dorso-lombar; UC - espessura de toucinho após a última costela; UL - espessura de toucinho entre a última e a penúltima vértebra lombar.