

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal  
Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

**Efeito do polimorfismo no gene da aromatase sobre a característica área de olho de lombo em ovinos Santa Inês**

Fernanda Tanamati<sup>1</sup>, Stefania Caroline Claudino da Silva<sup>1</sup>, Natália Holtz Alves Pedrosa Mora<sup>1</sup>, Heber Luiz Pereira<sup>1</sup>, Francisco de Assis Fonseca de Macedo<sup>2</sup>, Eliane Gasparino<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: [ftanamati@hotmail.com](mailto:ftanamati@hotmail.com), [stefaniacaroline@gmail.com](mailto:stefaniacaroline@gmail.com), [natalia-mora@hotmail.com](mailto:natalia-mora@hotmail.com), [heber\\_pereira@hotmail.com](mailto:heber_pereira@hotmail.com)

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: [fafmacedo@uem.br](mailto:fafmacedo@uem.br), [egasparino@uem.br](mailto:egasparino@uem.br)

**Resumo:** A utilização de estudos genéticos envolvendo o gene da aromatase pode ser uma alternativa para o aumento da produção na ovinocultura. Dessa forma, 52 animais da raça Santa Inês, 42 machos e 10 fêmeas, foram analisados para determinar a presença de polimorfismo no gene da aromatase e verificar associação do polimorfismo com a característica área de olho de lombo. A técnica e a enzima utilizada foram respectivamente a PCR-RFLP e a *DpnII*. Foram encontrados três genótipos para o gene da aromatase: AA, AB e BB. Os dados indicaram que o genótipo AA foi o que apresentou menor média para a característica AOL, enquanto os genótipos AB e BB não diferiram.

**Palavras-chave:** *DpnII*, genotipagem, PCR-RFLP, produção

**Effect of polymorphism in the aromatase gene on the characteristic rib eye area in Santa Ines sheep**

**Abstract:** The use of genetic studies involving gene of aromatase can be an alternative for increasing the production in sheep. Thus, 52 Santa Ines animals, 42 males and 10 females, were analyzed to determine the presence of polymorphism in the aromatase gene and verify association of the polymorphism with the characteristic rib eye area. The technique and the enzyme used were respectively PCR-RFLP and *DpnII*. Three genotypes were found for the aromatase gene, AA, AB and BB. The data indicated that the AA genotype showed the lowest average for AOL feature, while genotypes AB and BB did not differed.

**Keywords:** *DpnII*, genotyping, PCR-RFLP, production

**Introdução**

O Brasil destaca-se entre os maiores produtores de carne do mundo, predominando a produção de carne suína, bovina e aves. Entretanto, a ovinocultura de corte vem crescendo de forma significativa e já alcançou uma produção de 75 mil toneladas de carne (FAO, 2011). Ainda sim, para competir com outros setores é necessário melhorar a produtividade e uma das alternativas é a associação a estudos genéticos, ferramenta poderosa e cada vez mais utilizada.

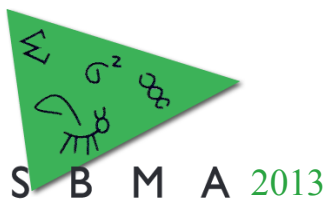
Neste contexto, estudos sobre o gene da aromatase ou CYP 19 revelam que o mesmo pode ser um gene candidato para escolha de ovinos que expressam características reprodutivas importantes para maior produção. A enzima aromatase citocromo P450, codificada pelo gene CYP 19, é responsável pela biossíntese de estrogênio. O estrogênio por sua vez, é um hormônio com atividade endócrina, parácrina e autócrina, além de um importante regulador da reprodução e também do crescimento (Zsolnai, 2002).

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi determinar a presença de polimorfismo no gene da aromatase, e também associá-lo com a característica área de olho de lombo (AOL) de ovinos da raça Santa Inês.

**Material e Métodos**

Foram coletadas amostras de sangue e determinadas a área de olho de lombo do músculo *Longissimus dorsi* de 52 animais Santa Inês, 42 machos e 10 fêmeas, provenientes de rebanhos da região de Maringá-PR.

O sangue foi coletado com anticoagulante e armazenado para posterior extração de DNA no Laboratório de Biologia Molecular, do Departamento de Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá. Foi utilizada a extração alcalina, descrita por Rudbeck & Dissing (1998), com adaptações. Alíquotas de 5µL de sangue foram transferidas para tubos de 1,5 mL. Posteriormente, para a etapa de lise



## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

e homogeneização, foram adicionados 25 µL de NaOH 0,05 M e incubadas em banho maria a 74°C por 10 minutos. Para a etapa de neutralização, foi acrescentado 25 µL de Tris HCl PH 8,0, e em seguida, as amostras foram estocadas em freezer a -20°C.

A presença e a frequência alélica do polimorfismo no gene da aromatase foram verificadas através da técnica de PCR-RFLP. Para amplificação da região do gene, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores obtidos de Vanselow et al. (1999), de acordo com a sequência depositada no *GenBank* (AJ012153): *primer 1* - 5'- CCA GCT ACT TTC TGG GAA TT- 3'; *primer 2* - 5'- AAT AAG GGT TTC CTC TCC ACA- 3'. O produto de PCR foi submetido à digestão com enzima de restrição, em termociclador. A reação possuiu 10 µl de produto de PCR, 5 U da endonuclease de restrição *DpnII* (Biolabs®), 2,0 µl de tampão e 7,5 µl de água Mili-Q, em um volume final de 20 µl. A reação foi incubada por 8 horas a 37°C, seguida de inativação de 65°C por 20 minutos. O produto da digestão foi submetido à eletroforese em gel de poli(acrilamida) 10% (acrilamida:bisacrilamida - 29:1) desnaturante (6 M de uréia), conduzida em tampão TBE 1X (90 mM de Tris-Borato e 2 mM de EDTA) a 180 volts por quatro horas e corado com nitrato de prata. Após a visualização das bandas, os géis foram fotografados com câmera digital Nikon Coolpix (S520). Foi realizada a genotipagem dos indivíduos calculando o tamanho dos alelos com o DNA *ladder* (Invitrogen) de 50 pares de base.

A influência do genótipo sobre a característica área de olho de lombo foi determinada utilizando o procedimento PROC GLM (“general linear models”) do SAS (Statistical Analysis System, versão 9), de acordo com o modelo:  $y_{ij} = \mu + g_i + \varepsilon_{ij}$ , em que:  $y_{ij}$  é o valor observado da característica AOL no indivíduo  $j$  no genótipo  $i$ ;  $\mu$  é o efeito médio global da população;  $g_i$  é o efeito fixo do genótipo  $i$  e  $\varepsilon_{ij}$  é o erro aleatório associado a cada observação. O teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para a comparação das médias da variável mensurada.

### Resultados e Discussão

Os seguintes fragmentos foram obtidos para o polimorfismo CYP 19: 82 e 58 pb (genótipo AA), 140, 82 e 58 pb (genótipo AB), e 140 pb (genótipo BB).

A frequência do genótipo AA, AB e BB foram respectivamente 0,1153, 0,4615 e 0,423 (Tabela 1). E a frequência do alelo A e B foram respectivamente 0,35 e 0,65, semelhante ao encontrado por Lôbo et al. (2009) que trabalhando o efeito do gene da aromatase também em ovinos Santa Inês obtiveram maior frequência do alelo B (0,6) em relação ao alelo A (0,4).

Tabela 1: Associação do genótipo a característica área de olho de lombo.

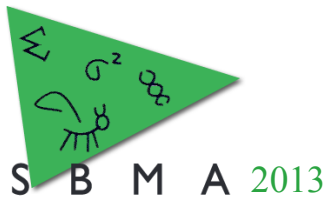
Genótipo	Frequência do genótipo	AOL* (cm)
		Média ± Desvio Padrão
AA	0,1153	9,1 ± 0,8 b
AB	0,4615	13,4 ± 1,7 a
BB	0,4230	12,8 ± 1,9 a

\*AOL = área de olho de lombo,  $p = 0,0417$ .

Os dados da tabela acima mostram os efeitos dos genótipos sobre a característica AOL dos animais genotipados. Não houve diferença entre os genótipos AB e BB, que apresentaram maior média para a característica, e indivíduos com genótipo AA apresentaram a média mais baixa. Corroborando com os resultados, Lôbo et al. (2009) trabalhando com uma população multirracial de ovinos do Brasil encontraram indícios de associação do polimorfismo do gene da aromatase com características de reprodução e habilidade materna, da mesma forma Kowalewska-Luczak (2010) estimou a associação entre genótipos CYP 19 e várias características de produção de leite.

### Conclusões

Nos animais testados, foi possível encontrar três genótipos para o polimorfismo da aromatase, e o genótipo AA foi o que apresentou menor média para a característica AOL indicando que o polimorfismo pode ter influenciado a atividade da CYP 19.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal  
Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

**Agradecimentos**

Procad-CAPES, CNPq, PPZ - UEM.

**Literatura citada**

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO [2011]. **FAOSTAT – FAO Statistics Division/ProdSTAT: livestock (primary and processed)**. Available at: <faostat.fao.org> Accessed on: 21/06/2013.
- KOWALEWSKA-LUCZAK, I. Polymorphlism of the *CYP19* gene and milk production traits of dairy cattle. **Turkish journal of veterinary & animal sciences**, v.34, p.493-496, 2010.
- LÔBO, A.M.B.O.; LÔBO, R.N.B.; PAIVA, S.R. Aromatase gene and its effects on growth, reproductive and maternal ability traits in a multibreed sheep population from Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v.32, p.484-490, 2009.
- RUDBECK, L.; DISSING, J. Rapid, simple Alkaline Extraction of Human Genomic DNA from Whole Blood, Buccal Epithelial Cells, Semen and Forensic Stains for PCR. **Biotechniques**, v.25, p.588-592, 1998.
- VANSELOW, J.; ZSOLNAI, A.; FÉSUS, L. et al. *Bsp143I* PCR-RFLP in exon 3 of the ovine aromatase gene (*CYP19*). **Animal Genetics**, v.30, p.382- 405, 1999.
- ZSOLNAI, A.; ANTON, I.; FÉSÜS, L. et al. Allele distributions of two novel SNPs within the sheep *Cyp19* gene. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.119, p.402-405, 2002.