

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 peso vivo ao abate em ovinos Santa Inês

Fernanda Tanamati¹, Stefania Caroline Claudino da Silva¹, Natália Holtz Alves Pedroso Mora¹,
Guilherme Pereira Schuroff², Francisco de Assis Fonseca de Macedo³, Eliane Gasparino³.

¹Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: ftanamati@hotmail.com, stefaniacaroline@gmail.com, natalia-mora@hotmail.com

²Graduação em Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: chicko-schuroff@hotmail.com

³Departamento de Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: fafmacedo@uem.br, egasparino@uem.br

Resumo: Estudo de genes que influenciam o comportamento reprodutivo dos ovinos pode ser uma opção para o avanço da produtividade do setor. Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi determinar a presença de polimorfismo no gene da aromatase, e também associá-lo com a característica peso vivo ao abate (PVA) em ovinos da raça Santa Inês. Foram genotipados 52 animais, 42 machos e 10 fêmeas, utilizando a técnica PCR-RFLP e a enzima *DpnII*. Os genótipos encontrados foram: AA, AB e BB. De acordo com os resultados, animais de genótipo AA apresentaram maior média para a característica peso vivo ao abate enquanto animais de genótipo BB apresentaram a média mais baixa.

Palavras-chave: comportamento reprodutivo, *DpnII*, genótipos, PCR-RFLP, produtividade

Effect of polymorphism in the aromatase gene on the characteristic live weight at slaughter in Santa Inês sheep

Abstract: Study of genes that influence the reproductive behavior of the sheep may be an option to advance the productivity of the sector. Therefore, the aim of this study was to determine the presence of polymorphism in the aromatase gene, and also associate it with the characteristic live weight at slaughter (PVA) in Santa Ines sheep. 52 animals were genotyped by PCR-RFLP and the enzyme *DpnII*. The genotypes were found: AA, AB and BB. According to the results, animals of genotype AA had higher mean for characteristic live weight at slaughter and animals of genotype BB had the lowest average.

Keywords: *DpnII*, genotypes, PCR-RFLP, productivity, reproductive behavior

Introdução

A raça Santa Inês é originária do nordeste brasileiro, do cruzamento de ovinos Bergamácia, de origem italiana, com ovinos da raça Morada Nova e Crioula, ambas de origem nacional (Urano, 2005). Apresenta poliestria não estacional, podendo ofertar cordeiros o ano inteiro. É uma raça que vem sendo bastante difundida no Brasil, entretanto, a produção de ovinos de corte como um todo ainda não está estabelecida para competir com a produção de carne bovina, de aves ou mesmo suína. Neste contexto, avaliar genes que possam influenciar o comportamento reprodutivo de ovinos resultando em maior prolificidade e fertilidade é uma alternativa para o aumento da produção.

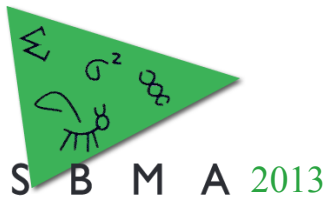
O gene da Aromatase ou CYP 19 é responsável pela biossíntese de estrogênio, através da aromatização do hormônio andrógeno em estrógeno. O estrogênio, segundo Zsolnai (2002), possui atividade endócrina, parácrina e autócrina, atua na reprodução e também influencia características de crescimento.

Assim, o objetivo do trabalho foi determinar a presença de polimorfismo no gene da aromatase, e também associá-lo com a característica peso vivo ao abate (PVA) de ovinos da raça Santa Inês.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de sangue e o peso vivo ao abate 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 poliacrilamida 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 DNA *ladder* (Invitrogen) de 50 pares de base.

A influência do genótipo sobre a característica peso vivo ao abate 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 PVA no indivíduo j no genótipo i ; μ é o efeito médio global da população; g_i é o efeito fixo do genótipo i e ε_{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

Foram encontrados três genótipos para o polimorfismo CYP19: AA, AB, BB. O genótipo AA apresentou fragmentos de 82 e 58 pb, enquanto o genótipo AB três fragmentos de 140, 82 e 58 pb e o genótipo BB um fragmento de 140 pb (Figura 1).

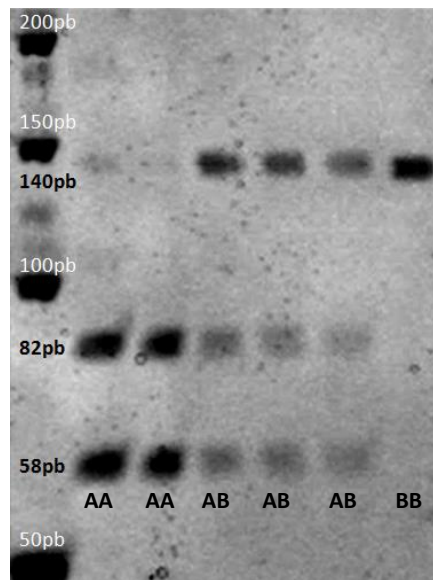
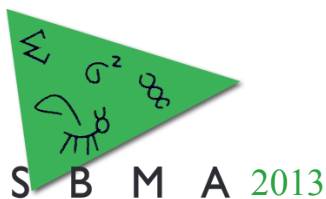


Figura 1. Análise do gel de poliacrilamida com genótipos e respectivos fragmentos encontrados para ovinos Santa Inês.

A frequência do genótipo AA, AB e BB foram respectivamente 0,1153, 0,4615 e 0,423 (Tabela 1). E a frequência do alelo B (0,65) foi maior do que do alelo A (0,35).



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

Tabela 1. Associação do genótipo a característica peso vivo ao bate.

Genótipo	Frequência do genótipo	PVA* (kg)
		Média ± Desvio Padrão
AA	0,1153	26,5 ± 1,4 a
AB	0,4615	25,7 ± 1,6 ab
BB	0,4230	23,2 ± 1,8 b

*PVA = peso vivo ao abate, $p=0,0462$.

Quanto à associação do genótipo a característica PVA dos animais genotipados para o gene da aromatase, nota-se que animais de genótipo AA e AB não diferiram entre si estatisticamente, enquanto animais de genótipo BB apresentaram a média mais baixa. Lôbo et al (2008), analisaram em ovinos de uma população multirracial, o efeito de variantes do gene da aromatase sobre características de crescimento, reprodutivas e de habilidade materna, e encontraram que o polimorfismo para o gene estudado pode causar diferenças no desempenho influenciando na característica reprodutiva e habilidade materna de alguns grupos genéticos. Diferente dos resultados obtidos por Jedrzejczak et al. (2006), que não encontraram associação entre o gene CYP19-*PvuII* e características de produção de leite para as vacas analisadas.

Conclusões

Três genótipos foram encontrados para o polimorfismo do gene CYP19.

Os genótipos AA e AB apresentaram maior média para a característica PVA, enquanto o genótipo BB apresentou menor média para a mesma característica.

Agradecimentos

Procad-CAPES, CNPq, PPZ - UEM.

Literatura citada

- JEDRZEJCZAK, M.; SZATKOWSKA, I.; ZYCH, S. et al. Evaluation of associations of the polymorphism in the placenta-specific promoter 1.1 of the *Cyp19* gene in Black-and-White and Jersey cattle with milk production traits. **Archiv Tierzucht**, v.49, p.311-314, 2006.
- LÔBO, A.M.B.O; LÔBO, R.N.B.; PAIVA, S.R. et al. Efeitos de variantes do gene da aromatase sobre características de crescimento, reprodutivas e habilidade materna em ovinos de uma população multirracial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008. p.1-3.
- 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.
- URANO, F.S. Grão de soja na alimentação de cordeiros: desempenho, características da carcaça e digestibilidade dos nutrientes. 2005. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- 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.