

Efeito de substituição alélica dos marcadores genéticos do gene *GHRL* sobre características de carcaça em bovinos da raça Nelore¹

Camila Urbano Braz², Gregório Miguel Ferreira de Camargo³, Diércles Francisco Cardoso³, Joslaine Noely dos Santos Gonçalves Cyrillo⁴, Henrique Nunes de Oliveira⁵, Humberto Tonhati⁵

¹Parte da tese de mestrado do primeiro autor, financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científica e Tecnológico (CNPq)

²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal – FCAV/Unesp-Jaboticabal. e-mail: camila_urbano@yahoo.com.br

³Pós-graduando em Genética e Melhoramento Animal – FCAV/Unesp-Jaboticabal

⁴Pesquisadora científica do Centro de Pesquisa em Pecuária de corte - Instituto de Zootecnia - Sertãozinho

⁵Professor Titular do Departamento de Zootecnia – FCAV/Unesp - Jaboticabal

Resumo: O hormônio da grelina estimula a secreção do hormônio do crescimento, o qual é um dos principais fatores que influenciam diretamente o crescimento do indivíduo influenciando num maior ganho de peso e em características de carcaça. objetivou-se identificar polimorfismos no gene do hormônio da grelina (*GHRL*) e determinar os efeitos desses marcadores sobre características de carcaça em bovinos da raça Nelore. Foram encontrados seis polimorfismos do tipo SNP no íntron 2 e 4 e no éxon 5. As posições dos SNPs no gene e as substituições, respectivamente foram: g.[1905A>G, 2068T>C, 4190T>C, 4269A>G, 4384T>C, 4450T>C] (número de acesso no Genbank: JX565585). Foram formados três haplótipos, sendo que esses apresentaram efeito de substituição alélica significativo ($P<0,05$) apenas para a característica área de olho de lombo ao ano (AOLA).

Palavras-chave: *Bos taurus indicus*, efeito de substituição alélica, haplótipos, íntron, marcadores moleculares

Allele substitution effect of genetic markers in the gene *GHRL* on carcass traits in Nelore Cattle¹

Abstract: The hormone ghrelin stimulates the secretion of growth hormone, which is one of the main factors that directly influence the growth of the individual influencing a greater weight gain and carcass characteristics. aimed to identify polymorphisms in the hormone ghrelin (*GHRL*) and determine the effects of these markers on carcass traits in Nelore cattle. We found six polymorphisms SNP in intron 2 and 4 and exon 5. The positions of SNPs in the gene and substitutions were respectively: g. [1905a> G 2068T> C, 4190T> C, 4269A> G, 4384T> C, 4450T> C] (Genbank accession number: JX565585). The study involved three haplotypes, and these showed significant allele substitution effect ($P < 0,05$) only for the characteristic longissimus muscle area per year (AOLA).

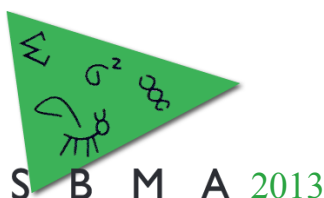
Keywords: allele substitution effect, *Bos taurus indicus*, haplotypes, intron, molecular marker

Introdução

Na última década, a seleção entrou em nova fase na qual a avaliação fenotípica passou a contar com o auxílio da avaliação genética dos animais, pelo uso de ferramentas da genética molecular (Garcia, 2006), como a seleção com auxílio de marcadores moleculares (MAS) que utiliza das informações de regiões específicas dos cromossomos, ou seja, genes ou conjunto de genes desejáveis para a identificação de loci (QTL) que afetam características de importância econômica na produção de bovinos (Martinez & Machado, 2002).

A grelina estimula a secreção de GH (hormônio do crescimento) atuando mediante receptores específicos distintos acoplados à proteína G. O hormônio do crescimento é um dos principais fatores que influenciam diretamente o crescimento do indivíduo, sendo assim, sua liberação está ligada ao maior ganho de peso e a características de carcaça em animais de produção (Martinelli et al., 2008).

Características de carcaça, como espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo não são rotineiramente contempladas em programas de melhoramento genético, porém alguns autores recomendam a inclusão de escores visuais em programas de seleção como alternativa viável para melhorar a carcaça e a precocidade de terminação (Cardoso et al., 2001; Koury Filho, 2005).



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Dessa forma, objetivou-se identificar polimorfismos no gene do hormônio da grelina (GHRL) e determinar os efeitos desses marcadores sobre características de carcaça em bovinos da raça Nelore.

Material e Métodos

Foram utilizados de 188 animais pertencentes ao Centro APTA Bovinos de Corte do Instituto de Zootecnia em Sertãozinho-SP, nascidos nos anos de 2009 e 2010, pertencentes à linha de seleção Nelore Tradicional.

O DNA foi extraído de amostras de pelo de acordo com o método de Fenol-Clorofórmio-Álcool Isoamínico e para a realização da PCR foram utilizados dois pares de *primers*, I3 (F: TGCATTGCCAGGTGGGTTCTCTAC R: AGAATCTGCAGGCCCGCGTGAAGT), o qual amplificou uma região de 409 pb que abrange uma parte do íntron 3 e E5 (F: GGGAGGAGAGCAGACACAGT R: TGACCACAGACCAGGAATTG) que amplificou uma região de 437 pb que compreendia uma parte do íntron 4 e o éxon 5, sendo que este último incluía uma região 3'UTR. Foi utilizada a programação: desnaturação a 95°C por 5 min, seguido por 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 1 min, pareamento a 63,4°C e 63,3°C para o I3 e E5, respectivamente, por 1 min, extensão a 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 5 min.

Os produtos de PCR foram sequenciados utilizando a técnica de terminação de cadeia por dideoxinucleotídeos (ddNTPs). As sequências obtidas foram analisadas os polimorfismos identificados através do programa CodonCode Aligner.

As características de interesse econômico analisadas foram área de olho de lombo e espessuras de gordura subcutânea no lombo e na garupa ao ano e ao sobreano (AOLa., AOLs, EGLa, EGLs, EGGa, EGGs, respectivamente). Foi utilizada a técnica de ultrassonografia para a obtenção das características AOL e EGL, ambas mensuradas entre a 12ª e a 13ª costelas no músculo *Longissimus dorsi* e EGG medida entre os músculos *Gluteos medius* e *Biceps femoris*, localizados entre o ílio e o ísquio.

Os haplótipos foram definidos pelo conjunto de SNPs que segregavam juntos, sendo os alelos a combinação dos SNPs de cada haplótipo. Para a construção dos haplótipos foi utilizado o programa fastPHASE e os resultados foram inseridos no programa Haploview v4.1 para estimar o desequilíbrio de ligação (r^2) entre os SNPs. As análises estatísticas, incluindo o efeito médio de substituição do alelo, foram realizadas utilizando o aplicativo PROC MIXED do pacote estatístico do SAS 9.2. O modelo estatístico foi composto por efeitos fixos do grupo de contemporâneo (formado por ano de nascimento, mês de nascimento e sexo), alelos e efeito aleatório do touro.

Resultados e Discussão

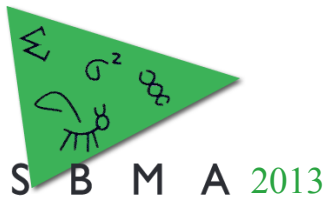
Foram identificados seis polimorfismos do tipo SNP nas regiões analisadas, sendo que dois polimorfismos estão na região do íntron três (g.[1905A>G e 2068T>C]). Os SNPs g.[4190T>C e 4269A>G] estão localizados no íntron quatro e os SNPs g.[4384T>C e 4450T>C] estão no éxon cinco em região 3'UTR.

Somente três haplótipos foram formados, ATGT, GCAC, GCGC, denominados alelo A, B e C respectivamente. Esses apresentaram efeito de substituição alélica significativo ($P < 0,05$) apenas para a característica área de olho de lombo ao ano (AOLa), sendo que esses efeitos podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1. Estimativa do efeito de substituição (α) dos alelos A, B e C, com seus respectivos haplótipos e erros padrão para as regiões do íntron 3 e 4 e do éxon 5 do gene *GHRL* em relação à característica área de olho de lombo ao ano.

Alelo	Haplótipo	Efeito médio de substituição do alelo (cm ²)
A	ATGT	1,6963 ± 0,6274
B	GCAC	1,7588 ± 0,6793
C	GCGC	-3,4551 ± 1,1314

Analisando a Tabela 1, pode-se notar que há um efeito aditivo desses alelos sob a característica AOL ao ano, sendo que o alelo que confere uma maior AOL é o alelo B, aumentando aproximadamente



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

1,76 cm² por alelo presente no genótipo do animal. O alelo C demonstrou-se desfavorável, pois este diminui cerca de 3,46 cm² por alelo presente no genótipo.

Sherman et al. (2007) analisaram efeitos de substituição alélica no gene GHRL em bovinos e demonstraram uma certa significância ($P < 0,10$) para animais com um dos genótipos homozigotos. Esses resultados são consistentes com a função do *GHRL* na liberação de GH e consequentemente influenciando no crescimento dos animais.

Estudos futuros devem ser realizados com o intuito de verificar a implicação desse gene com características de carcaça.

Conclusões

Foram identificados seis polimorfismos no gene do hormônio da grelina (*GHRL*), dos quais três haplótipos foram formados, sendo que esses apresentaram associações com área de olho de lombo ao ano. O efeito de substituição alélica foi estimado e demonstrou que há um efeito aditivo desses haplótipos para tal característica. Assim, o gene do hormônio da grelina pode ser um importante candidato para identificar variações genéticas que influenciam em características de carcaça.

Literatura citada

- GARCIA, J.F. Utilização de marcadores moleculares para a seleção. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2., 2006, Londrina. **Anais...** Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2006. p.195-201.
- MARTINELLI, C.E.; CUSTÓDIO, R.J.; AGUIAR-OLIVEIRA, M.H. Fisiologia do Eixo GH-Sistema IGF. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.52, p.717-725, 2008.
- MARTINEZ, M.L.; MACHADO, M.A. Programa genoma brasileiro de bovinos e suas perspectivas de aplicações práticas. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 4., 2002, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2002.
- KOURY FILHO, W. **Escores visuais e suas relações com características de crescimento em bovinos de corte**. 2005. 80f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SHERMAN, E.L.; NKRUMAH, J.D.; MURDOCH, B.M.; LI, C.; WANG, Z.; FU, A.; MOORE, S.S. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.86, p.1-16, 2007.