

Marcadores moleculares na bovinocultura de corte - Molecular Marker for beef cattle production - Marcadores moleculares en la producción de ganado de corte

Dias-Salman, Ana Karina: Doutor em Zootecnia, Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, Brasil, aksalman@cpafro.embrapa.br | **Polaina, Fernanda Giachetto:** Doutor em Zootecnia, Embrapa Informática Agropecuária, Campinas, SP, Brasil, poliana@cnptia.embrapa.br | **Wilson Malago Jr.:** Mestre em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, SP, Brasil.

Resumen

La producción de ganado de corte en Brasil se encuentra todavía buscando mejores índices productivos y de precocidad del rebaño. La grande esperanza para el mejoramiento genético más eficaz y rápido de las razas cebú, en especial la raza Nelore, está aliada a los resultados obtenidos con la genética molecular, que se ha establecido cada vez más en los centros de pesquisa. El desarrollo de las técnicas moleculares surge como una herramienta adicional para ser utilizada en el análisis genética buscando la mejora de características de interés económico. Además de la grande notoriedad, los conceptos sobre marcadores moleculares son todavía poco conocidos por la grande mayoría de los profesionales que se ocupan con la producción de ganado de corte nacional. Esta es una revisión organizada en forma de preguntas y respuestas, que intentan definir marcadores moleculares, esclarecer como ellos son detectados en laboratorio y explicar como los resultados de pesquisa pueden ser aplicados para mejorar el desempeño de los bovinos, con énfasis en aquellos destinados à la producción de carne.

Palabras-claves: Genética molecular | Eficiencia productiva | Bovinos | Polimorfismos

Resumo

A pecuária de corte no Brasil ainda está em busca de melhores índices em termos de produtividade e precocidade do rebanho. A grande esperança para o melhoramento genético mais eficaz e mais rápido das raças zebuínas, em especial a Nelore, está aliada aos resultados obtidos com a genética molecular, a qual vem se estabelecendo cada vez mais nos centros de pesquisas. O desenvolvimento de técnicas moleculares surge

como uma ferramenta a mais a ser utilizada na análise genética visando o aprimoramento de características de interesse econômico. Apesar da grande notoriedade, os conceitos sobre marcadores moleculares ainda são pouco conhecidos pela grande maioria dos atores envolvidos com a pecuária de corte nacional. Esta é uma revisão organizada em forma de perguntas e respostas, as quais visam definir marcadores moleculares, esclarecer como os mesmos são detectados em laboratório e explicar como os resultados de pesquisa podem ser aplicados para aprimorar o desempenho de bovinos, com ênfase naqueles destinados à produção de carne.

Palavras chaves: Genética molecular | eficiência produtiva | Bovinos
| Polimorfismos

Abstract

The Brazilian beef cattle chain has been looking for better indexes related to herd performance and precocity. The great hopeness for a better genetic improvement of zebu breeds, especially Nellore, is associated with results found by molecular genetic tools, which has become much more common in research centers. The development of molecular techniques may be considered as an additional tool for genetic analysis of economic traits. Instead of the great notoriety, the concepts related to molecular markers are still unknown by the majority of persons involved with beef cattle chain in Brazil. This review was wrote in form of questions and answers for supplying the definition of molecular markers, descriptions about the laboratory analysis for their detection and explanations about how the research results may be use in order to improve bovine performance with emphasis in beef cattle.

Key-words: molecular genetic | production efficiency | bovine
| polymorphism

1. Introdução

Apesar de terem sido encontrados mais de 20 focos de febre aftosa no Estado do Mato Grosso do Sul em outubro de 2005, o que acarretou no embargo total ou parcial da carne brasileira em 49 países, em janeiro de 2006 o volume das exportações brasileiras de carne bovina *in natura* foi 20% superior ao registrado em janeiro de 2004. Isso mostra que o Brasil conquistou uma posição de destaque no comércio mundial de carne bovina. Esse sucesso só foi possível de ser atingido graças aos inúmeros estudos desenvolvidos por pesquisadores em universidades e institutos de pesquisa com o apoio das associações de criadores, visando aprimorar técnicas de manejo, sanidade, alimentação e melhoramento genético.

Muitas metas foram alcançadas desde que as pesquisas clássicas de genética quantitativa se iniciaram na década de setenta do século passado, visando aprimorar características quantitativas e qualitativas de interesse econômico. Apesar de todo o aspecto positivo, a pecuária nacional ainda está em busca de melhores índices em termos de produtividade e precocidade do rebanho. Enquanto nos Estados Unidos e na Europa o gado de corte está pronto para o abate com menos de dois anos de idade, no Brasil a média ainda é de 3,5 anos para que os animais atinjam o peso vivo ideal para abate, entre 240 e 330 kg. Isto porque 80% do rebanho brasileiro é composto por animais zebuínos (*Bos indicus*), notavelmente menos precoces que os de origem europeia (*Bos taurus*).

A grande esperança para o melhoramento mais eficaz e mais rápido das raças zebuínas, em especial a Nelore, está aliada aos resultados obtidos com a genética molecular, a qual vem se estabelecendo cada vez mais nos centros de pesquisas. Com o advento das técnicas de biologia molecular, tornou-se possível um estudo mais preciso e detalhado a cerca da influência dos genes na manifestação de características de importância econômica. Até então, a maioria do progresso genético obtido para estas características era conseqüente exclusivamente da seleção baseada no fenótipo do animal ou na estimativa do valor genético derivado do fenótipo sem considerar os efeitos de cada gene ou do conjunto de genes envolvidos. Nesses casos, como a maioria das características selecionadas é de natureza quantitativa, os testes de progênies e a seleção em gerações avançadas são utilizados para minimizar os problemas com a seleção sem, contudo, diminuir ou evitar os efeitos da interação genótipo-ambiente. Uma maneira de evitar esse problema seria selecionar indivíduos com base nos seus genótipos, pois este independe do ambiente, o que aumenta a acurácia da estimativa do valor genético.

Mesmo assim, as taxas de ganho genético que foram e ainda estão sendo obtidas em programas de melhoramento demonstram claramente o poder do uso da genética quantitativa na seleção de animais geneticamente superiores. O desenvolvimento de técnicas moleculares surge como uma

ferramenta a mais a ser utilizada na análise genética. Os estudos de genética quantitativa podem ser aprimorados através da inclusão de outras variáveis nos modelos matemáticos, como por exemplo, o genótipo do animal para características quantitativas (QTLs), principalmente àquelas de baixa herdabilidade ou de difícil mensuração. O rastreamento de genótipos superiores pode ser auxiliado pela técnica de marcadores moleculares, já que as variações genéticas estão relacionadas com o genoma do indivíduo. Dentro de um programa de melhoramento genético, esses marcadores podem ser usados não só para seleção de indivíduos com características de interesse, mas também para caracterização da variabilidade genética entre indivíduos e, ou populações e em testes de paternidade.

Esta revisão teve por objetivo esclarecer o que são marcadores moleculares e como os mesmos são detectados em laboratório, bem como, explicar como os resultados de pesquisa podem ser aplicados para aprimorar o desempenho de bovinos, com ênfase naqueles destinados à produção de carne.

2. O que são marcadores moleculares?

Entende-se por marcadores moleculares toda e qualquer característica herdável presente no DNA e que diferencia dois ou mais indivíduos. Estas marcas são alterações na seqüência de nucleotídeos na molécula de DNA denominadas de polimorfismos. Como 90% do genoma é composto por seqüências não codificadoras, ou seja, que carregam uma seqüência de nucleotídeos que não será transcrita em RNA funcional, nem traduzida em proteína, a maioria dessas alterações são estáveis e não acarretam em mudanças fenotípicas. Isto favorece a tolerância pelo indivíduo, a transmissão para os descendentes e a fixação dos polimorfismos dentro de uma população. Com exceção dos gêmeos idênticos, cada indivíduo apresenta um padrão polimórfico único, devido a grande diferença no número e no tipo de variações estáveis ao longo da molécula de DNA, o que é conhecido por polimorfismo genético.

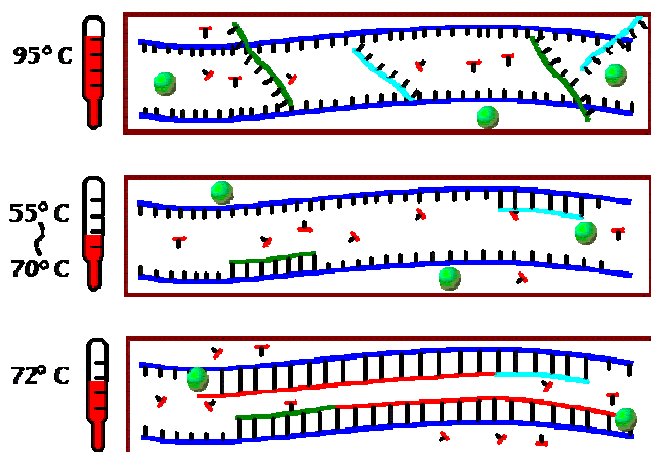
Os diferentes tipos de polimorfismos genéticos podem ser classificados de acordo com a localização dos mesmos no genoma, como por exemplo, os polimorfismos no comprimento dos fragmentos de restrição ou RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) que ocorrem em função da existência ou não de sítios com seqüências reconhecidas por enzimas de restrição; os polimorfismos que apresentam alteração de tamanho ou número de seqüências repetidas em tandem ou VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) e os polimorfismos de nucleotídeos únicos ou SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Estes últimos podem ser observados tanto em regiões codificadoras como não codificadoras do genoma.

3. E como esses marcadores podem ser detectados?

A partir da descoberta da estrutura molecular dos ácidos nucléicos (DNA e RNA) e do melhor entendimento dos eventos que constituem o dogma central da biologia molecular (replicação, transcrição e tradução), vários métodos que simulam esses eventos *in vitro* foram desenvolvidos, permitindo a análise do DNA com o objetivo de identificar e caracterizar polimorfismos.

A principal técnica para detecção de regiões de interesse do DNA é a técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*, reação em cadeia da polimerase) que surgiu na década de oitenta e consiste na síntese *in vitro* de regiões específicas do DNA, simulando a replicação. Esta técnica permite a detecção de marcas no DNA, como os polimorfismos do tipo VNTR e RFLP. Para iniciar a síntese de uma fita nova, a enzima DNA polimerase precisa de um pequeno fragmento de DNA fita simples para iniciar a síntese (*primer*), de um DNA molde, fita dupla, e de precursores de síntese de DNA, chamados dNTPs (desoxinucleotídeos tri-fostato ou dATP, dTTP, dCTP e dGTP). Adicionando-se todos esses reagentes num tubo, a reação é inicialmente aquecida a 94-96°C, para que as fitas duplas de DNA molde se desnaturem. Em seguida, a temperatura é reduzida (50-68°C) para permitir o pareamento dos *primers* em cada uma das duas fitas do DNA molde (um *primer* em cada direção, já que as fitas são antiparalelas). Por fim, a temperatura é elevada para 72°C, para que a DNA polimerase possa sintetizar as novas fitas simples de DNA a partir de cada um dos dois *primers*, duplicando, assim, a seqüência alvo escolhida. Ao se repetir o ciclo, os *primers* encontram dois alvos cada um, a partir do primeiro alvo replicado: um no DNA original e outro na cópia recém sintetizada, gerando, por sua vez, ao fim do novo ciclo, quatro cópias do alvo. A repetição desse processo leva ao aumento exponencial do número de cópias do DNA amplificado. Nas Figuras 1 e 2 estão esquematizados os ciclos da PCR. Cada ciclo envolve três etapas: desnaturação, associação dos *primers* e extensão.

Figura 1. Um ciclo da PCR consiste de três etapas:

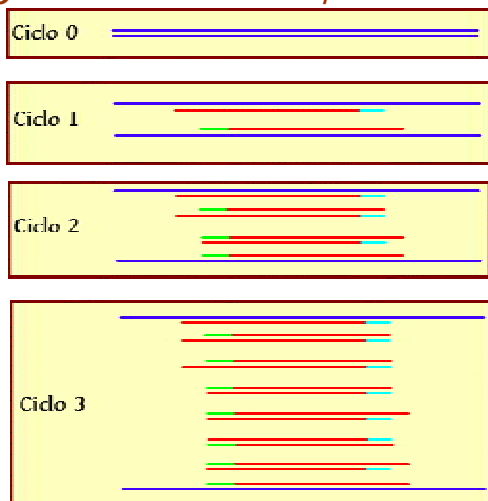


desnaturação a 94-96°C, associação dos primers 50-68°C e extensão a 72°C. Nesse esquema, a DNA polimerase é representada por uma esfera verde, a fita molde do DNA está em azul, os iniciadores de síntese (*primers*) estão em azul

Fonte: MATIOLI (s.d.)

claro e verde, os nucleotídeos estão em vermelho, assim como a nova fita de DNA sintetizada no presente ciclo.

Figura 2. Aumento exponencial da região de interesse na molécula de DNA (em vermelho) nos primeiros ciclos da PCR. Fonte: MATIOLI (s.d.)



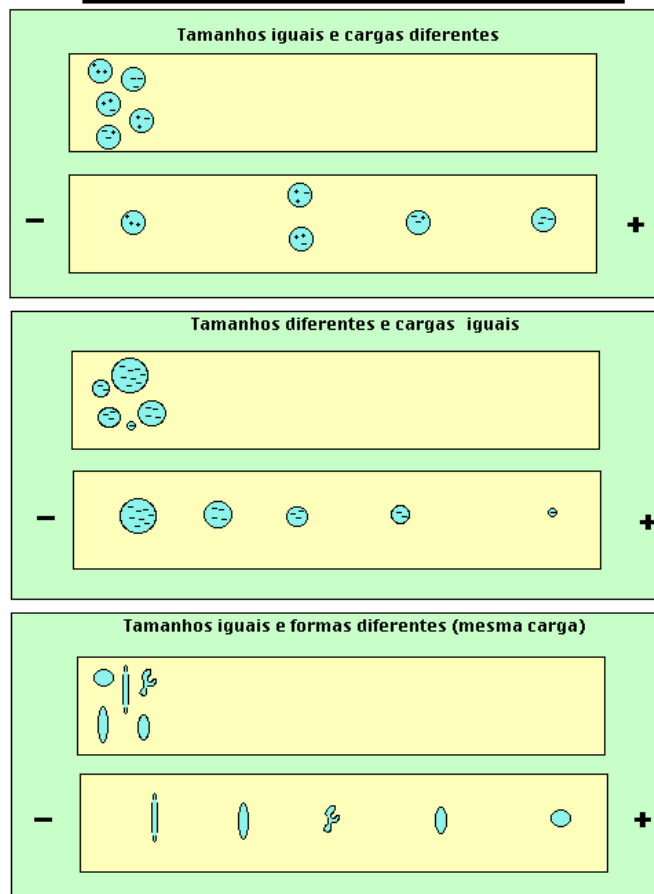
Após a PCR, os produtos da reação podem ser analisados por meio de eletroforese, que consiste na migração dos fragmentos de DNA dentro de um meio gelatinoso e poroso (gel de agarose) quando submetidos a um campo elétrico. Como o DNA apresenta carga negativa (por causa dos grupos fosfato) o mesmo migra em direção ao pólo positivo, sendo que quanto menor o

tamanho do fragmento de DNA, maior é a velocidade de migração ao longo do gel (Figura 3). A visualização dos fragmentos de DNA no gel pode ser feita através da marcação das amostras com brometo de etídio, que é uma substância capaz de se intercalar entre as bases da molécula de DNA e que sob luz ultravioleta emite uma coloração alaranjada.

Figura 3. Representação esquemática de fragmentos de DNA com diferentes tamanhos migrando do pólo negativo para o positivo ao longo de um gel de agarose. Fonte: MATIOLI (s.d.)

Na Figura 4 pode-se visualizar o esquema de um gel de agarose contendo amostras de fragmentos de DNA amplificados por PCR e comparados à um padrão de peso molecular, que é uma amostra de DNA com diversos fragmentos de tamanhos conhecidos. Delimitando-se a amplificação em regiões que contém VNTRs, pode-se distinguir pelo tamanho em pares de bases (pb), entre um VNTR com menos repetições (fragmento menor) e um VNTR com mais repetições (fragmento maior).

Eletroforese – princípios gerais



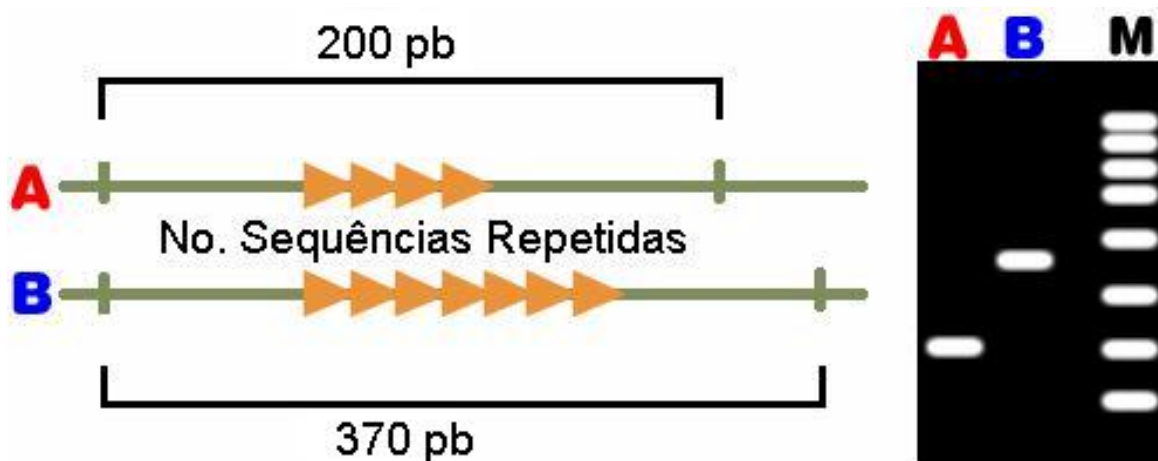
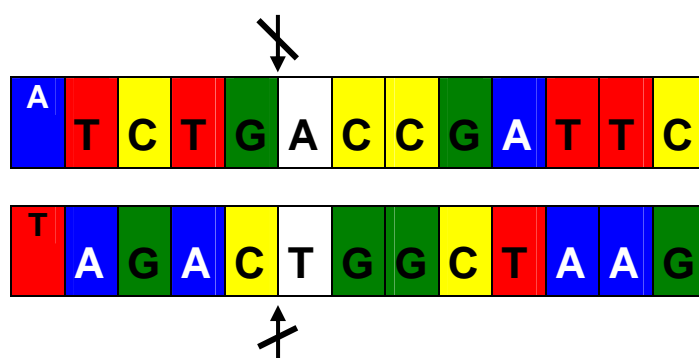


Figura 4. Esquema de um gel de agarose contendo amostras de dois fragmentos de DNA de diferentes tamanhos, dados em pares de bases (pb), amplificados por PCR e comparados à um padrão de peso molecular (M) de fragmentos de 100 pares de base (pb). Fonte: HOW... (2007)

Para a detecção de RFLPs, a região contendo o polimorfismo é amplificada por PCR e depois digerida com endonucleases de restrição, que são enzimas que reconhecem e "cortam" o DNA dentro de uma sequência específica de nucleotídeos (sítios de restrição). Na Figura 5 está esquematizado um exemplo de RFLP em que uma mutação responsável pela troca de uma adenina (A) por guanina (G) cria um sítio para a enzima *Hae*III, que corta o DNA no sítio correspondente à sequência GGCC. Marcadores RFLP são tipicamente co-dominantes, em que os genótipos heterozigoto e homozigoto podem ser distinguidos. Nesta figura está a foto do gel mostrando os três genótipos possíveis para este polimorfismo.

DNA NORMAL:



DNA COM MUTAÇÃO:

Mutação substitui A por G (e T por C na outra fita)
Hae III reconhece a sequência gerada e corta o DNA



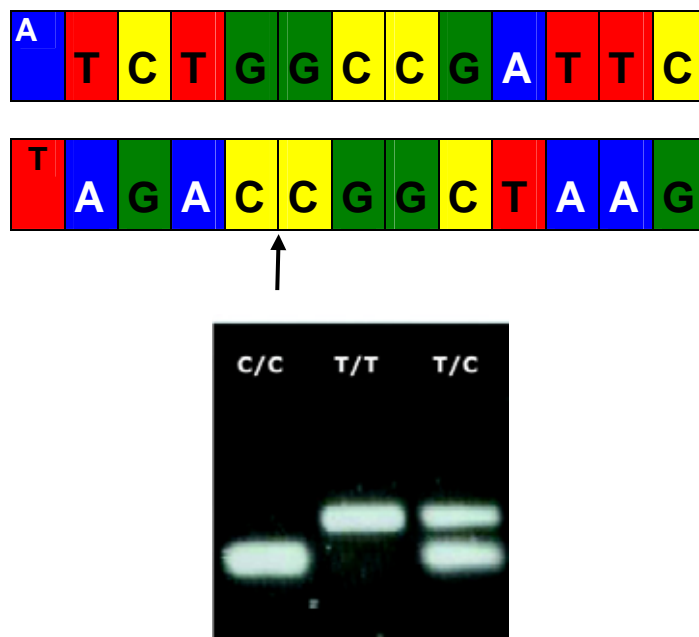


Figura 5. Exemplo de análise de um polimorfismo por RFLP, onde a presença do nucleotídeo C cria um sítio de restrição para a enzima HaeIII. Gel de agarose contendo na coluna 1 um indivíduo homocigoto CC, na coluna 2 um homocigoto TT e na coluna 3 um heterocigoto TC (apenas o alelo C é digerido). Fonte: Guimarães e Costa (2002)

Os microssatélites ou VNTR do tipo STR (do inglês *Short Tandem Repeats*, repetições pequenas em tandem) receberam essa denominação porque quando se fazia análise de DNA por ultracentrifugação em gradiente de cloreto de cério (que separa o DNA por sua densidade) apareciam bandas que ficavam ao lado da banda principal. A essas bandas foi atribuído o nome de DNA satélite, pois pareciam pequenos satélites ao lado de um planeta. Mais tarde esse DNA foi caracterizado como sendo regiões de DNA repetitivo. Depois se descobriu que as repetições podiam ser longas (satélites), curtas (minissatélites) ou muito curtas (microssatélites). Logo abaixo está esquematizada a estrutura do microssatélite CA com exemplos das prováveis variações no número de repetições dentro de uma mesma região cromossômica:

....CACACACACACACA.....
....CACACACACACACACA.....
....CACACACACACACACACA.....
....CACACACACACACACACA.....
....CACACACACACACACACA.....

Para detecção desses polimorfismos pode-se realizar PCR com iniciadores (*primers*) que flanqueiam essas regiões no DNA. Como os alelos de um microssatélite geralmente apresentam números distintos de repetições e, conseqüentemente, tamanhos diferentes, na separação dos mesmos por eletroforese é possível detectar os genótipos da mesma forma que na

técnica do RFLP ou do VNTR, só que no caso de polimorfismo microssatélite, os indivíduos homocigotos não são distinguidos dos heterocigotos, por esse motivo é considerado um marcador dominante.

Durante o processo de formação da célula-ovo (fecundação) que irá dar origem a um embrião, o conjunto de cromossomos do novo indivíduo será formado pela fusão do material genético do pai e da mãe. Logo, quando se considera os cromossomos homólogos de um indivíduo sempre um é de origem paterna e o outro de origem materna.

No exemplo mostrado na Figura 6, apenas os indivíduos F1 e F3 tiveram resultado positivo no teste de paternidade porque apresentaram alelos de origem paterna. Os outros filhos não apresentaram alelos de origem paterna, sendo que o F2 apresentou apenas alelos de origem materna e o F4 não apresentou alelos nem de origem materna e nem de origem paterna, sendo nesses casos a hipótese de paternidade rejeitada.

Outra maneira de se estudar polimorfismos de DNA é através do seqüenciamento de regiões do DNA com posterior alinhamento e análise comparativa das seqüências com o auxílio de *softwares* específicos. Isto torna possível a detecção de polimorfismos pontuais ou SNPs, que podem ocorrer em regiões codificadoras ou não codificadoras do genoma. Em regiões codificadoras, quando resultam em uma substituição de aminoácido na seqüência protéica são denominados polimorfismos não sinônimos, podendo a substituição ser conservativa ou não conservativa, em função das características dos aminoácidos envolvidos na troca. Nesses casos, pode haver modificações estruturais e funcionais na proteína. Já no caso dos SNPs sinônimos (ou silenciosos), embora não alterem a seqüência protéica, eles podem modificar a estrutura e a estabilidade do RNA mensageiro e, conseqüentemente, afetar a quantidade de proteína produzida. Além disso, SNPs podem alterar o processamento (*splicing*) alternativo de RNAm; o padrão de expressão de genes através de alterações em seqüências promotoras; os códon de iniciação e/ou de

terminação da tradução e a poliadenilação da molécula de RNA mensageiro (Guimarães e Costa, 2002).

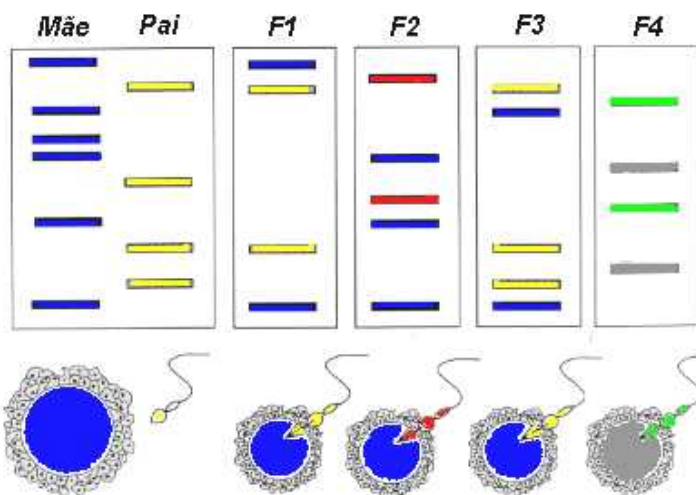


Figura 6. Padrões de DNA de um casal (mãe e pai) e seus quatro filhos: F1 - filho biológico do casal, F2 - filho somente da mãe, F3 - filho biológico do casal e F4 - filho adotivo. Fonte: MELO (s.d.)

Uma das limitações ao uso dessa nova tecnologia está relacionada com a falta de um mapa genético específico de zebuínos e que contenha a localização de regiões específicas ao longo dos cromossomos. Uma vez que tais regiões tenham sido devidamente identificadas, marcadores adicionais podem ser utilizados para identificação de *loci* de interesse. Nos Estados Unidos e na Europa já foram realizados projetos para o mapeamento do genoma do *Bos taurus* (gado europeu), mas aqui no Brasil há uma expectativa para finalização do projeto Genoma Funcional do Boi lançado em maio de 2003 e que pretende identificar os genes bovinos relacionados ao crescimento, qualidade da carne, resistência a doenças e eficiência reprodutiva.

De acordo com Ledur e Schimidt (2003), a aplicação da técnica de seleção assistida por genes ou por marcadores nos programas de melhoramento genético depende do desenvolvimento e da ação conjunta de quatro áreas distintas: 1. Genética molecular, para identificação e mapeamento de genes, bem como de polimorfismos no DNA; 2. Identificação de QTLs, que consiste na associação de genes ou de marcadores genéticos com características quantitativas de interesse econômico; 3. Avaliação genética para integração de dados fenotípicos e genotípicos em modelos matemáticos para estimar o valor genético individual na população elite; 4. Seleção assistida por marcadores para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento e de programas de acasalamento.

Através do mapeamento do genoma do *Bos taurus* e de estudos sobre a fisiologia do crescimento, foi possível a identificação de alguns genes que estão envolvidos na manifestação de características produtivas e que são importantes do ponto de vista de melhoramento genético de bovinos de corte, dentre os quais podemos citar como exemplos, o gene da miostatina, do hormônio do crescimento (GH) e o da leptina.

A associação de mutações no gene da miostatina com a musculatura dupla (hipertrofia muscular) de bovinos da raça Belgian Blue foi descoberta em 1997 por Grobet e colaboradores. Estes autores consideraram os resultados de estudos de análise de ligação entre *loci* marcadores no cromossomo 2 bovino e o *locus* da hipertrofia muscular (*mh*). A identificação do *locus mh* no cromossomo 2 bovino foi feita por mapeamento comparativo utilizando sondas de fragmentos do cromossomo 2 humano, onde o *locus* do gene da miostatina já havia sido localizado. Além disso, também foram considerados experimentos realizados com camundongos nocauteados para o gene da miostatina e que apresentavam grande desenvolvimento muscular. O seqüenciamento desse gene, isolado de bovinos com hipertrofia muscular, revelou a deleção de 11 nucleotídeos. Tal deleção acarreta no aparecimento de um códon de parada prematuro no RNAm e, conseqüentemente, na síntese de uma proteína sem função biológica. Atualmente, seis mutações no gene da miostatina associadas

com perda de função (Tabela 1) e outras quatro silenciosas já foram identificadas em várias raças de bovinos de corte (GROBET et al., 1998).

Várias mutações no gene do hormônio do crescimento bovino (bGH) estão descritas na literatura. A mais estudada em relação aos seus efeitos sobre as características de produção é uma transversão de C por G no exon 5 (posição 2141) responsável pela substituição de leucina (L) por valina (V) na posição 127 da cadeia polipeptídica (LUCY et al., 1993). Switonski (2002) revisou vários estudos e verificou que na maioria das vezes bovinos com genótipo VV (dois alelos mutantes do gene bGH) mostraram menor taxa de crescimento, menor ganho de peso diário e peso corporal, menor produção de carne e menor peso de carcaça. Outro estudo indicou que bovinos da raça Simental de genótipo LV apresentaram maiores valores genéticos para ganho de peso diário que os dos genótipos LL e VV (SCHLEE et al., 1994). Por outro lado, Zwierzcchowski et al. (2001) verificaram que touros das raças Charolês, Limousin, Red Angus, Simental e Hereford do genótipo VV apresentaram maior ganho de peso diário e, conseqüentemente, eram mais pesados que os dos outros genótipos. Já Di Stasio et al. (2002) não verificaram associação entre polimorfismo bGH e características de produção de carne em bovinos da raça Piemontesa. Estes resultados contraditórios provam que não é fácil avaliar os efeitos de um determinado polimorfismo sobre as características de carcaça e de crescimento. Por esse motivo, o polimorfismo V/L no gene bGH ainda não pode ser utilizado em programas de melhoramento genético.

Tabela 1. *Mutações com perda de função no gene da miostatina em diferentes raças bovinas.*

Tipo de mutação (posição do nucleotídeo após o códon de início da transcrição)	Alteração na proteína	Raças
Deleção de 11 nucleotídeos (821)	Proteína truncada (códon de parada prematuro)	Belgian Blue, Blonde d'Âquitaine, Limousine, Austurian, Rubea Gallega
Transição de G por A (938)	Substituição de CYS por TYR	Gascone, Piemontese
Deleção de 7 pares de base e inserção de 10 pares de bases (419)	Proteína truncada (códon de parada prematuro)	Maine-Anjou
Transição de C por T (610)	Proteína truncada (códon de parada prematuro)	Charolais, Limousine
Transição de C por T (676)	Proteína truncada (códon de parada prematuro)	Maine-Anjou
Transição de C por T (874)	Proteína truncada (códon de parada prematuro)	Marchigiana

Fonte: Switonski (2002)

A leptina é um hormônio produzido pelo tecido adiposo e que tem ação sobre os mecanismos que regulam a ingestão, o metabolismo energético, a reprodução e até o sistema imune. O primeiro polimorfismo no gene da

leptina foi descoberto por Pomp et al. (1997) através da digestão de um fragmento de 1820 pb do gene com a enzima de restrição *Sau3AI*. Os efeitos desse polimorfismo sobre características de produção de gado de corte foram avaliados por Zwierzcchowski et al. (2001), os quais verificaram uma associação entre esse polimorfismo e o consumo e a conversão alimentar. O efeito dos genótipos foi variável. Os touros de genótipo AA (alelo A representado por três fragmentos de restrição) apresentaram maior consumo; os do genótipo AB (alelo B representado por quatro fragmentos de restrição) apresentaram alguns cortes comerciais com maior peso.

Outros polimorfismos no gene da leptina bovino foram detectados (Stone et al., 1996; Lien et al., 1997; Wilkins e Davey, 1997; Fitzsimmons et al., 1998; Konfortov et al., 1999; Haegeman et al., 2000; Lagonigro et al., 2003; Salman, 2003) e associados ao consumo de ração (Lagonigro et al., 2003), à área-de-olho-de-lombo (Salman, 2003), à deposição de gordura na carcaça (Fitzsimmons et al., 1998; Buchanan et al., 2002) de bovinos de corte e com características de balanço energético, produção de leite, peso vivo e fertilidade em gado leiteiro (Liefers et al., 2002). TESSANNE et al. (1999) investigaram a relação entre os genótipos para dois microssatélites polimórficos (WILKINS e DAVEY, 1997 e STONE et al., 1996) e dois RFLPs (LIEN et al., 1997) com características de carcaça e só encontraram efeito significativo ($P < 0,02$) entre o microssatélite polimórfico descoberto por WILKINS e DAVEY (1997) e a área de olho-de-lombo, em um grupo de 137 bovinos da raça Angus. Os autores justificaram esta falta de significância com o fato do estudo ter sido conduzido em um grupo pequeno (139 bovinos) e composto por animais pertencentes a uma única raça pura (Angus).

Existem outros exemplos de genes que já foram identificados e mapeados no genoma bovino e que são importantes na manifestação de características produtivas em bovinos de corte, sendo que alguns deles já tiveram suas variantes polimórficas identificadas e associadas com características de carcaça e/ou de crescimento.

Dois polimorfismos no gene do fator I de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) foram avaliados quanto aos seus efeitos sobre as características produtivas de bovinos de corte. Um microssatélite $(CA)_n$ polimórfico na região promotora do gene do IGF-I foi associado com peso ao nascimento e com o ganho de peso no primeiro ano de vida de bovinos da raça Hereford (MOODY et al, 1996). Ge et al. (2001) não observaram esse polimorfismo em uma população de bovinos da raça Angus, porém, identificaram outro polimorfismo na região promotora que consistia de uma transição de T \rightarrow C, sendo o genótipo BB (C nos dois alelos) associado ao maior ganho de peso nos vinte primeiros dias após o desmame.

Um microsatélite (TG)_n polimórfico na região promotora do gene do receptor do hormônio do crescimento (RGH) foi identificado em animais Angus por Hale et al. (2000). O alelo mais curto desse microsatélite (com onze repetições TG) é mais freqüente em animais *Bos indicus* enquanto o alelo mais longo (16 a 20 repetições TG) é mais comum em animais *Bos taurus*, sendo que novilhos Angus com o genótipo homocigoto (longo/longo) apresentaram significativamente maior peso ao desmame e de carcaça.

Podemos citar outros genes candidatos a QTLs em bovinos de corte que já foram mapeados, mas foram pouco estudados para identificação de polimorfismos, como o do fator de transcrição específico da pituitária (PIT1), que controla a expressão do GH; o do fator 1 dos pré-adipócitos (PREF-1), o qual pode estar relacionado com a deposição de gordura intramuscular (marmoreio) e os genes que se expressam exclusivamente nos músculos esqueléticos, como o do fator 1 de determinação miogênica (MYOD1), o da miogenina (MYOG), o do canal de cloreto do músculo esquelético (CLNC1), o da calpaína 3 (CANP3), o do fator 5 miogênico (MYF5) e o do fator 6 miogênico (MYF6) (SWITONSKI, 2002).

5. Conclusões: Quais as perspectivas em relação ao uso dos marcadores moleculares no melhoramento de bovinos de corte?

Marcadores moleculares ligados às características quantitativas não irão de forma alguma substituir os métodos tradicionais de seleção, mas poderão auxiliar geneticistas quantitativos através do fornecimento de informações referentes ao genótipo, o que aumentará o ganho genético e diminuirá o intervalo entre gerações quando genótipos superiores forem detectados isso porque os genótipos superiores serão detectados precocemente? Porém, a implantação desses conhecimentos em programas de melhoramento genético necessita de estudos minuciosos desenvolvidos por vários pesquisadores em diferentes rebanhos, para demonstrar e confirmar os efeitos dos polimorfismos de DNA sobre as características produtivas. Espera-se que, num futuro próximo, os conhecimentos sobre o controle genético de características de interesse econômico gerados por estudos de genética molecular possam auxiliar na prática de desenvolvimento de estratégias de melhoramento e seleção. Esse desafio está apenas começando.

Referências Bibliográficas

1. BUCHANAN, F.C.; FITZSIMMONS, C.J.; VAN KESSEL, A.G.; THUE, T.D.; WINKELMAN-SIM, D.C.; SCHMUTZ, S.M. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. **Genetic Selection Evolution**, v. 34, p. 105-116, 2002.
2. DI STASIO L.; SARATORE S.; ALBERTA A. Lack of association of GH and Pou I f1 gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. **Animal Genetics**, v. 33, p. 61-64, 2002.
3. FITZSIMMONS, C.J.; SCHMUTZ, S.M.; BERGEN, R.D.; MCKINNON, J. J. A potential association between the BM 1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. **Mammalian Genome**, v. 9, p. 432-434, 1998.
4. GE, W.; DAVIS, M.E.; HINES, H.C.; IRVIN, K. M.; SIMMEN, R. C. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.1757-1762, 2001.
5. GROBET L.; PONCELET, D.; ROYO, L.J.; BROUWERS, B.; PIROTTIN, D.; MICHAUX, C.; MÉNISSIER, F.; ZANOTTI, M.; DUNNER, S.; GEORGES, M. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. **Mammalian Genome**, v. 9, p. 210-213, 1998.
6. GROBET L.; ROYO, L.J.; PONCELET, D.; PIROTTIN, D.; BROUWERS, B.; RIQUET, J.; SCHOEBERLEIN, A.; DUNNER, S.; MÉNISSIER, F.; MASSABANDA, J.; FRIES, R.; HANSET, R.; GEORGES, M. A deletion in the myostatin gene causes double-muscling in cattle. **Nature Genetics**, v. 17, p. 71-74, 1997.
7. GUIMARÃES, P.E.M.; COSTA, M.C.R. SNPs: Surtis diferenças de um código. **Biociência, Ciência e desenvolvimento**. v. 26, p. 24-27, 2002.
8. HAEGEMAN, A.; VAN ZEVEREN, A.; PEELMAN, L.J. New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. **Animal Genetics**, v. 31, p. 70, 2000.
9. HALE, C.S.; HERRING, W.O.; SHIBUYA, H.; LUCY, M. C.; LUBAHN, D. B.; KEISLER, D. H.; JOHNSON, G. S. Decreased growth in Angus steers with short TG-microsatellite allele in the PI promoter of the growth hormone receptor gene. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2099-2104, 2000.
10. HOW DOES DNA FINGERPRINTING WORK? Arquivo eletrônico: <http://trendyscience.blogspot.com/2007/08/how-does-dna-fingerprinting-work.html> Acesso em: 13/01/2009
11. KONFORTOV, B.A.; LICENCE, V.E.; MILLER, J.R. Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. **Mammalian Genome**, v. 10, p. 142-145, 1999.

12. KWOK, P.Y.; GU, Z. Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them? **Molecular Medicine Today**, v. 12, p. 538-543, 1999.
13. LAGONIGRO, R.; WIENER, P.; PILLA, F.; WOOLLIAMS, J. A.; WILLIAMS, J. L. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. **Animal Genetics**, v. 34, p. 371-374, 2003.
14. LEDUR, M.C.; SCHIMIDT, G.S. Genética molecular: aplicação de tecnologias moleculares no melhoramento genético de aves (<http://www.bichoonline.com.br/artigos/embrapave0007.htm>)
15. LIEFERS, S.C.; te PAS, M.F.W.; VEERKAMP, R.F.; VAN DER LENDE, T. Association between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 633-1638, 2002.
16. LIEN, S.; SUNDVOLD, H.; KLUNGLAND, H.; VAGE, D.I. Two novel polymorphisms in the bovine obesity gene (OBS). **Animal Genetics**, v. 28, p. 238-246, 1997.
17. LUCY, M.C.; HAUSER, S.D.; EPPARD, P.J.; KRIVI, G.G.; CLARK, J.H.; BAUMAN, D.E.; COLLIER, R.J. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 10, p. 325-333, 1993.
18. MATIOLI, S.R. *Introdução ao estudo dos QTLs (Locos de Caracteres Quantitativos)*. Arquivo eletrônico: <http://www.ib.usp.br/evolucao/QTL/index.html> Acesso em: 13/01/2009.
19. MELO, C.L.P. *Teste de paternidade por exame de DNA*. Arquivo eletrônico: <http://www.ufv.br/dbg/BIO240/TP%20057.htm> Acesso em: 13/01/2009.
20. MOODY, D.E.; POMP, D.; NEWMAN, S.; MACNEIL, M. D. Characterization of DNA polymorphism in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line I Herefords. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1784-1793, 1996.
21. POMP, D.; ZOU, T.; CLUTTER, A.C.; BARENDSE, W. Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of PCR-based polymorphism. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 427, 1997.
22. SALMAN, A.K.D. **Polimorfismo e expressão gênica da lepina em bovinos superprecoces**. Botucatu, 49p. Tese, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2003.
23. SCHLEE P.; GRAM L. R.; ROTTMAN, O.; PIRCHNER, F. Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 111, p. 253-256, 1994.

24. STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; BEATTLE, C.W. The bovine homologue of obese gene maps to chromosome 4. **Mammalian Genome**, v. 7, p. 399-400, 1996.
25. SWITONSKY, M. Molecular Genetic in beef cattle breeding – a review. **Animal Science Papers and Reports**, v. 20, sup. 1, p. 7-18, 2002.
26. TESSANE, K.; HINES, H.C.; DAVIS, M.E. **Relationships of polymorphisms in the bovine leptin gene with differences in beef carcass traits**. Wooster: Ohio State University, 1999 (Ohio Cooperative Extension Service. Bulletin Research and Reviews: Beef and Sheep. Special Circular no. 170).
27. WILKINS, R.J., DAVEY, H.W. A polymorphic microsatellite in the bovine leptin gene. **Animal Genetics**, v. 28, p. 376, 1997.
28. ZWIERZCHOWSKI L.; OPRZADEK, J.; DYMICKI, E.; DZIERZBICKI, P. An association of growth hormone κ -casein, β -lactoglobulin, leptin and *Pit*-1 loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. **Animal Science Papers and Reports**, v. 19, p. 65-78, 2001.

REDVET: 2009 Vol 10 Nº 2

Recibido 10.07.08 - Ref. prov. I003 - Revisado 03.01.09 Aceptado 15.01.09
Ref. def. 020909_RED VET Publicado: 14.02.09

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020209.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020209/020909.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)
<http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> -
<http://revista.veterinaria.org>