

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**POLIMORFISMOS DOS GENES *IGF2*, *PMCH* E *RORC* EM
BOVINOS NELORE E CRUZADOS: VARIABILIDADE E
RELAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA
CARNE.**

Victor Augusto Domingos Dias

Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**POLIMORFISMOS DOS GENES *IGF2*, *PMCH* E *RORC* EM
BOVINOS NELORES E CRUZADOS: VARIABILIDADE E
RELAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DA CARCAÇA E DA
CARNE.**

Victor Augusto Domingos Dias

Orientador: Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira

**Co-orientador: Prof. Dr. Rogerio Abdallah
Curi**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento Animal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2012

D541p Dias, Victor Augusto Domingos
Polimorfismo dos genes IGF2, PMCH e RORC em bovinos Nelore e cruzados: Variabilidade e relação com características da carcaça e da carne / Victor Augusto Domingos Dias. -- Jaboticabal, 2012
viii, 40 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012
Orientador: Henrique Nunes de Oliveira
Co-orientador: Rogerio Abdallah Curi
Banca examinadora: Fabio Ricardo Pablos de Souza, Saulo da Luz e Silva
Bibliografia

1. Marcadores moleculares. 2. SNP's. 3. Nelore. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: victordiaszootecnista@gmail.com

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: POLIMORFISMOS DOS GENES IGF2, PMCH E RORC EM BOVINOS NELORE E CRUZADOS: VARIABILIDADE E RELAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE

AUTOR: VICTOR AUGUSTO DOMINGOS DIAS

ORIENTADOR: Prof. Dr. HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ROGERIO ABDALLAH CURI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



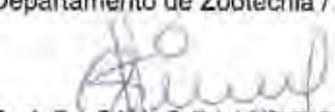
Prof. Dr. ROGERIO ABDALLAH CURI

Departamento de Melhoramento Zootécnico e Nutrição Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / Botucatu/SP



Prof. Dr. FABIO RICARDO PABLOS DE SOUZA

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. SAULO DA LUZ E SILVA

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos / Pirassununga/SP

Data da realização: 28 de fevereiro de 2012.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VICTOR AUGUSTO DOMINGOS DIAS – solteiro, nascido no dia 18 de Setembro de 1986, na cidade de Itapetininga – São Paulo, filho de Wilson Dias Junior e Sonia Maria Domingos Dias. Iniciou em Março de 2005 o curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Campus de Botucatu – São Paulo. Em Dezembro de 2009 conclui a graduação, obtendo-se o título de Zootecnista. Em Março de 2010 ingressou no curso de pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal, na Faculdade de Ciência agrárias e veterinárias, na Universidade Estadual (UNESP) – Campus Jaboticabal, São Paulo, como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sob orientação do professor Dr. Henrique Nunes de Oliveira e Co-Orientação do professor Dr. Rogerio Abdallah Curi.

“Mudam-se os tempos, mudam-se as vontades,
Muda-se o ser, muda-se a confiança;
Todo o mundo é composto de mudança,
Tomando sempre novas qualidades”
Luís de Camões

À minha querida mãe Sonia, por todo amor, dedicação, coragem, fé, ensinamentos, você sempre será parte importante desta minha caminhada.

Ao meu pai Wilson Dias Junior (†*in memoriam*), pelo incentivo, por todos os exemplos de trabalho e integridade.

Ao meu irmão Octávio, pela amizade, apoio, companheirismo.
A toda minha família e amigos!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o bom andamento deste trabalho e de forma particular:

Ao Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira, pela oportunidade de fazer o Mestrado e iniciar o Doutorado trabalhando no que gosto;

Ao Prof. Dr. Rogerio Abdallah Curi, pela oportunidade de trabalharmos juntos e por sempre estar disposto a ajudar no que foi preciso;

Ao Prof. Dr. Luis Arthur Chardulo (Capado) do Depto de Bioquímica, pela amizade e por disponibilizar parte dos equipamentos utilizados na realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva e Dr. Fabio Ricardo Pablos de Souza componentes da banca de defesa, pelas sugestões dadas para melhorar este trabalho;

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal, pelo curso oferecido e pelo apoio imprescindível em diversas etapas deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal, pela contribuição à minha formação acadêmica.

A todos os meus amigos e amigas de pós-graduação e laboratório, pelo apoio e pela alegre convivência, entre eles Alexandre Bonifacio, Juliana Giusti, Francisco, Fabio Borba, Rafael Espigolan, Jessica Malheiros, Welder, Andressa e Lívia;

Aos amigos Thiago Silveira (Tchuguéder), Ícaro (Pau-Molão), Rodrigo (Simba), Lucas Gerardi (Godines), Eduardo (Parece), Gustavo (Grélo), Rafael (Yang), Daniel Primiano (Sucuzinho) e Rodrigo Bulau (Raxudo) da Republica Lar do Tar pela acolhida quando cheguei a Jaboticabal.

Aos moradores Ariel Van Oene (Minerva), Rafael Marcelino (Exú), Caio Doiche (Pajé), Marcelo Aurichio (Canario), Daniel (Zé-da-feira), Tales Peneluppi (Penelope), Nilton Guedes (Paraiba), Hyago (Paraibinha), José Nogueira (Abadia),

Luiz Tambelli (Kgalhão), Lucas Inoe (Ajinomato) e todos que fizeram parte da família Santa Cerva, por me aguentarem e fazerem parte da minha vida.

A UNESP - Campus de Jaboticabal e Botucatu, pela estrutura oferecida para realização deste trabalho;

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudos;

A Deus, por isso e tudo mais.

SUMARIO

CAPITULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. Características da pecuária de corte.....	1
2. Melhoramento Genético na bovinocultura.....	2
3. Qualidade da carne em bovinos.....	3
4. Marcadores moleculares.....	4
5. Genes relacionados à composição da carcaça e à qualidade da carne.....	8
6. Objetivos.....	9
7. Referencias.....	11
CAPITULO 2. POLIMORFISMOS DOS GENES <i>IGF2</i> , <i>PMCH</i> E <i>RORC</i> EM BOVINOS NELORES E CRUZADOS: VARIABILIDADE E RELAÇÃO COM CARACTERISTICAS DA CARCAÇA E DA CARNE.....	18
1. Resumo.....	18
2. Introdução.....	19
3. Material e métodos.....	20
3.1. Animais.....	20
3.2. Coleta de amostras e medidas de características de carcaça e carne.....	22
3.3. Genotipagem dos polimorfismos.....	23
3.4. Análise genética e estatística dos dados.....	25
4. Resultados.....	25
5.1. Frequências alélicas e genotípicas.....	25
5.2. Análise de associação.....	31
6. Discussão.....	33
6.1. Polimorfismo do gene <i>IGF2</i>	33
6.2. Polimorfismo do gene <i>PMCH</i>	34
6.3. Polimorfismo do gene <i>RORC</i>	35
7. Conclusão.....	37
8. Referencias.....	38

**POLIMORFISMOS DOS GENES *IGF2*, *PMCH* E *RORC* EM BOVINOS
NELORES E CRUZADOS: VARIABILIDADE E RELAÇÃO COM
CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE**

RESUMO – As técnicas de biologia molecular utilizadas no melhoramento genético são uma alternativa para o aperfeiçoamento de características de interesse zootécnico. São publicados na literatura novos polimorfismos de genes candidatos posicionais ou funcionais com potencial de aplicação na seleção assistida por marcadores. Os genes *IGF2*, *PMCH* e *RORC* se apresentam, em função de pesquisas recentes, como candidatos para características de interesse em animais de produção. Os objetivos foram estimar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos *IGF2/Mboll*, DQ499531.1:g.134A>T e DQ667048.1:g.3290G>T em bovinos de corte de diferentes grupos genéticos e avaliar a ocorrência de associações entre esses polimorfismos e características relacionadas à composição da carcaça e a qualidade de carne em animais abatidos em idade jovem. Foram utilizados dados de qualidade de carne e carcaça de 499 animais da raça Nelore e seus cruzamentos com raças taurinas. As frequências alélicas encontradas permitiram inferir que os alelos dos polimorfismos *IGF2/Mboll* e DQ667048.1:g.3290G<T *RORC* diferem entre as subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus*. Embora a relação entre o polimorfismo *IGF2/Mboll* e a EGS nos animais estudados não tenha sido significativa após correção para múltiplos testes, sugerem que mais estudos devem ser realizados para verificar a influência desse polimorfismo sobre esta características de interesse em bovinos. Os SNPs estudados dos genes *PMHC* e *RORC*, com base nos resultados, inadequados para uso na seleção assistida por marcadores em bovinos com composição genética semelhantes as utilizadas nesta pesquisa.

Palavras-chaves: Marcadores Moleculares, SNPs, Bovinos, Nelore

**GENE POLYMORPHISM TO *IGF2*, *PMCH* AND *RORC* IN THE CATTLE
NELLORE AND CROSSBREED: VARIABILITY AND RELATIONSHIP WITH
CHARACTERISTICS OF CARCASS AND MEAT**

SUMMARY- The techniques used in molecular breeding are an alternative for the improvement of characteristics of zootechnical interest. Are published in the literature a new polymorphisms positional and functional of candidate genes with potential application in marker-assisted selection. The gene *IGF2*, *PMCH* and *RORC* are present, according to recent research, as candidates for traits of interest in farm animals. The objectives were to estimate the allele and genotype frequencies of polymorphisms *IGF2/MboII*, DQ499531.1: g.134A> T and DQ667048.1: g.3290G> T in beef cattle of different groups genetic and evaluate the occurrence of associations between these polymorphisms and traits related to carcass composition and meat quality in animals slaughtered at a young age. Data of meat quality and carcass of 499 Nellore and its crosses with taurine. Based on the results we can conclude that the allele frequencies found possible to infer that the alleles of the polymorphisms and *IGF2/MboII* DQ667048.1: g.3290G <T differ between subspecies *Bos indicus* and *Bos taurus* and although the relationship between polymorphism *IGF2/MboII* and EGS in the animals studied was not significant after correction for multiple tests, suggest that more studies should be performed to verify the influence of this polymorphism on this interesting traits in cattle. The SNPs studied genes *RORC* and *PMHC* seem, based on the results unsuitable for use in marker-assisted selection in cattle with the genetic composition similar those used in this study.

Keywords: Molecular Markers, SNPs, Cattle, Nellore

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

CARACTERÍSTICAS DA PECUÁRIA DE CORTE NO BRASIL

O rebanho bovino brasileiro é considerado o maior rebanho comercial do mundo, tendo a expansão agrícola brasileira, principalmente o desenvolvimento da pecuária de corte, contribuído para aumentar o número efetivo de bovinos. Segundo dados do IBGE (2010), o Brasil tem aproximadamente 205 milhões de cabeças, sendo 79,3% de bovinos corte, representando próximo de 16% do rebanho mundial. O Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina, com 7.618 mil toneladas de equivalente-carcaça, atrás dos Estados Unidos, com 11.816 mil toneladas. É também o segundo em número de abates (40,1 milhões de animais), atrás da China (42,4 milhões de animais) (ANUALPEC, 2010). O Brasil exportou em 2009 um total de 1.245.139 toneladas de carne bovina (ANUALPEC, 2010), sendo o maior exportador mundial do produto.

Com a melhora no padrão de vida da população brasileira, houve alterações no padrão alimentar, com aumento no consumo de proteínas de origem animal. FERRAZ & FELICIO (2010) apresentaram um estudo do mercado de carnes, onde mostram alguns pontos relevantes, onde o mercado interno é responsável por consumir 72% do total da carne produzida, algo em torno de sete milhões de equivalentes-carcaça/ano, tendo um total de 37 kg de carne/habitante/ano.

Considerando-se a importância econômica da pecuária de corte no Brasil (MACEDO, 2006; FARIA et al., 2008) e sua posição no ranking mundial em termos de produção e exportação (ABIEC, 2010), fica evidente a demanda por aumento da produção e da qualidade da carne.

Embora o Brasil ocupe uma posição de destaque no cenário econômico, a pecuária de corte nacional tem como características apresentar baixa

produtividade e variação na qualidade da carne produzida, fatores que podem fazer com que a competitividade deste setor no mercado globalizado seja comprometida (HADLICH, 2007).

MELHORAMENTO GENÉTICO NA BOVINOCULTURA

O melhoramento das características fenotípicas de interesse zootécnico em bovinos tem sido alvo do empenho da humanidade e, mesmo que sendo realizado de forma empírica antes do século passado, vem sendo realizada por volta de 10.000 anos. A domesticação dos animais permitiu ao ser humano realizar a seleção artificial para características de interesse e modificar, mesmo que de forma inconsciente, a característica genotípica das populações (SANTOS, 1995).

O sucesso da seleção está sujeito ao valor da herdabilidade do caráter, tendo como as heranças poligênicas, dominâncias parciais ou completas, a influência do ambiente e o tempo necessário para a estimação fenotípica como fatores limitantes (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

O melhoramento genético dos animais domésticos tem sido conduzido para características de desempenho tais como crescimento e produção de leite, sendo empregados, fundamentalmente, princípios de genética quantitativa, de forma que, os indivíduos de uma população sejam estimados por meio de métodos estatísticos. Na maior parte dos programas de melhoramento genético de bovinos utilizou, por volta dos anos 80, a teoria dos índices de seleção, com o foco em seleção dentro de rebanhos. Após este período, a metodologia dos modelos mistos para a estimação do valor genético dos animais, expresso em termos de Diferença Esperada na Progênie (DEP) vem sendo empregada (QUASS & POLLAK, 1980; HENDERSON, 1988).

Dessa forma, nos últimos 35 anos, os pecuaristas brasileiros vêm apresentando resultados notáveis no melhoramento genético de várias características produtivas. Porém, apesar da evolução dos resultados obtidos, foram apresentadas algumas limitações. A eficiência dos métodos tradicionais de

seleção é bastante limitada em relação às características de difícil ou dispendiosa mensuração, de baixa herdabilidade, que não se expressam no indivíduo ou de expressão tardia ou pós-morte (SCHWERIN ET AL., 1995).

A análise molecular do genoma dos animais domésticos inicia a contribuição para que sejam solucionadas algumas destas limitações. A acurácia das predições e a intensidade de seleção aplicada ao rebanho podem ser incrementadas, diminuindo o intervalo entre gerações e economizando esforços em testes de progênie de touros. Além disso, as informações moleculares a respeito dos animais selecionados podem ser obtidas precocemente, o que se refletirá em aceleração do progresso genético anual.

QUALIDADE DA CARNE EM BOVINOS

As gorduras de marmorização e de cobertura, o desenvolvimento muscular e a maciez da carne são algumas das principais características de carcaça e da carne dos bovinos. Tais características são importantes para eficiência econômica da cadeia da carne, uma vez que estão diretamente relacionadas à produtividade e à qualidade final do produto, ainda que nem sempre estejam diretamente relacionados à remuneração recebida pelo criador.

As deposições de gordura intramuscular e subcutânea influenciam diretamente na qualidade da carne produzida e conseqüentemente na preferência dos consumidores. A marmorização da carne, decorrente da deposição de gordura intramuscular, confere suculência e sabor, interferindo no hábito de consumo e no preço final do produto (KILLINGER ET AL., 2004). O aumento da deposição de gordura subcutânea é importante para garantir a qualidade da carcaça após o resfriamento (TAIT ET AL., 2005). De acordo com DRANSFIELD (1994), a terminação de carcaça adequada garante o menor impacto proporcionado pelo resfriamento rápido, evitando o encurtamento das fibras e conseqüentemente a menor maciez da carne. Além disso, a maior temperatura interna da carcaça pós-resfriamento observada em animais com maior cobertura

de gordura concorre para a maior ação glicolítica muscular, o menor índice de pH, a ativação das proteases cálcio-dependentes, e conseqüentemente para a maior maciez da carne.

Além da terminação adequada da carcaça, inúmeros outros fatores como idade, sexo, raça, manejos pré e pós abate, atividade enzimática no pós-morte, composição das fibras musculares e preparo do produto pelo consumidor podem influenciar na maciez da carne. Atualmente, em muitos mercados, existe uma relação positiva entre o preço dos cortes e a sua maciez, o que confirma o fato desta característica ser o principal componente da satisfação dos consumidores em relação à carne bovina (SAVELL & SHACKELFORD, 1992).

KOOHMARAIE (2003) afirma que 46% das variações de maciez da carne se devem a genética do animal e 54% a variações ambientais, quando comparadas raças diferentes. Dentro de raça, a genética seria responsável por 30% da variação. Particularmente neste aspecto, existe grande interesse na seleção de animais para aumento da maciez da carne (PAGE ET AL., 2004).

Em confluência com as deposições de gordura na carcaça e a maciez, a área do músculo *Longíssimus dorsi*, ou área de olho de lombo, é característica de grande interesse econômico em bovinos de corte por estar estreitamente relacionada com a capacidade de produção e tamanho dos cortes cárneos (HADLICH, 2004).

MARCADORES MOLECULARES

Marcador molecular é toda e qualquer variação originária de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA (correspondente a regiões expressas ou não do genoma). Ao se certificar que esses marcadores segregam conforme as leis mendelianas para características monogênicas, ou ocorram distribuições compatíveis com as esperadas para características poligênicas (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). Analisando na perspectiva molecular ocorrem três tipos principais de variações na molécula de DNA, as regiões

repetitivas, as inserções e deleções (Indels) e as alterações de uma única base (*Single Nucleotide Polymorphisms* – SNPs) (VIGNAL ET al., 2002).

Os polimorfismos podem ser encontrados tanto em regiões codificadoras como em regiões não codificadoras dos genomas. Em regiões codificadoras, se resultar em uma substituição de aminoácido na sequência proteica, são chamados de não sinônimos, sendo que pode ser uma substituição conservativa ou não conservativa em função das características dos aminoácidos envolvidos na troca. Podendo haver modificações estruturais e funcionais na proteína. Apesar dos polimorfismos sinonímicos não alterarem a sequência proteica, eles tem a capacidade de modificar a estrutura e a estabilidade do RNA mensageiro, e, como consequência alterar a quantidade de proteína produzida. A quantidade de proteína produzida também pode ser alterada quando ocorrem mudanças nas regiões não traduzidas do RNA mensageiro (5' UTR e 3' UTR). Além disso, os polimorfismos gênicos podem causar processamentos alternativos, geração ou supressão de códons de terminação, alteração nos códons de iniciação da tradução e alterações no padrão de expressão de genes quando a troca de bases ocorre em sequências promotoras (GUIMARÃES & COSTA, 2002).

Os polimorfismos intrônicos ganharam importância pelo fato de não mais poderem ser descartados como possíveis responsáveis diretos por alterações fenotípicas. Sabe-se que RNAs não codificantes transcritos a partir de regiões de introns (micro-RNAs) estão envolvidos em diferentes processos biológicos tais como os controles transcricional e pós-transcricional da expressão gênica (NAKAYA ET AL., 2007).

Entre as vantagens que são atribuídas aos marcadores moleculares evidenciam-se o alto polimorfismo, o fato de não sofrerem influência do meio ambiente, de serem comumente codominantes, de poderem ser analisados em qualquer momento do desenvolvimento do indivíduo, e de poderem ser realizado as análises em um indivíduo a partir de células ou tecidos (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). Contudo, ROCHA ET AL. (1994) utilizaram o termo Ilusão Aditiva ao citar um demasiado otimismo ao fácil emprego de marcadores

com a finalidade de realizar a seleção, considerando que genes isolados não podem ser qualificados como bons ou ruins e que apenas o genótipo como um todo pode receber este tipo de classificação, ainda assim, quando relacionado à determinada condição ambiental.

Marcadores moleculares permitem que os genótipos dos indivíduos sejam determinados em muitos locos para várias espécies diferentes (O'BRIEN & GRAVES, 1991), permitindo que parâmetros populacionais como frequências alélicas e genotípicas sejam avaliados. Estas informações que possa ocorrer a comparação de frequências entre populações e revelam as diferenças em suas composições genéticas que podem colaborar com as variações fenotípicas (MOODY ET AL., 1996). Contudo, para a realização da identificação nas regiões do DNA responsáveis por características de interesse, geralmente, recorre-se a algumas estratégias diferentes, como a localização de QTL (*Quantitative Trait Loc*) pela análise de regiões microssatélites do maior número possível de indivíduos de grandes famílias, originárias de acasalamentos direcionados (HALEY, 1998). Entretanto, a aplicação dessa ferramenta encontra a dificuldade em se constituir famílias para o estudo e no alto custo para a manutenção dos animais, principalmente em bovinos, cujo intervalo entre gerações é grande. Além disso, após a identificação de QTL ainda há um longo caminho a percorrer até a descoberta dos genes diretamente implicados com o fenótipo (FORTES ET AL., 2007).

Metodologia alternativa para a diminuição dessas dificuldades é a busca de genes candidatos principais, onde o objetivo é estudar os mecanismos fisiológicos envolvidos com a manifestação das características de produção em questão, na tentativa de pesquisar variações de genes específicos entre indivíduos que apresentam fenótipos diferentes (WOMACK, 2006). A estratégia do gene candidato tem como grande vantagem o fato de não ser obrigatório a genotipagem de um alto número de indivíduos de grandes famílias originados de acasalamentos direcionados, uma vez que, a princípio, espera-se que o

polimorfismo estudado seja determinante direto de variação fenotípica (FORTES ET AL., 2007).

Entretanto, as conquistas práticas obtidas pela utilização da seleção assistida por marcadores moleculares – MAS, estão, até o momento, aquém do desejado, ou seja, nem sempre esta estratégia pode ser aplicada, já que muitas vezes os resultados de diferentes trabalhos mostram-se pouco conclusivos ou contraditórios. Essas dificuldades em concluir ou contradições de resultados costumam ser explicados por perdas de associação entre os marcadores e as características quantitativas ao longo das gerações, já que muitas vezes os polimorfismos estudados não são os responsáveis diretos por alterações fenotípicas, por interações epistáticas diferentes entre o gene candidato e as bases genéticas de populações e raças distintas e pela magnitude do efeito do gene candidato (CURI ET AL., 2006).

Este fato denota a necessidade de confirmação de resultados prévios por meio de estudos adicionais em diferentes gerações e populações de indivíduos da mesma raça, entre as diferentes raças e, no caso de bovinos, entre as diferentes subespécies, antes que marcadores moleculares possam ser comercializados para um determinado grupo genético (OLIVEIRA & CURI, 2008).

Segundo CASAS ET AL. (2005), resultados de associação entre marcadores moleculares e características de interesse obtidas para populações de animais *Bos taurus* não são imediatamente aplicáveis em populações de animais *Bos indicus*, antes que possam ser amplamente estudados e validados. Outra constatação importante é o fato de que muitos polimorfismos que segregam e se encontram associados às características interessantes em animais *Bos taurus*, sequer segregam em animais *Bos indicus* denotando a necessidade do uso ou desenvolvimento de outros marcadores para o gene ou região cromossômica para que possam ser efetuados os estudos nas raças dessa subespécie (OLIVEIRA & CURI, 2008). Dessa forma, muitas vezes de forma prematura e arriscada para a credibilidade futura do negócio, o mercado de testes genéticos para identificação de animais de genótipo superior avança (OLIVEIRA & CURI, 2008).

GENES RELACIONADOS À COMPOSIÇÃO DA CARÇA E À QUALIDADE DA CARNE

Ao longo das últimas décadas, os avanços na genética molecular têm levado à identificação de genes que influenciam a produção de carne de qualidade em animais de produção (GAO ET AL., 2007). Entre eles estão os genes *CAST* (*calpastatina*), *CAPN1* (*calpaína 1*), *LEP* (*leptina*), *TG* (*tiroglobulina*), *DGAT1* (*diacilglicerol O-aciltransferase 1*), *FABP4* (*proteína ligante de ácido graxo 4*), *GH1* (*hormônio do crescimento*), *IGF1* (*fator semelhante à insulina 1*) e *MSTN* (*miostatina*), entre outros, anteriormente estudados por grupos de pesquisa no Brasil e no mundo.

Os genes *IGF2* (*Fator semelhante a insulina 2*), *PMCH* (*Pro-hormônio concentrador de melanina*) e *RORC* (*Receptor órfão para retinóide do subtipo C*) se apresentam, em função de pesquisas recentes, como candidatos para características de interesse em animais de produção (FLISIKOWSKI ET AL., 2005; HELGESON & SCHMUTZ, 2008; BARENDSE ET AL., 2006).

O gene bovino *IGF2* foi localizado no cromossomo bovino 29 (SCHMUTZ ET AL., 1996), que abriga QTL para características da carne, do leite e da saúde em bovinos (CASAS ET AL., 2003; RODRIGUEZ-ZAS ET AL., 2002). Os *IGFs* são peptídeos promotores do crescimento, que pertencem a uma família de polipeptídeos estruturalmente relacionados, que inclui *IGF1*, *IGF2*, insulina e relaxina (DAFGARD ET AL., 1985). O sistema *IGF* consiste de dois fatores de crescimento semelhantes à insulina (*IGF1* e *IGF2*), dois receptores, e seis proteínas de ligação (IGFBP-1 a -6). A insulina é sintetizada exclusivamente nas ilhotas pancreáticas de Langerhans, enquanto *IGFs* são sintetizados em tecidos por todo o corpo (NEDBAL ET AL., 2000). O *IGF2* estimula respostas no músculo esquelético, incluindo efeitos sobre o metabolismo de carboidratos, gordura e de proteínas, crescimento e diferenciação de uma forma autócrina/parácrina (FLORINI ET AL., 1991; OKSBJERG ET AL., 2004). Devido às funções que o

IGF2 desempenha no crescimento muscular e no desenvolvimento é considerado gene candidato para o desenvolvimento de marcadores moleculares para produção de carne em animais de interesse zootécnico.

O gene *PMCH* foi caracterizado em bovinos por HELGESON & SCHMUTZ (2008) e mapeado no cromossomo 5 por STONE ET AL. (2002). O *PMCH* codifica três neuropeptídeos: neuropeptídeo-glicina-ácido glutâmico (ESL), neuropeptídeo-glutâmico-isoleucina (NEI) e hormônio concentrado de melanina (MCH) (NAHON ET AL., 1989). O MCH é o produto mais estudado do *PMCH*, o qual foi demonstrado como estimulador do consumo alimentar, bem como modulador da função metabólica (revisado por PISSIOS ET AL., 2006). O MCH é predominantemente expresso no hipotálamo dos mamíferos, sendo expresso também na tiroide, baço, intestino e testículos (BAKER, 1994).

O gene *RORC* é altamente expresso no músculo esquelético (HIROSE ET AL., 1994), sendo membro de uma superfamília que inclui receptores para hormônios esteroides, hormônio da tiroide, retinóides e vitamina, assim como um grande número de receptores, referida como receptores órfãos, para os quais não foi identificado ligante (EVANS, 1988; KELLER & WAHLI, 1993; HIROSE ET AL., 1994). Papéis importantes para os receptores nucleares têm sido demonstrados no controle do desenvolvimento embrionário, na proliferação e diferenciação celular (CHOMIENNE ET AL., 1990; DE LUCA, 1991). Cada membro da subfamília ROR exibe uma diferente distribuição tecidual, sugerindo que estes receptores têm funções biológicas distintas.

OBJETIVOS

Diante do exposto e considerando a falta de informações em relação ao potencial de utilização de marcadores moleculares relacionados às características de interesse em animais de raças zebuínas, este trabalho teve como objetivo estimar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos *IGF2/Mboll* do gene *IGF2*, DQ499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* e DQ667048.1:g.3290G>T do

gene *RORC* em bovinos de corte de diferentes grupos genéticos (Nelores – *Bos indicus* e cruzados – Nelore x *Bos taurus*) e avaliar a ocorrência de associações entre esses polimorfismos e características relacionadas à composição da carcaça e à qualidade de carne em animais abatidos em idade jovem.

REFERENCIAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Quadro atual da pecuária bovina. Disponível em <<http://www.abiec.com.br>>. Acesso em: 17 ago, 2011.

ANUALPEC 2010: Anuário de pecuária brasileira. São Paulo, SP: Editora FNP, 2009. 369 p. Annual.

BAKER, B. I. Melanin-concentrating hormone updated: functional considerations. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, v. 5, p. 120–126. 1994.

BARENDSE, W.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; THOMAS, M. B. The growth hormone GH1:c.457C.G mutation is associated with relative fat distribution in intra-muscular and rump fat in a large sample of Australian feedlot cattle. **Animal Genetic**. 37: 211–214. 2006.

CASAS, E.; SHACKELFORD, S. D.; KEELE, J. W.; KOOHMARAIE, M.; SMITH, T. P. L.; ET AL. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. **Journal Animal Science**. 81: 2976–2983. 2003.

CHOMIENNE, C.; BALLERINI, P.; BALITRAND, N.; HUANG, M. E.; KRAWICE, I.; CASTAIGNE, S.; FENAUX, P.; TIOLLAIS, P.; DEJEAN, A.; DEGOS, L.; ET AL. The retinoic acid receptor alpha gene is rearranged in retinoic acid-sensitive promyelocytic leukemias. **Leukemia**. 802–807. 1990.

CURI, R.A.; PALMIERI, D.A.; SUGUISAWA, L.; DE OLIVEIRA, H. N.; SILVEIRA, A. C.; LOPES, C. R. Growth and carcass traits associated with GH1/Alu I and POU1F1/Hinf I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. **Genetics and Molecular Biology**, 29, 1, 56-61, 2006.

DAFGARD, E.; BAJAJ, M.; HONEGGER, A. M.; PITTS, J.; WOOD, S.; BLUNDELL, T. The conformation of insulin-like growth factors: relationships with insulins. **Journal Cell Science Supply**, v. 3, p. 53–64. 1985.

DE LUCA, L. M. Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis, and neoplasia. **The FASEB Journal**, v. 5, p. 2924-2933. 1991.

DRANSFIELD, E. Modelling post-mortem tenderization. V. Inactivation of calpains. **Meat Science**. 37:391–409, 1994.

EVANS, R. M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. **Science** 240: 889–895. 1988.

FARIA, C. U. de; MAGNABOSCO, C. U.; ALBUQUERQUE, L. G. de; REYES, A. de los; BEZERRA, L. A. F.; LOBO, R. B. Análise genética de escores de avaliação visual de bovinos com modelos bayesianos de limiar e linear. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.835-841, 2008.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. D. Production systems – na example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ed. Brasília: Embrapa-Cernagen. 1998.

FLISIKOWSKI, K.; MAJ, A.; ZWIERZCHOESKI, L.; ADAMOWICZ, T.; SWITONSKI, M.; HIENDLEDER, S.; PAREEK, C. Nucleotide sequence and variation of IGF2 gene exon 6 in *Bos Taurus* and *Bos Indicus* cattle. **Animal Biotechnology**, v. 16, 203-18. 2005.

FLORINI, J. R.; MAGRI, K. A.; EWTON, D. Z.; JAMES, P. L.; GRINDSTAFF, K. & ROTWEIN, P. S. 'Spontaneous' differentiation of skeletal myoblasts is dependent upon autocrine secretion of insulin-like growth factor-II. **The Journal of Biological Chemistry** 266, 15917– 23. 1991.

FORTES, M. R. S.; CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; SILVEIRA, A. C.; ASSUMPÇÃO, M. E. O. D.; VISINTIN, J. A.; OLIVEIRA, H. N. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. **Genet. Mol. Biol.** 32, 75–82. 2009.

GAO, Y.; ZHANG, R.; HU, X. X.; LI, N. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. **Meat Science**, v. 77, p. 36–45. 2007.

GUIMARÃES, P. E. M.; COSTA, M. C. R. SNPs: Sutis diferenças de um código. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v. 26, p. 24-27, 2002.

HADLICH, J. C. Características do crescimento animal, do tecido muscular esquelético e da maciez da carne de bovinos nelore e mestiços no modelo biológico. 2007. 87p. Tese (Doutorado/Nutrição e Produção Animal), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

HADLICH, J. C. Metodologias de análise de maciez como parâmetro de qualidade de carne de bovinos de diferentes grupos genéticos e idades. 2004. 94p. Dissertação (Mestrado/Nutrição e Produção Animal), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

HALEY, C.S. Livestock QTLs - bringing home the bacon? **Trends in Genetics**, v.11, n. 12, p.488-492, 1995.

HELGESON, S.C.; SCHMUTZ, S. M. Genetic variation in the pro-melanin-concentrating hormone gene affects carcass traits in *Bos taurus* cattle. International Society for Animal Genetics, Animal Genetics, n. 39, p.310-315. 2008.

HENDERSON, C.R. Use of an average numerator relationship matrix for multiple sires joining. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 1614-1621, 1988.

HIROSE, T.; SMITH, R. J.; JETTEN, A. M. ROR-gamma, the 3rd member of ROR-RZR orphan receptor subfamily that is highly expressed in skeletal-muscle. Biochem. Biophys. Res. Commun. 205: 1976–1983. 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária. p.24, Dez. 2010 Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201003_publ_completa.pdf> .Acesso em: 22 Dez. 2011

KELLER, H.; & WAHLI, W. Peroxiome proliferator-activated receptors. **Trends Endocrinol. Metab.** 4, 291-296. 1993.

KILLINGER K. M.; CALKINS, C. R.; UMBERGER, W. J.; FEUZ, D. M.; ESKRIDGE, K. M. Consumer visual preference and value for beef steaks differing in marbling level and color. **Journal Animal Science**. 82:3288-3293. 2004.

KOOHMARAIE, M.; ET AL. Understanding and Managing Variation in Meat Tenderness. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Santa Maria. Anais... Santa Maria: UFSM, 2003. 1 CDROM.

MACEDO, L. O. B. Modernização da pecuária de corte bovina no Brasil e a importância do crédito rural. **Informações Econômicas**, SP, v.36, n.7, jul. 2006.

MOODY, D.E. ET AL. Characterization of DNA polymorphisms in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line 1 Herefords. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1784-1793, 1996.

NAHON, J-L.; PRESSE, F.; BITTENCOURT, J. C.; SAWCHENKO, P. E. & VALE, W. The rat melanin-concentrating hormone messenger ribonucleic acid encodes multiple putative neuropeptides coexpressed in the dorsolateral hypothalamus. *Endocrinology* 125, 2056-65. 1989.

NAKAYA, H. L.; AMARAL, P. P.; LOURO, R.; LOPES, A.; FACHEL, A. A.; MOREIRA, Y. B.; EL-JUNDI, T. A.; SILVA, A. M.; REIS, E. M.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S. Comment reviews reports deposited research refereed research interactions information Genome mapping and expression analyses of human intronic noncoding RNAs reveal tissue-specific patterns and enrichment in genes related to regulation of transcription. **Genome Biology** 8, article R43. 2007.

NEDBAL, S.; ZINK, N.; LAHM, H.; HOEFLICH, A.; WOLF, E. Functional dissection of the insulin-like growth factor (IGF) system-prospects for animal breeding. **Arch. Tierz**, 223-230. 2000.

O'BRIEN, S. J.; GRAVES, J. A. M. Report of the comparative gene mapping committee. **Cytogenetics and Cell genetics**, v. 58, p. 1124-1151. 1991.

OKSBJERG, N.; GONDRET, F. & VESTERGAARD, M. Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system. **Domestic Animal Endocrinology** 27, 219-40. 2004.

OLIVEIRA, H. N.; CURI, R. A. Seleção Assistida por Marcadores Moleculares. Disponível em: <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/palestras/4198-Seleo-Assistida-por-Marcadores-Moleculares.html>. Acesso em: 18 de agosto de 2011.

PAGE, B. T.; ET AL. Association of markers in the bovine CaPn1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. **Journal of animal science**, v.8, p.3474-81, 2004.

PISSIOS, P.; BRADLEY, R. L.; MARATOS-FLIER, E. Expanding the scales: the multiple roles of MCH in regulating energy balance and other biological functions. **Endocrine Reviews**, p. 606–620. 2006.

QUASS, R. L.; POLLACK, E. J. Mixed model methodology for farm and ranch beef cattle testing programs. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 1277-1287, 1980.

ROCHA, J. L.; SANDERS, J. O.; TAYLOR, J. F. Genetic markers to manipulate QTL: The additive illusion. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 72. Minneapolis, 1994. Proceedings... *Journal of Animal Science*, v. 72, p. 250, 1994.

RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; SOUTHEY, B. R.; HEYEN, D. W.; LEWIN, H. A. Detection of quantitative trait loci influencing dairy traits using a model for longitudinal data. **J Dairy Sci.** 85:2681-2691. 2002.

SANTOS, R. Nelore: a vitória brasileira. 1ed. Agropecuária Tropical: Uberaba, 392p, 1995.

SAVELL, J.; SHACKELFORD, S. D. Significance of tenderness to the meat industry. **Proceedings Rec. Meat Conference**, v. 45, p. 43-46, 1992.

SCHMUTZ, S. M.; MOKER, J. S.; GALLAGHER, D. S. Jr.; KAPPES, S. M.; WOMACK, J. E. In situ hybridization mapping of LDHA and IGF2 to cattle chromosome 29. **Mammalian Genome** 7, 473. 1996.

SCHWERIN, M.; BROCKMANN, G.; VANSELOW, J.; SEYFERT, H. M. Perspectives of molecular genome analysis in livestock improvement an overview. *Animal Research and Development*, v. 42, p. 15-26, 1995.

STONE, R. T.; GROSSE, W. M.; CASAS, E.; SMITH, T. P. L.; KELLE, J. W.; BENNETT, G. L. Use of bovine EST data and human genomic sequences to map 100 gene-specific bovine markers. **Mammalian Genome**. 13, 211-5. 2002.

TAIT, J. G.; WILSON, D. E.; ROUSE, G. H. Prediction of retail product and trimmable fat yields from the four primal cuts in beef cattle using ultrasound or carcass data. **Journal Animal Science**, 83:1353–1360. 2005.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v.34, p. 275–305, 2002.

WOMACK, J.E. The goals and status of the bovine gene map. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p.1199- 1203, 1993.

CAPITULO 2

POLIMORFISMOS DOS GENES *IGF2*, *PMCH* E *RORC* EM BOVINOS NELORE E CRUZADOS: VARIABILIDADE E RELAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos estimar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos *IGF2/Mboll*, DQ499531.1:g.134A> e DQ667048.1:g.3290G>T em bovinos de corte de diferentes grupos genéticos (Nelores - *Bos indicus* e cruzados - Nelore x *Bos taurus*) e avaliar a ocorrência de associações entre esses polimorfismos e características relacionadas à composição da carcaça e à qualidade de carne em animais abatidos em idade jovem. Foram utilizados dados de qualidade de carne e carcaça de 499 animais, sendo 313 da raça Nelore e 186 provenientes de seus cruzamentos com diversas raças taurinas. Para o polimorfismo *IGF2/Mboll* encontrou-se frequências para o alelo G de 0,231 no Nelore e de 0,631 nos cruzados. Para o polimorfismo DQ499531.1:g.134A>T as frequências alélicas de A foram de 0,850 no Nelore e de 0,905 nos cruzados. Para o polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T as frequências alélicas de G foram 0,797 e 0,460 no Nelore e nos cruzados, respectivamente. Com relação aos estudos de associação, os resultados obtidos não mostraram a ocorrência de relações significativas ($p < 0,05$) entre os polimorfismos de DNA genotipados e as características avaliadas (área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, força de cisalhamento, lipídeos totais e índice de fragmentação miofibrilar).

Palavras-chaves: bovinos de corte, *Bos indicus*, genes candidatos, qualidade da carne

INTRODUÇÃO

Os princípios da genética quantitativa são aplicados dentro do melhoramento genético para características produtivas e reprodutivas, onde os indivíduos de uma dada população passam por uma avaliação e seleção de acordo com as suas medidas fenotípicas e de seus parentes.

Nos últimos 30 anos diversas fazendas de produtores brasileiros de gado de corte obtiveram resultados notáveis no melhoramento de características de interesse zootécnico. Entretanto, a evolução da pecuária de corte no Brasil e a necessidade de consolidar e conquistar novos mercados vem exigindo aceleração da velocidade de mudanças nos rebanhos que são submetidos à seleção. Algumas características, como qualidade da carne, a resistência a doenças e fertilidade são as características que ganharam importância dentro do cenário da seleção genética.

As técnicas de biologia molecular que são aplicadas ao melhoramento genético são consideradas uma boa alternativa para o melhoramento de características de interesse comercial. Atualmente, vários estudos têm sido realizados em relação ao estudo de diversos polimorfismos de genes candidatos posicionais ou funcionais (identificados com base em estudos de fisiologia, expressão gênica diferencial e varredura do genoma em busca de QTL) que tem como objetivo a seleção assistida por marcadores. Os genes *IGF2* (*fator semelhante a insulina 2*), *PMCH* (*Pro-hormônio concentrador de melanina*) e *RORC* (*receptor órfão para retinóide do subtipo C*) se apresentam, em função de pesquisas recentes, como candidatos para características de interesse em animais de produção (FLISIKOWSKI ET. AL., 2005; HELGESON & SCHMUTZ, 2008; BARENDSE ET. AL., 2006)

Na quase totalidade, os estudos de associação entre esses polimorfismos e características desejáveis pelo mercado têm início em populações bovinas de raças *Bos taurus*. Tal situação se deve ao fato da maior parte da carne produzida no mundo ser proveniente de raças dessa subespécie (CASAS ET. AL., 2005).

Entretanto, polimorfismos que segregam e se encontram associados a características de interesse econômico em animais *Bos taurus*, podem não segregar em animais *Bos indicus* impossibilitando os estudos nas raças dessa subespécie (OLIVEIRA & CURI, 2008). Além disso, resultados favoráveis de associação entre marcadores moleculares e características de interesse obtidas para populações de animais *Bos taurus* não são imediatamente aplicáveis às populações de *Bos indicus*, uma vez que efeitos de substituição de alelos de um polimorfismo são parâmetros intrínsecos de cada população ou raça em determinado ambiente (CASAS ET AL., 2005). Assim sendo, antes de transpor marcadores das populações em que foram identificados para a comercialização, é fundamental a corroboração dos seus efeitos sobre as características de interesse em diferentes raças e ambientes em processo conhecido como validação (OLIVEIRA & CURI, 2008).

Isto posto e considerando a falta de informações em relação ao potencial de utilização de marcadores moleculares relacionados às características de interesse em animais de raças zebuínas, este trabalho teve como objetivo estimar as frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos *IGF2/Mboll* do gene *IGF2*, DQ499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* e DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC* em bovinos de corte de diferentes grupos genéticos (Nelores – *Bos indicus* e cruzados – Nelore x *Bos taurus*) e avaliar a ocorrência de associações entre esses polimorfismos e características relacionadas à composição da carcaça e à qualidade de carne em animais abatidos em idade jovem.

MATERIAL E METODOS

Animais

Foram utilizados dados de qualidade de carne e carcaça de 499 animais da raça Nelore e seus cruzamentos com diversas raças taurinas.

Deste total, 199 animais machos Nelore, terminados em confinamento com idade inferior a dois anos, cujas amostras foram colhidas como parte do projeto “Estudo genético quantitativo da qualidade da carcaça e da carne em bovinos da raça Nelore” (Proc. CNPq 480369/2009-7), foram provenientes de fazendas que integram o programa de melhoramento genético da Conexão Delta G. O programa começou em 1993 para a raça Nelore, contando hoje com aproximadamente 200.000 cabeças e 110.000 vacas com escrituração zootécnica, em cinco estados. Nestas fazendas, os animais nascidos em determinado período (inferior a três meses) são agrupados e submetidos ao mesmo manejo até a desmama. Após a desmama são formados novos grupos que persistem sob as mesmas condições de manejo até o sobreano, quando os animais são destinados à reprodução ou seguem para o confinamento até o abate. O banco de dados com as informações constantes dos arquivos zootécnicos da Conexão delta G foi disponibilizado, permitindo a formação dos grupos de contemporâneos dos animais de acordo com o ano de nascimento, fazenda e grupos de manejo desde o nascimento até o abate.

Foram também utilizados 256 animais, sendo 114 animais da raça Nelore, 67 cruzados Angus x Nelore ($1/2$ *Bos taurus* + $1/2$ *Bos indicus*), 41 da raça Canchim ($5/8$ Charoles + $3/8$ *Bos indicus*), 19 tricross Brangus ($9/16$ *Bos taurus* + $7/16$ *Bos indicus*) e 15 tricross Pardo-Suíço ($3/4$ *Bos taurus* + $1/4$ *Bos indicus*), originários de rebanhos comerciais de sete fazendas do estado de São Paulo, e terminados nos anos de 2003, 2005, 2006 e 2007 no setor experimental de confinamento do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Botucatu/SP – Brasil, no sistema de produção Superprecoce. Neste sistema de produção, os animais provenientes de lotes homogêneos de cada fazenda entram em confinamento imediatamente após a desmama, onde permanecem até que o grupo tenha atingido peso e terminação adequados para o abate. Adicionalmente, foram utilizados 44 bovinos provenientes do cruzamento entre reprodutores Rubia Galega (*Bos taurus*) e matrizes Nelore (Rubia Galega x Nelore: $1/2$ *Bos taurus* + $1/2$ *Bos indicus*), os

quais foram produzidas em sistema semi-intensivo de criação conduzido no ano de 2006. Deste total de 300 animais, 32 eram fêmeas e 268 eram machos inteiros, sendo abatidos com idades entre 15 e 19 meses.

Coleta de amostras e medidas de características de carcaça e carne

Após o abate dos animais, realizado em frigoríficos comerciais de acordo com as normas estipuladas para o abate humanitário de bovinos, as carcaças foram identificadas e resfriadas por 24 horas. Após o resfriamento foram colhidas duas amostras do músculo *Longissimus dorsi* com osso e espessura aproximada de 2,54 cm entre a 11 a 13ª costela em direção cranial da meia-carcaça esquerda de cada animal. As amostras foram embaladas a vácuo e congeladas.

A amostra colhida entre a 12 a 13ª costelas foi utilizada para a medição da Área de Olho de Lombo (AOL), Espessura de Gordura Subcutânea (EGS) e a realização do ensaio de Força de Cisalhamento (FC), utilizando-se uma sonda Warner Bratzler. A segunda amostra coletada entre a 11ª e 12ª costelas foi utilizada para a realização das análises químicas da carne como Lipídeos totais (LT), Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI) e extração de DNA genômico. A AOL foi mensurada pelo método do quadrante de pontos (USDA - Quality and Yield Grade, 1989), bem como a EGS, medida em paquímetro e expressa em (mm). Os demais parâmetros fenotípicos, LT, MFI e FC, foram determinados em Laboratório conforme as metodologias descritas por BLIGH & DYER (1959), CULLER ET AL. (1978) e WHEELER ET AL. (1995), respectivamente e realizadas no Laboratório de Bioquímica da Carne do Departamento de Química e Bioquímica - IB - UNESP, Botucatu, SP. As médias estimadas de cada grupo genético para as características de interesse estudadas no presente trabalho encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1. Número de animais em cada grupo genético (N) e médias observadas com desvio-padrão para as características área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), força de cisalhamento (FC), lipídeos totais (LT) e índice de fragmentação miofibrilar (IFM).

Grupo Genético	N	Características				
		AOL (cm ²)	EGS (mm)	FC (Kg)	LT (%)	IFM
Nelore	313	67 ± 2,59	6,3 ± 0,82	4,20 ± 0,30	1,16 ± 0,13	59,66 ± 4,49
Angus x Nelore	67	80 ± 2,72	5,5 ± 0,50	3,03 ± 0,18	1,00 ± 0,20	85,99 ± 6,26
Rubia Galega x Nelore	44	71 ± 0,95	2,4 ± 0,77	3,70 ± 0,10	1,06 ± 0,17	70,04 ± 0,25
Canchim	41	72 ± 0,54	3,7 ± 0,24	3,68 ± 0,09	2,07 ± 0,24	69,64 ± 0,42
Tricross Brangus	19	75 ± 0,68	4,0 ± 0,12	2,95 ± 0,21	1,99 ± 0,21	76,24 ± 2,28
Tricross Pardo-Suiço	15	75 ± 0,68	3,8 ± 0,20	3,21 ± 0,10	1,59 ± 0,05	62,41 ± 3,37

Genotipagem dos polimorfismos

A genotipagem dos polimorfismos foi realizada pela técnica de PCR-RFLP. Os *primers* necessários à amplificação das regiões de interesse, as temperaturas de anelamento dos mesmos, as enzimas de restrição utilizadas na detecção dos polimorfismos e as publicações de referência estão apresentados na Tabela 2.

Para a identificação dos alelos G e T do polimorfismo *IGF2/MbolI* do gene *IGF2*, um fragmento de 407 pares de bases (pb), localizado no exon 6, foi amplificado e digerido com a enzima de restrição *MbolI* de acordo com FLISIKOWSKI ET AL. (2005). Os alelos A e T do SNP DQ_499531.1:g.134A>T, localizado no exon 1 do gene *PMCH*, foram identificados pela amplificação de um fragmento de 424 pb e digestão com a enzima *TaqI*, como em HELGESON & SCHMUTZ (2008). Na determinação dos alelos G e T do SNP DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC*, um fragmento de 201 pb, localizado no intron 6, foi amplificado e digerido com a enzima *MnII* (KANEDA ET AL., 2011).

Após a digestão dos produtos amplificados, os fragmentos de DNA foram separados em gel de agarose a 3% para *IGF2* e *RORC*, e a 3,5% para o *PMCH*, em um sistema de eletroforese horizontal. Um padrão de peso molecular de 100pb foi utilizado em cada gel para permitir o cálculo do tamanho dos fragmentos amplificados e digeridos. Esses fragmentos de DNA foram visualizados no gel de agarose por meio de coloração com brometo de etídio e exposição à luz ultravioleta. A documentação dos géis, para posterior análise dos dados, foi realizada utilizando-se um sistema digital de foto documentação. Os genótipos dos indivíduos foram determinados, para cada polimorfismo, por meio da análise do tamanho dos fragmentos em pb.

Tabela 2. Genes candidatos, sequência dos *primers forward* (F) e *reverse* (R) utilizados na amplificação das regiões gênicas de interesse, temperatura de anelamento (TA) dos primers, enzimas de restrição utilizadas na detecção dos polimorfismos e referência.

Gene Candidato	Sequência dos <i>primers</i> 5'→3'	TA (°C)	Enzima	Referência
<i>IGF2</i>	F – CCG TCC CAA AGT GGA TTA AT R – ACC TTC CTG CTG CGT ATT G	56	<i>MbolI</i>	FLISIKOWSKI ET AL., 2005
<i>PMCH</i>	F – GAT GAT CAT TTC TAA AAT GAC G R – GTC GCA TTA TCA CTT ACC TTT G	54	<i>TalI</i>	HELGESON & SCHMUTZ, 2008
<i>RORC</i>	F - GAC CTC AGC ATA CTC TCC TCC T R - CTA CGA ACT CCT CTG TGC TCA CT	58	<i>MnLI</i>	KANEDA ET AL., 2011

Análise genética e estatística dos dados

A partir dos genótipos identificados nos géis foram calculadas, de acordo com WEIR (1996), as frequências alélicas e genotípicas para cada um dos polimorfismos.

Nos estudos de associação, as características de interesse foram analisadas utilizando-se o procedimento do Modelo Linear Geral (GLM) do programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2004). A correção dos testes de hipóteses para comparações múltiplas foi feita pelo método de Bonferroni. O modelo linear para ajuste das variáveis quantitativas incluiu além do efeito de genótipo, o efeito de grupo contemporâneo como segue: $Y_{ijk} = \mu + G_i + GC_j + e_{ijk}$, onde Y_{ijk} = característica de interesse, μ = média geral, G_i = efeito fixo do i ésimo genótipo ($i = 1, \dots, 3$), GC_j = efeito fixo do j ésimo grupo contemporâneo ($j = 1, \dots, 13$), e e_{ijk} = erro aleatório. Os grupos de contemporâneos foram formados de animais de mesmo grupo genético, sexo, idade de abate, ano de confinamento e fazenda de origem. O efeito de touro não foi incluído no modelo linear uma vez que o número de animais genotipados filhos do mesmo touro era muito pequeno. Dessa forma, em razão do grande número de pais, a possibilidade de confundimento entre efeito de genótipo e efeito de touro sobre as características avaliadas foi diluída.

RESULTADOS

Frequências alélicas e genotípicas

Em relação ao polimorfismo *IGF2/MbolI* do gene *IGF2*, foram detectados, na amostra de animais estudada, os alelos G e T. Indivíduos de genótipo GG foram caracterizados pela presença de dois fragmentos com 330 e 77 pb, o genótipo heterozigoto GT foi caracterizado pela presença de quatro fragmentos de 330, 285, 77 e 45 pb, e o genótipo TT foi caracterizado pela presença de três

fragmentos de 285 , 77 e 45 pb, sendo que o fragmento de 45 pb não pode ser visualizado nas condições de eletroforese realizadas. Na Figura 1, encontra-se apresentado o padrão de bandas obtido para os genótipos GT e TT.

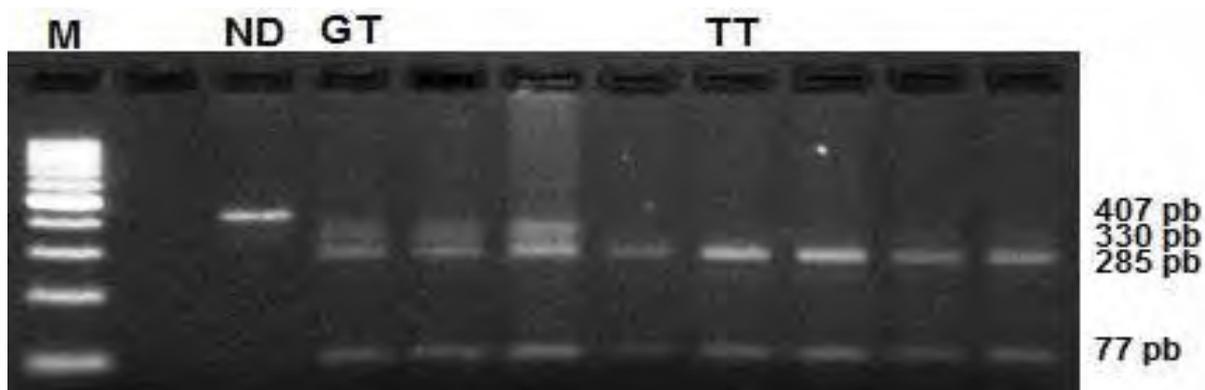


Figura 1 - Padrão de bandas obtido na análise por PCR-RFLP e eletroforese em gel de agarose a 3% para o polimorfismo *IGF2/MboII*. M indica o padrão molecular de 100 pb, ND DNA amplificado não digerido pela enzima *MboII* (407 pb) e os genótipos GT e TT decorrentes das digestões dos produtos amplificados pela enzima *MboII*. Os números ao lado direito da figura indicam o tamanho dos fragmentos de DNA em pares de bases.

O polimorfismo *IGF2/MboII* apresentou seus dois alelos em todos os grupos genéticos analisados. Nos grupos Nelore e Angus x Nelore foi encontrada frequência maior do alelo T, o contrário foi observado nos grupos Rubia Galega x Nelore, Canchim, Tricross Brangus e Tricross Pardo Suíço onde a frequência do alelo G foi superior. Os três genótipos foram observados nos diferentes grupos genéticos, com exceção feita ao grupo Rubia Galega x Nelore e Tricross Pardo Suíço que não apresentou a ocorrência de indivíduos do genótipo TT como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo *IGF2/MbolI* nos diferentes grupos genéticos e na amostra total de animais. O número de animais de cada grupo genético encontra-se indicado entre parênteses.

Grupo genético	Frequência alélica		Frequência genotípica		
	G	T	GG	GT	TT
Nelore (286)	0,231	0,769	0,087	0,287	0,626
Angus x Nelore (50)	0,340	0,660	0,100	0,480	0,420
Rubia Galega x Nelore (33)	0,712	0,288	0,424	0,576	0,000
Canchim (24)	0,604	0,396	0,542	0,125	0,333
Tricross Brangus (12)	0,875	0,125	0,833	0,083	0,083
Tricross Pardo Suiço (4)	0,625	0,375	0,250	0,750	0,000
Total (409)	0,565	0,435	0,373	0,383	0,244

Para o polimorfismo DQ_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH*, foram detectados na amostra de animais estudada, os alelos A e T. O genótipo AA foi caracterizado pela presença de dois fragmentos com 278 e 146 pb, o genótipo heterozigoto AT foi caracterizado pela presença de quatro fragmentos de 278, 257, 146 e 21 pb, e o genótipo TT foi caracterizado pela presença de três fragmentos de 257, 146 e 21 pb, sendo que o fragmento de 21 pb não pode ser visualizado nas condições de eletroforese realizadas. Na Figura 2, encontra-se apresentado o padrão de bandas obtido para os genótipos AA e AT.

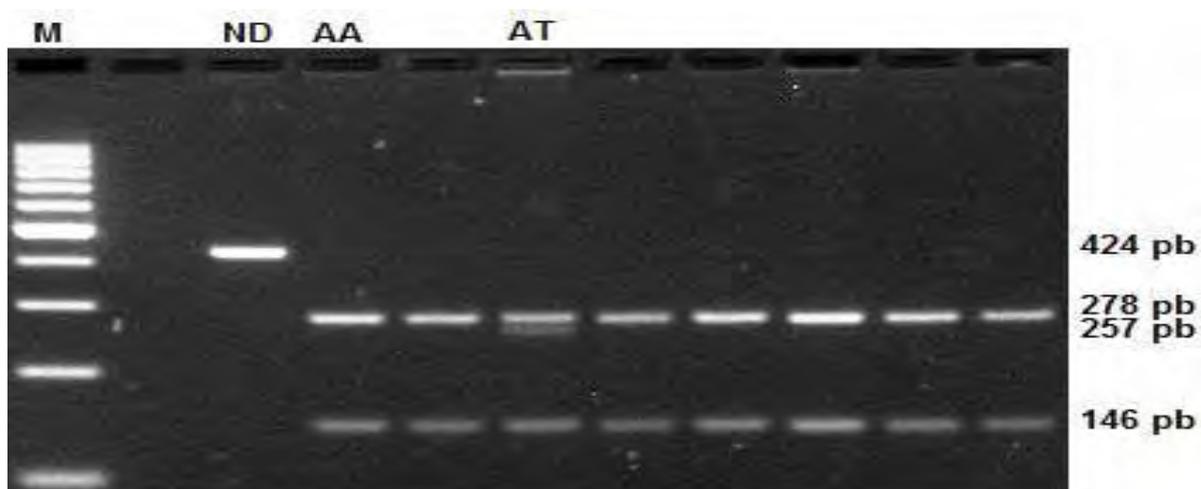


Figura 2 – Padrão de bandas obtido na análise por PCR-RFLP e eletroforese em gel de agarose 3,5% para o polimorfismo DQ_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH*. M indica o padrão molecular de 100 pb, ND DNA amplificado não digerido pela enzima *Tail* (424 pb) e os genótipos AA e AT decorrentes das digestões dos produtos amplificados pela enzima *Tail*. Os números ao lado direito da figura indicam o tamanho dos fragmentos de DNA em pares de bases.

O alelo A apresentou-se muito próximo de fixado no grupo Angus x Nelore. Nos demais grupos foram observados ambos os alelos, sendo a frequência do alelo A maior que a do T. Em relação às frequências genotípicas observou-se 0,812 para AA, 0,168 para AT e 0,020 para TT. Não foi observada a formação de genótipos TT na maioria dos grupos genéticos estudados, com exceção do grupo Nelore. O genótipo AA prevaleceu em relação ao AT e TT como mostra a Tabela 4.

Tabela 4. Frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo DQ_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* nos diferentes grupos genéticos e na amostra total de animais. O número de animais de cada grupo genético encontra-se indicado entre parênteses.

Grupo genético	Frequência alélica		Frequência genotípica		
	A	T	AA	AT	TT
Nelore (313)	0,850	0,150	0,821	0,058	0,121
Angus x Nelore (67)	0,985	0,015	0,970	0,030	0,000
Rubia Galega x Nelore (44)	0,830	0,170	0,659	0,341	0,000
Canchim (41)	0,915	0,085	0,829	0,171	0,000
Tricross Brangus (19)	0,895	0,105	0,789	0,211	0,000
Tricross Pardo Suiço (15)	0,900	0,100	0,800	0,200	0,000
Total (499)	0,896	0,104	0,812	0,168	0,020

Com relação ao polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC*, foram detectados os alelos G e T. O genótipo GG foi caracterizado pela presença de seis fragmentos com 105, 62, 18, 8, 5 e 3 pb, o genótipo heterozigoto GT foi caracterizado pela presença de sete fragmentos 167, 105, 62, 18, 8, 5 e 3 pb, e o genótipo TT foi caracterizado pela presença de cinco fragmentos de 167, 18, 8, 5 e 3 pb, sendo que os fragmentos de 18, 8, 5 e 3 pb não puderam ser visualizados nas condições de eletroforese realizadas. Na Figura 3, encontra-se apresentado o padrão de bandas obtido para os genótipos GG e GT.

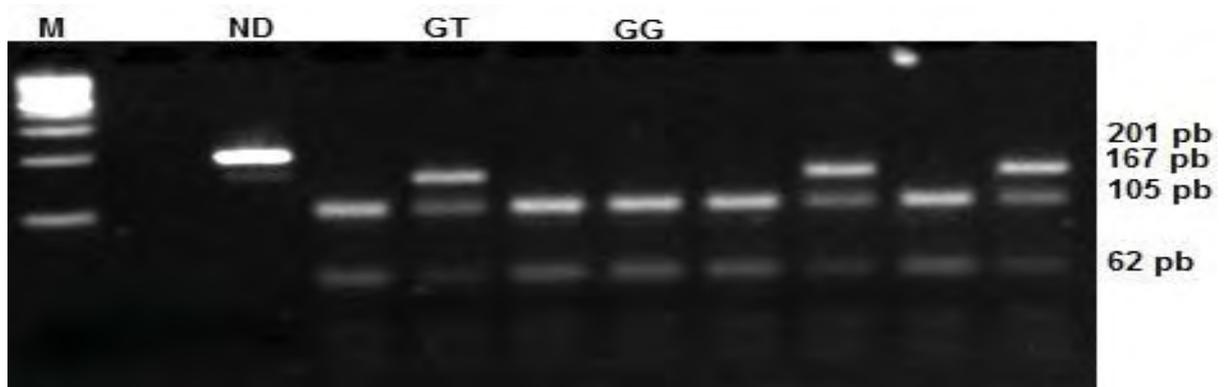


Figura 3 - Padrão de bandas obtido na análise por PCR-RFLP e eletroforese em gel de agarose 3% para o polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC*. M indica o padrão molecular de 100 pb, ND DNA amplificado não digerido pela enzima *MnLI* (201 pb) e os genótipos GG e GT decorrentes das digestões dos produtos amplificados pela enzima *MnLI*. Os números ao lado direito da figura indicam o tamanho dos fragmentos de DNA em pares de base.

Pode se observar uma frequência maior do alelo G nos grupos Nelore e Angus x Nelore. Nos grupos Rubia Galega x Nelore, Canchim e Tricross Brangus não houve diferença entre os alelos e para o grupo Tricross Pardo Suíço ocorreu uma maior frequência do alelo T. Entre os grupos, os animais Nelores e Angus x Nelore apresentaram uma menor frequência do alelo T em relação aos demais. Os três genótipos foram observados nos diferentes grupos genéticos, exceção feita ao Rubia Galega x Nelore e Tricross Pardo Suíço que não apresentaram a ocorrência de indivíduos do genótipo GG como mostra a Tabela 5.

Tabela 5. Frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC* nos diferentes grupos genéticos e na amostra total de animais. O número de animais de cada grupo genético encontra-se indicado entre parênteses.

Grupo genético	Frequência alélica		Frequência genotípica		
	G	T	GG	GT	TT
Nelore (313)	0,797	0,203	0,639	0,316	0,045
Angus x Nelore (67)	0,627	0,373	0,299	0,657	0,045
Rubia Galega x Nelore (44)	0,409	0,591	0,000	0,818	0,182
Canchim (41)	0,476	0,524	0,171	0,610	0,220
Tricross Brangus (19)	0,421	0,579	0,105	0,632	0,263
Tricross Pardo Suiço (15)	0,367	0,633	0,000	0,733	0,267
Total (499)	0,516	0,484	0,202	0,628	0,170

Analises de associação

As análises de associação entre o polimorfismo *IGF2/Mboll* e as características mensuradas foram realizadas por meio da regressão do número de alelos T em cada animal. Os resultados obtidos não mostraram a ocorrência de associações significativas ($p > 0,05$) entre o polimorfismo e as características relacionadas à composição da carcaça e à qualidade de carne (AOL, EGS, FC, MFI e LT). Embora para EGS tenha sido obtido um valor nominal de p de igual a 0,0082, como mostra a Tabela 6, após a aplicação da correção de Bonferroni para manutenção da taxa de erro nos testes estatísticos, o valor foi considerado não significativo.

Da mesma forma, as análises de associação entre o polimorfismo DQ_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* e os fenótipos avaliados, na forma de regressão das medidas fenotípicas de cada animal sobre o número de alelos T no seu genótipo, não evidenciaram associações significativas para as cinco características estudadas como mostra a Tabela 6. Novamente, nas análises de associação entre os genótipos do polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC* e as características de interesse, na forma de regressão das medidas fenotípicas de cada animal sobre o número de alelos T no seu genótipo, os resultados obtidos não mostraram associações significativas entre o polimorfismo e as características de carcaça e qualidade de carne como mostra a Tabela 6.

Tabela 6. Efeito de substituição de alelos G para T do polimorfismo *IGF2/Mboll*, A para T do polimorfismo DQ_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH*, e G para T do polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC* (α) sobre área do olho lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), lipídeos totais (LT), força de cisalhamento (FC) e índice de fragmentação miofibrilar (IFM), erro padrão (SE), valor de p (p) e valor de p corrigido pelo método de Bonferroni (p^2).

Polimorfismo		AOL (cm ²)	EGS (mm)	LT (%)	FC (Kg)	IFM
<i>IGF2/Mboll</i>	α	-0,5164	0,5219	-0,0083	-0,0267	-2,5197
	SE	0,6724	0,1965	0,0553	0,0701	1,2352
	p	0,4430	0,0082	0,8803	0,7039	0,0421
	p^2	1,000	0,123	1,000	1,000	0,6315
<i>PMCH</i> (DQ_499531.1:g.134A>T)	α	-0,0836	-0,2083	0,0580	-0,1132	0,9873
	SE	0,6697	0,1881	0,0619	0,0684	1,2737
	p	0,9007	0,2687	0,3493	0,0984	0,4386
	p^2	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>RORC</i> (DQ667048.1:g.3290G>T)	α	-0,4544	0,1715	-0,0702	-0,1502	2,3162
	SE	0,6937	0,1950	0,0641	0,0707	1,3146
	p	0,5128	0,3796	0,2740	0,0343	0,0788
	p^2	1,000	1,000	1,000	0,5145	1,000

DISCUSSÃO

Polimorfismo do gene *IGF2*

O polimorfismo *IGF2/MbolI* do gene *IGF2*, identificado no cromossomo bovino 29, resulta da substituição do nucleotídeo G pelo nucleotídeo T no exon 6 (FLISIKOWSKI ET AL., 2005). Esta substituição cria uma nova região para o corte da nuclease de restrição *MbolI*. Além deste, outros polimorfismos foram descritos no gene *IGF2* bovino e alguns trabalhos evidenciaram uma relação estreita entre essas variações e características da carcaça e da carne (SCHMUTZ & GOODALL, 2005; ZWIERZCHOWSKI ET AL., 2005; SHERMAN ET AL., 2008).

As distribuições alélicas obtidas para o polimorfismo do *IGF2/MbolI* no presente trabalho foram 0,565 para o alelo G e 0,435 para o T. Estes resultados divergem dos apresentados por FLISIKOWSKI ET AL. (2005) que, trabalhou com bovinos das raças Friesian, Charolais, Limousine, Aberdeen Angus, Hereford, Simmental, Pardo-Suiço (todas *Bos taurus*) e uma raça composta por animais *Bos indicus* provenientes do Sri Lanka. Para os animais *Bos indicus*, FLISIKOWSKI ET AL. (2005) encontraram uma menor frequência do alelo G (0,280) em comparação ao T (0,720). Se compararmos os resultados encontrados por FLISIKOWSKI (2005) com os resultados deste trabalho, levando em conta somente os animais do grupo nelore (*Bos indicus*), as frequências encontradas se assemelham. FLISIKOWSKI ET AL. (2005) relatou que para animais *Bos taurus* foi encontrado somente o alelo G, isto pode possivelmente justificar os resultados encontrados por este trabalho, em que nos grupos dos cruzados a frequência do alelo G foi maior.

Embora alguns trabalhos anteriores tenham indicado efeito do polimorfismo *IGF2/MbolI* em características de qualidade de carne (FLISIKOWSKI ET AL., 2005), os resultados obtidos neste trabalho não confirmaram esses achados. Segundo POMP ET AL. (1994), os diferentes resultados apresentados podem ser explicadas por diferenças no desequilíbrio de ligação entre marcadores e QTL em

diferentes populações estudadas ou por interações epistáticas diferentes entre as bases genéticas dessas populações e QTL. Além disso, essas contradições podem ser decorrentes de fatores epigenéticos ocorridos em função de diferentes condições experimentais.

Para os outros SNPs identificados no gene *IGF2* foram encontradas correlações entre os polimorfismos e as características da carne, como descrito por GOODALL & SCHMUTZ (2003), onde animais com o alelo C para o SNP AY237543.1:c.-292C>T apresentaram maior área de olho de lombo e menor peso de nascimento. Isso mostra que apesar do polimorfismo deste trabalho não ter apresentado correlação com as características estudadas, o gene *IGF2* não pode ser descartado como candidato para afetar características de carcaça e de qualidade de carne.

Polimorfismo do gene *PMCH*

O polimorfismo DQ499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* que está localizado no cromossomo 5 bovino, foi identificado por HELGESON & SCHUMUTZ (2008) e resulta na substituição do nucleotídeo A pelo T na posição 134, relativa ao códon de iniciação da tradução.

As distribuições alélicas obtidas para o polimorfismo DQ499531.1:g.134A>T no presente trabalho foram 0,896 para o alelo A e 0,104 para o T. HELGESON & SCHUMUTZ (2008) encontraram em bovinos *Bos taurus* a frequência de 0,830 para o alelo A e 0,170 do alelo T nos animais Angus, 0,640 para o alelo A e 0,360 para o alelo T em animais Charolais, e 0,420 para o alelo A e 0,580 para o alelo T em animais Simmental. CARRUTHERS (2009) encontrou para duas populações de bovinos das raças Angus, sendo uma formada por dados de animais fora do Canadá (internacional) e outra por dados dos animais do Canadá, a frequência de 0,808 para o alelo A para o grupo internacional e de 0,860 para o grupo Canadense. Analisando as frequências alélicas do polimorfismo entre o grupo dos Nelores e a média do grupo formado pelos os animais cruzados não ocorreu

diferença entre as frequências, o que significa que o polimorfismo não é exclusivamente característico de *Bos taurus* ou *Bos indicus*.

Em teoria, o polimorfismo DQ499531.1:g.134A>T poderia afetar a espessura de gordura subcutânea em bovinos de corte, que é potencialmente mediada pela alteração da taxa de transcrição do gene *PMCH* e pela repressão da transcrição do gene *E4BP4*, sendo um possível mecanismo de ação que ocorre devido ao SNP (HELGESON & SCHMUTZ, 2008). HELGESON & SCHMUTZ (2008) mostraram que, na presença de glicocorticoides o produto do *E4BP4* liga-se ao elemento promotor do *PMCH* e inibe a transcrição do gene, isso ocorre quando o alelo T está presente, mas não quando da presença do alelo A. Isto levaria à regulação baixa de *PMCH* na presença do alelo T afetando a deposição de gordura subcutânea. Apesar de não significativos, os resultados encontrados neste trabalho, mostram que com a presença do alelo T ocorre à diminuição na espessura de gordura subcutânea (EGS). Devido à proximidade a outros genes mostrados por HELGESON & SCHMUTZ (2008), capazes de afetar os níveis de gordura em bovinos de corte, é possível que o SNP DQ499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* não seja diretamente responsável pelas diferenças observadas nos níveis de gordura subcutânea, mas que esteja em desequilíbrio de ligação com o gene causador.

Neste trabalho não foram encontrados resultados significativos para correlação entre o polimorfismo e as características de interesse. Entretanto, HELGESON & SCHMUTZ (2008) relatam que genótipos TT tendem a ter valores mais elevados de força de cisalhamento (FC) que animais do genótipo AA, o que também foi encontrado neste trabalho.

Polimorfismo do gene *RORC*

Em relação ao polimorfismo DQ667048.1:g.3290G>T do gene *RORC* identificado por BARENDSE ET AL. (2006), que resulta em uma substituição do nucleotídeo T pelo G, ambos os alelos foram observados na amostra de animais

estudados. As distribuições alélicas obtidas para o polimorfismo no presente trabalho foram 0,516 para o alelo G e 0,484 para o T. Os resultados relatados por BARENDSE ET AL. (2009) em bovinos das raças Angus e Shorthorn (*Bos taurus*) mostram a frequência de 0,433 para o alelo G e 0,567 para o alelo T, que são semelhantes quando comparados com os animais cruzados (*Bos indicus* x *Bos taurus*). Também foi relatado por SEVANE ET AL. (2011) em trabalho com bovinos da raça Pasiega (*Bos taurus*) a frequência de 0,300 para o alelo G e 0,700 para o alelo T. A tendência encontrada nestes estudos, de que animais *Bos taurus* tem maior frequência do alelo T, vem de encontro com os resultados encontrados neste trabalho, onde os grupos que tinham em sua composição animais *Bos taurus* (cruzados) tiveram em média maior frequência do alelo T em relação ao G.

O produto protéico do gene *RORC* participa do mecanismo responsável pela manutenção dos adipócitos e na habilidade de processar a glicose. Além disso, desempenha um papel importante na regulação de períodos posteriores da diferenciação dos adipócitos (AUSTIN ET AL. 1998). Dois tecidos que apresentam papel importante no desempenho metabólico do excesso de glicose são o fígado e o músculo esquelético (KAHN & ROSSETTI, 1998), tecidos que apresentam grande expressão do gene *RORC*. Apesar disso, neste trabalho não foram encontrados resultados significativos para correlação entre o polimorfismo e as características aferidas. Entretanto, SEVANE ET AL. (2011) encontrou resultados significativos do polimorfismo em bovinos da raça pasiega (*Bos taurus*), onde os genótipos com a presença do alelo T apresentam resultados significativos para o aumento da gordura de marmóreo.

Outros polimorfismos foram identificados por BARENDSE ET AL. (2006) no gene *RORC* e evidenciou uma relação estreita entre essas variações e características de carne com bovinos das raças Angus e Shorthorn (*Bos taurus*). Para o SNP *RORC* DQ667048.1:g.3984A>G mostrou uma associação significativa para marmoreio nas raças Angus e Shorthorn, os SNP's *RORC* DQ667048.1:g.2415T>C e DQ667048.1:g.2883C>T, também mostraram

associações com marmoreio na raça Shorthorn, mas não na raça Angus. Isso mostra que apesar do polimorfismo deste trabalho não ter apresentado correlação com as características estudadas, o gene RORC não pode ser descartado como candidato para afetar características de caracação e de qualidade de carne.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados acima pode-se concluir que:

Os alelos dos polimorfismos *IGF2/Mboll* do gene *IGF2* e DQ667048.1:g.3290G<T do gene *RORC* são diferentes entre as subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus*.

Embora a relação entre o polimorfismo *IGF2/Mboll* do gene *IGF2* e a espessura de gordura subcutanea (EGS) nos animais estudados não tenha sido significativa após correção para múltiplos testes, os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que mais pesquisas devem ser realizadas para verificar a influência desse polimorfismo sobre esta características de interesse em bovinos.

Os SNPs estudados dos genes *PMHC* e *RORC* parecem inadequados para uso na seleção assistida por marcadores em bovinos com composição genética semelhantes as utilizadas nesta pesquisa.

REFERENCIAS

AUSTIN, S.; MEDVEDEV, A.; YAN, Z. H.; ADACHI, H.; HIROSE, T.; ET AL., Induction of the nuclear orphan receptor ROR gamma during adipocyte differentiation of D1 and 3T3-L1 cells. **Cell Growth Differ.** v. 9, p. 267–276. 1998.

BARENDSE, W.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E. The effect of variation at the retinoic acid receptor-related orphan receptor C gene on intramuscular fat percent and marbling score in Australian cattle. **Jornal Animal Science**, 88:47-51. 2009.

BARENDSE, W. R.; BUNCH, J.; HARRISON, B. E.; THOMAS, M. B. The growth hormone GH1:c.457C.G mutation is associated with relative fat distribution in intra-muscular and rump fat in a large sample of Australian feedlot cattle. **Anim. Genet.** 37: 211–214. 2006.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian **Journal Biochemistry Physiology.** n.37, p.911-917, 1959.

CARRUTHERS, C. R. Comparison of Canadian and international angus cattle populations using gene variants and microsatellites. Thesis Submitted to the College of Graduate Studies and Research in Partial Fulfillment of the Requirements For the Degree of Master of Science in the Department of Animal and Poultry Science University of Saskatchewan Saskatoon, SK Canada. 2009.

CASAS, E.; WHITE, S. N.; RILEY, D. G.; et. al. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle, **Journal Animal Science.** Jan; 83(1):13-9, 2005.

CULLER, R. D. ET AL. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine *longissimus* muscle. **Journal of Food Science**, Champaign, v.43, p.1177-1180, 1978.

FLISIKOWSKI, K.; MAJ, A.; ZWIERZCHOESKI, L.; ADAMOWICZ, T.; SWITONSKI, M.; HIENDLEDER, S.; PAREEK, C. Nucleotide sequence and variation of IGF2 gene exon 6 in *Bos Taurus* and *Bos Indicus* cattle. **Animal Biotechnology** 16, 203-18. 2005.

GOODALL, J. J.; SCHMUTZ, S. M. Linkage mapping of IGF2 on cattle chromosome 29. *Animal Genetics*, England, v. 34, n. 4, p. 313, Aug. 2003.
HELGESON, S. C.; SCHMUTZ, S. M. Genetic variation in the pro-melanin-concentrating hormone gene affects carcass traits in *Bos taurus* cattle. *International Society for Animal Genetics*, **Animal Genetics**, n. 39, p.310-315.

KAHN, B. B.; ROSSETTI, L. Type 2 diabetes: Who is conducting the orchestra. **Nat. Genet.** 20: 223–225. 1998.

KANEDA, M.; LIN, B. Z.; SASAZAKI, S OYAMA, K.; MANNEN, H. Allele frequencies of gene polymorphisms related to economic traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle breeds. **Animal Science Journal**, v. 82, pages 717–721, 2011.

OLIVEIRA, H. N.; CURI, R. A. Seleção Assistida por Marcadores Moleculares. Disponível em: <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/palestras/4198-Seleo-Assistida-por-Marcadores-Moleculares.html>. Acesso em: 18 de agosto de 2011.

POMP, D. Biotechnology and beef cattle improvement: Myths and realities. *Proceedings... of Beef Improvement Federation 26th Res. Symp. and Annu. Mtg.* p. 236-241, 1994.

SAS. Statistical Analysis System, Systems for windows. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2004.

Schmutz, S. & Goodall, J. Improving production characteristics of cattle. European **Patent Office** WO2005007881. 2005.

SEVANE, N.; DUNNER, S.; CELORIO, S.; ET AL. Aptitud productiva de la raza bovina pasiega inferida de genes asociados con caracteres productivos. **Arch. Zootec.** 60 (231): 413-416. 2011.

SHERMAN, E. L.; NKURUMAH, 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. 2008.

WEIR, B. S. Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates: Massachusetts, 377p. 1990.

WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S. D. Standardized Warner-Bratzler Shear Force procedures for meat tenderness measurement. Roman L. Hruska U. S. MARC. USDA, Clay Center, NE, 1995.

ZWIERZCHOWSKI, L.; SIADKOWSKA, E.; OPRZĄDEK, J.; FLISIKOWSKI, K. DYMICKI, E. An association of C/T polymorphism in exon 2 of the bovine insulin-like growth factor 2 gene with meat production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. **Czech Journal Animal Science**, v. 55, 227–233. 2010.