

## SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS DA UTILIZAÇÃO DA GENÉTICA MOLECULAR NO MELHORAMENTO DE BOVINOS LEITEIROS

*André Thaler Neto*

Depto. de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC  
Av. Camões, 2090  
88520-000 – Lages, SC  
E-mail: thaler@cav.udesc.br

Programas de melhoramento de bovinos de leite baseados em genética quantitativa, inseminação artificial e transferência de embriões tem determinado ganhos genéticos elevados em um grande número de características de importância econômica. Com o desenvolvimento de técnicas de genética molecular vislumbram-se novas possibilidades de progresso genético, em especial para características, nas quais os métodos clássicos de seleção não tem determinado o progresso esperado, além de vislumbrar-se a descoberta da base genética de características de importância econômica. Avanços significativos já foram obtidos para características de herança simples, sendo porém a investigação da base genética de características de natureza complexa mais trabalhosa, transformando-a numa importante tarefa da pesquisa em melhoramento animal.

Atualmente, com o rápido avanço na localização de novos loci, técnicas de genotipagem mais simples e de menor custo, bem como o desenvolvimento de métodos estatísticos mais eficientes, os esforços da pesquisa tem sido direcionados para a identificação de genes relacionados com características de importância econômica ou “quantitative trait loci” (QTL), bem como o desenvolvimento de metodologias visando a inclusão destas informações nos programas de melhoramento genético.

### MARCADORES GENÉTICOS E METODOLOGIAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE QTL

Em experimentos visando a identificação de QTL, as características dos marcadores genéticos irão influenciar o delineamento dos experimentos, a técnica estatística a ser utilizada e a probabilidade de sucesso do experimento.

Os 29 pares de cromossomas autossomais e os cromossomas sexuais do bovino são constituídos por no mínimo 50% de seqüências repetitivas de DNA, sendo metade destas de seqüências altamente repetitivas (Vaiman, 1999). Estas regiões são especialmente apropriadas para o desenvolvimento de marcadores moleculares anônimos (tipo II), os quais marcam uma determinada posição em um cromossomo, sem serem genes funcionais, em contraste com os marcadores tipo I ou genes funcionais. Atualmente foram identificados mais de 2000 marcadores genéticos em bovinos (tipos I e II). Estes marcadores são em sua grande maioria formados por microsátélites, caracterizados por polimorfismo no número de cópias repetidas de um curto segmento de DNA. Esta densidade de marcadores corresponde a um intervalo médio entre marcadores de 1 a 2 centimorgans (cM) ou 1 a 2 megabases ( $10^6$  pares de bases)

ao nível de DNA (Haley, 1999). Atualmente, o desenvolvimento de marcadores baseados em polimorfismo em um único par de bases (“single nucleotid polymorphism” – SNP) oferecem novas perspectivas para a identificação de QTL’s, sendo que no homem aproximadamente 1 SNP para cada Kilobase tem sido identificado (Chakravarti, 1999). Além disso, novas tecnologias em biologia molecular, como “chip” de DNA deverão possibilitar em breve a genotipagem de um grande número de indivíduos.

Os procedimentos para a identificação de genes relacionados a características de interesse econômico podem substancialmente ser divididas em análise de ligação gênica com marcadores anônimos (genética posicional) e estudos de associação com genes candidatos.

A análise de ligação gênica com marcadores distribuídos uniformemente por todo o genoma tem se mostrado eficiente na identificação de QTL. Num primeiro momento visa-se identificar regiões de cromossomas envolvidas com variação fenotípica para a característica sob análise. Um exemplo de sucesso desta estratégia em bovinos de leite foi a descoberta de um marcador genético no cromossoma 4 para a mieloencefalopatia degenerativa progressiva (weaver) na raça pardo suíça (Georges, 1993), permanecendo o gene responsável desconhecido. O primeiro gene isolado, para uma característica discreta em bovinos, usando o mapa genético como base, foi o da hipertrofia muscular ou duplo músculo, localizado no cromossoma 2 (Charlier et al., 1995). Subseqüentemente, a localização foi delimitada a uma pequena região e a partir de descobertas sobre o efeito do gene da miostatina no crescimento de camundongos foi identificado o efeito de mutações neste gene sobre o duplo músculo em bovino (Barendse e Fries, 1999).

Genes candidatos são eleitos baseados em evidências de que determinado peptídeo codificado pelo gene influencia a(s) característica(s) de interesse. O passo mais difícil é justamente a escolha de genes candidatos (marcadores tipo I) adequados, visto que a maioria das características é de natureza quantitativa, influenciadas por vários genes e não há garantia de que no locus que codifica o peptídeo venha a ser encontrado polimorfismo passível de ser explorado. Exemplos de genes identificados através desta metodologia em bovinos de leite são os genes para a deficiência de adesão de leucócitos (BLAD) e deficiência de uridina monofosfato sintetase (DUMPS) (Barendse e Fries, 1999). Os marcadores tipo I também são importantes devido a sua contribuição para os mapas comparativos entre espécies, fornecendo genes candidatos posicionais para as regiões previamente identificadas em experimentos de ligação gênica.

### **ESTÁGIO ATUAL DA IDENTIFICAÇÃO DE QTL EM BOVINOS**

Avanços significativos tem sido feitos nos últimos anos na identificação de marcadores para características qualitativas de herança Mendeliana em bovinos de leite. Atualmente uma série de testes genéticos vem sendo usadas para a identificação de indivíduos portadores de alelos relacionados com doenças autossomais recessivas. Destacam-se entre estas o isolamento dos genes para DUMPS, BLAD, weaver e sindactilia, além de genes relacionados com outras características como o gene para mocho e genes relacionados à cor da pelagem. Estas doenças genéticas alcançaram importância na bovinocultura leiteira, especialmente devido a utilização intensiva do sêmen de portadores, o que em casos como do weaver pode ter sido intensificado devido a uma possível ligação gênica deste com genes que influenciam características produtivas.

Em virtude da importância econômica e de ganhos genéticos insuficientes pelos métodos de seleção tradicional, esforços tem sido concentrados na busca de marcadores moleculares para resistência a doenças, em especial para a resistência à mastite. A maior parte das pesquisas tem sido concentradas na utilização de genes candidatos, em especial o MHC. Entretanto, os resultados dos diferentes estudos de associação tem sido inconsistentes (Dekkers, 1998). Com marcadores anônimos, Reinsch et al. (1998) identificaram QTL para contagem de células somáticas nos cromossomos 1, 8 e 23. Para que avanços mais significativo nas pesquisas de marcadores genéticos para mastite possam ser alcançados é importante o desenvolvimento de características mais precisas, as quais se aproximem fisiologicamente de sua base genética (Thaler Neto, 1999). Outras doenças que tem sido alvo de intensas pesquisas para a identificação de QTL são resistência a helmintoses, carrapatos e tripanossomíases (Teale, 1999).

Para a produção e composição do leite as pesquisas concentraram-se inicialmente em genes candidatos, especialmente os genes para proteínas lácteas, as quais mostraram efeitos apenas modestos sobre a produtividade. O primeiro experimento utilizando marcadores distribuídos por todo o genoma em um grande número de touros, em um “granddaughter design” na raça Holandesa foi conduzido nos Estados Unidos por Georges et al. (1995). Foram identificadas evidências de QTLs para características produtivas nos cromossomos 1, 6, 9, 10 e 20. A partir deste seguiram-se uma série de experimentos isolados e de confirmação. Trabalhos independentes tem confirmado QTLs nos cromossomos 6, 9 e 10. Em um estudo com as mesmas famílias, acrescentando mais touros por família e maior número de marcadores genéticos Zhang et al. (1998) observaram QTLs significativos para características produtivas nos cromossomos 3, 6 e 20, além de evidências em diversos outros cromossomos. Um estudo, realizado pela equipe de Georges na Bélgica (Arranz et al., 1998), com famílias da mesma raça providas da Holanda e Nova Zelândia confirmou um QTL influenciando a produção de leite no cromossoma 20, próximo à região que contém os genes para os receptores do hormônio do crescimento e prolactina, que vem sendo intensamente pesquisados como genes candidatos para a produção de leite. Uma série de trabalhos de “fine mapping” vem sendo desenvolvidos no sentido de delimitar a localização dos QTLs, tornando os marcadores úteis para a seleção assistida por marcador (MAS).

### **PERSPECTIVAS DE UTILIZAÇÃO DA GENÉTICA MOLECULAR EM BOVINOS DE LEITE**

O emprego de técnicas de genética molecular começa a ocupar espaço nos modernos programas de melhoramento genético de bovinos de leite. Atualmente, os principais empregos estão relacionados à confirmação de genealogia dos animais à sexagem de embriões e ao controle de doenças genéticas recessivas. Touros jovens vem sendo genotipados antes de entrarem em teste de progênie para genes deletérios, visando a identificação de animais portadores (heterozigotos). Entretanto, a eliminação completa destas vai depender do balanço entre o custo da genotipagem e o risco apresentado por cada doença, no momento em que o alelo indesejável se tornar extremamente raro (Dentine, 1999).

A principal expectativa da aplicação dos QTLs identificados é a seleção auxiliada por marcadores (MAS). A fim de possibilitar a implementação desta metodologia, torna-se necessário o “fine-mapping” dos QTLs identificados e o aprimoramento de técnicas

estatísticas que permitam um balanceamento adequado entre as informações moleculares e do fenótipo, visando um ganho genético tanto em termos de genes de efeito maior como de poligenes. Uma série de dificuldades pode ser prevista para esta metodologia, tais como problemas relacionados com a acurácia na estimação do efeito do QTL, e a distância entre o marcador e o gene causal que implica na necessidade de se determinar a fase de ligação gênica em cada família. Caso o balanceamento entre as informações moleculares e fenotípicas não seja constantemente atualizada, o ganho genético a longo prazo poderá ser menor em relação aos métodos atuais, principalmente em características de alta herdabilidade. Ganhos genéticos superiores são esperados para QTL com alelo mais favorável raro, porém neste caso a possibilidade de se encontrar touros heterozigotos é reduzida (Dentine, 1999; van der Werf, 2000).

Uma série de peculiaridades dos bovinos de leite, porém, prometem ganhos genéticos adicionais para MAS. Em primeiro lugar, a acurácia da estimação do valor genético em características de baixa herdabilidade poderá ser aumentada consideravelmente (van der Werf, 2000), o que poderá se tornar importante para características como a resistência à mastite e a eficiência reprodutiva. Um outro aspecto importante é a possibilidade de seleção juvenil, o que poderá determinar um menor intervalo de gerações, especialmente para características ligadas ao sexo. Este objetivo poderá ser atingido através de uma maior acurácia na estimação do valor genético de mães de touro com poucos dados fenotípicos próprios, através de um menor custo e maior precisão na seleção de touros que entram em teste de progênie como, por exemplo, devido à escolha entre irmãos completos ou meio-irmãos cujas mães apresentam valor genético semelhante (Dentine, 1999).

Outras possibilidades são a introgressão de alelos em outras raças ou linhagens e a exploração de efeitos genéticos não aditivos combinando programas de seleção e acasalamento, o que vem sendo denominado “mate selection” (van der Werf, 2000).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRANZ, J.-J.; COPPIETERS, W.; BERZI, P. et al. A QTL affecting milk yield and composition maps to chromosome 20: a confirmation. *Animal Genetics*, v. 29, p. 107-115, 1998.
- BARENDSE, W.; FRIES, R. Genetic linkage mapping, the gene maps of cattle and lists of loci. In: Fries, R.; Ruvinsky, A. *The genetics of cattle*. Oxon: CABI, 1999. p. 329-364.
- CHAKRAVARTI, A. Population genetics: making sense out of a sequence. *Nature genetics*, v. 21, p. 56-60, 1999
- CHARLIER, C.; COPPIETERS, W. FARMIR, F. et al. The mh gene causing double muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mammalian Genome*, v. 6, p. 788-792, 1995.
- DEKKERS, J.C.M.; BOETTCHER, P.J.; MALLARD, B.A. Genetic improvement of udder health. In: *6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Armidale: University of New England, v. 25, p. 3-10, 1998.
- DENTINE, M.R. Marker assisted selection. In: Fries, R.; Ruvinsky, A. *The genetics of cattle*. Oxon: CABI, 1999. p. 497-511.
- GEORGES, M; DIETZ, A.B.; ISHRA, A. et al. Microsatellite mapping to the gene causing weaver disease in cattle will allow the study of an associated quantitative trait locus. *Proc. National Academy of Science USA*, v. 90, p. 1058-1062, 1993.

- GEORGES, M.; NIELSEN, D. MACKINNON, M. et al. Mapping quantitative trait loci controlling milk Production in dairy cattle by exploiting progeny test. *Genetics*, v. 199, p. 907-920, 1995.
- HALEY, C. Advances in quantitative trait loci. In: *From Jay Lush to genomics: visions from animal breeding and genetics*. Iowa: Iowa State University,, 1999. p. 47-59.
- REINSCH, N.; XUL, N.; THOMSEN, H. et al. First results on somatic cell count loci from the ADR bovine mapping project. In: *6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Armidale: University of New England, p. 426-428, 1998.
- THALER NETO, A. *Risiko-Verhältnis als Parameter zur genetische Charakterisierung von komplexen dichotomen Merkmalen in Halbgeschwisternfamilien am Beispiel der Mastitis beim Rind*. Freising - Alemanha: Technische Universität München, 1999. 137p. (Tese de doutorado)
- TEALE, A.J. Genetics of disease resistance. In: Fries, R.; Ruvinsky, A. *The genetics of cattle*. Oxon: CABI, 1999. p. 199-228.
- VAIMAN, D. The molecular genetics of cattle. In: Fries, R.; Ruvinsky, A. *The genetics of cattle*. Oxon: CABI, 1999. p. 123-162.
- VAN DER WERF, J. Marker assisted selection In: Kinghorn, B.; van der Werf, J. *Animal breeding: use of new technologies*. Sydney: University of Sydney, 2000. p. 120-130.
- ZHANG, Q. BOICHARD, D. HOESCHELE, I. et al. Mapping quantitative trait for milk production and health of dairy cattle in a large outbreed pedigree. Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbreed pedigree. *Genetics*, v. 149, p. 1959-1973, 1998.