

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DE GENES ASSOCIADOS À DEPOSIÇÃO DE
GORDURA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Patrícia Dias da Silva Fonseca

Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DE GENES ASSOCIADOS À DEPOSIÇÃO DE
GORDURA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Patrícia Dias da Silva Fonseca

Orientador: Prof. Dr. **Humberto Tonhati**

Co-Orientadores: **Prof.^a Dr.^a Lucia Galvão de Albuquerque**
Dr. Fábio Ricardo Pablos de Souza

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

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Abril de 2012

Fonseca, Patrícia Dias da Silva
F676a Análise de genes associados à deposição de gordura em bovinos da raça Nelore / Patrícia Dias da Silva Fonseca. – – Jaboticabal, 2012 vi, 42 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012
Orientador: Humberto Tonhati
Banca examinadora: Janete Aparecida Desidério, Maria Eugênia Zerlotti Mercadante
Bibliografia

1. *Bos taurus indicus*. 2. Crescimento. 3. Carcaça. 4. Marcadores moleculares. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.2:636.082

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

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PATRICIA DIAS DA SILVA FONSECA – casada, nascida em 10 de maio de 1983, na cidade de São Paulo – SP, filha de Lourenço Dias da Silva e Antônia Ana da Conceição e Silva. Iniciou em fevereiro de 2001 o curso de graduação em Ciências Biológicas no Centro de Ensino Superior de Uberaba, obtendo o título de Bióloga em dezembro de 2004. Em março de 2010 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal – SP, como bolsista do Centro Nacional de Pesquisa e Tecnologia, sob orientação do Prof. Dr. Humberto Tonhati e Co-orientação da Profa. Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque e Dr. Fábio Ricardo Pablos de Souza.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, que me deu forças, iluminou meu caminho em todos os momentos da minha vida e enviou pessoas como anjos para me apoiar em todas as dificuldades.

Ao Prof. Dr. Humberto Tonhati pela confiança, respeito, amizade e por me dar a oportunidade de realizar este sonho. Muitos foram os aprendizados e se Deus quiser ainda serão. Obrigada eternamente MESTRE.

Os meus co-orientadores: Dr. Fábio Ricardo Pablos de Souza e Prof^a. Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque, pela confiança, amizade, respeito e oportunidade de trabalhar com vocês.

Agradeço a meus pais Lourenço e Antônia, por todo exemplo de vida, luta, superação e perseverança. Por terem me ensinado que tudo vem a seu tempo e a seu merecimento. Amo vocês!

Ao meu querido irmão, amado Anderson, o mundo é mais feliz por você existir.

À minha outra metade, meu marido, meu amigo, meu companheiro, meu amor, meu Fernando. Escudeiro fiel de todas as horas, por toda paciência que você, nem sabia que tinha, meu amor te agradeço eternamente.

A meus queridos avós, Vó Nita pela ternura e Vô Doca pela alegria. Vó Valdemira (*in memoriam*) sei que onde estiver estará zelando por mim.

A meus tios e primos, que mesmo de longe sempre torcem por mim.

A meus sogros, segundos pais Joaquim e Áurea, pela dádiva de estarem em minha vida e por terem me acolhido de tão grande coração.

Às minhas queridas cunhadas, Silvia e Lília, irmãs que ganhei da vida. Ao Amilton pela amizade e carinho. Ao Luís André e Patrícia pelo incentivo e carinho. Por terem me dado alegria na vida através de seus filhotes.

Aos meus sobrinhos fofos, Beatriz, Milena, Guilherme e Isabela. Vocês são os amorzinhos mais gostosos da tia, o sorriso de vocês me dá forças pra seguir em frente e construir um mundo melhor pra vocês.

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, pela oportunidade na vida.

Aos membros da banca de minha qualificação: Dra. Arione Boligon, Prof Dr. Henrique Nunes e Prof. Dr.Humberto Tonhati, pelas valiosas sugestões e correções.

Aos membros da banca examinadora de minha dissertação: Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério, Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, pelas sugestões, atenção e contribuição para término deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Genética e Melhoramento Animal.

Aos técnicos do laboratório de Genética Molecular, João e Paulo pela ajuda.

Ao Instituto de Zootecnia de Sertãozinho-IZ, em especial a Pesquisadora Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, pelos materiais e dados cedidos ao projeto.

À Alessandra, Manoel e Pedrinho, Roberta e Claiton, Madrinha Isaura e Tio Roberto, por todos os anos de carinho, amizade, respeito e família.

A todos meus amigos de Uberaba, ôhh saudade, Nélia, Mari, Aline, Luzinha, Poly, Andrea, Simone, Andréia, Madrinha Maria. Os pequenos Breno e Rafael.

A minha vizinha, amiga, mãe, companheira, Dona Ruth, obrigada por tudo!

A meus amigos que me deram força e incentivo desde o início em Ribeirão Preto, pela amizade sincera e verdadeira. Fernanda Elias e família, Paula Lumy, Franciele e Laner, Felipe, Adriane e Fran, Adriana Renzi, Reginaldo Vila e família. Vocês foram meu apoio em muitos momentos e me ensinaram muito na vida.

A Carla, Daniel e Julinha, Thamara, Tiago e Pedrinho, amigos eternos.

Ao Professor Raysildo Lôbo e Rita Lôbo, pela confiança, incentivo e amizade ao longo da minha caminhada na Associação Nacional de Criadores e Pesquisadores.

Aos amigos que fiz na ANCP, durante minha jornada, meu obrigado!

A todos os amigos da pós-graduação, Fernanda, Larissa, Camila, Marina, Danieli, Diércles, Daniel, Naudin, Raul, Dimas. Obrigado pelo respeito e amizade.

Agradecimento especial ao amigo Gregório por ter me ajudado nos momentos de desespero molecular e todas as risadas inigualáveis.

A Manuela Gama, por ser minha amiga de todas as horas.

Aos amigos Fábio e Arione, pelos ensinamentos, amizade e confiança.

A todos os amigos do Departamento de Zootecnia pela amizade e convivência.

A Dra. Arione Boligon pela ajuda nas análises estatísticas e ensinamentos valiosos.

Aos estagiários do laboratório de genética molecular, em especial a Milena Chiquitelli, Ana Luiza, Ana Carolina, Gabriela, Fabiele.

Ao CNPq pela concessão de minha bolsa de estudo.

A todos os professores e mestres de uma vida inteira. Obrigada!

Dedico

A meus pais Lourenço e Antônia, pelo exemplo de vida.

Meu irmão Anderson, para que tenha perseverança.

Meu marido Fernando, pelo amor.

Meus sogros Joaquim e Áurea, pelo carinho.

A todos familiares e amigos pela torcida!

"A família é base da sociedade e o lugar onde as pessoas aprendem pela primeira vez os valores que lhes guiam durante toda sua vida."

Papa João Paulo II

Tu és minha vida outro Deus não há

Tu és minha estrada, a minha verdade

Em Tua palavra eu caminharei

Enquanto eu viver e até quando Tu quiseres

Já não sentirei temor, pois estás aqui.

Tu és minha força

Tu és minha paz, minha liberdade

Nada nesta vida nos separará

Em Tuas mãos seguras, minha vida guardarás

Eu não temerei o mal, Tu me livrarás.

(Eliana Ribeiro)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	1
1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Importância do estudo de genes ligados a características de crescimento e deposição de gordura.....	3
2.1.1 Características de crescimento e deposição de gordura	3
2.1.3 Uso de marcadores moleculares para associações com características de crescimento.....	5
2.2 Genes Candidatos.....	7
2.2.1 Adiponectina (<i>ACRP30</i>).....	7
2.2.2 Coativador1-Alfa de Ativação da Proliferação Peroxissomal Gama (<i>PPARGC1A</i>).....	8
2.2.3 Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidadas (<i>OLR1</i>).....	9
3 OBJETIVOS GERAIS	10
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
CAPÍTULO 2 – POLIMORFISMOS NOS GENES <i>ACRP30</i> , <i>PPARGC1</i> , <i>OLR1</i> E SUAS ASSOCIAÇÕES COM CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E CARCAÇA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	18
RESUMO	18
ABSTRACT	19
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1 Animais	21
2.2 Coleta de medidas: pesos e carcaça.....	22
2.3 Coleta Material Biológico.....	23
2.4 Análises laboratoriais	23
2.4.1 Extração de DNA.....	23
2.4.2 Quantificação do DNA	24
2.4.3 Iniciadores específicos.....	24
2.4.4 Reação em Cadeia de Polimerase	25
2.4.5 Técnica de RFLP (Polimorfismo do Comprimento do Fragmento de Restrição)	26
2.5 Análises Estatísticas.....	27
2.5.1 Frequências.....	27
2.5.2 Comparação das frequências gênicas entre as três linhas de seleção	28
2.5.3 Análise de associação entre os marcadores e as características de desenvolvimento ponderal e de carcaça	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
3.1 Médias dos pesos e medidas das características estudadas	29
3.2 Qualidade e quantificação DNA	30
3.3 Reação da Polimerase em Cadeia	31

3.4 Genotipagem por RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição)	32
3.5 Análises Estatísticas.....	34
3.5.1 Frequências gênica e genotípicas.....	34
3.5.2 Análise de associações de características de crescimento e carcaça.....	35
4 CONCLUSÕES	39
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

Lista de figuras

Figura 1. Amostra de DNA verificada com uso do aparelho espectrofotômetro.....	31
Figura 2. Amostras de DNA provenientes de animais da Estação Experimental de Sertãozinho – IZ.....	31
Figura 3. Fragmentos de 639 pb do gene <i>ACRP30</i> amplificados por PCR com uso de primers específicos em bovinos da raça Nelore.....	32
Figura 4. Fragmentos de 269 pb do gene <i>OLR1</i> amplificados por PCR com uso de primers específicos em bovinos da raça Nelore.....	32
Figura 5. Fragmentos de 358 pb do gene <i>PPARGC1</i> amplificados por PCR com uso de primers específicos em bovinos da raça Nelore.....	33
Figura 6. Representação dos 3 padrões de migração obtidos pela técnica de PCR-RFLP/ <i>Bsr</i> I para o gene <i>ACRP30</i>	33
Figura 7. Representação dos 3 padrões de migração obtidos pela técnica de PCR-RFLP/ <i>Pst</i> I para o gene <i>OLR1</i>	34
Figura 8. Representação dos 3 padrões de migração obtidos pela técnica de PCR-RFLP/ <i>Nhe</i> I para o gene <i>PPARGC1</i>	34

Lista de Quadros

Quadro 1.	Iniciadores específicos descritos em literatura.....	24
Quadro 2.	Programa de amplificação para cada par de iniciadores estudados.....	25
Quadro 3.	Enzimas usadas para genotipagem por PCR-RFLP, com seus respectivos sítios de restrição e temperaturas de clivagem.....	26

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Médias observadas para cada característica, em cada linha de seleção.....	30
Tabela 2.	Frequências Gênica e Genotípica dos marcadores estudados na raça Nelore e nas três linhas de seleção para crescimento.	35
Tabela 3.	Valores de P obtidos pelo Teste de Fisher para a comparação dos pares de populações de frequências alélicas entre as três linhas de seleção.....	36
Tabela 4.	Valores nominais de P, médias dos mínimos quadrados e erro padrão (em parênteses) obtidos para os marcadores <i>ACRP30/ BsrI</i> , <i>OLR1/PstI</i> e <i>PPARGC1/NheI</i> em características de crescimento e carcaça.....	39

RESUMO – Na pecuária de corte, características de crescimento e de carcaça são de grande importância para programas de melhoramento genético. Para acelerar o processo de seleção, os marcadores moleculares auxiliam o estudo dessas características que são influenciadas por efeitos poligênicos. Os genes *ACRP30*, *PPARGC1* e *OLR1*, foram associados às características ligadas à produção em *Bos taurus taurus*. Esses genes estão ligados aos processos de sínteses de lipídios, síntese metabólica e acúmulo de gordura no tecido adiposo. Em nosso estudo, foram genotipados 639 animais, através da técnica de PCR-RFLP, para os genes *ACRP30/BsrI*, *PPARGC1/NheI* e *OLR/PstI*, onde foram detectados polimorfismos correspondentes aos sítios de restrição. Para as linhas de seleção Controle (NeC), Seleção (NeS) e Tradição (NeT) em bovinos Nelore, do Instituto de Zootecnia de Sertãozinho-IZ, foram feitas associações com características de peso ao nascer, peso no desmame, peso ao sobreano das fêmeas, altura ao sobreano da garupa das fêmeas, peso ao sobreano dos machos, altura ao sobreano da garupa dos machos, área de olho de lombo, espessura de gordura da garupa, espessura de gordura subcutânea e polimorfismos nos genes estudados, utilizado o PROC MIXED, do programa SAS/STAT 9.1.3. para análises de associações e Teste de Fisher para diferenciação entre populações do programa Genepop. A correção dos testes de hipóteses para comparações múltiplas foi feita pelo método de Bonferroni. Os genótipos apresentados foram associados com as características de crescimento e carcaça, não apresentando efeitos significativos na população estudada.

Palavras chave: *Bos taurus indicus*, crescimento, carcaça, marcadores moleculares.

ABSTRACT – In beef cattle production, growth and carcass traits are of great importance for animal breeding programs. To speed up the selection process, molecular markers help to study traits that are influenced by polygenic effects. The *ACRP30*, *PPARGC1* and *OLR1* genes were validated in some studies for traits related to production in *Bos taurus*. These genes are linked to processes of lipids and metabolic synthesis and accumulation of fat in the adipose tissue. In this study, 639 animals were genotyped by PCR-RFLP, for genes *ACRP30/BsrI*, *PPARGC1/NheI* and *OLR/PstI*, where polymorphisms were detected, corresponding to the restriction sites. For selection lines Control (NeC), Selection (NeS) and Tradition (NeT) in Nellore cattle, from the Institute of Zootecnia from Sertãozinho – IZ, associations were made with polymorphisms in the studied genes and the traits birth weight, weaning weight, yearling weight, yearling rump height, ribeye area, rump fat thickness and subcutaneous fat thickness, using the PROC MIXED from SAS/STAT 9.1.3. program for association analysis, and Fisher Test for population differentiation from Genepop program. The correctness of the hypothesis tests for multiple comparisons was made using the Bonferroni. The genotypes found were associated with the growth and carcass traits but showed no significant effects on the studied population.

Keywords: *Bos taurus indicus*, growth, carcass, molecular markers.

CAPÍTULO 1

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A escassez de alimentos, aliada à crescente demanda do consumo, faz com que a ciência busque, cada vez mais, alternativas práticas ao desenvolvimento de técnicas que gerem eficiência, aumentando os ganhos na produção sejam elas de origem animal ou vegetal. O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos mundiais com 176.610.943 cabeças, voltado à produção de carne e vêm se destacando no consumo de carne por habitante, apresentando consumo médio de 38,7 kg pessoa/ ano (ANUALPEC 2010). Esse aumento no consumo de carne bovina no país se deve ao aumento da renda média da população.

Estudos realizados pela ABIEC (2010) mostram que o Brasil se consolidou na última década, como uma potência na exportação de carne bovina. Apesar de escoar cerca de 20% da produção nacional de carne, a exportação é de extrema importância para o país, tanto pela geração de receita, quanto pelos empregos originados ao longo de toda a cadeia produtiva. Todavia, alguns fatores determinam o valor comercial da carcaça bovina, dentre eles destacam-se pesos e o acabamento de carcaça.

Visto que base do rebanho brasileiro é constituída por raças zebuínas, com destaque para a raça Nelore, pelo seu inestimável patrimônio genético para a bovinocultura como produtora de carne e pelos bons índices de desempenho econômico (COSTA et al., 2007), o estudo das características de crescimento e carcaça, torna-se interessante do ponto de vista produtivo e comercial.

A definição dos parâmetros que são usados para medir o crescimento, acabamento de carcaça, entre outras características de interesse econômico em bovinos de corte, foi tomado com base em alguns requisitos do guia para uniformização de programas de melhoramento da “Beef Improvement Federation”, que teve sua primeira publicação em 1970. A BIF (2010) visa padronizar medidas,

para que possam ser usadas por programas de melhoramento em bovinos de corte.

Dentre as características de crescimento utilizadas por programas de melhoramento genético para bovinos de corte, destacam-se as medidas de: peso ao nascer, peso ao desmame, peso ao sobreano e altura ao sobreano. Essas medidas são usadas na avaliação genética de animais para a predição de DEPs (Diferença Esperada na Progenie) para essas características. Nos programas de melhoramento a escolha de animais para reprodutores, é feita por meio da identificação de indivíduos geneticamente superiores avaliando-se referidas características e o pedigree do animal.

Dentre as características de carcaça destacam-se: área de olho de lombo, espessura de gordura da garupa, espessura de gordura subcutânea. Estas características podem ser usadas com o intuito de avaliar a capacidade de um animal quanto à precocidade em deposição de gordura e qualidade carcaça.

Com o desenvolvimento da biotecnologia, estão sendo disponibilizadas ferramentas para elucidar os genes responsáveis pela expressão de características quantitativas complexas, como é o caso das características de produção e carcaça. Dentre essas ferramentas incluem-se a biologia molecular para a identificação de regiões cromossômicas associadas a QTLs (*loci* que afetam características quantitativas). Um dos principais objetivos de estudos de QTLs é encontrar genes ou marcadores que podem ser implementadas em programas de melhoramento por seleção assistida por marcadores (SILVA, et al., 2011). A seleção assistida por marcadores moleculares pode aumentar a acurácia da seleção, que é feita com base em princípios clássicos da genética quantitativa, tendo como vantagem, a predição do valor genético para características difíceis de mensurar precocemente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância do estudo de genes ligados a características de crescimento e deposição de gordura

2.1.1 Características de crescimento e deposição de gordura

Malhado et al. (2008), relatam que as principais experiências sobre crescimento com modelos biológicos, começaram com as pesquisas de Hammond (1932) e dos membros da Escola de Cambridge, prosseguindo com os trabalhos de Brody (1945), e Palsson (1955). Esses pesquisadores mediram as taxas metabólicas relacionadas a curvas de crescimento em animais domésticos de diferentes espécies.

A taxa de crescimento em bovinos é determinada pelo ganho de peso em um determinado tempo. O aumento da massa corporal de um animal ocorre em uma sequência de diversas fases: ao nascer, ao desmame, a puberdade etc., ou seja, em cada fase, o animal apresenta taxa de crescimento característica (BERG & BUTTERFIELD, 1976).

As medidas das características de crescimento são importantes na determinação da eficiência econômica de qualquer sistema de produção de bovinos de corte. Sendo assim, características de crescimento, como pesos ao desmame e ao sobreano e ganho de peso em diferentes idades destacam-se como critérios de seleção, pois apresentando herdabilidades de média magnitude, o que pode representar ganho às futuras gerações (LAUREANO et al., 2011).

Dentro deste grupo de características para estudo sobre crescimento estão os pesos, pesos ao nascer e ao sobreano apresentam herdabilidade de magnitude baixa à alta, e são positivamente correlacionados, indicando que respondem bem à seleção. A DEP (Diferença esperada na progênie) do peso ao nascimento é estimada para monitoração, evitando aumento significativo desta característica, o que pode levar a problemas de parto. Touros com DEPs altas não são indicados para uso em fêmeas precoces (LÔBO, et al., 2010). O peso ao desmame utilizado para avaliar a habilidade materna das vacas e o potencial de crescimento dos

bezerros. O peso ao sobreano de 550 dias para fêmea e 378 para machos, é utilizado para avaliar o potencial de crescimento após a desmama (ALENCAR, 2002).

Berg & Butterfield (1976) mostram em seu estudo, que a gordura é um tecido de formação tardia em relação aos outros, com isso animais de maior porte respondem tardiamente à deposição de gordura, pois o processo metabólico é voltado primeiramente para as necessidades energéticas de crescimento muscular e estrutural.

Pesquisas interessadas na melhoria em características de acabamento de carcaça precoce, usam medidas de: área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e espessura de gordura de garupa. A área de olho de lombo apresenta alta correlação com rendimento da carcaça em cortes nobres (PRADO et al., 2004), enquanto que a espessura de gordura subcutânea e espessura de gordura de garupa indicam o grau de acabamento que estaria relacionado às precocidades de crescimento e sexual. Herdabilidades moderadas para características de carcaça foram encontradas por Yokoo et al., (2009) em bovinos da raça Nelore

Medidas de características como espessura de gordura subcutânea e de garupa, como também área de olho-de-lombo são relevantes pois, oferecem importante papel no processo de resfriamento e qualidade indicadora de rendimento de cortes nobres de alto valor comercial apresentando correlação positiva com a porção comestível da carcaça (LUCHIARI FILHO, 2000 e MEIRELLES et al., 2010).

Segundo Fisher (1997) a técnica de ultrassom a partir de 1950, passou a ser considerada como ferramenta de uso, e é uma técnica de baixo custo e preservação da carcaça, sem danos nocivos ao animal “in vivo”. No Brasil, o uso da técnica de ultrassonografia em bovinos de corte, visando estimar algumas medidas de carcaça no animal vivo iniciou-se na década de 1990 (TAROUCO et al., 1993).

A técnica de ultrassom é uma alternativa para predição *in vivo* das características da carcaça. Medidas observadas na área de olho de lombo (AOL), Espessura de gordura subcutânea (EGS) e espessura garupa (EGG), além de auxiliar na escolha dos animais para o abate, fornecem informações úteis para incorporação em modelos de crescimento e seleção de animais. Para os produtores de bovinos, é mais importante a predição das características de produção de carne que possam ser incorporadas, de alguma maneira, em programas de seleção e que possibilitem o aumento do retorno econômico da atividade (BERGEN et al., 1997). As características de carcaça medidas por ultrassom, podem ser incluídas em programas de melhoramento e devem responder, rapidamente, à seleção individual (YOKOO et al., 2009).

A gordura de cobertura (subcutânea) na carcaça, funciona como uma proteção, impedindo a queda brusca da temperatura e evitando o “cold shortening” durante o resfriamento (ALVES et al, 2007). De acordo com Luchiari Filho (2000), um mínimo de espessura de gordura subcutânea avaliada na altura da 12ª costela de dois a 2,5 mm para cada 100 kg de carcaça é desejável, a fim de evitar o aparecimento do “cold shortening”.

2.1.3 Uso de marcadores moleculares para associações com características de crescimento

A partir da descoberta do DNA e suas possíveis recombinações, a prática em associar características fenotípicas e informações sobre o DNA dos animais vem se tornando uma ferramenta cada vez mais sólida no processo de seleção de indivíduos com genótipos superiores. Sequências de DNA próximas às regiões de interesse são fonte de informações sobre a segregação de alelos por várias gerações levando a estudos específicos sobre várias características de interesse econômico (COUTINHO et al., 2010).

Marcadores moleculares revelam polimorfismos de DNA entre indivíduos geneticamente relacionados. Um loco molecular que apresenta segregação

mendeliana é considerado um marcador genético (LOPES et al., 2003). Isso significa um grande passo para auxílio na predição de valores genéticos para características que se manifestam a partir de efeitos poligênicos, como as de crescimento e carcaça.

Martinez & Machado (2002), relatam que em muitas situações, o fenótipo não é uma indicação precisa do genótipo, pois características produtivas dependem da variação alélica em grande número de locos e a expressão gênica desses locos é altamente afetada por fatores ambientais. Nesse sentido, os marcadores moleculares se destacam na busca de polimorfismo, pois estes não sofrem influência ambiental por estar inseridos no genoma e ainda oferecem a vantagem de serem analisados em qualquer etapa da vida do animal à partir de qualquer tipo de tecido.

Com a busca de marcadores associados a características de interesse econômico, o mercado começa a desenvolver meios para validação de resultados nas subespécies de *Bos*. Casas et al. (2005), mostram em trabalho realizados com gene *DGAT1* *CAPN1* e *TG* para características de melhoria de carcaça, que marcadores para *Bos taurus taurus*, podem não ser aplicáveis em *Bos taurus indicus*, pois há diferenças na manifestação dos polimorfismos nas sequências de DNA das subespécies.

Para auxiliar a predição de caracteres herdáveis nas futuras gerações, características de crescimento, que são influenciadas por efeitos poligênicos, ferramentas moleculares são uma forma de complementar e interagir com características fenotípicas, gerando maior acurácia na seleção de animais geneticamente superiores.

2.2 Genes Candidatos

2.2.1 Adiponectina (*ACRP30*)

Scherer et al. (1995) foi o primeiro a descrever o gene *ACRP30* que codifica a proteína de complemento relacionada ao adipócito de 30 kDa, possuindo 3 éxons e 2 íntrons é responsável pela codificação da adiponectina (ADIPOQ), uma proteína secretada a níveis elevados na corrente sanguínea exclusivamente pelo tecido adiposo.

Com importante papel na regulação da homeostase energética, metabolismo da glicose e de lipídeos em tecido insulino-sensitivos, ela atua na oxidação de ácidos graxos e gliconeogênese. Diferente da leptina, a concentração sanguínea da adiponectina na obesidade é baixa, sendo que na perda de peso seus níveis séricos aumentam (ZHANG et al., 2008).

Em estudo realizado por Qiao et al. (2011) foi demonstrado que a adiponectina inibe a lipólise e regula diretamente o metabolismo lipídico em adipócitos sugerindo que a adiponectina suprime hidrólise dos triglicéridos.

Kissebah et al. (2000) propuseram a adiponectina como o mais provável gene candidato para o QTL para obesidade no cromossomo 3q27 em humanos. Em cavalos, a concentração plasmática de adiponectina é inversamente proporcional à adiposidade (KEARNS et al., 2005). Em suínos, um polimorfismo mostrou significantes associações dos genótipos com a deposição de gordura e características de carcaça (DAI et al., 2006). Em bovinos, de acordo com o mapa comparativo humano-bovino, o gene *ACRP30* está localizado próximo a QTLs que afetam o marmoreio, a área de olho do lombo, e a espessura de gordura subcutânea no cromossomo BTA1 em Angus (MORSCI et al., 2006). Em humanos, Zhang et al. (2008) mostram que o peso corporal foi alterado pela presença de polimorfismos no gene da adiponectina.

2.2.2 Coativador1-Alfa de Ativação da Proliferação Peroxissomal Gama (PPARGC1A)

Também conhecido como PGC-1 α , é um dos principais reguladores da transcrição do PPAR γ , um fator de transcrição que promove a regulação da transcrição de genes relacionados à adipogênese (SAMULIN et al., 2008). De fato, ainda não foi descoberto nenhum fator que promove a adipogênese na ausência de PPAR γ . Além disso, a indução da expressão de PPAR γ é suficiente para promover o acúmulo de lipídeos em numerosos tipos celulares, incluindo fibroblastos e mioblastos. A ausência de PPAR γ resulta na perda da capacidade adipogênica das células (HUMMASTI et al., 2008).

Lee et al. (2012) mostram em seu estudo que o gene PPARGC1, está ligado a uma variedade de processos biológicos envolvendo a qualidade na formação de fibras musculares. Embora o número total de fibras musculares se torne inalterado após o nascimento, elas podem sofrer alterações metabólicas durante a vida.

Em frangos, associações significativas foram encontradas entre um SNP no gene *PPARGC1* e gordura abdominal (WU et al., 2006). Em suínos, o gene já foi associado à taxa de conversão alimentar, ao peso e espessura de gordura do toucinho e a gordura abdominal (JACOBS et al., 2006; STACHOWIAK et al., 2007). Em bovinos, o gene está situado na parte média do cromossomo BTA 6 (q17-q19), onde se localizam QTLs envolvidos com produção e conteúdo de gordura no leite. Associação significativas entre um polimorfismo no íntron 9 e produção de gordura no leite foram observadas em populações de gado Holandês, indicando que este gene pode estar envolvido na variação genética do QTL para produção de gordura no cromossomo BTA6 (WEIKARD et al., 2005). Em gado Holandês associações significativas entre o gene *PPARGC1A* e alta porcentagem de proteína do leite foram descritas (KHATIB et al., 2007). Além disso, outros genes candidatos para a qualidade da carne são reguladas por *PPARGC1A*, tornando-o muito interessante em estudos ligados a linhas de seleção para ganho genético (ERKENS et al., 2006).

2.2.3 Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidadas (*OLR1*)

O gene *OLR1*, também conhecido como *LOX-1*, codifica o receptor de lipoproteína de baixa densidade oxidadas (Low Density Lipoprotein – LDL), uma proteína que se liga, internaliza e degrada lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (KHATIB et al., 2006). Este gene foi descoberto pela primeira vez em células endoteliais da aorta de bovinos em 1997 (SAWAMURA et al., 1997). Desde então, várias pesquisas têm sido desenvolvidas para estudar os efeitos na expressão do gene em mamíferos.

Embora em condições normais exista baixa expressão do gene *OLR1* em células adiposas, em modelos obesos sua expressão está aumentada e é dependente do controle do PPAR γ . Em células adiposas, se supõe que sua expressão aumenta o conteúdo de colesterol e realça a captura de ácidos graxos. Concentrações de colesterol e triglicerídeos no tecido adiposo são altamente correlacionadas e assim, o gene *OLR1* também pode ser considerado como um gene candidato para deposição de gordura subcutânea e intramuscular em bovinos de corte (CHUI et al., 2006).

Considerando a função do gene *OLR1* no metabolismo lipídico e resultados prévios de escaneamento genômico, Khatib et al. (2006) encontraram associações significativas do gene *OLR1* com produção e porcentagem de gordura no leite em vacas. A superexpressão do *OLR1* pode aumentar a captação de ácidos graxos, e por consequência, o acúmulo de gordura na forma de tecido adiposo

3 OBJETIVOS GERAIS

Identificar a presença de polimorfismos nos genes *PPARGC1*, *OLR1* e *ACRP30* em *Bos taurus indicus*.

Analisar as frequências alélicas e genotípicas em três linhas de seleção para crescimento e avaliar as associações dos polimorfismos com características de crescimento e de carcaça em bovinos da raça Nelore, a fim de se obter marcadores que auxiliem a seleção de animais aptos geneticamente para estas características.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes, 2010. Pecuária - Sanidade Animal. Disponível em: < http://www.abiec.com.br/3_sanidade.asp > Acesso em 26 março 2012.

ALENCAR, M.M. Critérios de seleção em bovinos de corte no Brasil. **In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL**, 4., 2002, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBMA, 2002. (CD-ROM).

ALVES, D. D.; MANCIO A. B. Maciez da carne bovina - uma revisão. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 14, n. 1, p. 193-216, 2007.

ANUALPEC, 2010: **Anuário da Pecuária brasileira**. São Paulo, SP: Editora FNP, 2009. 369p. Anual.

BERG, R.T., BUTTERFIELD, R.M. **New concepts of cattle growth**. New York: Sydney University, 1976. 240p.

BERGEN, R.D.; MCKINNON, J.J.; CHRISTENSEN, D.A.; KOHLE. N.; BELANGER, A. Use of the real-time ultrasound to evaluate live animal carcass traits in young performance-tested beef bulls. **Journal of Animal Science**, v.75, n.9, p.2300-2307, 1997.

BEEF IMPROVEMENT FEDERATION. **Guidelines for uniform beef improvement programs**, Ninth Edition, Raleigh, NC, USA.2010.

BRODY, S. **Bioenergetics and Growth**. New York: Reinhold Publication, 1945. 1023 p.

CASAS, E.; WHITE, S. N.; RILEY, D. G.; SMITH, T. P. L.; BRENNEMAN, R. A.; OLSON, T. A.; JOHNSON, D. D.; COLEMAN, S. W.; BENNETT, G. L.; CHASE, JR., C. C. 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**. v.83, n.1, p.13–19, 2005.

CHUI, P.C; GUAN, H.P; LEHRKE, M.; LAZAR, M.A. PPARgamma regulates adipocyte cholesterol metabolism via oxidized LDL receptor 1. **The Journal Of Clinical Investigation**, v.115, n.8, p.2244-2256, 2006.

COSTA, D.P.B.; ABREU, J.B.R.; MOURÃO, R.C. *et al.* Características de carcaça de novilhos inteiros Nelore e F1 Nelore x Holandês. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4, p.687-696, 2007.

COUTINHO, L.L.; ROSARIO, M. F.; JORGE, E. C. **Biotecnologia animal. Estudos avançados**. [online]. 2010, v.24, n.70, p. 123-147. ISSN 0103-4014.

DAI, L.H.; XIONG, Y.Z.; DENG, C.Y.; JIANG, S.W.; ZUO, B.; ZHENG, R.; LI, F.E. LEI, M.G. Association of the A-G polymorphism in porcine adiponectin gene with fat deposition and carcass traits. **Asian-australasian Journal Animal Science**, v.19, n.6, p.779-783, 2006.

ERKENS,T.; POUCKE, M. V.; VANDESOMPELE, J.; GOOSSENS K.; ZEVEREN, A. V.; PEELMAN, L. J. Development of a new set of reference genes for normalization of real-time RT-PCR data of porcine backfat and *longissimus dorsi* muscle, and evaluation with *PPARGC1A*. **BMC Biotechnology**, v.6:41, 2006. doi:10.1186/1472-6750-6-41.

FISHER, A.V. A review of the technique of estimating the composition of livestock using the velocity of ultrasound. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.17, p.217-231, 1997.

HAMMOND, J. **Farm Animals**. 2.ed., London: Edward Arnold, 1932. 322 p.

HUMMASTI, S.; TONTONNOZ, P. HRASLS3 is a PPARgamma-selective target gene that promotes adipocyte differentiation. **Journal of Lipid Research**, v.49, n.12, p.2535-2544, 2008.

JACOBS, K.; ROHRER, G.; VAN POUCKE, M.; PIUMI, F.; YERLE, M.; BARTHENSCHLAGER, H.; MATTHEEUWS, M.; VAN ZEVEEREN, A.; PEELMAN, L.J. Porcine *PPARGC1A* (peroxisome proliferative activated receptor gamma coactivator 1A): coding sequence, genomic organization, polymorphisms and mapping. **Cytogenetic and Genome Research**, v.112, n.2, p.106-113, 2006.

KEARNS, C.F.; MCKEEVER, K.H.; ROEGNER, V.; BRADY, S.M.; MALINOWSKI, K. Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. **Veterinary Journal**, v.172, n.3, p.460-465, 2005.

KHATIB H.; LEONARD S. D.; SCHUTZKUS, V.; LUO, W.; CHANG, Y. M. Association of the *OLR1* Gene with Milk Composition in Holstein Dairy Cattle. **Journal Dairy Science**, v.89, n.5, p.1753–1760, 2006.

KHATIB, H.; ZAITOUN, I.; WIEBELHAUS-FINGER, J.; CHANG, Y.M.; ROSA, G.J. The association of bovine *PPARGC1A* and *OPN* genes with milk composition in two independent Holstein cattle populations. **Journal Dairy Science**, v.90, n.6, p.2966-2970, 2007.

KISSEBAH, A.H.; SONNENBERG, G.E.; MYKLEBUST, J.; GOLDSTEIN, M.; BROMAN, K.; JAMES, R.G.; MARKS, J.A.; KRAKOWER, G.R.; JACOB, H.J.; WEBER, J.; MARTIN, L.; BLANGERO, J.; COMUZZIE, A.G. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. ***Proc Natl Acad Sci USA***, v.97, n.26, p.14478–14483, 2000.

LAUREANO, M.M.M.; BOLIGON, A.A.; COSTA, R.B.; FORNI, S.; SEVERO, J.L.P.; ALBUQUERQUE, L.G. Estimativas de herdabilidade e tendências genéticas para características de crescimento e reprodutivas em bovinos da raça Nelore. ***Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia***, v.63, n.1, p.143-152, 2011.

LEE, J.S.; KIM J.M.; HONG J.S.; LIM, K.S.; HONG, K.C.; LEE, Y.S. Effects of polymorphisms in the 3' untranslated region of the porcine *PPARGC1A* gene on muscle fiber characteristics and meat quality traits. ***Molecular Biology Reports***, v.39, n.4, p.3943-3950, 2012.

LÔBO, R.B.; BEZERRA, L.A.F.; VOZZI, P.A.; MAGNABOSCO, C.U.; ALBUQUERQUE, L.G.; SAINZ, R.D.; BERGMANN, J.A.G.; FARIA, C.U.; OLIVEIRA, H.N. **Avaliação genética de touros das raças Nelore, Guzerá, Brahman e Tabapuã: Sumário 2010**. Ribeirão Preto, ANCP, p.172, ilustr. 28 cm, 2010.

LOPES, M.S.; LOPES, M.T.G.; FIGUEIRA, A.; CAMARGO, L.E.A.; FUNGARO, M.H.P.; CARNEIRO, M.S.; VIEIRA, M.L.C. Marcadores moleculares dominantes (RAPD e AFLP). ***Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento***, Uberlândia, v.5, n.29, p.56-60, 2002.

LUCHIARI, A. F. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo, 2000, 134p.

MALHADO, C.H.M.; CARNEIRO, P.L.S. MARTINS FILHO, R.; AZEVÊDO, D.M.M.R; AFFONSO, P.R.A.M.; SOUZA, J.C. Correlações genéticas entre características de crescimento e parâmetros da curva em bovinos da raça Nelore. **Revista Científica de Produção Animal**, v.10, n.2, p.102-111, 2008.

MARTINEZ, M.L.; MACHADO, M.A. Programa genoma brasileiro de bovinos e suas perspectivas de aplicações práticas. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 4., 2002, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBMA, 2002.

MEIRELLES, S.L.; ALENCAR, M.M.; OLIVEIRA, H.N.; REGITANO, L.C.A. Efeitos de ambiente e estimativas de parâmetros genéticos para características de carcaça em bovinos da raça Canchim criados em pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.7, p.1437-1442, 2010.

MORSCI, N. S.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F. Association analysis of *adiponectin* and *somatostatin* polymorphisms on BTA1 with growth and carcass traits in Angus cattle. **Animal Genetics**, v. 37, n.6, p. 554–562, 2006.

PALSSON, H. Conformation and body composition. **Progress in the Physiology of Farm Animal**. London: Butterworths, 1955. 575 p.

PRADO, C.S.; PÁDUA, J.T.; CORRÊA, M.P.C. et al. Comparação de diferentes métodos de avaliação da área de olho de lombo e cobertura de gordura em bovinos de corte. *Cienc. Anim. Bras.*, v.5, p.141-149, 2004.

QIAO, L.; SCHAACK, J.; SHAO, J. Adiponectin Inhibits Lipolysis in Mouse Adipocytes. **Diabetes Publish Ahead**, v.60, n.5, p.1519-1527, 2011.

SAMULIN, J; BERGET, I.; LIEN, S.; SUNDVOLD, H.; Differential gene expression of fatty acid binding proteins during porcine adipogenesis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.151, n.2, p.147–152, 2008.

SAWAMURA, T.; KUME, N.; AOYAMA, T.; MORIWAKI, H.; HOSHIKAWA, H.; AIBA, Y.; TANAKA, T.; MIWA, S.; KATSURA, Y.; KITA, T.; MASAKI, T. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. **Nature**, v.386, p.73-77, 1997.

SCHERER, P. E.; WILLIAMS, S.; FOGLIANO, M.; BALDINI, G.; LODISH, H. F. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **JBS The of Biological Chemistry**, v.270, n.45, p.26746-26749, 1995.

SILVA , A. A.; AZEVEDO , A. L. S.; VERNEQUE ,R. S.; GASPARINI , K.; PEIXOTO, M. G. C. D.; SILVA ,M. V. G. B. ; LOPES, P. S.; GUIMARÃES , S. E. F.; MACHADO, M. A. Quantitative trait loci affecting milk production traits on bovine chromosome 6 in zebuine Gyr breed. **Journal Dairy Science**, v.94, n.2, p.971-980, 2011.

STACHOWIAK, M.; SZYDLOWSKI, M.; CIESLAK, J.; SWITONSKI, M. SNPs in the porcine *PPARGC1a* gene: interbreed differences and their phenotypic effects. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v.12, n.2, p.231-239, 2006.

TAROUÇO, J.U.; SOUZA, J.C.D.; ALMEIDA, J.C.C. Informações sobre a composição corporal "in vivo" em zebuínos obtidas pela técnica de ultra-sonografia "real-time". In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.252.

YOKOO M.J.I ; WERNECK, J. N.; PEREIRA, M.C.; ALBUQUERQUE, L. G; KOURY FILHO, W. ; SAINZ, R.D.; LOBO, R.B.; ARAÚJO, F.R.C. Correlações genéticas entre escores visuais e características de carcaça medidas por ultrassom em bovinos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.2, p.197-202, 2009.

WEIKARD, R.; KUHN, C.; GOLDAMMER, T.; FREYER, G.; SCHWERIN, M. The bovine *PPARGC1A* gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. **Physiological Genomics**, v.21, n.1, p.1-13, 2005.

WU, G.Q.; DENG, X.M.; LI, J.Y.; LI, N.; YANG, N. A potential molecular marker for selection against abdominal fatness in chickens. **Poultry Science**, v.85, n.11, p. 1896-1899, 2006.

ZHANG, L.; CHEN, H.; LAN, X.; ZHANG, C.; ZHANG, L.; ZHANG, A.; ZHANG, Q.; LEI, C.; ZHANG, H. The novel 5bp deletion polymorphism in the promoter region of bovine ACRP30 gene. **Molecular Biology Reports**, v.36, n.5, p.895-899, 2008.

CAPÍTULO 2 – POLIMORFISMOS NOS GENES *ACRP30*, *PPARGC1*, *OLR1* E SUAS ASSOCIAÇÕES COM CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E CARÇA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

RESUMO – Na pecuária de corte, programas de melhoramento genético visam ganho nas características ligadas à crescimento e carcaça, pois são elas que afetam diretamente no retorno econômico ao produtor. Genes relacionados à síntese de lipídeos e metabolismo podem afetar nas características de crescimento e de carcaça. Esses genes interferem no acúmulo de gordura nos tecidos musculares e adiposos. Marcadores moleculares podem auxiliar o processo de avaliação genética de características afetadas por efeitos poligênicos, colaborando com a predição do valor genético do animal. Foram utilizados 639 animais do Instituto de Zootecnia de Sertãozinho-IZ pertencentes a três linhas de seleção Controle (NeC), Seleção(NeS) e Tradição(NeT) em bovinos Nelore. Neste trabalho objetivou-se estudar marcadores moleculares nos genes *ACRP30/BsrI*, *PPARGC1/NheI* e *OLR1/PstI* pela técnica de PCR-RFLP onde foram detectados polimorfismos correspondentes aos sítios de restrição e os genótipos associados com medidas usadas em programas de melhoramento para avaliação genética de animais, como o peso ao nascer, peso no desmame, peso ao sobreano das fêmeas, altura ao sobreano da garupa das fêmeas, peso ao sobreano dos machos, altura ao sobreano da garupa dos machos, área de olho de lombo, espessura de gordura da garupa, espessura de gordura subcutânea animais, foi utilizado o PROC MIXED, do programa SAS/STAT 9.1.3. para análises de associações e Teste de Fisher para diferenciação entre populações do programa Genepop. A correção dos testes de hipóteses para comparações múltiplas foi feita pelo método de Bonferroni. Os genótipos apresentados foram associados com as características de crescimento e carcaça, não apresentando efeitos significativos na população estudada.

Palavras chave: *Bos taurus indicus*, crescimento, carcaça, marcadores moleculares.

ABSTRACT – In beef cattle production, growth and carcass traits are of great importance for animal breeding programs, because they directly affect the economic return of the producer. Genes related to fat synthesis and metabolism may affect carcass and growth traits. These genes influence the fat deposition in muscle and adipose tissues. Molecular markers may help to study traits that are influenced by polygenic effects. In this study, 639 animals were genotyped by PCR-RFLP, for genes *ACRP30/BsrI*, *PPARGC1/NheI* and *OLR/PstI*, where polymorphisms were detected, corresponding to the restriction sites. For selection lines Control (NeC), Selection (NeS) and Tradition (NeT) in Nellore cattle, from the Institute of Zootecnia from Sertãozinho – IZ, associations were made with polymorphisms in the studied genes and the traits birth weight, weaning weight, yearling weight, yearling rump height, ribeye area, rump fat thickness and subcutaneous fat thickness, using the PROC MIXED from SAS/STAT 9.1.3. program for association analysis, and Fisher Test for population differentiation from Genepop program. The correctness of the hypothesis tests for multiple comparisons was made using the Bonferroni. The genotypes found were associated with the with growth and carcass traits but showed no significant effects on the studied population.

Keywords: *Bos taurus indicus*, growth, carcass, molecular markers.

1 INTRODUÇÃO

Com o mercado consumidor cada vez mais exigente, a pecuária de corte vem buscando atender as exigências de mercado, com ganho na melhoria da qualidade da carne, e buscando aproveitar o máximo a eficiência do animal, através de melhorias nas características que agreguem qualidade e rendimento de carcaça.

Para um produto de qualidade com boa aparência da carne, assim como conservação, a gordura exerce um papel de conservante e isolante térmico no congelamento da carne. Além de disso, a gordura é um nutriente fundamental e também importante componente do sistema de produção de carne, uma vez que, o acabamento da carcaça, os rendimentos de cortes, a maciez e a suculência do produto estão relacionados à quantidade e ao local de deposição de gordura (BERNDT et al., 2002).

Uma carne com pouca porcentagem de gordura e que sofre rápido resfriamento em câmara fria, é caracterizada pelo escurecimento, perda de água e endurecimento, pois não há uma espessura mínima de gordura para protegê-la. Frigoríficos tomam como padrão evitar carcaças com espessura de gordura abaixo de 3 mm e acima de 6 mm (RESTLE & VAZ, 2003).

Características de crescimento são variáveis apresentando diferenças no potencial de crescimento e produção entre as várias regiões do país e, também, entre os diversos sistemas de manejo (FERRAZ & ELLER, 2010). A técnica de ultrassom é usada na predição da quantidade de gordura do animal in vivo, desde a década de 1990 (TAROUÇO et al., 1993), sem nenhum prejuízo a carcaça e ao rendimento.

A fim de auxiliar o processo de predição do valor genético do animal, as medidas fenotípicas podem ser associadas ao uso de marcadores moleculares.

O objetivo do presente estudo foi detectar polimorfismos nos genes marcadores, ACRP30, OLR1 e PPARGC1 em bovinos da raça Nelore associados às características de crescimento e carcaça. Para tanto utilizamos a técnica de

PCR-RFLP que têm como finalidade gerar fragmentos pelo reconhecimento de sítios de clivagem pelas enzimas de restrição, possibilitando a análise de perfis polimórficos que possam estar associados às características de crescimento e carcaça em bovinos da raça Nelore.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Neste trabalho foram utilizados 639 animais, originários de três linhas de seleção, nascidos e criados extensivamente no Centro APTA Bovinos de Corte, Instituto de Zootecnia, localizado em Sertãozinho. Os animais fazem parte do Programa de Seleção das Raças Zebuínas e Caracu, iniciado em 1978. O projeto desenvolvido pelo Instituto de Zootecnia fornece indicativo do potencial genético dos animais adequados aos sistemas de produção em que o rebanho brasileiro é submetido seguindo critérios de seleção. O programa de seleção do Instituto de Zootecnia de Sertãozinho é único no mundo com raças zebu e é um exemplo didático de seleção dentro de rebanhos (MERCADANTE & RAZOOK, 2010). Nas linhas Seleção e Tradicional (NeS e NeT) os animais são selecionados para maior peso ao sobreano, e na linha Controle (NeC) os animais são selecionados para a média desse peso. Para esse estudo foram utilizados animais nascidos de 2003 a 2009, sendo que para linha Controle foram usadas medidas de informações de 104 animais, destes 21 eram machos e 83 eram fêmeas (NeC), para linha Seleção foram usados 189 animais, destes 30 eram machos e 159 fêmeas (NeS) e para linha Tradição o total de animais usados foi de 346 animais, desses 105 eram machos e 241 fêmeas (NeT). Dessa forma, considera-se que o desempenho atual da linha NeC seja representativo daquele da população existente na década de 1970. As linhas NeC e NeS são linhas fechadas enquanto que a linha NeT recebeu, ocasionalmente, touros trazidos de outros rebanhos.

2.2 Coleta de medidas: pesos e carcaça

As características avaliadas foram: peso ao nascer, peso a desmama (ajustado para 210 dias de idade -P210), peso ao sobreano ajustado para 550 dias de idade para fêmeas (P550), e altura da garupa ao sobreano (H550). Nos machos foram avaliados o peso ao sobreano (P378) e altura da garupa ao sobreano (H378).

As características de carcaça foram medidas aos $16,5 \pm 20$ meses de idade. Área de olho-de-lombo (AOL), foi medida transversalmente no músculo *Longissimus* entre as 12^a e 13^a costelas, é expressa em centímetros quadrados (cm²), e utilizada como característica indicadora de tecido muscular (carne) ou terminação do animal e rendimento de carcaça. Espessura de gordura subcutânea (EGS) medida na região entre as 12^a e 13^a costelas, quantifica a espessura de gordura subcutânea sobre o músculo *Longissimus*, é expressa em milímetros (mm), indica o grau de acabamento da carcaça, fator importante que determina a qualidade da carne por proteger a carcaça no resfriamento e possui correlação com o teor de gordura. Espessura de gordura de garupa (EGG) medida entre a intersecção dos músculos *Gluteus medius* e *Biceps femoris* localizada entre o ílio e o ísquio, é expressa em milímetros (mm), e também indica o grau de acabamento da carcaça, relacionando precocidade de crescimento e acabamento. Imagens em tempo real de ultrassom foram recolhidos usando 2 tipos de dispositivos, dependendo da ocasião: Aloka 500V (Corometrics Medical Systems Inc., Wallingford, CT) equipado com uma sonda linear de 17,2 cm e um transdutor de 3,5 MHz (Aloka Co. Ltd., Tóquio, Japão), e Pie Medical 401.347-Aquila (Esaote Europa BV, Maastricht, Países Baixos) equipado com uma sonda linear de 18 cm e um transdutor de 3,5 MHz. As imagens foram armazenadas e, posteriormente, interpretadas usando o programa Image Echo Visualizador 1,0 (Esaote Europa BV), com 1 casa decimal.

2.3 Coleta Material Biológico

Foram colhidos 5mL de sangue de cada animal, por punção da veia jugular, utilizando-se tubos vacutainer contendo 7,5 mg de EDTA. Os tubos contendo as amostras foram mantidos sob refrigeração até o momento da extração de DNA.

2.4 Análises laboratoriais

As análises foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp / Jaboticabal – SP.

2.4.1 Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído seguindo-se o protocolo do laboratório descrito por Zadworny & Kuhnlein (1990). Cerca de 1.000 µL de sangue foram homogeneizados com 800 µL de tampão TKM-1 e centrifugados por 15 minutos a 10.000 R.P.M. à temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e novamente homogeneizado com 2000 µL de tampão TKM-1. Este processo foi repetido até que se obtivesse um precipitado de coloração clara.

Logo em seguida, o sobrenadante foi descartado e homogeneizado com 1.000 µL de tampão TKM-2 e 100 µL de SDS (20%). Os eppendorfs foram então incubados em banho maria 55-62°C por 1 hora. Posteriormente, a solução foi homogeneizada com 400 µL de NaCl (6M), e centrifugada por 20 minutos a 14.000 R.P.M. à temperatura ambiente. Cerca de 1.000 µL do sobrenadante foram transferidos para um novo tubo eppendorf, homogeneizado com 700 µL de etanol absoluto gelado, e centrifugado por 15 minutos a 14.000 R.P.M. a 4 ° C. O sobrenadante foi descartado e, ao precipitado foram adicionados cerca de 700 µL de etanol (70%). A solução foi centrifugada por 5 minutos a 14.000 R.P.M. a 4 ° C.

Em seguida, o sobrenadante foi descartado e os tubos foram secados por inversão em papel toalha. O DNA foi ressuspensionado em 100 µL de tampão TE e armazenado em freezer a 4 ° C, para posterior utilização.

2.4.2 Quantificação do DNA

A quantidade e qualidade do DNA foi verificada com uso do aparelho do espectrofotômetro (Nanodrop 1000, Thermo Scientific, EUA, 2008) que é baseado no DNA possuir pico de absorbância de luz no comprimento 260 nm para quantificação e para obter a pureza (260/280). As amostras foram utilizadas somente quando obtinham valores de concentração maior ou igual a 100 ng/ µL, grau de pureza de 1,8 e 2, e pureza maior que 2.

2.4.3 Iniciadores específicos

Os primers *ACRP30* estão localizados no éxon 1 do cromossomo BTA 1, o *OLR1* localizado no cromossomo 5 éxon 5 que corresponde à região 3' não traduzida e, finalmente o *PPARGC1* localizado cromossomo 6.(Quadro 1). Os primers utilizados foram descritos na literatura para *Bos taurus taurus* conforme quadro abaixo.

Quadro 1. Primes descritos para os genes.

Genes	Primes utilizados	Citação
<i>ACRP30</i>	F 5'...TCCCGTCTTCTGTCGCTGTTGTAA...3' R 3'...TTTATTGCTGGACCATCCCTCCCA...5'	Morsci et al., 2006 (GenBank DQ156119.1)
<i>OLR1</i>	F 5'...AAGGCGAATCTATTGAGAGC...3' R 3'... ACTTCTCTGAAGTCCTGCA...5'	Khatib et al., 2006 (GenBank NW215807)
<i>PPARGC1</i>	F5'...GCGAGCACGGTGTTACATTACTAAGGAGAGTTGGCTAG...3' R 3'...GTTGTGTTGCACTCAATGGAC...5'	Khatib et al., 2007 (GenBank AY547552)

*F- Forward, *R- Reverse

2.4.4 Reação em Cadeia de Polimerase

A reação de PCR foi realizada utilizando 100 ng de DNA genômico, 1 µl na concentração de 15 pmol de cada primer e o kit GoTaq Green Master Mix (Promega). As reações de amplificação dos genes foram realizadas para volume final de 15 µl. Utilizou-se o termociclador de gradiente C-1000 (Biorad) do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP-Jaboticabal.

Para cada gene foi feita uma PCR gradiente a fim de padronizar uma temperatura ideal para anelamento de cada primer. No Quadro 2 podem ser visualizadas as condições de PCR para cada um dos genes estudados.

Quadro 2: Programa de amplificação para cada par de primers estudado.

Genes	Desnaturação inicial do DNA	Desnaturação do DNA do ciclo	Anelamento dos Primers	Extensão do DNA do ciclo	Extensão final do DNA	Número de ciclos
<i>ACRP30</i>	95°C - 5'	95°C - 45"	67°C - 45"	72°C - 1'	72°C - 5'	30
<i>OLR1</i>			56,6°C - 45"			
<i>PPARGC1</i>			58,8°C - 45"			

Uma alíquota de 3 µl de cada amostra juntamente com 2 µl de tampão de corrida (Gel Red) foi submetida à eletroforese em gel de agarose (2 %) em solução de TBE 1 X (Tris-HCl 89 mM; EDTA 2,5 mM e Ácido Bórico 89 mM e pH 8,3) a 90 V e visualizados em transiluminador Gel-Doc (Bio-Rad) e analisado com o "software Image Analysis" da Kodak para comprovar o tamanho do fragmento amplificado.

2.4.5 Técnica de RFLP (Polimorfismo do Comprimento do Fragmento de Restrição)

Para essa técnica foram utilizados 3 µL de produto de PCR, tampão de reação na concentração de 1X, BSA na concentração de 1X, 1U de enzima, e H₂O miliQ para um volume final de 10 µL, os produtos de PCR foram digeridos com as enzimas de restrição por 2 horas em Termociclador, as enzimas de restrição foram descritas na literatura juntamente com os pares de iniciadores específicos a cada gene, seguindo os ciclos citados no Quadro 3.

Quadro 3. Enzimas de restrição usadas para reconhecimento dos sítios de restrição.

Número do primer	Polimorfismos encontrados	Enzima de restrição	Sítio de restrição da enzima	Temperatura de clivagem
<i>ACRP30</i>	T/C	<i>BsrI</i>	5'...ACTGGN [▼] ...3' 3'...TGAC [▲] CN...5'	65°
<i>OLR1</i>	A/C	<i>PstI</i>	5'...CTGCAG...3' 3'...GACGTC...5'	37°C
<i>PPARGC1</i>	A/C	<i>NheI</i>	5'...GCTAGC...3' 3'...CGATCG...5'	37°C

Os produtos da digestão dos genes *ACRP30* e *PGC1* foram separados em gel de agarose (2%) em solução de TBE 1 X (Tris-HCl 89 mM; EDTA 2,5 mM e Ácido Bórico 89 mM e pH 8,3) a 90 V por 1 hora e 40 minutos, visualizados em transiluminador Gel-Doc (Bio-Rad), analisado com o software Image Analysis da Kodak e arquivados para genotipagem.

Para o gene *OLR1*, os produtos da digestão foram separados durante aproximadamente três horas por eletroforese em gel de agarose a 4 %, porém, em vista de um resultado mais claro, utilizou-se a eletroforese em gel de poliacrilamida a 8% (8 ml de acrilamida, 4 ml de TBE 10X, 40 µl de Temed, 30 mL de H₂O e 0,07 g de Persulfato de amônia), corados com Gel Red por três horas. Após eletroforese por 3 horas a 48 mA, a revelação dos géis de poliacrilamida foi feita com nitrato de prata, conforme protocolo abaixo:

1. Agitação por 5 minutos em solução contendo 0,15 % de nitrato de prata (AgNO_3), 20 % de álcool etanol, 1 % de ácido acético glacial e 500 mL de água destilada.
2. Agitação por 5 minutos em solução reveladora contendo 2,2 % de hidróxido de sódio (NaOH), 0,5 % de formaldeído e 500 mL de água destilada.
3. Agitação por 5 minutos em solução fixadora contendo 20 % de álcool etanol, 1% de ácido acético glacial e 500 mL de água destilada.

2.5 Análises Estatísticas

2.5.1 Frequências

As frequências gênicas e genótípicas dos PCR-RFLPs observados nos genes, *ACRP30*, *OLR1* e *PPARGC1* foram estimadas conforme o procedimento descrito por Weir (1990), cujas equações são descritas a seguir:

Frequência Gênica

$$p = \frac{2N_{AA} + N_{AB}}{2N}$$

$$q = \frac{2N_{BB} + N_{AB}}{2N}$$

Frequência genotípica

$$F(AA) = \frac{N_{AA}}{N}$$

$$F(AB) = \frac{N_{AB}}{N}$$

$$F(BB) = \frac{N_{BB}}{N}$$

Sendo que:

N_{AA} = Número de animais de genótipo AA

N_{BB} = Número de animais de genótipo BB

N_{AB} = Número de animais de genótipo AB

N = Número total de animais da amostra

p = Frequência do alelo A

q = Frequência do alelo B

2.5.2 Comparação das frequências gênicas entre as três linhas de seleção

Para comparar as frequências gênicas entre as três linhas de seleção, foi usado o Teste de Fisher para diferenciação entre populações do programa Genepop, versão 3.4 (<http://genepop.curtin.edu.au/>). O valor de P menor ou igual a 0,05 foi considerado significativo.

2.5.3 Análise de associação entre os marcadores e as características de desenvolvimento ponderal e de carcaça

As análises de associações entre os polimorfismos e as características foram feitas utilizando o PROC MIXED, do programa SAS/STAT 9.1.3 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA), descrito como:

$$y = X\beta + Zu + e,$$

onde y é um vetor de observações fenotípicas, X e Z são matrizes de incidência associando o fixo e aleatório efeitos, respectivamente, para Y ; β é um vetor de efeitos fixos; u é um vetor de efeitos de touro e, e é um vetor de resíduos. Assumindo: $E[y] = X\beta$; $E[u] = E[e] = 0$; $V[u] = I_{Nu}$ e σ^2_u $V[e] = I_N$ e σ^2_e , onde E = valor esperado, V = variância, σ^2_u = variância do touro, σ^2_e = variância residual. I =identidade da matrix, e N_u e N = número de reprodutores e animais, respectivamente.

O modelo incluiu o marcador molecular (*ACRP30/BsrI*, *OLR1/PstI* e *PPARGC1/NheI*), grupo contemporâneos (ano de nascimento x linha, 1, ..., 17), sexo e mês de nascimento (set, out, nov, dez) como efeitos classificatórios, idade da mãe e idade de registro, como covariáveis lineares e efeito de touro aleatório (1, ..., 70). A correção dos testes de hipóteses para comparações múltiplas foi feita pelo método de Bonferroni.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Médias dos pesos e medidas das características estudadas

As médias observadas dos pesos e medidas dos animais, dentro de cada grupo de seleção mostraram que a linha NeC apresentaram as menores médias para características de crescimento em relação às linhas NeS e NeT. A linha seleção apresentou médias mais altas para, altura ao sobreano da garupa das fêmeas (H550) e altura ao sobreano da garupa dos machos (H378), enquanto que a linha tradicional apresentou médias mais altas para, peso ao nascimento (PN), peso no desmame (P210), peso ao sobreano em fêmeas (P550), peso ao sobreano dos machos (P378), espessura de gordura da garupa (EGG), espessura de gordura subcutânea (EGS) e área de olho de lombo (AOL), apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Médias observadas para cada característica, em cada linha de seleção.

Características		NeC		NeS		NeT	
		M	DP	M	DP	M	DP
PN	(kg)	25,12	(3,6)	32,05	(5,3)	32,23	(4,9)
P210	(kg)	158,54	(24)	190,7	(30,7)	197,80	(30,1)
P550	(kg)	253,86	(23,8)	312,55	(33,1)	315,03	(42,3)
H550	(cm)	127,42	(3,9)	134,81	(3,9)	134,15	(4,6)
H378	(cm)	125,05	(2,8)	133,16	(5,0)	133,01	(4,1)
P378	(kg)	280,15	(25,2)	351,84	(36,3)	357,12	(37,2)
AOL	(cm ²)	45,41	(5,5)	46,64	(7,3)	49,36	(6,9)
EGS	(mm)	1,67	(0,6)	1,76	(0,6)	1,78	(0,8)
EGG	(mm)	3,98	(1,9)	4,39	(1,9)	4,51	(1,9)

NeC= Linha Controle; NeS= Linha Seleção; NeT= Linha Tradicional; M=média para característica; DP=desvio padrão para característica.

3.2 Qualidade e quantificação DNA

O DNA obtido nas extrações mostrou-se de qualidade e concentrações semelhantes, livres de impurezas e solventes. Foram medidos através de espectrofotômetro a 260 nm (Figura 1) e também confirmadas através de corridas em gel e agarose a 1,5 aplicando-se Gel Red e cerca de 2 μ L da solução obtida em gel de agarose 1,5%, preparado com tampão T.B.E. na concentração de 1X (Figura 2).

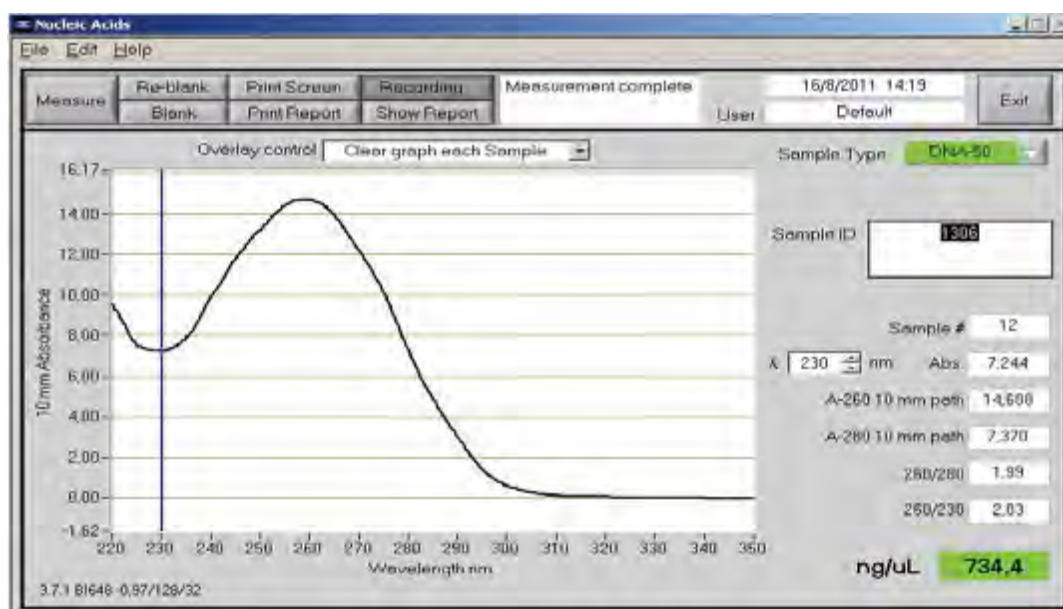


Figura 1 Amostra de DNA total verificada com uso do aparelho espectrofotômetro (Nanodrop 1000, Thermo Scientific, EUA, 2008).

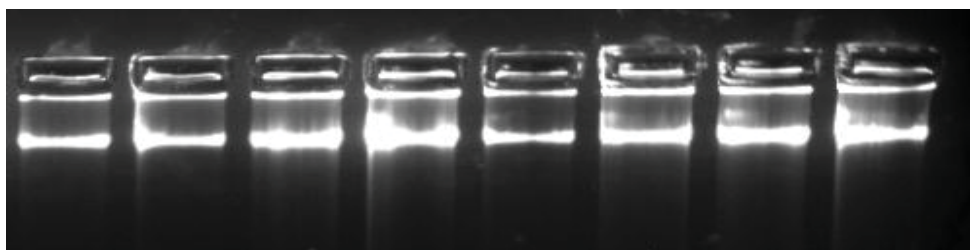


Figura. 2. Amostras de DNA provenientes de animais da raça Nelore da Estação Experimental de Sertãozinho – IZ.

3.3 Reação da Polimerase em Cadeia

Para o polimorfismo no gene *ACRP30* descrito por Morsci et al., (2006) foi observado um fragmento de 639 pb, para o polimorfismo no gene *OLR1* descrito por Khatib et al. (2006), a amplificação resultou num fragmento de 269 pb e, para o gene *PPARGC1* obtivemos um fragmento de 358 pb conforme descrito por Khatib et al., (2007). Os fragmentos obtidos podem ser visualizados nas Figuras 3, 4 e 5, respectivamente.

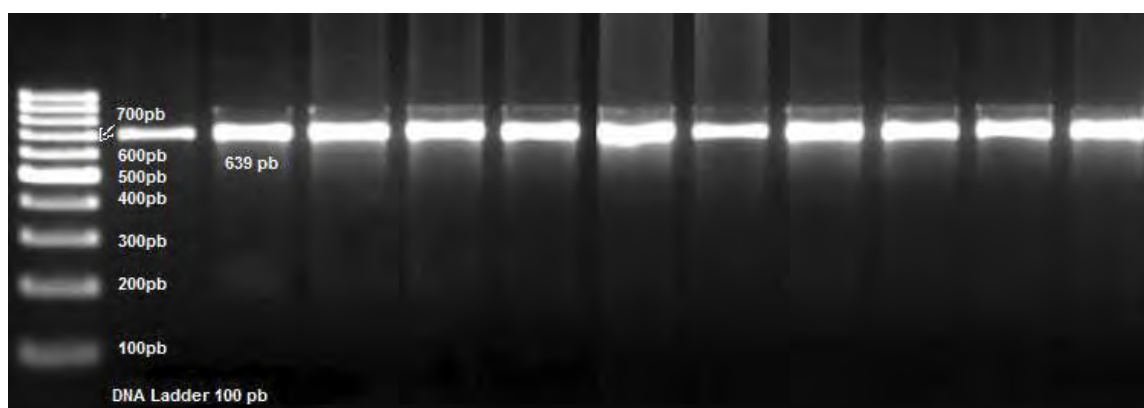


Figura 3. Fragmentos de 639 pb do gene *ACRP30* amplificados por PCR com uso de primes específicos em bovinos da raça Nelore.

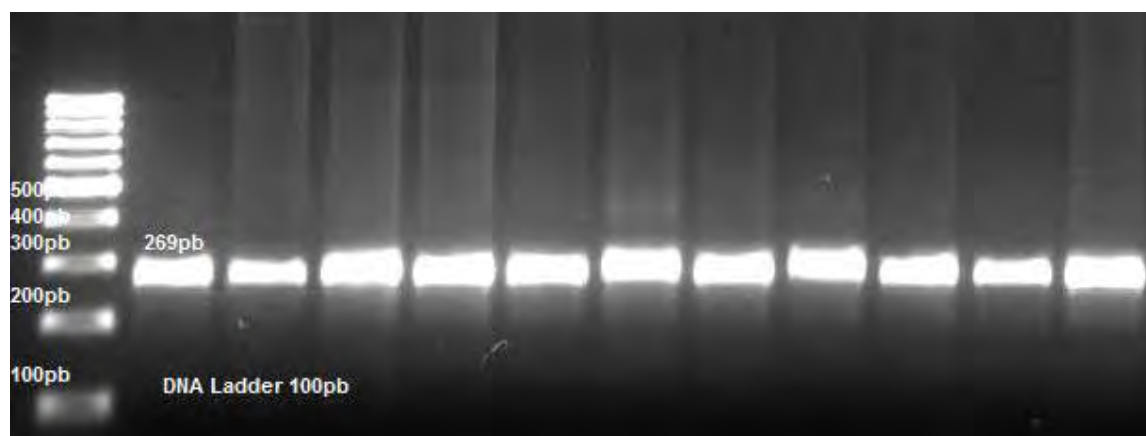


Figura 4. Fragmentos de 269 pb do gene *OLR1* amplificados por PCR com uso de primes específicos em bovinos da raça Nelore.

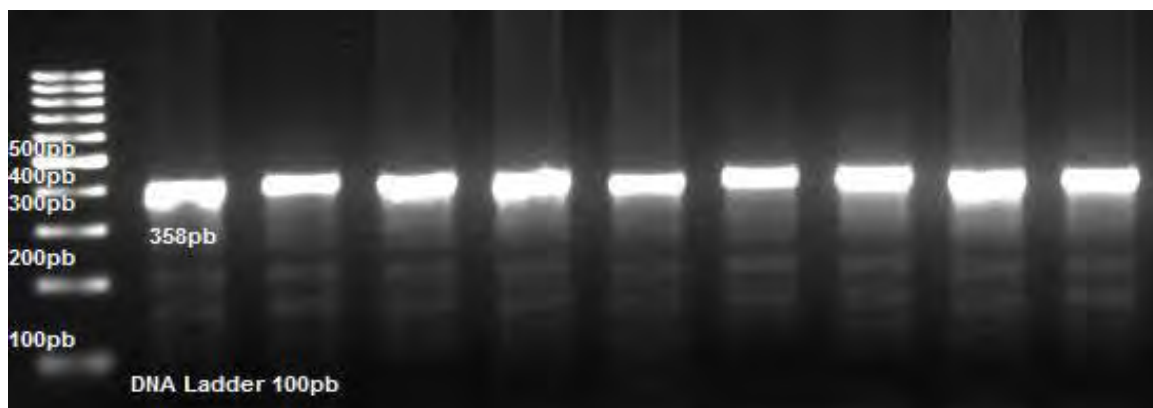


Figura 5. Fragmentos de 358 pb do gene *PPARGC1* amplificados por PCR com uso de primers específicos em bovinos da raça Nelore.

3.4 Genotipagem por RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição)

Para o gene *ACRP30*, que obteve seu amplicon de 639 pb, a utilização da enzima de restrição *BsrI* foi capaz de distinguir os três genótipos formados pelo polimorfismo T/C. O homozigoto TT pode ser verificado pela presença da banda de 455/184pb, o homozigoto CC pela banda de 351/184/104pb, enquanto o heterozigoto TC pelas bandas de 455/351/184/104 pb, o fragmento de 184 pb apresentou difícil visualização em gel de agarose (Figura 6).

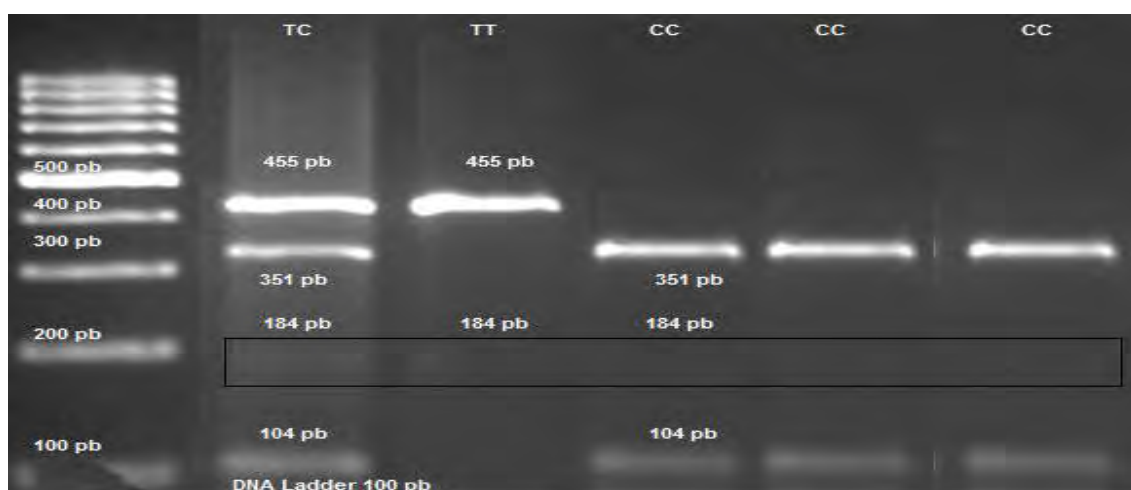


Figura 6. Representação dos 3 padrões de migração obtidos pela técnica de PCR-RFLP/*BsrI* para o gene *ACRP30*.

Para, o gene *OLR1*, que obteve seu amplicon de 269 pb, a utilização da enzima de restrição *PstI* foi capaz de distinguir os três genótipos formados pelo polimorfismo *A/C*. Foi obtido um fragmento de 269 pb para o homozigoto AA, um fragmento de 254 pb para o homozigoto CC, e heterozigoto (269/254pb) representando o genótipo AC (Figura 7).

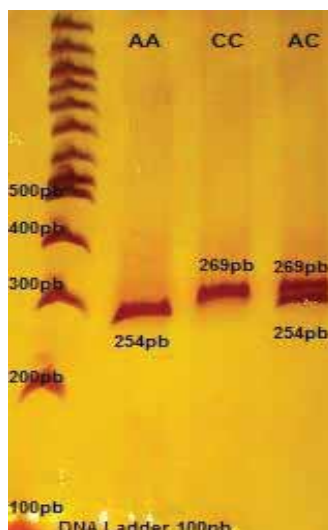


Figura 7 Representação dos 3 padrões de migração obtidos pela técnica de PCR-RFLP/*PstI* para o gene *OLR1*.

Para o gene *PPARGC1* que foi amplificado com 358 pb, utilizou-se a enzima de restrição *NheI*, gerando fragmentos de 358 pb para os homozigotos AA, 324 pb para o homozigoto CC, e fragmentos de 358 e 324 pb para o heterozigoto AC (Figura 8).

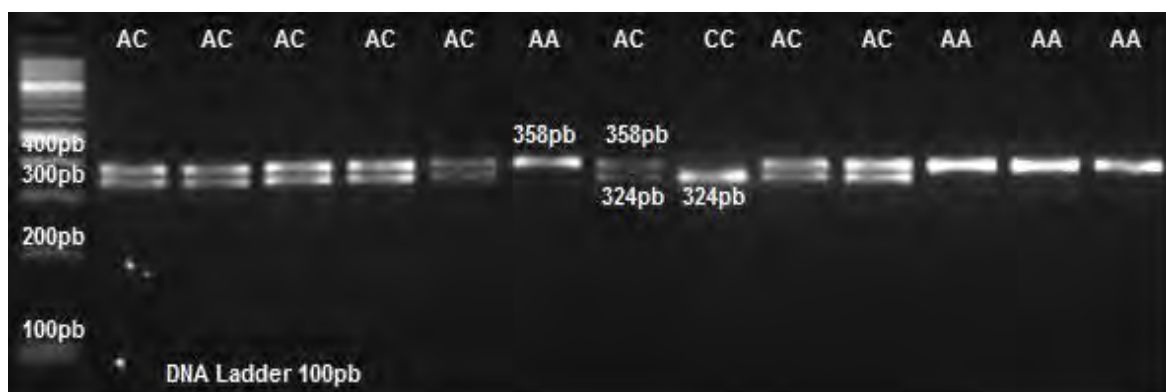


Figura 8. Representação dos 3 padrões de migração obtidos pela técnica de PCR-RFLP/*NheI* para o gene *PPARGC1*.

3.5 Análises Estatísticas

3.5.1 Frequências gênica e genotípicas

As frequências alélicas e genotípicas podem ser visualizadas na Tabela 2. No presente estudo, para o marcador *ACRP30/BsrI* a frequência do alelo T foi maior nas linhas NeC e NeS, enquanto o alelo C foi mais frequente na linha NeT. Para o marcador *OLR1/PstI*, a frequência do alelo C foi maior entre as três linhas de seleção. Para o marcador *PPARGC1/NheI* o alelo A obteve maior frequência nas três linhas de seleção.

Tabela 2. Frequências alélica e genotípica dos marcadores estudados na raça Nelore e nas três linhas de seleção para crescimento.

Marcador/linha	Frequência Genotípica			Frequência Alélica	
	TT	TC	CC	T	C
<i>ACRP30/BsrI</i>					
NeC	0,41	0,24	0,35	0,53	0,47
NeS	0,42	0,22	0,36	0,53	0,47
NeT	0,34	0,16	0,50	0,42	0,58
<i>OLR1/PstI</i>					
NeC	0,08	0,20	0,72	0,17	0,83
NeS	0,03	0,14	0,82	0,11	0,89
NeT	0,12	0,17	0,70	0,21	0,79
<i>PPARGC1/NheI</i>					
NeC	0,69	0,17	0,13	0,78	0,22
NeS	0,49	0,38	0,13	0,68	0,32
NeT	0,39	0,49	0,12	0,63	0,37

NeC = Linha Controle; NeS = Linha Seleção; NeT = Linha Tradicional

O Teste de Fisher revelou diferenças significantivas nas frequências alélicas dos marcadores *ACRP30/BsrI* e *PPARGC1/NheI* nas linhas NeC e NeT. Entre as linhas NeS e NeT as frequências alélicas dos marcadores *ACRP30/BsrI* e *OLR1/PstI* foram significativamente diferentes, enquanto que para o marcador *PPARGC1/NheI* houve diferença significativa apenas entre as linhas NeC e NeS (Tabela 3).

Diferenças entre a linha NeT e as outras linhas (NeC e NeS) podem ser atribuídas ao esquema de seleção. As linhas NeC e NeS são linhas de seleção fechadas onde todos os animais são descendentes da linha ancestral de 1978 formada no próprio Instituto de Zootecnia. A linha NeT, por outro lado, recebeu eventualmente touros provados de linhas comerciais. Porém, era esperado que a linha NeC apresentasse as maiores diferenças em relação as duas linhas selecionadas, fato que não foi observado.

Tabela 3. Valores de P obtidos pelo Teste de Fisher para a comparação dos pares de populações de frequências alélicas entre as três linhas de seleção.

Pares de Populações	P		
	<i>ACRP30/ BsrI</i>	<i>OLR1/PstI</i>	<i>PPARGC1/NheI</i>
NeC vs NeT	<0.007	0.42	<0.0003
NeC vs NeS	0.92	0.27	<0.01
NeS vc NeT	<0.0002	<0.007	0.19

NeC = Linha Controle; NeS = Linha Seleção; NeT = Linha Tradicional

3.5.2 Análise de associações de características de crescimento e carcaça

O polimorfismo encontrado no presente estudo para *ACRP30/BsrI* foi responsável pela troca de base de um T/C no éxon1 e está ligado a síntese metabólica e expressão no tecido adiposo. De acordo com os resultados das análises de associação com as características fenotípicas o marcador *ACRP30/BsrI* teve efeito significativo para a característica espessura de gordura subcutânea, relacionada à composição da carcaça (Tabela 4). Essa característica apresentou relevância em estudo realizado por Morsci et al. (2006), onde foi afetado o marmoreio, área de olho de lombo e, espessura de gordura subcutânea para bovinos da raça Angus, sugerindo que este gene é um importante candidato para as características de produção animal. Após a aplicação da correção de

Bonferroni para manutenção da taxa de erro nos testes estatísticos, os valores foram considerados não significativos para associações entre o polimorfismo e as características relacionadas à composição da carcaça e características de crescimento.

Em suínos, foram encontrados efeitos significativos para o marcador *ACRP30/AcyI*, neste caso houve uma substituição de A/G (DAI et al., 2006). O polimorfismo descrito por Fang et al. (2011), sugerem que o gene *ACRP30*, pode ser considerado marcador genético para índices de crescimento em cabras.

De acordo com os resultados das análises de associação entre o marcador *OLR1/PstI* e as características avaliadas, foram observados, valores significativos para as características de peso ao desmame, altura ao sobreano em machos, espessura de gordura subcutânea e espessura de gordura de garupa (Tabela 4). Porém, após a aplicação da correção de Bonferroni para manutenção da taxa de erro nos testes estatísticos, o valor foi considerado não significativo para associações entre o polimorfismo e as características relacionadas à composição da carcaça e características de crescimento.

OLR1/PstI, relatado por Khatib et al. (2006), mostra efeitos significativos sobre a produção de gordura no leite em bovinos da raça Holandesa. Komisarek et al. (2009) volta a confirmar em seu estudo, que um efeito positivo do alelo C em bovinos da raça holandesa, tem relevância sobre a produção de gordura do leite. O mecanismo pelo qual o polimorfismo no gene *OLR1* influencia na produção de gordura do leite, pode ser baseada na eficiência do receptor de lipoproteína circulante no sangue.

Os resultados das análises para associação com as características fenotípicas e o marcador *PPARGC1/NheI*, foi não significativa para associações entre o polimorfismo e as características relacionadas à composição da carcaça e características de crescimento, como mostra a tabela 4.

Para o gene *PPARGC1/NheI* houve troca de A/C, Khatib et al. (2007) encontraram associações significativas dos genótipos para importantes características, como composição de gordura no leite. Weikard et al. (2005),

estudaram os efeitos dos genótipos sobre o aumento na produção de leite em gado Holandês, onde o genótipo heterozigoto AC apresentou maior média na produção total de gordura do leite.

Importantes características de qualidade de carcaça foram observados em suínos por Lee et al. (2012), sugerindo que *PPARGC1* pode ser um gene candidato á deposição de gordura subcutânea. Nesse estudo as frequências do alelo A e C em suínos, foram similares ao nosso estudo, onde foi demonstrado que o genótipo CC teve efeito positivo na qualidade de carcaça dos animais. Suínos de diferentes raças apresentaram, associações significantes para características de qualidade da carne e fibras musculares (LEE et al., 2012).

Tabela 4. Valores nominais de P, médias dos mínimos quadrados e erro padrão (em parênteses) obtidos para os marcadores *ACRP30/ BsrI*, *OLR1/ PstI* e *PPARGC1/ NheI* em características de crescimento e carcaça.

Marcador	Características								
	PN (kg)	P210 (kg)	P550 (kg)	H550 (cm)	P378 (kg)	H378 (cm)	AOL (cm ²)	EGG (mm)	EGS (mm)
<i>ACRP30/ BsrI</i>									
P	0,08	0,80	0,78	0,29	0,68	0,51	0,86	0,40	0,01
TT	31,80 (0,63)	191,67 (4,25)	293,11 (4,89)	132,31 (0,65)	342,02 (12,74)	131,97 (1,30)	47,26 (1,40)	4,47 (0,35)	1,51 (0,16)
TC	32,34 (0,73)	189,25 (4,72)	289,84 (5,37)	131,41 (0,71)	352,76 (16,62)	133,75 (1,69)	47,25 (1,66)	3,99 (0,42)	1,17 (0,19)
CC	31,11 (0,57)	189,64 (3,73)	291,94 (4,28)	131,31 (0,63)	350,37 (12,26)	132,74 (1,25)	47,86 (1,26)	4,41 (0,31)	1,70 (0,15)
<i>OLR1/ PstI</i>									
P	0,17	0,01	0,37	0,74	0,18	0,03	0,60	0,04	0,05
AA	32,62 (0,85)	199,85 (5,48)	297,26 (6,62)	132,19 (0,87)	363,49 (15,85)	134,99 (1,61)	48,36 (1,72)	4,68 (0,43)	1,72 (0,20)
AC	31,50 (0,67)	183,83 (4,44)	288,60 (5,07)	131,56 (0,67)	335,92 (14,25)	130,84 (1,46)	46,66 (1,49)	4,32 (0,37)	1,35 (0,18)
CC	31,23 (0,51)	186,88 (3,40)	289,03 (3,95)	131,64 (0,56)	345,74 (11,19)	132,64 (1,14)	47,35 (1,16)	3,86 (0,29)	1,31 (0,14)
<i>PPARGC1/ NheI</i>									
P	0,16	0,36	0,61	0,63	0,31	0,72	0,65	0,64	0,68
AA	32,13 (0,55)	192,97 (3,65)	292,88 (4,36)	131,86 (0,58)	357,93 (11,91)	133,27 (1,22)	47,54 (1,28)	4,38 (0,32)	1,48 (0,15)
AC	32,23 (0,61)	190,09 (4,08)	288,68 (4,65)	132,05 (0,61)	345,18 (13,04)	132,48 (1,33)	48,11 (1,34)	4,41 (0,33)	1,53 (0,16)
CC	30,98 (0,76)	187,49 (4,93)	288,61 (5,54)	131,44 (0,73)	342,05 (15,63)	132,71 (1,59)	46,71 (1,68)	4,07 (0,43)	1,37 (0,20)

PN: peso ao nascer; P210: peso no desmame; P550: peso ao sobreano das fêmeas; H550: altura ao sobreano da garupa das fêmeas; P378: peso ao sobreano dos machos; H378: altura ao sobreano da garupa dos machos; AOL: área de olho de lombo; EGG: espessura de gordura da garupa; EGS: espessura de gordura subcutânea.

4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados podemos concluir que:

Polimorfismos encontrados em *Bos taurus taurus* nos genes ACRP30, OLR1 e PPARGC1, foram confirmados em *Bos taurus indicus*, sendo que, a relação polimorfismo x associação com característica de interesse em bovinos Nelore, podem não apresentar as mesmas relevâncias que as constatadas em *Bos taurus taurus*.

Em razão de testes feitos para correção de erros nas análises, os genes para marcadores estudados, *ACRP30/BsrI*, *OLR1/PstI* e *PPARGC1/NheI*, não apresentaram valores significantes para a ganho nas características avaliadas para efeitos nas linhas de seleção. Sendo assim, conclui-se que estes marcadores não são adequados para a utilização em seleção assistida por marcadores ou seleção genômica de características de crescimento e carcaça, em programas de melhoramento. Estudos posteriores analisando outros polimorfismos nos genes ACRP30, OLR1 e PPARGC1, talvez possam influenciar nas características de crescimento e carcaça, em bovinos da raça Nelore.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNDT, A.; ALMEIDA, R.; LANNA, D.P. Importância da gordura na eficiência de produção, qualidade da carne e saúde do consumidor. In: **ENCONTRO NACIONAL DO NOVILHO PRECOCE**, 7., 2002, Cuiabá. Anais... Cuiabá: 2002.1 CD ROM.

DAI, L.H.; XIONG, Y.Z.; DENG, C.Y.; JIANG, S.W.; ZUO, B.; ZHENG, R.; LI, F.E. LEI, M.G. Association of the A-G polymorphism in porcine adiponectin gene with fat deposition and carcass traits. **Asian-australasian Journal Animal Science**, v.19, n.6, p.779-783, 2006.

FANG, X.; DU, Y.; ZHANG, C.; SHI, X.; CHEN, D.; SUN, J.; JIN, Q.; LAN, X.; CHEN, H. Polymorphism in a Microsatellite of the Acrp30 Gene and Its Association with Growth Traits in Goats. **Biochem Genet**, v.49, n.8, p.533–539, 2011.

FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P. Parceria público x privada no desenvolvimento de pesquisa em melhoramento genético animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 216-222, 2010. Suplemento especial.

KHATIB H.; LEONARD S. D.; SCHUTZKUS, V.; LUO, W.; CHANG, Y. M. Association of the *OLR1* Gene with Milk Composition in Holstein Dairy Cattle. **Journal Dairy Science**, v.89, n.5, p.1753–1760, 2006.

KHATIB, H.; ZAITOUN, I.; WIEBELHAUS-FINGER, J.; CHANG, Y.M.; ROSA, G.J. The association of bovine *PPARGC1A* and *OPN* genes with milk composition in two independent Holstein cattle populations. **Journal Dairy Science**, v.90, n.6, p.2966-2970, 2007.

KOMISAREK, J.; DORYNEK, Z. Effect of ABCG2, PPARGC1A, OLR1 and SCD1 gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production

traits in Polish Holstein-Friesian bulls. **Journal of Applied Genetics**, v.50, n.2, p. 125–132, 2009.

LEE, J.S.; KIM, J.M.; HONG, J.S.; LIM, K.S.; HONG, K.C.; LEE, Y.S. Effects of polymorphisms in the 3' untranslated region of the porcine PPARGC1A gene on muscle fiber characteristics and meat quality traits. **Molecular Biology Reports**, v.39, n.4, p.3943-3950, 2012.

MORSCI, N. S.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F. Association analysis of *adiponectin* and *somatostatin* polymorphisms on BTA1 with growth and carcass traits in Angus cattle. **Animal Genetics**, v. 37, n.6 p.554–562, 2006.

MERCADANTE, M. E. Z. ; RAZOOK, A. G. Programa de melhoramento genético do Instituto de Zootecnia. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de Corte**. 1 ed. Piracicaba: FEALQ, 2010, v. 2, p. 847-860.

RESTLE, J.; ALVES FILHO, D.C.; PASCOAL, L.L. et al. Terminação em confinamento de novilhos com diferentes pesos iniciais. In: 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 40, 2003, Santa Maria. **Anais...**Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. CD ROM.

TAROUCO, J.U.; SOUZA, J.C.D.; ALMEIDA, J.C.C. Informações sobre a composição corporal "in vivo" em zebuínos obtidas pela técnica de ultra-sonografia "real-time". In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECCIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.252.

ZADWORNÝ, D.; KUHLEIN, U. The identification of the kappa-casein genotype in Holstein dairy cattle using the polymerase chain reaction. **Theoretical and Applied Genetics**, v.80. n.5, p.631-634, 1990.

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

WEIKARD, R.; KUHN, C.; GOLDAMMER, T.; FREYER, G.; SCHWERIN, M. The bovine *PPARGC1A* gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. **Physiological Genomics**, v.21, n.1, p.1-13, 2005.