

# Simposio Iberoamericano Sobre Conservación y Utilización de Recursos **Zoogenéticos**

Palmira - Valle - Colombia 11, 12 y 13 de noviembre de 2009  
Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

## MEMORIAS

### Editores

Luz Angela Alvarez Franco  
Jaime Eduardo Muñoz Flores  
Universidad Nacional de Colombia



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE PALMIRA



COLCIENCIAS  
COLOMBIA



UNIVERSIDAD DE CORDOBA



# FREQÜÊNCIA ALÉLICA DE GENES CANDIDATOS RELACIONADOS ÀS CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS NA RAÇA BOVINA BRASILEIRA CRIOLA LAGEANA VISANDO SUA INSERÇÃO NO MERCADO CONSUMIDOR

Vanessa Carvalho<sup>1</sup>; Vera Maria V. Martins<sup>2</sup>; Alexandre F. Ramos<sup>1</sup>; Edison Martins<sup>3</sup>; Arthur S. Mariante<sup>1</sup>;

Maria do Socorro M. Albuquerque<sup>1</sup>; Joandes H. Fontequê<sup>2</sup>; Maria Isabel Queiroz<sup>4</sup>; Andréa A. Egito<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Brasil (egito@cenargen.embrapa.br)

<sup>2</sup>Centro Agroveterinário-UDESC, Lages, SC

<sup>3</sup>Associação Brasileira de Criadores da Raça Criola Lageana, Lages, SC

<sup>4</sup>Fundação Universidade de Rio Grande, Rio Grande - RS

\*Bolsista CNPq/PIBIC

## Introdução

Sabe-se que a manutenção das raças naturalizadas depende de sua inserção nos sistemas de produção existentes (Egito *et al.*, 2004). O gado Criolo Lageano, adaptado aos campos do Planalto Sul Catarinense no Brasil, descendente de animais trazidos por colonizadores no período do descobrimento (Mariante & Egito, 2002). Embora diversos criadores comentem suas qualidades cárneas e leiteiras não existem ainda estudos que caracterizem e comprovem a maciez de sua carne e seu sabor diferenciado, bem como sua habilidade como boa produtora de leite.

Estudos relacionados à busca de uma Indicação de Procedência para a raça, dada as peculiaridades citadas acima e a inserção da mesma em um mercado de qualidade caracterizado pela produção de carne e leite com alto valor agregado estimularia o interesse comercial e de criadores na formação de plantéis desta raça.

Diversos genes, com alelos favoráveis associados ao marmoreio e maciez da carne assim como a produção e qualidade do leite já estão descritos na literatura. Entre os vários marcadores utilizados estão o gene DGAT1 (diacylglicerol O-acyltransferase 1) e o gene TG (tiroglobulina), mapeados na região centromérica do cromossomo 14. Barendse (1999) classificou o gene codificador da tiroglobulina, devido a estreita ligação com o locus CSSM66, como um candidato posicional para características de composição e qualidade da carne, tendo observado a associação de um polimorfismo na região 5' UTR do mesmo com o maior marmoreio cárneo. A substituição de uma lisina por uma alanina (K232A) no gene DGAT1, que codifica uma enzima que catalisa a última etapa da síntese de triglicérides, foi associada ao aumento do conteúdo de gordura do leite e sua produção em bovinos proporcionando uma melhor qualidade do produto (Grisart *et al.*, 2004).

Como parte do programa de conservação de raças naturalizadas este trabalho objetivou analisar a frequência alélica dos genes TG5 e DGAT1 na raça Criola Lageana visando contribuir para a criação e manejo de seus rebanhos visando fortalecer o desenvolvimento sócio-econômico da região dos planaltos catarinenses e, adicionalmente, promover a sua conservação.

## Materiais e Métodos

Foram genotipados 82 indivíduos da raça bovina Crioula Lageana. O DNA genômico foi obtido a partir de amostras sanguíneas sendo a genotipagem realizada pela técnica PCR-RFLP.

O gene TG foi amplificado com os *primers* descritos por Thaller *et al.* (2003), obtendo-se um fragmento de 548bp, onde se localiza o polimorfismo denominado por Barendse (1999) de TG5. As reações de PCR foram feitas com um volume final de 20 $\mu$ L, utilizando-se 9 ng de DNA genômico; tampão 1X; 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>; 200 $\mu$ M de cada dNTP; 0,5 $\mu$ M de primer; 1,0UI de Taq DNA polimerase. O protocolo da PCR foi de 94°C/5' seguido de 35 ciclos a 94°C/1', 69°C/1' e 72°C/1' e extensão final de 72°C/10'. O fragmento amplificado foi digerido com 1,5 UI da enzima de restrição *Bst*YI a 60°C/1h, com inativação a 80°C/20'. A separação dos produtos digeridos foi feita em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo. Seguindo a descrição de Barendse (1999), os alelos foram denominados de '2', quando a digestão dava origem a 3 fragmentos de 75, 178 e 295bp e de alelo '3' quando apareciam apenas dois fragmentos, um de 75bp e outro de 473bp.

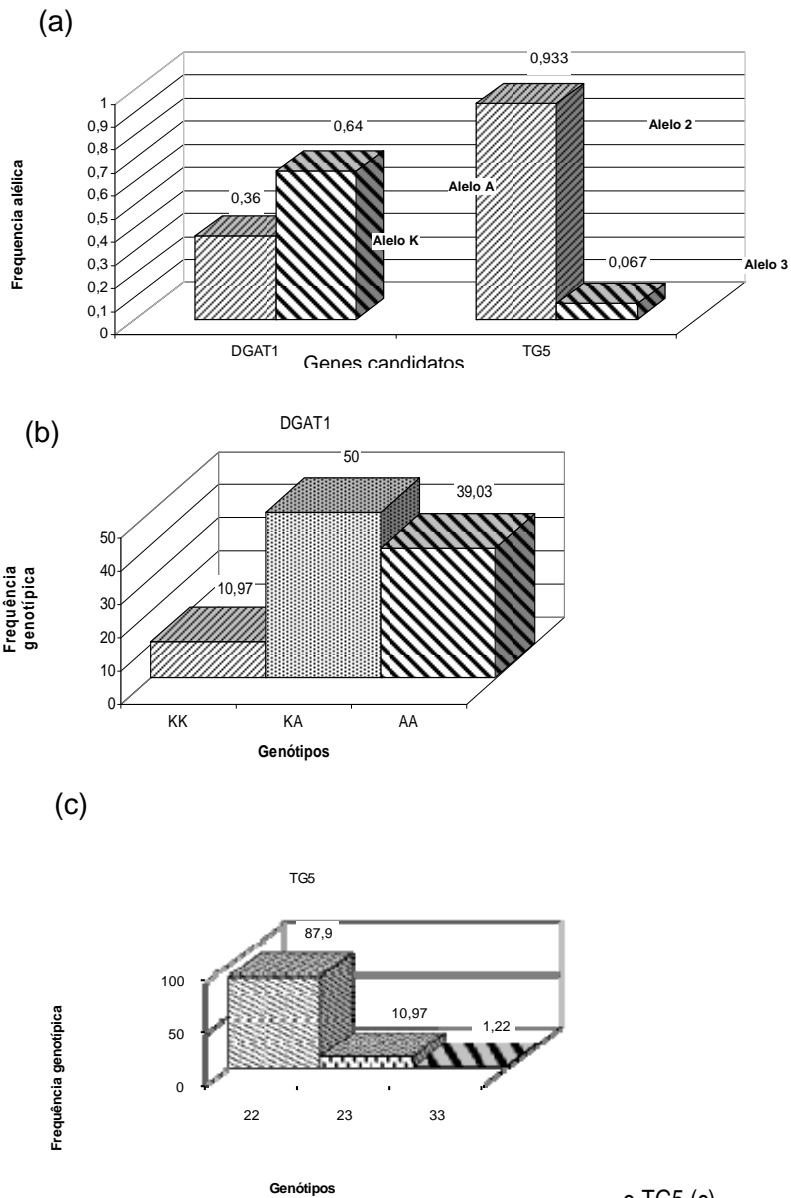
Para o DGAT1 foi amplificado um fragmento de 411bp, onde ocorre a substituição de uma lisina por uma alanina (K232A), com os *primers* descritos por Thaller *et al.* (2003). As reações de PCR foram semelhantes ao realizado para a amplificação do gene TG, excetuando-se a temperatura de anelamento que foi de 60°C. O fragmento amplificado foi digerido com 1 UI da enzima de restrição *Cfr*I a 37°C/1h, seguida de inativação a 65°C/20'. A separação dos produtos foi feita em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo, possibilitando identificar os homozigotos para a variante lisina (DGAT<sup>k</sup>/ DGAT<sup>k</sup> – sem digestão), homozigotos para a variante alanina (DGAT<sup>A</sup>/DGAT<sup>A</sup> – digestão gerando fragmentos de 203 e 208bp) e os indivíduos heterozigotos (DGAT<sup>k</sup>/ DGAT<sup>A</sup>).

## Resultados e discussões

Por meio da análise dos fragmentos amplificados e digeridos com a enzima *Bst*YI, foi possível verificar uma maior frequência do alelo 2 do gene TG (0,933) quando comparado a do alelo 3 (0,067), que é responsável por um maior aumento no teor de marmoreio da carne (Figura 1a).

Embora a maioria dos indivíduos analisados sejam homozigotos 22, a presença de animal com genótipo 33 (Figura 1c), pode ser considerada extremamente favorável uma vez que outros autores constataam a raridade deste genótipo (Barendse, 1999; Egito *et al.*, 2004; Fortes, 2007). Segundo Barendse (2004), existe um aumento significativo no teor de marmorização de animais portadores deste genótipo em relação aos de genótipo 23 e 22, em contra partida, Fortes (2007) não observou o alelo 3 em animais da raça Nelore.

Os resultados obtidos com o gene DGAT apontam predominância do alelo 'A' (64%), associado a uma maior produção leiteira, com relação ao alelo selvagem 'K' (36%), associado ao alto teor de gordura no leite (Figura 1a). 50% dos indivíduos analisados eram heterozigotos (Figura 1b). Estes resultados indicam que a raça, por possuir o alelo favorável DGAT<sup>A</sup> em frequência semelhante a raça leiteira Holandesa (Egito *et al.*, 2005), poderá ser também utilizada com fins leiteiros, podendo ser enquadrada futuramente como uma raça de aptidão mista.



### Conclusão

A raça Crioula Lageana apresenta uma proporção de alelos favoráveis condizentes com o observado na literatura para as raças taurinas, os quais poderão ser utilizados como ferramentas em programas de melhoramento no que tange aumento de produção leiteira e teor de marmoreio.

## Referências

Barendse, W. J. Assessing lipid metabolism. Patent, International Publication Number: WO 99/23248. 1999.

Barendse, W. J.; Bunch, R.; Thomas, M. et al. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Aust J Exp Agr.* (44): 669–674. 2004.

Egito, A. A.; Almeida, L. D.; Paiva, S. R. et al. Polimorfismos do gene TG (tireoglobulina) em diferentes raças bovinas criadas no Brasil. V Simpósio Iberoamericano de Conservación y Utilización de Recursos Genéticos. Puno, 2004. Anais... 95-97.

Egito, A. A., Albuquerque, Msm, Pappas, MCR et al. Polimorfismo lisina-232/alanina no gene DGAT1 em raças bovinas criadas no brasil. Comunicado Técnico. Brasília:Embrapa (Comunicado Técnico, 134), 2005.

Fortes, M. R. S. Polimorfismos dos genes CAPN1, CAST, LEP, TG e DGAT1 como possíveis indicadores da qualidade da carne em bovinos zebuínos e cruzados abatidos em idade jovem. Dissertação de Mestrado, USP, São Paulo, 2007, 85 p.

Grisart, B.; Farnir, F.; Karim, L. et al. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceedings of National Academy of Science USA*, v. 101, p.2398-2403, 2004.

Mariante, A. S.;Egito, A. A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. *Theriogenology* (57): 223-35. 2002.

Thaller, G.; Kuhn, C.; Winter, A. et al. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim. Genet.* (34): 354-357. 2003.