

# OCORRÊNCIA DE POLIMORFISMOS (G+6723G-A) NO GENE DA MIOSTATINA EM UM REBANHO DE OVINOS TEXEL NO BRASIL

**Carlos J.H. Souza, José Carlos F. Moraes, Magda V. Benavides**

Os ovinos Texel são reconhecidos pela positiva relação músculo/osso/gordura e excelente velocidade de crescimento o que torna a raça uma interessante alternativa para a produção de carne. Recentemente, foi identificado nesta raça a existência de um polimorfismo (g+6723G-A) no gene da miostatina que está associado a maior massa muscular e maior volume de carne em relação à gordura depositada na carcaça após abate. A existência deste polimorfismo e o reconhecimento da importância desse locus na determinação dos atributos da raça foram originalmente identificados em rebanhos na Bélgica e depois na Austrália, Reino Unido e Nova Zelândia. O objetivo deste trabalho foi de testar a presença deste polimorfismo em animais criados no Brasil. Foram genotipados 37 ovinos de um rebanho Texel brasileiro onde foi encontrado a frequência alélica de 90,5% para o alelo A e de 9,5% para o alelo G. O alelo A que é associado ao maior desenvolvimento muscular, e como esperado, está presente na maioria dos animais testados, demonstrando que nos ovinos Texel criados no Brasil há uma alta frequência deste alelo. A genotipagem para este locus pode auxiliar na escolha de reprodutores para cruzamento terminal ou para introdução desta característica em outros grupos raciais.

**Palavras-chave:** Ovinos, Texel, miostatina, g+6723G-A, polimorfismo.

## INTRODUÇÃO

A raça de ovinos Texel é reconhecida pelo volume muscular que determina maior proporção de carne nas carcaças, recentemente esta característica foi associada a presença de um alelo em um polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) que causa uma mudança de guanina (alelo G) para uma adenina (alelo A) na região não-traduzida 3' (g+6723G-A) do gene para miostatina ou GDF8. Esta transição cria um sítio espúrio para microRNA mir1 e mir206, que causa inibição da tradução do mRNA da miostatina (Clöp et al. 2006).

A miostatina é um inibidor do desenvolvimento muscular e formas alternativas no gene para esta proteína que causem redução na sua função resultam em aumento de formação de músculo esquelético (para revisão ver Rodgers & Garikipati, 2008).

O alelo A está associado com aumento do peso da paleta e do quarto e também com o maior volume muscular da paleta e do quarto (Clöp et al. 2006). O alelo A foi encontrado em ovinos Texel e Charoles Belga (Clöp et al. 2006), em ovinos da raça Texel na Austrália (Kijas et al, 2007) e Nova Zelândia (Johnson et al. 2009) e também das raças Texel e Charoles Britânica (Hadjipavlou et al., 2008).

Um estudo que averiguou o efeito do número de alelos A em vários pesos

ao abate, demonstrou que o alelo A não tem efeito nos pesos obtidos ao nascer, desmame e abate ou o peso de carcaça fria, mas coexiste com aumento significativo no rendimento da carcaça, no comprimento da carcaça, no comprimento e circunferência do quarto enquanto diminui a deposição de gordura (Johnson et al. 2009).

O objetivo deste estudo foi de investigar a presença e a prevalência do SNP (g+6723G-A) em ovinos da raça Texel no Brasil.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Os animais avaliados são oriundos de um rebanho puro de pedigree (PO) da raça Texel, que não tem histórico de uso de reprodutores importados a pelo menos três gerações, nos quais previamente foi identificado um fenótipo de alta massa muscular (Souza et al, 2005). As amostras de sangue foram colhidas ao acaso no rebanho, sendo de 26 machos e 11 fêmeas. O DNA foi extraído da capa de leucócitos de através da técnica de Miller et al. (1988).

A genotipagem dos animais quanto ao polimorfismo g+6723G-A foi feita por PCR-RFLP (Reação em Cadeia da Polimerase-Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição) conforme previamente descrito (Clou et al. 2006). Um fragmento de aproximadamente 1kb contendo o SNP foi amplificado usando os oligonucleotídeos iniciadores sense 5' TTTGGTATATTTTACAGTAAGGAC 3' e anti-sense 5' TAAATAGTGTGCACTTAAGGATTC 3'. As reações de PCR foram efetuadas em volume de 25 microlitros contendo 5 picomoles de cada oligonucleotídeo, 2 miliM MgCl<sub>2</sub>, 400 microM de mistura de dNTP, 1.5 U de Taq polymerase (Invitrogen) e pelo menos 100 nanogramas de DNA genômico. Utilizou-se as seguintes condições de PCR: desnaturação a 95°C por 5 minutos, 35 ciclos de 95°C por 20s, 55°C por 30s e 72°C por 60s, seguidos por extensão a 72°C por 5 minutos. O amplicon resultante foi digerido utilizando 5 UI da enzima HpyCH4IV (New England Biolabs) a 37°C por 2 horas. O produto da digestão foi aplicado em gel de agarose a 1,5%, submetido a eletroforese a 100V por 45 minutos e as bandas resultantes observadas sobre luz ultra-violeta. O polimorfismo g+6723G-A elimina o sítio de restrição que normalmente cliva o amplicon de 1003 bp em fragmentos de 270 e 733 bp no alelo G (tipo selvagem), enquanto que o amplicon se mantém inalterado no alelo A (variante).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais testados, todos foram diagnosticados como portadores do alelo

**Tabela 1.** Freqüência dos genótipos do polimorfismo g+6723G-A observados em um rebanho PO da raça Texel criado no Brasil.

Animais	AA	AG
Machos	80,8% (21/26)	19,2% (5/26)
Fêmeas	81,8% (9/11)	18,2% (2/11)
Total	81,1% (30/37)	18,9% (7/37)

A, conforme pode ser evidenciado na Tabela 1. A freqüência alélica no rebanho examinado foi de 90,5% para o alelo A e de 9,5% para o alelo G.

A freqüência alélica para o polimorfismo g+6723G-A observado num rebanho da raça Texel criado no Brasil foi similar ao observado em outros países, onde foi observado que o alelo A (variante) está quase que fixado nesta raça. No Texel Belga foi observado freqüência do alelo A de 98,8% (Clöp et al. 2006), na Austrália o alelo A teve freqüência de 94,6% (Kijas et al. 2007), enquanto que no Reino Unido foi observado uma freqüência alélica de A de cerca de 95% (Hadjipavlou et al., 2008).

A presença do alelo A em alta freqüência em ovinos Texel no Brasil mostra que este polimorfismo está segregando nos reprodutores disponíveis no país, considerando que no rebanho estudado não tem introdução de reprodutores importados a pelo menos 3 gerações. Por outro lado reitera que esse alelo é característico da raça e que deve estar associado a sua principal característica fenotípica, uma vez que se mantém numa freqüência de 0,91 mesmo em rebanhos onde houve fluxo gênico através de cruzamentos absorventes, como é o caso do Brasil onde animais puros por cruzamento (RGB, prov III) podem cruzar com animais PO (ARCO, 2009). A identificação deste recurso genético por genotipagem, através de uma técnica simples e rápida pode ser empregado para incrementar o uso da raça para cruzamento terminal ou para melhorar as características de carcaça de outros grupos raciais.

## BIBLIOGRAFIA

- ARCO, 2009. Regulamento do Registro Genealógico <http://www.arcoovinos.com.br/index.asp?pag=capitulos.asp>
- Clöp, et al. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat. Genet.* 38, 813–818, 2006
- Hadjipavlou, G. et al. Two single nucleotide polymorphisms in the myostatin (GDF8) gene have significant association with muscle depth of commercial charollais sheep. *Anim. Genet.* 39, 346–353, 2008.
- Johnson, P. L. et al. Investigations into the GDF8 polymorphism g+6723G-A in New Zealand Texel sheep *J. Anim. Sci.* 87, 1856-1864, 2009.
- Kijas, J. W. et al. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the ovine GDF8 locus. *BMC Genet.* 8, 80, 2007.
- Miller, S.A. et al. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells *Nucl. Acids Res.* 16, 1215, 1988
- Rodgers B.D. & Garikipati D.K. Clinical, Agricultural, and Evolutionary Biology of Myostatin: A Comparative Review *Endocrine Reviews* 29, 513–534, 2008
- Souza, C. J. H. et al. Increased Muscular Mass in a Brazilian Texel Flock is not Associated with the Callipyge (CLPG) Mutation In: V Simposio de Recursos Geneticos Para America Latina y El Caribe, 2005, Montevideo. Resúmenes del V SIRGEALC. , 2005. p.106