



### Caracterização do polimorfismo dos genes *CSN3* e *LGB* em animais da raça Girolando<sup>1</sup>

Ítala Iara Medeiros de Araújo<sup>2</sup>, Isabela Gomes Barreto da Motta<sup>3</sup>, Isabela Fonseca<sup>4</sup>, Isabella Silvestre Barreto Pinto<sup>5</sup>, Wagner Antonio Arbex<sup>6</sup>, Severino Benone Paes Barbosa<sup>7</sup>, Marta Fonseca Martins<sup>8</sup>, Marcos Vinícius G. B. Silva<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Parte da dissertação do primeiro autor

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFRPE. Bolsista CAPES. e-mail: itala\_iara@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Aluna de Graduação do Curso de Ciências Biológicas – CES-JF. Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa. e-mail: mottaigb@hotmail.com

<sup>4</sup>Doutoranda em Genética e Melhoramento – UFV. Bolsista CNPq. e-mail: isabela\_fonseca@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Doutoranda em Ciências Biológicas – UFJF. Bolsista CAPES. e-mail: isabellasbp@gmail.com

<sup>6</sup>Analista da Embrapa Gado de Leite. e-mail: arbex@cnppl.embrapa.br

<sup>7</sup>Professor Associado da UFRPE. Bolsista CNPq. e-mail: sbarbosa@dz.ufrpe.br

<sup>8</sup>Pesquisadores da Embrapa Gado de Leite. e-mail: mmartins@cnppl.embrapa.br, marcos@cnppl.embrapa.br

**Resumo:** Os genes candidatos da kappa-caseína (*CSN3*) e da beta-lactoglobulina (*LGB*) estão envolvidos na composição, processamento e qualidade do leite e estão ligados às características de produção. Objetivou-se neste trabalho caracterizar as suas frequências alélicas e genotípicas e verificar se as populações estudadas encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Foram genotipados 867 animais (138 machos e 729 fêmeas), para o gene *CSN3*, e 868 animais (131 machos e 737 fêmeas) para o gene *LGB*, participantes do Teste de Progenie da Raça Girolando. A diferenciação dos alelos A/B dos genes estudados foi obtida por meio da técnica de PCR-RFLP. As frequências alélicas, genotípicas e o cálculo da probabilidade de EHW foram estabelecidos por meio do programa Popgen versão 1.32 e testado pelo teste  $\chi^2$  ao nível de significância de 1%. As frequências genotípicas do gene *CSN3* foram 0,7324 (AA), 0,2468 (AB) e 0,0208 (BB) e as frequências alélicas foram 0,8558 (A) e 0,1442 (B), enquanto que para o gene *LGB*, as frequências genotípicas foram 0,2604 (AA), 0,4827 (AB) e 0,2569 (BB) e alélicas foram 0,5017 (A) e 0,4983 (B). Tais populações encontram-se em EHW para os alelos A e B dos genes *CSN3* e *LGB* visto que as frequências observadas e esperadas não diferem estatisticamente entre si.

**Palavras-chave:** equilíbrio, genes candidatos, genotipagem, qualidade de leite

#### Characterization of polymorphisms of the *CSN3* and *LGB* genes in animals Girolando

**Abstract:** Candidate genes of the kappa-casein (*CSN3*) and beta-lactoglobulin (*LGB*) are involved in the composition, processing and quality of milk and are linked to production characteristics. The objective of this study is to characterize their allelic and genotypic frequencies and verify that the studied populations are in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). Were genotyped 867 animals (138 males and 729 females), for gene *CSN3*, and 868 animals (131 males and 737 females) for gene *LGB*, participants Progeny Test Breed Girolando. The differentiation of alleles A/B genes studied was obtained by PCR-RFLP. The allele frequencies, genotype and calculating the probability of HWE were established through the program Popgen version 1.32 and tested by  $\chi^2$  test at a significance level of 1%. The genotype frequencies were 0.7324 *CSN3* gene (AA), 0.2468 (AB) and 0.0208 (BB) and allele frequencies were 0.8558 (A) and 0.1442 (B), whereas for the gene *LGB*, the genotype frequencies 0.2604 (AA), 0.4827 (AB) and 0.2569 (BB) and allelic were 0.5017 (A) and 0.4983 (B). Such populations are in HWE for the A and B alleles of genes *CSN3* and *LGB* since the observed and expected frequencies are not statistically different among themselves.

**Keywords:** candidate genes, equilibrium, genotyping, milk quality



### Introdução

O polimorfismo dos genes *CSN3* e *LGB* têm sido associado à diferença na composição, processamento e qualidade do leite e também tem sido ligado às características de produção. O alelo A do gene *LGB* é o mais favorável para a produção de leite, enquanto o alelo B está associado à maior taxa de gordura e proteína e, por isso, o leite proveniente de animais com genótipo BB é mais indicado para a produção de derivados lácteos. Quando considerado o gene *CSN3*, o leite de animais com genótipo BB apresenta característica de processamento superior para produção de queijo quando comparado ao leite proveniente de animais com genótipo AA, enquanto animais heterozigotos apresentam rendimento intermediário.

O estudo das frequências genótípicas e alélicas descreve a constituição genética de um grupo de indivíduos, identificando as proporções dos diferentes genótipos e dos distintos alelos de um gene na população. Isto auxilia na seleção de animais geneticamente superiores para a característica desejável dentro do rebanho. Sendo assim, objetivou-se com o presente trabalho caracterizar as frequências alélicas e genótípicas dos genes *CSN3* e *LGB* em animais Girolando e verificar se as populações estudadas encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) a fim de auxiliar na manutenção da máxima variabilidade possível dentro destas.

### Material e Métodos

Foram genotipados 867 animais para o gene *CSN3*, sendo 138 machos e 729 fêmeas, e 868 animais para o gene *LGB*, sendo 131 machos e 737 fêmeas, todos pertencentes ao Programa de Melhoramento da Raça Girolando, coordenado pela Embrapa Gado de Leite e Associação Brasileira dos Criadores de Girolando. A extração de DNA do sangue ou sêmen dos animais foi processada utilizando-se o DNeasey<sup>®</sup> Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), de acordo com as recomendações do fabricante. A quantificação e verificação da qualidade das amostras foram realizadas por espectrofotometria (Nanodrop<sup>®</sup>, Wilmigton, DE, EUA). As amostras de DNA extraídas foram submetidas à técnica de PCR-RFLP para diferenciação das duas formas variantes, A e B de cada um dos genes usando o termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem, Forster City, CA, EUA). As digestões foram feitas com as enzimas *Hinf I* e *Hae III* (New England Biolabs, EUA) para os genes *CSN3* e *LGB*, respectivamente, e os fragmentos formados foram observados em gel de agarose a 2% para o *CSN3* e a 2,5% para o *LGB*, corado com brometo de etídio. As frequências alélicas e genótípicas e o cálculo da probabilidade de EHW foram estabelecidos por meio do programa Popgen 1.32 (Yeh et al., 1997). A probabilidade de EHW associado às frequências genótípicas observadas foi testada pelo teste  $\chi^2$  (Qui-Quadrado) ao nível de significância de 1%.

### Resultados e Discussão

As frequências dos alelos A (0,8558) e B (0,1442) não estão igualmente distribuídas nas populações para o gene *CSN3*, enquanto que para o gene *LGB* as frequências dos alelos A (0,5017) e B (0,4983) estão igualmente distribuídas. As populações estudadas encontram-se em EHW para os alelos A e B em ambos os genes a 1% de probabilidade visto que as frequências observadas e esperadas não diferem entre si (Tabela 1).

Os resultados das frequências alélicas observados neste estudo para o gene *CSN3* estão de acordo com os encontrados por Lima (2005), que estudando 11 rebanhos leiteiros comerciais, sendo cinco deles compostos por animais da raça Holandesa e, os seis restantes, compostos por animais da raça Girolando, totalizando 1350 vacas, verificou nessa população uma frequência alélica de 0,82 (A) e 0,18 (B). Quanto aos resultados das frequências genótípicas estes são similares aos encontrados por Lima (2005), que encontrou frequência de 0,67 (AA), 0,31 (AB) e 0,02 (BB).

Com base nos resultados obtidos observa-se uma tendência à fixação do alelo A e, conseqüentemente, do genótipo AA nestas populações para o gene *CSN3*, corroborando com outros trabalhos que mostram esta tendência para as raças zebuínas, como o Gir (Silva & Del Lama, 1997) e



taurinas, como a Holandesa (Ng-Kwai-Hang et al., 1984). A baixa frequência do alelo B, que é associado a um maior rendimento para a produção de queijo, já era esperada uma vez que a frequência desse alelo em ambas as raças fundadoras também é baixa (Azevedo et al., 2008).

Tabela 1 Frequências alélicas e genotípicas do genes *CSN3* e *LGB* nas populações da raça Girolando.

Genes	Genótipos	Número de Animais		Frequência		EHW*
		Observado	Esperado	Genotípica	Alélica	
<i>CSN3</i>	AA	635	634,9602	0,7324	0,8558 (A)	0,000120
	AB	214	214,0796	0,2468		
	BB	18	17,9602	0,0208	0,1442 (B)	
<i>LGB</i>	AA	226	218,3775	0,2604	0,5017 (A)	1,071034
	AB	419	434,2450	0,4827		
	BB	223	215,3775	0,2569	0,4983 (B)	

\* =  $P > 0,01$

Os valores das frequências alélicas encontrados para o gene *LGB* discordam dos obtidos por Ng-Kwai-Hang et al., (1984), os quais estudaram as frequências genotípicas e alélicas de 3.870 vacas da raça Holandesa, criadas em 63 rebanhos comerciais de Quebec, e não encontraram os alelos igualmente distribuídos na população, com frequência de 0,3870 e 0,6130 para os alelos A e B, respectivamente. As frequências genotípicas encontradas por esses autores foram 0,1344 (AA), 0,5054 (AB) e 0,3602 (BB), que divergem dos resultados obtidos no presente estudo.

#### Conclusões

A partir dos dados analisados pode-se dizer que as populações estudadas encontram-se em EHW para os genes *CSN3* e *LGB*. A genotipagem dos animais pode servir de auxílio aos produtores a fim de selecionarem melhor seus animais para que alcancem o objetivo desejado, quer seja a produção de leite ou a produção de queijo.

#### Agradecimentos

Ao Programa de Melhoramento da Raça Girolando, coordenado pela Embrapa Gado de Leite e Associação Brasileira dos Criadores de Girolando pela concessão dos dados para realização desta pesquisa.

#### Literatura citada

- AZEVEDO, A.L.S.; NASCIMENTO, C.S.; STEINBERG, R.S. et al. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. **Genetics and Molecular Research**, v.7, n.3, p.623-630, 2008.
- LIMA, Y. V. R. **Variantes genéticas de kappa-caseína em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite**. 2005. 84 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- SILVA, I. T.; DEL LAMA, M. A. Milk protein polymorphism in Brazilian Zebu cattle. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 20, n. 4, p.625 - 630, 1997.
- NG-KWAIN-HANG, K. F.; HAYES, J. F.; MOXLEY, J. E. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.835-840, 1984.
- YEH, F.C.; Yang, R.C.; Boyle, T.B.J. POPGEN (VERSION 1.32): **Software Microsoft Windows-based freeware for population genetics analysis**. Alberta: University of Alberta. 1997.

