



Frequência Alélica do Gene da Aromatase em Ovinos de Corte¹

Ana Maria Bezerra Oliveira Lôbo², Raimundo Nonato Braga Lôbo³, Samuel Rezende Paiva⁴, Sônia Maria Pinheiro de Oliveira⁵, Rodrigo Maranguape Silva da Cunha⁶

¹Parte da dissertação de mestrado da primeira autora, defendida na UFC, financiada pelo CNPq

²Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal – UFV. Bolsista do CNPq. e-mail: oliveiraana@yahoo.com.br

³Embrapa Caprinos / Departamento de Zootecnia – UFC. E-mail: lobo@cnpq.embrap.br

⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Departamento de Zootecnia – UFC

⁶Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

Resumo: Com o objetivo de verificar a presença de polimorfismo e a frequência dos alelos para o gene da aromatase (*Cyp19*), uma amostra de 71 animais da raça Santa Inês, 13 animais da raça Somalis Brasileira, 9 animais da raça Poll Dorset e 18 animais mestiços ½ Dorper foram genotipados pela técnica de PCR-RFLP. Nesta amostra, não foram observados indivíduos AA e as frequências para os genótipos AB e BB foram 0,64 e 0,36, respectivamente. Foi observado que todos os animais da raça Somalis Brasileira eram de genótipo BB. Espera-se que estudos futuros venham comprovar a diferença de desempenho entre indivíduos de genótipos diferentes e assim incluir este gene como marcador molecular para seleção de animais superiores.

Palavras-chave: aromatase, ovinos, PCR-RFLP, polimorfismo, SNP

Allelic Frequency from Aromatase Gene in Meat Sheep

Abstract: With the aim to verify the presence of polymorphism and the allelic frequency for aromatase gene (*Cyp19*), a sample of 71 animals of Santa Inês breed, 13 animals of Somalis Brasileira breed, 9 animal of Poll Dorset breed and 18 animals ½ Dorper crossbreed where genotyped by PCR-RFLP technique. In this sample, AA individuals were not observed and the frequencies for AB and BB genotypes were 0.64 and 0.36, respectively. All Somalis Brasileira animals were of genotype BB. It is waited that future studies come to prove the performance difference among animals with distinct genotypes and like this to include this gene as molecular marker for selection of superior animals.

Keywords: aromatase, PCR-RFLP, polymorphism, sheep, SNP

Introdução

O gene *Cyp19* que codifica a enzima aromatase em ovinos tem sido mapeado nas bandas q24-q31 do cromossomo 7 (Payen et al., 1995). Em ovinos, o *Cyp19* é transcrito por quatro diferentes regiões promotoras (P1.1, P1.4, P1.5 e P2) que apresentam atividades órgão-específico. P2 é ativo principalmente nas células da granulosa, P1.5 e P1.1 na placenta e P1.4 é ativo no cérebro (Vanselow et al., 2001). Na granulosa, a aromatase é essencial para a foliculogênese e, conseqüentemente, para a qualidade dos oócitos. A aromatase está relacionada também, através da aromatização de andrógenos em estrógenos, com o estímulo ao cio e o desenvolvimento da glândula mamária. Nos folículos ovarianos, o acúmulo de androgênios produzidos pela teca folicular, quando eles não são adequadamente sintetizados em estrogênios pelas células granulosas, parece que exercem um efeito inibitório sobre as estruturas foliculares, fazendo com que os folículos entrem em atresia e morram. Em muitas espécies, a biossíntese de estrogênio no cérebro tem sido relacionada ao comportamento sexual, tais como, resposta ao acasalamento e frequentemente um dimorfismo sexual acentuado (Simpson et al., 1994).

Alguns trabalhos com bovinos indicaram que os estrógenos exercem um importante papel na manutenção da prenhez (Wendorf et al., 1983) e na sinalização do início do trabalho de parto (Thorburn & Challis, 1979). A síntese de estrogênio inicia-se a partir do colesterol mitocondrial e utiliza substratos andrógenos, tais como a androstenediona, que são convertidos em estrógenos pela enzima aromatase (Conley & Hinshelwood, 2001).

Devido à importância desse gene e a possibilidade de sua utilização na seleção assistida por marcadores em ovinos de corte, o objetivo deste estudo foi verificar a presença de polimorfismo e frequência dos alelos em ovinos de corte.

Material e Métodos

Para obtenção de DNA, foram coletadas amostras de sangue de 71 animais da raça Santa Inês, 13 animais da raça Somalis Brasileira, 9 animais da raça Poll Dorset e 18 animais mestiços com 50% de proporção paterna de Dorper, independente da proporção materna, que era constituída pelas outras raças acima citadas. Estes animais foram criados na Fazenda GAASA, Inhumas-GO, sob regime de criação semi-intensivo, sendo controlados pelo Programa de Melhoramento Genético de Caprinos e Ovinos de Corte (GENECOC).

O sangue foi coletado com anticoagulante e o DNA extraído utilizando o protocolo “Salting Out”. A extração de DNA e a padronização das reações utilizadas foram realizadas no Laboratório de Genética do Núcleo de Biotecnologia de Sobral-CE (NUBIS). Após a extração, o DNA genômico foi quantificado por comparação da intensidade das bandas com marcador de peso molecular, utilizando eletroforese em gel de agarose 1%. Foi investigado polimorfismo no gene da aromatase (*Cyp19*) que está dentro do sítio de restrição da enzima *Bsp143I* (isoquimero *DpnII*; *Biolab*®). Os indivíduos foram genotipados pela técnica de PCR-RFLP seguido de eletroforese em gel de agarose 4%. As reações foram realizadas nos laboratórios de Biotecnologia da Embrapa Caprinos –Sobral –CE.

Resultados e Discussão

A digestão do produto de PCR e a posterior eletroforese dos 111 animais revelaram apenas dois genótipos, AB e BB, para o polimorfismo *Cyp19*. O genótipo AB apresentou três fragmentos, de 140, 82 e 58 pb, enquanto que o genótipo BB apresentou um único fragmento de 140 pb. Na Figura 1 pode ser visualizada uma amostra de 13 animais genotipados.

Neste estudo as frequências para os genótipos AB e BB foram 0,64 e 0,36, respectivamente. Na Tabela 1 são apresentadas as frequências para os alelos A e B de acordo com os grupos genéticos analisados. Nesta amostra, não foi possível identificar indivíduos AA, como observado por Vanselow et al. (1999) em animais puros de raças de ovinos da Europa. Estes autores identificaram três genótipos, com frequência de 0,74 para o alelo A e 0,26 para o alelo B, em animais Hungarian Merino, e frequência de 1,00 para o alelo A e 0,00 para o alelo B, em animais da raça Lacaune. Além do estudo de Vanselow et al. (1999), não foi encontrado na literatura nenhum outro estudo que apresentasse as frequências para este gene em ovinos.

Com exceção da raça Somalis Brasileira, foi observado polimorfismo para o gene da aromatase. Como a função do gene está relacionada a aspectos reprodutivos e de habilidade materna (desenvolvimento da glândula mamária), investigações posteriores poderão comprovar se este polimorfismo é responsável por diferenças no desempenho dos animais e assim auxiliar na seleção de animais superiores.

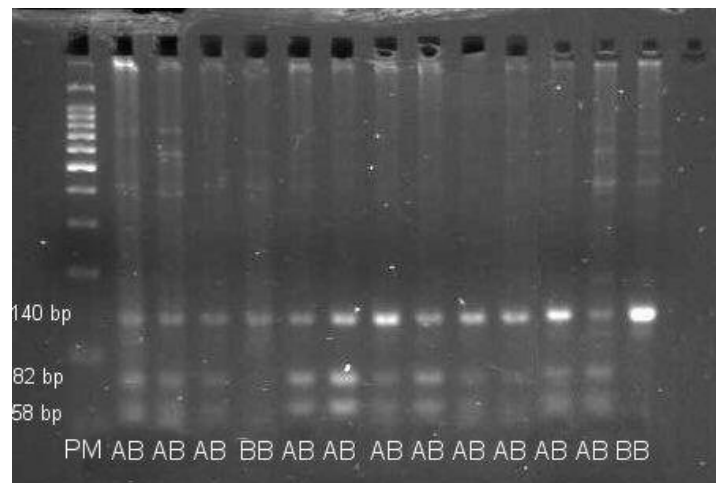


Figura 1 Análise de polimorfismo RFLP do gene da aromatase (*Cyp19*) em ovinos. Produtos de PCR não digeridos têm um comprimento de 140 pb (alelo B) e, no caso do alelo A, são quebrados em dois fragmentos de 82 pb e 58 pb. PM = Peso Molecular 100pb Ladder (Promega). AB e BB genótipos observados.

Tabela 1 Freqüência alélica para os grupos genéticos estudados.

Grupo Genético	Número de animais	Freqüência do alelo A	Freqüência do alelo B
½ Dorper	18	0,194	0,806
Poll Dorset	9	0,390	0,610
Santa Inês	71	0,400	0,600
Somalis Brasileira	13	0,000	1,000

Conclusões

Existe polimorfismo para o gene *Cyp19* da aromatase em grupos genéticos de ovinos criados no Brasil, com exceção para a amostra de animais da raça Somalis Brasileira. Estudos posteriores poderão comprovar se existem diferenças no desempenho dos animais com diferentes genótipos. Assim, será possível utilizar este gene como marcador molecular na seleção de animais superiores.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento deste projeto, bem como pela bolsa de Mestrado da primeira autora.

Literatura citada

- CONLEY, A. J., HINSHELWOOD, M. Mammalian aromatases. *Reproduction*, v. 121, p.685-695, 2001.
- PAYEN E., SAIDI-MEHTAR N., PAILHOUX E., COTINOT C. Sheep gene mapping: assignment of ALDOB, CYP19, WT and SOX2 by somatic cell hybrid analysis. *Anim. Genetic*. v. 26, n.5, p. 331-333, 1995.
- SIMPSON, E. R., MAHENDROO, M. S., MEANS, G. D., KILGORE, M. W., HINSHELWOOD, M. M., GRAHAM-LORENCE, S., AMARNEH, B., ITO YUJI, FISHER, C. R., MICHAEL, M. D., MENDELSON, C. R., BULUN, S. E. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocrine Reviews*. v. 15, n. 3, p.342-355, 1994.
- THORBURN, G.D., CHALLIS, J.R. Endocrine control of parturition. *Physiological Reviews*, v.59, p.863-918, 1979.
- VANSELOW, J., ZSOLNAI, A., FÉSUS, L., SCHIMIDT, P., SCHWERIN, M. A *Bsp143I* PCR-RFLP in exon 3 of the ovine aromatase gene (*Cyp19*). *Animal Genetics*, v. 30, p. 382-405, 1999.
- VANSELOW, J.; FURBASS, R.; ZSOLNAI, A.; KALBE, C.; SAID, H. M.; SCHWERIN, M. Expression of the aromatase cytochrome P450 encoding gene in cattle and sheep. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.* v.79, p.279–288, 2001.
- WENDORF, G. L., LAWYER, M. S., FIRST, N. L. Role of the adrenals in the maintenance of pregnancy in cows. *J. Reprod. and Fert.* v. 68, p. 281-287, 1983.