

IMPORTÂNCIA DA GENÉTICA MOLECULAR PARA O MELHORAMENTO DE RUMINANTES

LUCIANA CORREIA DE ALMEIDA REGITANO¹

¹Embrapa Pecuária Sudeste. Rodovia Washington Luiz, km 234. Cx.P. 339. CEP 13560-970. São Carlos – SP. Email: luciana@cppse.embrapa.br

A genética molecular experimentou um extraordinário avanço desde a descoberta do DNA. Este avanço incluiu o desenvolvimento de métodos de análise da estrutura e função do material genético, de equipamentos com capacidade para análise automatizada de grande quantidade de amostras, de métodos estatísticos e de ferramentas de informática, resultando na ciência conhecida como genômica.

Esses avanços culminaram com o desenvolvimento dos projetos de seqüenciamento do genoma de um grande número de espécies. As informações geradas permitiram, por exemplo, o mapeamento de mais de 1.600 mutações responsáveis por características de herança Mendeliana em humanos. Porém, o desafio de elucidar os mecanismos determinantes da variação genética de características mais complexas, entre as quais figura a maioria das características de interesse econômico dos animais domésticos, permanece (Georges & Andersson, 2003). Essas características são, em geral, controladas por muitos genes, que podem resultar em complexas interações alélicas e não alélicas, e são influenciadas pelo ambiente. Diversos estudos têm demonstrado a possibilidade de mapear cada gene ou bloco de genes adjacentes que influenciam uma característica quantitativa, denominados QTL (*Quantitative Trait Loci*), em ruminantes.

O mapeamento de QTLs, ou seja, a detecção, localização e estimativa do efeito de regiões do genoma associadas à uma característica quantitativa, requer um grande número de animais para os quais sejam disponíveis dados de avaliação do fenótipo de interesse. O número de indivíduos necessários depende da magnitude do efeito que se deseja identificar, da herdabilidade do caráter, do delineamento genético, entre outros, porém, esse número é freqüentemente da ordem de milhares. Esse requisito é particularmente limitante em bovinos, nos quais os custos de produção e manutenção para se obter grandes populações experimentais são elevados.

As populações comerciais têm sido úteis para o mapeamento de QTL em bovinos de leite, nos quais grandes progênies de touro, resultantes do uso intensivo de inseminação artificial, podem ser encontradas. Georges & Andersson (2003) apontam como vantagem para o mapeamento de QTLs em gado leiteiro, a intensa anotação de dados referentes à avaliações fenotípicas tais como medidas de qualidade do leite, da saúde do animal, avaliações morfométricas e da anotação de informações de pedigree e de manejo, principalmente nos países mais desenvolvidos. O mapeamento de QTLs em animais beneficia-se, segundo os mesmos autores, do reduzido tamanho efetivo das populações, que leva à redução da complexidade das características em termos de heterogeneidade de alelos, aliada à uma maior extensão dos blocos de desequilíbrio de ligação (LD), em comparação com outras espécies.

Essa situação entretanto não se aplica a bovinos de corte, onde as famílias são menores e a quantidade de características fenotípicas avaliadas é restrita. Além disso, características de difícil avaliação, tais como taxa de ovulação, maciez da carne e resistência à doenças raramente são consideradas em programas de melhoramento, requerendo a utilização de populações experimentais, as quais devem ser obtidas utilizando algum delineamento genético, tais como F₂, retrocruzamento, famílias de meio-irmãos.

Apesar das dificuldades relacionadas ao mapeamento de QTLs em ruminantes, várias características já tiveram parte de sua variação atribuída à regiões do genoma dos bovinos. QTLs para produção e composição do leite foram mapeados no cromossomo 14 (Coppieters et al., 1998), no cromossomo 6 (Zhang et al., 1998), entre outros, para taxa de ovulação nos cromossomos 7, 10 e 19 (Arias & Kirkpatrick, 2004), para área de olho de lombo nos cromossomos 5 e 6, para marmoreio nos cromossomos 17, 23 e 27, para maciez da carne no cromossomo 29 (Casas et al., 2000; Casas et al., 2003).

Em ovinos, vários esforços de mapeamento de QTL vêm sendo conduzidos e alguns genes principais já foram descritos, como o *FecB*, associado à taxa de ovulação (Davis et al, 1982), e o gene *callipyge* (*CLPG*), associado à muscularidade (Cockett et al., 1994).

Os primeiros resultados de mapeamento fino de QTLs, ou seja, a identificação da mutação responsável pela variação fenotípica ou QTN (*Quantitative Trait Nucleotide*), têm sido descritos (Grisart et al, 2001; Wilson et al., 2001; Blott et al., 2003; Li et al., 2004).

Tentativas de utilização dessas informações de QTLs em seleção assistida por marcadores (MAS) são escassas em ruminantes. As raras citações referem-se ao uso de MAS para genes principais. Um exemplo foi o trabalho de um grupo de pesquisadores da Organização de Pesquisa em Agricultura de Israel (ARO), liderados por Gootwine, que obteve uma linhagem altamente prolífica da raça leiteira *Awassi fat-tail* pela introgressão de alelos B do gene *Fec^B*. Os pesquisadores utilizaram a linhagem Booroola da raça Merino como doadora e a introgressão foi assistida por marcadores flanqueadores do gene *Fec^B*, para os quais os alelos em fase de ligação com o alelo B eram raros na raça leiteira *Awassi fat-tail*, permitindo a pronta identificação dos homocigotos *Fec^BB Fec^BB* entre os produtos de intercruzamento da terceira geração de retrocruzamento. A substituição de uma cópia do alelo B do gene *Fec^B* na raça leiteira *Awassi fat-tail* aumentou a média de desempenho produtivo desta raça em 0,6 borregos nascidos por fêmea em serviço (<http://www.agri.gov.il/AnimalScience/Reproduction/Rep-Gootwine2.html>).

Atualmente a mutação responsável pelo aumento da taxa de ovulação na linhagem Booroola encontra-se descrita (Wilson et al., 2001) de tal forma que seria possível realizar essa introgressão pela análise direta da mutação do gene responsável pela característica.

Testes comerciais para bovinos já foram patenteados, como por exemplo os testes GeneStar 1 e 2, indicativos de marmoreio e de maciez, respectivamente, o que não implica em dizer que os efeitos desses genótipos sejam constantes entre as populações, uma vez que os efeitos de substituição de alelos de um QTL são parâmetros intrínsecos de cada população, podendo, por exemplo, não existir variação para o QTL em questão em uma dada população. Além disso, há que se considerar a existência de interações não alélicas com os demais genes que compõem o genoma da espécie, que podem exibir combinações diferentes daquelas em que o QTL foi descrito. Outra questão importante a ser considerada é a interação com o ambiente. Assim, os QTLs mapeados em experimentos conduzidos no hemisfério norte podem não ser importantes para as condições ambientais de criação nos trópicos que são distintas, tanto do ponto de vista climático e de suas implicações como por exemplo, na incidência de doenças, quanto de manejo nutricional.

A aplicação de MAS em ruminantes deve ser avaliada com cautela. Simulações sobre os resultados dessa tecnologia não parecem muito favoráveis, principalmente em virtude da rápida fixação do alelo QTL selecionado e da maior perda de variabilidade durante o processo de seleção, principalmente porque uma pequena proporção da variabilidade genética do caráter é explicada pelo QTL. Entretanto, em muitas dessas simulações, nem todos os parâmetros puderam ser fiéis à realidade. De acordo com Meuwissen (2003) os maiores benefícios da MAS são esperados para características em que a mensuração do fenótipo a ser selecionado ocorre após a época da seleção, tais como características reprodutivas e de produção de leite, ou características de difícil avaliação, como qualidade de carne.

Talvez a maior contribuição do mapeamento de QTLs ainda esteja por ser alcançada. Aliadas às técnicas de análise do genoma funcional e da genômica comparada, as informações sobre QTLs deverão rapidamente nos conduzir à descoberta de genes e de QTNs. A compreensão dos mecanismos biológicos e do controle genético das características de interesse será um campo aberto para a manipulação da expressão de genes, quer via transgênese, quer via técnicas de expressão transitória tais como a de RNA de interferência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARIAS, J.; KIRKPATRICK, B. Mapping of bovine ovulation rate QTL; an analytical approach for three generation pedigrees. **Animal Genetics**, v.35, p.7–13. 2004.
- BLOTT, S.; KIM, J.J.; MOISIO, S.; et al. Molecular Dissection of a Quantitative Trait Locus: A Phenylalanine-to-Tyrosine Substitution in the Transmembrane Domain of the Bovine Growth Hormone Receptor Is Associated With a Major Effect on Milk Yield and Composition. **Genetics**, v.163, p.253–266. 2003.
- CASAS, E.; S. D. SHACKELFORD; J. W. KEELE; et al. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. **Journal of Animal Science**, v.78, p.560–569. 2000.

- CASAS, E.; SHACKELFORD, S. D.; KEELE, J. W.; et al. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2976–2983. 2003.
- COCKETT, N. E.; JACKSON, S. P.; SHAY, T. L.; et al. Chromosomal localization of the callipyge gene in sheep (*Ovis aries*) using bovine DNA markers. In: **Proceedings of the National Academy of Science**, v.91, p.3019–3023. 1994.
- COPPIETERS, W.; RIQUET, J.; ARRANZ, J. J.; et al. A QTL with major effect on milk yield and composition maps to bovine Chromosome 14. **Mammalian Genome**, v.9, p.540–544, 1998.
- DAVIS G. H.; MONTGOMERY G. W.; ALLISON A. J. et al. Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. **New Zealand Journal of Agriculture Research**, v.25, p.525–529. 1982.
- GEORGES, M. & ANDERSSON, L. Positional Identification of Structural and Regulatory Quantitative Trait Nucleotides in Domestic Animal Species. In: COLD SPRING HARBOR SYMPOSIA ON QUANTITATIVE BIOLOGY, 68., 2003. Cold Spring Harbor Laboratory Press 0-87969-709-1/04. 2003.
- GRISART, B.; COPPIETERS, W.; FARNIR, F.; et al. Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a Missense Mutation in the Bovine DGAT1 Gene with Major Effect on Milk Yield and Composition. **Genome Research**, v.12, p.222–231. 2001.
- Li, C.; BASARAB, J.; SNELLING, W.M.; et al. Identification and fine mapping of quantitative trait loci for backfat on chromosomes 2, 5, 6, 19, 21 and 23 in a commercial line of *Bos taurus*. **Journal of Animal Science**, v.82, p.967-972. 2004.
- MEUWISSEN, T. Genomic selection: the future of marker assisted selection and animal breeding. In: Marker assisted selection: a fast track to genetic gain in plant and animal breeding? Session II: MAS in animals. FAO Electronic Forum on Biotechnology in Food and Agriculture: Conference 10. <http://www.fao.org.biotech/Conf10.htm>. 2003.
- WILSON, T.; WU, X.; JUENGEL, J. L. et al. Highly Prolific Booroola Sheep Have a Mutation in the Intracellular Kinase Domain of Bone Morphogenetic Protein IB Receptor (ALK-6) That Is Expressed in Both Oocytes and Granulosa Cells. **Biology of Reproduction**, v.64, p.1225–1235, 2001.
- ZHANG, Q.; BOICHARD, D.; HOESCHELE, I. et al. Mapping Quantitative Trait Loci for Milk Production and Health of Dairy Cattle in a Large Outbred Pedigree. **Genetics**, v.149, p. 1959–1973, 1998.