

ISSN 0102-2539



Ministério da Agricultura-MA.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-
EMBRAPA

Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Es
tadual de São Carlos - UEPAE de São Carlos

Importância dos marcadores genético-bio
químicos e sua aplicação ao melhoramen
to animal e à pesquisa em geral

Lúcia Panepucci

Departamento de Difusão de Tecnologia-DDT
Brasília, DF

1986

EMBRAPA-UEPAE de São Carlos, Documentos, 6

A fotografia da capa corresponde a diferentes fenótipos para transferrinas detectados, por eletroforese em geldamido, em bovino mestiço leiteiro.

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

UEPAE de São Carlos
Rodovia Washington Luiz, Km 234
Telefone (0162) 71-1265
Caixa Postal 339
13560 - São Carlos-SP

Tiragem: 2.000 exemplares

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de São Carlos, SP.

Importância dos marcadores genético-bioquímicos e sua aplicação ao melhoramento animal e à pesquisa em geral, por L. Panepucci.

Brasília, EMBRAPA - DDT, 1986.

26 p. (EMBRAPA-UEPAE de São Carlos, Documentos 6).

1. Marcadores genético-bioquímico-Importância. 2. Animal - Melhoramento Genético - Marcadores genético-bioquímico - Aplicação. I. Título. II. Série.

S U M Á R I O

Introdução	5
Identificação de animais e controle genealógico ...	8
Relações entre raças, endocruzamento, e definição de raças	9
Associação de marcadores genético-bioquímicos com características de produção e reprodução	12
Agradecimentos	18
Referências	19

INTRODUÇÃO

As variações encontradas nas proteínas constituem os marcadores genético-bioquímicos, que são atualmente de grande utilidade em estudos genéticos tais como: controle de paternidade, identificação de animais, distância entre raças e endocruzamento, entre outros. Assim, por exemplo, temos o caso da hemoglobina de bovinos que apresenta três fenótipos diferentes e comuns a todas as raças: Hb-A, Hb-B e Hb-AB, podendo ocorrer apenas um deles em cada animal. Além desses, nas raças africanas ocorrem outros dois tipos de hemoglobinas, as Hb-C e Hb-D. Ainda em bovinos encontramos, geralmente, dez tipos diferentes de transferrinas: TffAA, TfEE, Tfd₁D₁, Tfd₂D₂, TfAE, TfAD₁, TfAD₂, TfED₁, TfED₂, e Tfd₁D₂, podendo ocorrer apenas um tipo em cada animal. Já, em eqüinos, ocorrem sete tipos diferentes de transferrinas. A amilase sérica, Am-I, apresenta três fenótipos diferentes, AmI_{BB}, AmI_{BC} e AmI_{CC}. Quanto a enzimas eritrocitárias podemos citar, entre outras, a fosfatase ácida (PA) que apresenta também três fenótipos: PA-F, PA-S e PA-FS, podendo também ocor

rer apenas um tipo de cada animal.

A variabilidade genética das populações vem sendo largamente estudada em todas as espécies animais (Lewontin 1974; Burns 1975; McDermid et al. 1975; Baker & Manwell 1983), quase sempre em conjunto com o estudo de grupos sangüíneos (antígenos eritrocitários) nos quais são utilizados laboriosos métodos serológicos.

O estudo das enzimas desenvolveu-se muito com a utilização do procedimento experimentalmente elaborado por Hunter & Markert (1957), que aliaram à técnica de eletroforese em gel de amido, desenvolvida por Smithies (1955), a de métodos histoquímicos que permitiram a visualização das diversas frações proteicas.

A caracterização genética das diferentes raças de animais domésticos existentes no Brasil, através de marcadores genéticos, é de extrema importância, uma vez que dados morfológicos usados rotineiramente são insuficientes para distinguir raças puras e muitas vezes os caracteres usados são influenciados pelo meio ambiente e por fatores genéticos (Wallace 1973).

Por outro lado as características genéticas não são influenciadas pelo meio ambiente e também não se modificam durante a vida do animal.

A literatura sobre a variabilidade protéica e enzimática em animais domésticos, apesar de vasta, refere-se quase que exclusivamente a raças européias, da América do Norte e afrosiáticas, existindo poucos trabalhos sobre raças naturalizadas e que se desenvolveram na América do Sul, especialmente no Brasil. Podem-se citar aqui os trabalhos de Bortolozzi (1979 e 1984) com bovinos da raça Canchim, nos quais foram realizados estudos de grupos sangüíneos, hemoglobina, albumina e transferrinas, e o trabalho de Penedo et al. (1982) com 68 animais zebuínos sobre anidrase carbônica. Por tanto, há urgente necessidade de se conhecerem, além das raças que aqui são criadas, raças "nativas" e raças em perigo de extinção, visando a formação de "bancos de genes" para o futuro. O estudo aprofundado das mesmas poderá auxiliar no desenvolvimento e acompanhamento racional de futuros programas de melhoramento animal e preservação de germoplasma.

O principal objetivo da maioria dos

pesquisadores que realizam eletroforeses de proteínas com animais domésticos é obter medidas da variação genética e suas relações, e a contagem de genes marcadores de acordo com o fenótipo protéico. Geralmente são usadas para estes estudos, amostras de sangue dos animais, já que estas são obtidas sem o seu sacrifício. Como os genes que codificam as proteínas estudadas têm uma herança mendeliana simples, as variantes protéicas do sangue, marcadores genéticos, têm muitas aplicações. Alguns dos usos e significados dos estudos realizados com proteínas plasmáticas e enzimas eritrocitárias serão discutidos a seguir.

Identificação de animais e controle genealógico

Tanto os grupos sangüíneos como as proteínas plasmáticas e enzimas eritrocitárias mantem o mesmo fenótipo ao longo da vida do animal. Assim sendo, realizando-se uma identificação precoce, a identidade de um animal pode ser verificada em qualquer momento da sua vida. Também é relativamente fácil a determi-

nação do erro de paternidade, estudando-se os fenótipos protéicos dos supostos pais e dos filhos. A probabilidade teórica de determinar um erro de paternidade depende do número de sistemas protéicos estudados, do número de alelos por sistema e da frequência desses alelos na população ou raça a que os animais pertencem. Isto tem um importante valor comercial, e neste sentido os marcadores genéticos se constituem no único método disponível para essa verificação. Este estudo permite, também, verificar a origem de gêmeos mono ou dizigóticos. Rendel (1967) encontrou 8% de erro de paternidade em gado bovino sueco quando a "média" teórica esperada era de 4%. Baker & Manwell (1983) citam um amplo experimento governamental de melhoramento animal com ovelhas que foi abandonado em razão da alta frequência de erros de paternidade detectados, que invalidaram as estimativas de herdabilidade.

Relações entre raças, endocruzamento, e definição de raças

O descobrimento do polimorfismo acrescenta uma nova dimensão às já clássicas carac-

terísticas que definem uma raça como tamanho, conformação, características de produção, cor, etc. O teste crítico sobre o valor dos dados moleculares é dado pela coerência entre os padrões filogenéticos encontrados para diferentes raças de bovinos, que foram deduzidas a partir das características clássicas, e da análise estatística de dados de frequência gênica estimados a partir de mais de 1000 trabalhos publicados (Baker & Manwell 1980; Manwell & Baker 1980). Estes trabalhos, juntamente com os de Kidd et al. (1980), foram importantíssimos para a compreensão das histórias evolutivas do gado bovino, mostrando ao mesmo tempo a importância dos estudos genéticos na identificação das diferentes raças.

No estudo do melhoramento animal é importante saber sobre a relação existente entre as diferentes raças sendo os marcadores genético-bioquímicos extremamente úteis para este propósito. Em geral, estes marcadores não são influenciados pelos criadores, por dois motivos. Primeiro porque são desconhecidos por eles e segundo por não estarem relacionados com seus objetivos. A melhor estimativa de re

lações entre raças é a similaridade genética obtida através de polimorfismos crípticos (grupos sangüíneos, enzimas eritrocitárias e proteínas séricas). Como qualquer estimativa estatística, quanto maior o número de loci analisados, maior a precisão (Rendel 1967). As frequências gênicas de determinadas proteínas de uma raça em particular parecem ser bastante constantes. Ganhe (1961 e 1963) calculou as frequências das albuminas e transferrinas para as raças SRB e SLB, o que foi confirmado 15 anos mais tarde. Jamieson (1966) concluiu que as frequências gênicas de transferrinas que caracterizam cada raça mantêm-se constantes em amostras da mesma raça, distribuídas em diferentes países e continentes. Singh & Nair (1981) usaram grupos sangüíneos e proteínas séricas para poder distinguir entre raças indianas e raças exóticas e seus cruzamentos. Também, os polimorfismos protéicos se constituem numa maneira particularmente útil para estudos de ligação entre loci. Como exemplo, tem-se o trabalho de Gelderman et al. (1985), realizado com 20 sistemas genéticos, que conseguiu identificar uma secção cromossômica que mostrou

efeitos significativos sobre o desempenho leiteiro do rebanho analisado. Assim, sugerem que grupos de genes ligados influenciam a variação genética da produção leiteira.

**Associação de marcadores genéti
co-bioquímicos com característii
cas de produção e reprodução**

As associações genéticas entre marcadores genéticos e características economicamente importantes podem resultar de três mecanismos. O primeiro seria a pleiotropia, que ocorre quando um gene que controla uma característica do sangue influencia também uma característica de produção e reprodução. Em segundo é a ligação entre dois loci, um dos quais controla um marcador genético e o outro uma característica de produção e reprodução. O terceiro é a heterozigosidade em um locus de um marcador do sangue, que poderia ter um efeito positivo na viabilidade genética e, assim, afetar características de produção e reprodução (Johansson & Rendel 1968).

Os primeiros estudos relacionando ca

racterísticas de produção com grupos sangüíneos em gado bovino foram realizados durante a década de cinqüenta (ver revisão de Neimann-Sorensen & Robertson 1961). Estes estudos concluíram que, nas raças por eles estudadas, os grupos sangüíneos tinham um valor limitado para serem relacionados com características econômicas. Ao contrário, estudos subseqüentes mostraram a utilidade dos mesmos. Francis & Ashton (1967) mostraram que a freqüência de um alelo da amilase (Am-B) era menor no grupo de maior infestação pelo carrapato. Já, Ashton et al. (1968) detectaram uma maior infestação pelo carrapato (38% a mais) em animais que possuíam o alelo C da amilase (Am-C). O trabalho de Fowle et al. (1967) correlaciona os diferentes fenótipos para transferrinas, com o peso à desmama e ganho de peso na raça Hereford, e sugere que vacas com o fenótipo Tf DD (transferrina DD) tinham bezerros com maior peso à desmama e maior ganho de peso quando comparados aos bezerros de vacas com o fenótipo Tf AA. Brum et al. (1968) encontraram diferenças significativas entre produção de leite, teor de gordura e o grupo sangüíneo F, que apresenta 3 genótipos

F^F/F^F , F^V/F^F e F^V/F^V . Essas mesmas características também foram associadas com os diferentes fenótipos para transferrinas na raça Holandesa. Brum et al. (1970) trabalhando com animais da raça Holandesa não detectaram diferenças significativas quando correlacionaram grupos sangüíneos, transferrinas e proteínas do leite com peso dos bezerros ao nascer e medidas corporais no primeiro ano de vida. Estes autores não excluem a possibilidade de que os polimorfismos protéicos possam ser associados com características economicamente importantes nas diferentes raças bovinas. Spooner & Mazunder (1973) mostraram um significativo excesso de heterozigotos para o loco da amilase I (Am I), o que foi associado com uma alta produção de leite do rebanho. Carr et al. (1974) realizaram estudo com um rebanho zebuino e encontraram uma série de correlações biologicamente importantes. Assim, por exemplo, animais com os grupos sangüíneos M e Σ_1 tinham o couro mais fino e eram mais propensos à infecção Tripanossomíase congoleza do que animais que não tinham esses grupos. Também uma correlação positiva foi encontrada entre a hemoglobi-

na C (Hb^C) e a presença e carga total de carra
patos. A fertilidade de touros, usados para
inseminação artificial, foi associada com o po
limorfismo da amilase num estudo realizado por
Crimella & Carenzi (1975). Nesse estudo no
tou-se maior fertilidade dos touros que apre
sentaram fenótipos Am-BC e Am-CC, significati-
vo ao nível de 5%. Meggiolaro (1981) encon
trou em quatro raças diferentes, maior índice
de produção de leite em vacas com o fenótipo
Tf DD do que naquelas com o fenótipo AD para
transferrinas. Na revisão realizada por Kenne-
dy (1984), o autor concluiu que os limites da
seleção em gado bovino leiteiro ainda não fo
ram atingidos e que muitos estudos devem ainda
ser realizados.

A revisão feita neste trabalho focali-
zou apenas alguns estudos realizados com gado
bovino, sendo, no entanto, inúmeros os traba
lhos publicados. Deseja-se ressaltar também
as relações já estudadas, entre marcadores ge
néticos e resistência à doença em aves, a rela
ção entre hemoglobina de ovelhas com fertilida-
de e sobrevivência (Evans & Turner 1965; Obst
& Evans 1970), a relação entre o grupo ABO do

homem e abortos (Takano & Miller 1972), e a associação clássica entre anemia falciforme, he moglobina S e resistência à malária (Allison 1955).

Os estudos realizados com marcadores genético-bioquímicos são válidos apenas dentro de cada população intercruzante. Por esse mo tivo, resultados obtidos com rebanhos de ou tros países não seriam válidos se aplicados às populações brasileiras. Assim, tem-se pela frente um enorme trabalho, já que no Brasil são conhecidos pouquíssimos grupos de pesquisa na área de marcadores genético-bioquímicos com animais domésticos. Entre eles encontram-se o Grupo de Imunogenética da Universidade Federal de São Carlos e o Grupo (do Professor Jehud Bortolozzi) da UNESP, "Campus de Botucatu". En tretanto, não existe no país nenhum laborató rio trabalhando intensivamente com polimorfismos enzimáticos eritrocitário de animais domés ticos. Pelo que se sabe nenhuma agência governamental, além da EMBRAPA, se propôs a reali zar este estudo. A UEPAE de São Carlos nesse sentido é pioneira nessa linha de pesquisa, e tem atualmente um projeto em execução realiza-

do com filhas de touros em teste de progênie, chamado "Associação entre marcadores bioquímicos e características de produção e reprodução de um rebanho leiteiro". Pretende-se ainda, em breve, colaborar no conhecimento da raça Canchim que é uma raça bovina de corte com grande potencial produtivo. É importante também o conhecimento dos polimorfismos protéicos nas diferentes raças de eqüinos, ovinos, caprinos, suínos, bubalinos e asininos, exploradas no país.

A caracterização dessas diferentes raças permitirá, futuramente, estimar a distância genética entre elas, estabelecer relações filogenéticas e contribuir para o conhecimento da história evolutiva e para o melhoramento animal.

AGRADECIMENTOS

Deseja-se agradecer aos Drs. Airton Manzano, Antonio Junqueira Tambasco, Maurício Mello de Alencar e Rodolfo Godoy, pela valiosa colaboração.

REFERÊNCIAS

- ALLISON, A.C. Aspects of polymorphism in man. Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol. 20: 239-55, 1955.
- ASHTON, G.C.; SEIFERT, G.W. & FRANCIS, J. An association between serum amylase phenotype and tick infestation in cattle. Aust.J. Biol.Sci., 21: 303-8, 1968.
- BAKER, C.M.A. & MANWELL, C. Chemical classification of cattle: I. Breed groups. Anim. Blood Grps.biochem.Genet., 11: 127-50, 1980.
- BAKER, C.M.A. & MANWELL, C. Eletroforetic variation of erythrocyte enzymes of domesticated mammals. In: Agar, N.S. & Board, P. G. ed. Red blood cells of domestic mammals. New York, Elsevier, 1983.
- BORTOLOZZI, J. Grupos sanguíneos e polimorfismo bioquímico em bovinos da raça Canchim. Botucatu. UNESP, 1979. Tese de Livre docência.

BORTOLOZZI, J. Associations between degree of heterozigosity and growth traits in cattle. In: CONFERENCE ON ANIMAL BLOOD GROUPS AND BIOCHEMICAL POLYMORPHISMS. 19., Göttingen Germany, 1984.

BRUM, E.W.; HINES, H.C.; LUDWICK, T.M. & RADER, E.R. Relationship between blood or milk polymorphisms and size measures of Holstein heifers. Anim.Blood Grps.Biochem.Genet. 1: 247-52, 1970.

BRUM, E.W.; RAUSCH, W.H.; HINES, H.C. & LUDWICK, T.M. Association Between Milk and Blood Polymorphisms types and Lactation traits of Holstein Cattle. J.Dairy Sci., 51: 1031-8, 1968.

BURNS, J.M. Isozymes in Evolutionary Systematics. In: Isozymes. Genetic and Evolution. New York, Academic Press., 1975. V.4, p. 49-62.

CARR, W.R.; MACLEOD, J.; WOLF, B. & SPOONER, R.

L. A survey of the relationship of genetic markers, tick-infestation level and parasitic diseases in zebu cattle in Zambia. Trop.Anim.Hlth.Prod. 6: 203-14, 1974.

CRIMELLA, C. & CARENZI, C. Associazione tra polimorfismi ematici e fertilita di um gruppo di tori adibiti alla fecondazione artificiale. Genet.Agr. 29: 61-62., 1975.

EVANS, J.V. & TURNER, W. Haemoglobin type and reproductive performance in Australian Merino Sheep. Nature, 207: 1396-7., 1965.

FOWLE, K.E.; CLINE, J.H.; KLOSTERMAN, E.W. & PARKER, C.F. Transferrin Genotype and their relationship with blood constituents, fertility and Cow productivity. J.Animal.Sci., 25: 1226-31, 1967.

FRANCIS, J. & ASHTON, G.C. Tick resistance in cattle: Its stability and correlations with various genetic characteristics. Aust.J. Exp.Biol.Med.Sci., 45: 131-40, 1967.

GANHE, B. Studies on Transferrins in serum and milk of Swedish cattle. Anim.Prod., 3: 135-45, 1961.

GANHE, B. Inherited variations in the Post-albumins of cattle serum. Hereditas., 50: 126-35, 1963.

GELDERMAN, H.; PIEPER, U. & ROTH, B. Effects of marked chromosome sections on milk performance in cattle. Theor.Appl.Genet., 70: 138-46, 1985.

HUNTER, R.L. & MARKERT, C.L. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. Science, 125: 1294-95, 1957.

- JAMIESON, A. The distribution of transferrin genes in cattle. Heredity, 21: 191-218, 1966.
- JOHANSSON, I. & RENDEL, J. Genetic and Animal Breeding. New York Oliver & Boys, 1968. p. 185-212.
- KENNEDY, B.W. Selection Limits: Have they been reached with the dairy cow. Can.J.anim.Sci., 64: 207-15., 1984.
- KIDD, K.K.; STONE, W.H.; CRINELLA, C.; CARENZI, C.; CASATI, M. & ROGNONI, G. Immunogenetic and population genetic analyses of Iberian cattle. Anim.Blood.Grps.Biochem.Genet., 11: 21-38, 1980.
- LEWONTIN, R.C. The Genetic Basis of Evolutionary Change. New York, Columbia University Press., 1974.

MANWELL, C. & BAKER, C.M.A. Chemical classification of cattle. 2. Phylogenetic tree and specific status of the Zebu. Anim.Blood Grps. biochem. Genet., 11: 151-62., 1980.

Mc Dermid, E.M.; AGAR, N.S. & CHAI, C.K. Electrophoretic variation of red cell enzyme systems in farm animals. Anim.Blood Grps. and Biochem.genet., 6: 127-74., 1975.

MEGGIOLARO, O. Relazione tra le varianti genetiche della transferrina e la produzione del latte nelle bovine di razza Frisone Italiana. Rev.Zoot.Vet., 9: 185-9., 1981.

NEIMANN-SORENSEN, A. & ROBERTSON, A. The Association Between blood groups and several production characteristics in three danish cattle breeds. Acta Agric.Scand., 11: 163-96, 1961.

- OBST, J.M. & EVANS, J.V. Genotypic environment interaction in lamb mortality with particular reference to coat and haemoglobin type. Proc.Aust.Soc.Anim.Prod., 8: 149., 1970.
- PENEDO, M.C.T.; MORTARI, N. & MAGALHÃES, L.F. Carbonic anhydrase polymorphism in Indian Zebú cattle. Anim.Blood Grps.Biochemic. Genet., 13: 141-3., 1982.
- RENDEL, J. Studies of blood groups and protein variants as a means of revealing similarities and differences between animal populations. Animal breeding abst., 35: 371-83., 1967.
- SINGH, B.K. & NAIR, P.G. Genetic studies on some breeds of cattle (b) Use of genetic markers for differentiating breeds. Indian. Vet.J., 58: 42-6.
- SMITHIES, O. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. Biochem.J., 61: 629-41., 1955.

SPOONER, R.L. & MAZUMDER, N.K. Apparent heterozygote excess at the amylase I. locus in cattle. Anim.Prod., 16:209-14., 1973.

WALLACE, C.R. Effects of temperature on developing meristic structures of smallmouthbass, Micropterus dolomieu (Lacépède). Trans. Amer.Fisheries Soc., 102: 142-4., 1973.