

DETERMINAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO EM TRÊS POPULAÇÕES DE SUÍNOS

DETERMINATION OF POLYMORPHISMS IN THE GROWTH OF THE HORMONE GENE IN THREE POPULATIONS OF PIGS

Maurício Machaim Franco¹ Bárbara Amélia Aparecida Santana²
Luiz Ricardo Goulart Filho³ Robson Carlos Antunes⁴ Maurício Borges⁵

- NOTA -

RESUMO

Dois polimorfismos (GHC e GHD) no gene que codifica para o hormônio do crescimento foram determinados em um total de 96 animais de três raças de suínos (Pietrain, Large White e Landrace), através da PCR-RFLP. As frequências alélicas observadas para GHC foram C₁ 0,42, C₂ 0,0, C₃ 0,06 e C₄ 0,52 para Landrace; C₁ 0,0, C₂ 0,03, C₃ 0,14 e C₄ 0,83 para Large White e C₁ 0,02, C₂ 0,25, C₃ 0,28 e C₄ 0,45 para Pietrain. Para GHD, as frequências alélicas observadas foram D₁ 0,69 e D₂ 0,31 para Landrace; D₁ 0,25 e D₂ 0,75 para Large White e D₁ 0,72 e D₂ 0,28 para Pietrain.

Palavras-chave: suíno, polimorfismo, pGH.

SUMMARY

Two polymorphisms (GHC and GHD) in the growth hormone gene were evaluated in the ninety-six (96) animals of three breeds of pigs (Pietrain, Large White, and Landrace), through PCR-RFLP. Allele frequencies observed for the GHC polymorphism were: C₁ 0.42, C₂ 0.0, C₃ 0.06 and C₄ 0.52 for Landrace; C₁ 0.0, C₂ 0.03, C₃ 0.14 and C₄ 0.83 for Large White and C₁ 0.02, C₂ 0.25, C₃ 0.28 and C₄ 0.45 for Pietrain. The GHD polymorphism presented the following allele frequencies: D₁ 0.69 and D₂ 0.31 for Landrace; D₁ 0.25 and D₂ 0.75 for Large White

¹Doutorando em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, Bloco 2E, sala 24, 38400-902, Uberlândia, MG. E-mail: mmachaim@hotmail.com. Autor para correspondência

²Mestrando em Genética e Bioquímica, CAPES, UFU.

³Professor Titular - Departamento Genética e Bioquímica, UFU.

⁴Doutorando em Genética e Bioquímica/Rezende Alimentos S/A - UFU.

⁵Mestre em Genética e Bioquímica - Rezende Alimentos S/A.

and D_1 0.72 and D_2 0.28 for Pietrain.

Key words: pig, polymorphism, pGH.

A associação do gene que codifica para o hormônio do crescimento (GH) com características quantitativas tm sido citada na literatura. VIZE e WELLS (1987) isolaram e caracterizaram o gene em suínos. SCHELLANDER *et al.* (1994) estudaram sua variação molecular.

O objetivo do trabalho foi identificar dois polimorfismos dentro do gene GH.

DNA de 96 animais das raças Pietrain, Landrace e Large White foi extraído de sangue segundo *A Workshop on DNA Technologies and Selection of Animal Genetic Resources (1992)*, com modificações (BORGES, 1997).

Para a genotipagem, foi utilizado um par de *primers* desenhados por LARSEN e NIELSEN (1993). As condições no termociclador foram como se segue: 95°C por 3 minutos, 35 ciclos a 95°C por 45 segundos, 59°C por 45 segundos e 76°C por 1 minuto, e para extensão final 4 minutos a 76°C. As reações de PCR foram realizadas utilizando 50-150ng de DNA genômico, 1,5mM de MgCl₂, 10pmoles de cada *primer*, 8nmoles de dNTPs, 1U de Taq Polimerase e tampão da Taq (100mM Tris-HCl, 10mM KCl₂, 15mM MgCl₂, 1mg/ml BSA) 1X concentrado. O DNA amplificado foi digerido com as enzimas HhaI e DdeI. Com a HhaI (GHC), 4 alelos são obtidos, sendo: C₁ → 605pb, C₂ → 497 e 108pb, C₃ → 448 e 157pb, C₄ → 448, 108 e 49pb (Figura 1). Com a DdeI (GHD), dois alelos são obtidos, sendo: D₁ → 335, 148 e 122pb e D₂ → 457 e 148pb (Figura 2). A metodologia utilizada para verificar se as freqüências estavam em equilíbrio de

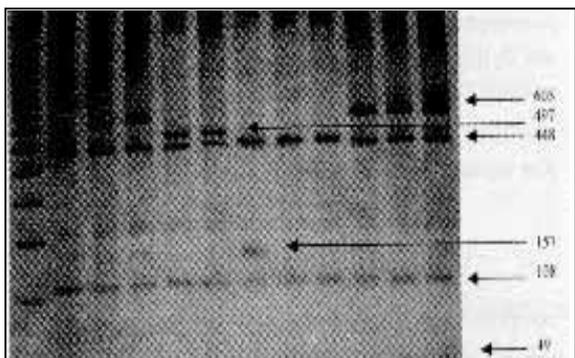


Figura 1 - Genotipagem do gene GH com a enzima HhaI em gel de poliacrilamida 10%. A coluna M representa o marcador de peso molecular de 100 pares de base; as colunas 1, 7 e 8 mostram o genótipo C₄C₄; as colunas 2, 3, 9, 10 e 11 mostram o genótipo C₁C₄; as colunas 4 e 5 mostram o genótipo C₂C₄ e a coluna 6 mostra o genótipo C₃C₄.

Hardy-Weinberg foi o teste do Qui-quadrado, utilizando a correção de Yates.

As tabelas 1 e 2 mostram as freqüências genotípicas e alélicas para os genótipos GHD e GHC.

Os genótipos de GHD na raça Large White não estão em equilíbrio ($P < 0,05$), mostrando um maior número de indivíduos heterozigotos. Para o polimorfismo GHC observa-se que nas raças Lan-

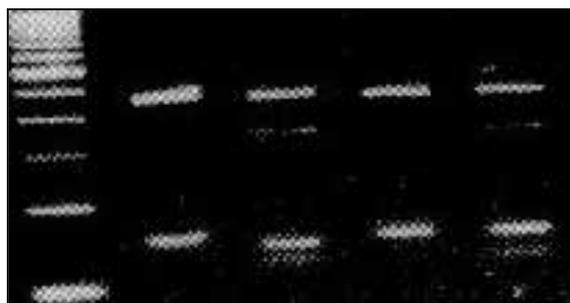


Figura 2 - Genotipagem do gene GH com a enzima DdeI em gel de agarose 2,5%. M-marcador de 100 pares de base; as colunas 1 e 3 mostram o genótipo D₂D₂ e as colunas 2 e 4 mostram o genótipo D₁D₂.

drace e Pietrain há um desvio do equilíbrio, com $P = 0,05$ e $P < 0,01$ respectivamente, mostrando um aumento no número de heterozigotos (C₁C₄ para Landrace e C₂C₄ para Pietrain). Essas populações estão sendo selecionadas para características reprodutivas, de performance e também contra o gene halotano, pelo DNA. Como o hormônio do crescimento está envolvido fisiologicamente com essas características, essa seleção pode estar influenciando suas freqüências genotípicas. HANDLER *et al.* (1996) estudando animais Landrace e Large White, mostraram uma maior freqüência do alelo C₃ ao passo que os estudados aqui apresentaram maior freqüência do alelo C₄. Isso pode ser devido à sele-

Tabela 1 - Freqüências genotípicas e alélicas observadas para o gene GHD.

Gene	Raça	D ₁ D ₁	D ₁ D ₂	D ₂ D ₂	D ₁	D ₂
GHD	Landrace	0,47	0,44	0,09	0,69	0,31
	L. White	-	0,50	0,50	0,25	0,75
	Pietrain	0,50	0,44	0,06	0,72	0,28

Tabela 2 - Frequências genotípicas e alélicas observadas para o gene GHC.

Gene	Raça	C ₁ C ₁	C ₂ C ₂	C ₃ C ₃	C ₄ C ₄	C ₁ C ₃	C ₁ C ₄	C ₂ C ₄	C ₃ C ₄	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
GHC	Landrace	0,10	0,0	0,03	0,23	0,06	0,58	0,0	0,0	0,42	0,0	0,06	0,52
	L. White	0,0	0,0	0,0	0,66	0,0	0,0	0,06	0,28	0,0	0,03	0,14	0,83
	Pietrain	0,0	0,035	0,14	0,11	0,035	0,0	0,43	0,25	0,02	0,25	0,28	0,45

ção para diferentes características, ou que os animais apresentam diferentes desempenhos para as mesmas características devido a diferenças ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A WORKSHOP on DNA technologies for the conservation and selection of animal genetic resources. **Practical Manual**. Brisbane, Austrália : June 14th to 26th , compiled and presented by CSIRO Molecular Animal Genetics Centre and the Centre for Molecular Biology and Biotechnology at the University of Queensland, 1992. p.70-71.

BORGES, M. **Marcadores moleculares e seus efeitos sobre características quantitativas de bovinos de corte**. Uberlândia – MG, 1997. 119p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Curso de Pós-graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, 1997.

HANDLER, J., SCHMOLL, F., STUR, I., *et al.* Distribution of Apa I and Cfo I polymorphisms of the porcine growth-hormone (pGH) gene in two RYR 1 genotyped austrian pig breeds. **J Anim Breed Genet**, v.113, p.57-61, 1996.

LARSEN, N.J., NIELSEN, V.H. Apa I and Cfo I polymorphisms in the porcine growth hormone gene. **Animal Genetics**, v.24, p.71, 1993.

SCHELLANDER, K., PELI, J., KNEISSL, F., *et al.* Variation of the growth hormone gene in RYR 1 genotyped austrian pig breeds. **J Anim Breed Genet**, v.111, p.162-166, 1994.

VIZE, P.D., WELLS, J.R.E. Isolation and characterization of the porcine growth hormone gene. **Gene**, v.55, p.339-344, 1987.