Revista Varia Scientia Agrárias
v. 01 n. 02, p. 157-166
Ano de Impressão 2010

ARTIGOS & ENSAIOS

Ana Paula Del Vesco [1],
Eliane Gasparino [2],
Maria Amélia Menck Soares [3],
Carlos Antonio Lopes de Oliveira [2].

USO DE GENES CANDIDATOS NO TAMANHO DA LEITEGADA

RESUMO: A suinocultura no Brasil ocupa lugar de destaque na produção de alimentos para consumo interno, e também para exportação. Os avanços ocorridos na genética na área da suinocultura podem ser considerados como fatores primordiais para que a mesma viesse a se mostrar como um importante setor da agropecuária brasileira. As características reprodutivas são essenciais para o desenvolvimento da produção, dentre essas, uma que se mostra bastante importante é o tamanho da leitegada. O uso de genes candidatos pode ser um método promissor na questão reprodutiva de suínos. Vários genes têm sido testados para este fim, como o gene receptor do estrogênio, a proteína 4 de ligação ao retinol (RBP4), o receptor da melatonina, o gene receptor da prolactina. E ainda outros genes de caráter importante na reprodução dos animais domésticos, como a Prostaglandina Endoperoxidase Sintetase 2, o gene ligado ao hormônio fator de crescimento epidérmico (EGF) e o hormônio folículo estimulante beta (FSHß). O uso de genes candidatos se faz necessário já que os mesmos são ferramentas potentes para a seleção de genótipos superiores.

PALAVRAS-CHAVE: suínos, genética, genótipos superiores.

USE OF CANDIDATE GENES IN PIGLETS SIZE

SUMMARY: Swine production in Brazil takes highlighted place in food

Data de recebimento: 19/08/09. Data de aceite para publicação: 26/10/09.

[1] Aluna de Pós-graduação do curso de zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná-Brasil.
[2] Professores do curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná-Brasil.
[3] Professora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465, Km 7 Seropédica, 23890-000, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-Brasil.

production for domestic consumption and export. Progress in genetics of swine breeding has developed to such an extent that it has become a very important sector within the Brazilian agricultural and cattle-raising industry. In fact, breeding characteristics are highly important for production development, since one of the most important features is the number of piglets. The usage of candidate genes may be a promising method within the issue on pig reproduction. Several genes, or rather, estrogen receptor gene, retinol binding protein 4 (RBP4), melatonin receptor, prolactin receptor gene have been tested, and highly positive results have been reached. And still other genes of important character in the reproduction of domestic animals, such as Endoperoxidase Prostaglandin Synthetase 2, a gene linked to hormone epidermal growth factor (EGF) and follicle stimulating hormone beta (FSHß). The use of candidate gene is necessary since they are powerful tools for selecting superior genotypes.

KEY-WORDS: pig, genetics, superior genotypes.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a suinocultura vem crescendo significativamente em volume de produção e obtendo melhores índices produtivos devido aos progressos genéticos alcançados quanto ao conhecimento do genoma suíno. De acordo com dados da FAO, esta atividade representa um importante setor entre as atividades pecuárias, onde o Brasil ocupa posição de destaque como um dos cinco maiores produtores mundiais. Em 2008 a produção mundial de carne suína foi de 104.990 toneladas e o consumo per capita de 15,9 kg/hab^{-1}/ano^{-1}, esses resultados colocam a carne suína como a mais consumida no mundo.

As mudanças de exigência do mercado e a vasta tecnologia disponível têm sido fatores decisivos para o direcionamento do melhoramento genético de suínos. O desempenho reprodutivo, em especial o tamanho e o peso da leitegada, é essencial ao sucesso da criação de suínos (PIRES *et al*. 2000). Esses animais são altamente prolíferos e apresentam produtividade superior a 20 leitões/matriz/ano (PEREIRA 2001).

As estimativas de herdabilidade para o número de leitões por leitegada encontram-se em torno de 0,10 (PEREIRA 2001; CHEN *et al*., 2003). Sua baixa herdabilidade e o fato de que a variabilidade presente na característica é atribuída aos efeitos genéticos não aditivos (TORRES-FILHO *et al.* 2005), fazem com que estas características sejam ainda pouco incluídas nos programas de melhoramento. Mesmo com um baixo ganho por seleção, ainda é compensador incluir características reprodutivas, como o tamanho de leitegada no processo,

já que o número de leitões reflete diretamente no número final de animais abatidos.

Tem sido possível obter animais com elevado potencial produtivo devido ao melhoramento genético dos rebanhos, isso porque o ganho genético alcançado com programas de melhoramento é permanente e cumulativo. Desse modo, um incremento na característica, mesmo que pequeno, é representativo e pode proporcionar grande retorno econômico aos produtores.

A partir dos anos 1990, marcadores moleculares vêm sendo identificados e mapeados, sendo que algumas integrações dos mapas continuam sendo realizadas com o objetivo de esclarecer o controle genético de características complexas. De acordo com NAGRP Pig Genome Coordination Program, novas publicações sobre o mapeamento genético vêm sendo disponibilizadas, e atualmente existem cerca de 1588 genes e 2493 marcadores nos bancos de dados de suínos. O mapeamento físico do genoma está crescendo e até o momento há 6000 sequências mapeadas. E ainda, há 1675 QTL identificados, representando 246 características. Segundo Rothschild *et al*. (2007), há 27 QTLs identificados que se relacionam diretamente ao tamanho de leitegada.

O primeiro passo na identificação de genes e de polimorfismos causais para características de importância na agricultura é a identificação de QTL, (SEATON *et al.,* 2002). Genes candidatos para uma determinada característica são genes seqüenciados de ação biológica conhecida (estruturais ou regulatórios) que estão envolvidos com o desenvolvimento ou fisiologia da característica em questão, e podem ser utilizados como passo seguinte após o mapeamento de um QTL em uma determinada região cromossômica (ROTHSCHILD 1997).

Embora, teoricamente, um gene candidato na identificação de um QTL seja de sucesso raro, os resultados experimentais acumulados revelam que uma significativa proporção da variação das características genéticas dentro da população realmente pode conduzir à presença de um gene candidato. Isto é muito importante, visto que a metodologia de um estudo do gene candidato não é onerosa e tem muitas vantagens relativas ao mapa de ligação para identificação de QTL dentro da população de seleção assistida por marcadores (ROTHSCHILD 1997). Entretanto, segundo o mesmo autor, a vantagem que o mapeamento tem sobre o gene candidato é que este não requer conhecimento prévio de um suposto gene. Além disso, o mapeamento de ligação pode, em princípio, identificar todas as regiões cromossômicas que contém um QTL de razoável magnitude de efeito.

Durante quase toda a ultima década, os pesquisadores do laboratório de Rothschild desenvolveram um extenso estudo envolvendo gene candidato no desempenho reprodutivo de suínos, o qual pôde ilustrar tanto o grau de sucesso notavelmente alto da investigação de gene candidato quanto os procedimentos atualmente seguidos. O estudo foi iniciado em 1991 com uma investigação do gene candidato no papel de gene receptor de estrogênio (ESR) controlando o tamanho de leitegada em suínos. Este gene possui importante papel no ciclo reprodutivo de fêmeas (ROTHSCHILD & SOLLER 1999 citados por DROGEMULLER *et al*., 2001).

O gene do receptor de estrogênio foi escolhido devido ao papel central que o estrógeno apresenta no ciclo reprodutivo de suínos. Além disso, existia uma sonda de cDNA humano para o gene e uma fonte de raça exótica; os porcos Meishan altamente prolíficos da China, tinham sido importados recentemente para o Estados Unidos. Usando a análise de Southern RFLP, foi demonstrado que um alelo ESR denominado B está associado com o aumento no tamanho da leitegada em linhas sintéticas Meishan (ROTHSCHILD *et al*., 1997). Em outros trabalhos (ROTHSCHILD *et a.,*1995 citado por ROTHSCHILD *et al.* 1996) foram usados teste de PCR-RFLP em cruzamentos de Meishan. Os resultados mostraram diferenças na primeira cria entre homozigotos para o gene ESR que era de quase 2,3 suínos por leitegada, com ação aditiva de gene. Em leitegadas subseqüentes, o efeito do alelo B foi de aproximadamente 0,5 porcos com ação dominante do gene. O efeito geral foi de 1,5 porcos por leitegada em suínos Chineses cruzados, comparando-se homozigotos e calculando a média de todas as leitegadas.

Este gene candidato foi testado por PCR-RFLP em muitos outros contextos genéticos. O alelo B também está segregando em várias populações de Large White (ROTHSCHILD *et al*., 1995 citado por SHORT *et al*., 1997) mas houve alguma sugestão de que o efeito do alelo B pode diferir entre algumas populações. Isto pode indicar que o contexto genético tem um impacto na expressão do gene ESR. Em estudos com número maior de dados, envolvendo aproximadamente 10.000 registros de leitegadas de quatro linhas comerciais de Large White (ROTHSCHILD *et al.,* 1997) evidenciou-se que as diferenças eram aditivas para o alelo B e uma diferença de 0,83 suínos por leitegada entre homozigotos AA e BB foi observada. Segundo os mesmos autores, o efeito é somente pouco menor em procriação tardia quando o alelo B mostra um efeito dominante. O efeito do alelo B nas quatro diferentes linhas destas populações comerciais de Large White foi mínimo. Um ponto extremamente interessante é que o alelo B não teve virtualmente

nenhum efeito negativo sobre características de interesse comercial devido à pleiotropia ou ligação com outro loci.

O tamanho da leitegada em suínos é afetado por muitas características incluindo intervalo de lactação, velocidade de ovulação e sobrevivência do embrião. Isso leva à escolha de genes que são suspeitos de ter um impacto significativo durante a prenhez. Um desses genes é a proteína 4 de ligação ao retinol (RBP4), que é expressa durante o prolongamento do embrião, um período critico na gestação de suínos (MESSER *et al.,* 1996 citado por ROTHSCHILD *et al*., 2000). ROTHSCHILD *et al.* (2000) encontraram resultados de aumento de 0,26 a 0,50 leitões / leitegada em linhagens comerciais relacionados ao alelo 1 do RBP4, e ainda concluíram que esses aumentos não causaram diminuições no peso ao nascimento. Esses autores afirmam que este gene pode ser um forte gene candidato para o tamanho de leitegada, principalmente para seleções onde a freqüência de ESR B é baixa.

O intervalo de desmama tem papel importante no número de serviço, número de leitegada por ano e no tamanho da leitegada por porca. Está sendo investigado o papel que o receptor de melatonina pode ter nesse processo. A Melatonina é um neuro-hormônio produzido pela glândula pineal; em mamíferos uma das funções mais importan-tes da melatonina é mediar a regulação dos ritmos sazo-nais por meio do fotoperíodo. A melatonina afeta a reprodução, em parte, por ativação de receptores no eixo hipotálamo-hipófise-gô-nadas. Dada a diversidade de receptores para melatonina no cérebro, é possível que ela atue em diversos locais exercendo vários efeitos reprodutivos, como a secreção de go-nadotrofinas, atividade das gônadas, comportamento se-xual e comportamento maternal (MALPAUX et al., 2001).

Messer *et al*. (1997) citado por Silva *et al*. (2003), estudando suínos de duas linhagens francesas de Large White (Francesa Hiperprolífica e Controle), encontraram frequências gênicas de 0,23 e 0,77 em dois fragmentos diferentes do gene para linhagem hiperprolífica e frequências inferiores nos mesmos fragmentos na linhagem controle, permitindo a suposição de que um alelo do gene MTNR1A (Gene Receptor da melatonina 1A) pode afetar o tamanho da leitegada.

Um forte gene candidato para o tamanho de leitegada é o gene do receptor de prolactina (LTH). A prolactina é um hormônio da pituitária anterior, sendo essencial para o sucesso reprodutivo e seu receptor (RPRL) tem sido detectado em vários tecidos incluindo cérebro, ovário, placenta e útero de diversas espécies domésticas. O gene RPRL tem sido recentemente mapeado em suínos no cromossomo 16. O RPRL é

considerado um gene candidato para o tamanho de leitegada devido ao seu papel integral na via da prolactina.

Seqüências de cDNA humano e de coelhos foram publicadas, comparadas e utilizadas para desenhar *primers* degenerados para amplificar, por PCR, um fragmento do DNA genômico de porco nas regiões 3' traduzidas e não traduzidas. Um fragmento de aproximadamente 500 pares de base (pb) foi amplificado e seqüenciado para confirmar se este era o gene PRLP de suíno. Os *primers* específicos para suínos foram desenhados e amplificaram fragmentos de 457 pb. Um fragmento RFLP-PCR foi identificado e usado para mapeamento de ligação do PRLP no cromosssomo 16 de suíno. Em um crivo inicial de uma linha comercial, indicou que fêmeas AA têm 0,66 mais porcos por leitegada do que fêmeas AB ou BB (VINCENT *et al*., 1998 citado por SILVA *et al*., 2003); esse aumento não altera o peso médio ao nascimento. Este marcador está também sendo usado para separar outras linhas comerciais para confirmar os achados anteriores. Estes resultados preliminares sugerem que PRLP será outro importante gene candidato para o tamanho de leitegada em suínos.

A osteopontina (OPN) é uma glicoproteina fosforilada expressa na superfície luminal uterina com funções na proteção e adesão celular. Southwood *et al.* (1998) citado por SILVA *et al.* (2003), pesquisando duas populações comerciais de suínos, encontraram nas mesmas efeitos aditivos no OPN, correlacionando-os com aumentos de 1,38 e 1,61 leitões por leitegada. De acordo com LIN *et al*. (2006), polimorfismos no gene do OPN também foram associados positivamente à motilidade espermática e ao número de leitões nascidos vivos.

Outros genes de caráter importante na reprodução dos animais domésticos, com funções fisiológicas devidamente conhecidas também podem ser utilizados em estudos futuros como genes candidatos; como exemplo tem-se a Prostaglandina Endoperoxidase Sintetase 2 (PTGS2), uma enzima que atua na produção de prostaglandinas (LAGES 1998) e possui importante papel no estabelecimento da gravidez de suínos (DROGEMULLE *et al*., 2001) e o gene ligado ao hormônio fator de crescimento epidérmico (EGF), já que o mesmo atua na função fisiológica reprodutiva .

O hormônio folículo estimulante beta (FSHß) também pode ser considerado em estudos como gene candidato para o tamanho de leitegada, já que o mesmo atua no crescimento de pequenos e médios folículos ovarianos (MANNAERTZ *et al*., 1994). Embora não encontrando efeito genético aditivo no tamanho de leitegada associado a um marcador dentro da região cromossômica de FSHâ, LINVILLE *et al*. (2001)

consideram este gene como candidato em estudos de prolificidade.

Em detrimento de um mercado em expansão, a suinocultura vem se tornando cada vez mais eficiente, e assim, varias metodologias vem sendo empregadas no sentido de aumentar a produtividade, proporcionando maiores retornos para produtores e indústrias, além de maior satisfação do consumidor com o produto final. O melhoramento genético tem sido fundamental para o desenvolvimento dessa atividade. Um ponto fundamental para um programa de melhoramento genético de qualidade é a seleção de genótipos superiores em uma determinada população. A maioria das características produtivas de interesse é de caráter quantitativo, determinadas por muitos genes. Entretanto, alguns desses genes podem ter maior importância no controle fenotípico dessas características; esses genes são chamados genes candidatos, e é possível identificar polimorfismos nesses genes de grande efeito através de técnicas moleculares, tais polimorfismos são ditos marcadores moleculares. Esses marcadores são utilizados como potentes ferramentas na identificação de genótipos superiores, necessários para a base de um programa de melhoramento de sucesso. Com isso, torna-se cada vez mais necessário o conhecimento de genes candidatos que atuem em características de grande interesse econômico, como é o caso do tamanho da leitegada.

REFERÊNCIAS

CHEN, P.; BAAS, T.J.; MABRY, J.W.; KOEHLER, K.J.; DEKKERS, J.C.M. Genetic parameters and trends for litter traits in U.S. Yorkshire, Duroc, Hampshire, and Landrace pigs. **Journal of Animal Science**, Urbana, v. 81, p. 46-53, 2005.

DROGEMULLER, C.; HAMANN, H., DISTL, O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. **Journal of Animal Science**, Urbana, v.79, p. 2565-2570, 2001.

KAMINSKA, B., OPALKA, M., CIERESZKO, R.E. & DUSZA, L. The involvement of prolactin in the regulation of adrenal cortex function in pigs. **Domestic Animal Endocrinol**, Philadelphia, v.19, p. 147-157, 2000.

LIN, C.; THOLEN, E.; JENNEN, D.; PONSUKSILI, S.; SCHELLANDER, K.; WIMMERS, K. Evidence for effects of testis and epididymis expressed genes on sperm quality and boar fertility traits. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v.41, n.6, p. 538-543, 2002.

LINVILLE, R.C.; POMP, D.; JOHNSON, R.K.; ROTHSCHLID, M.F.

Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. **Journal of Animal Science**, Urbana, v. 79, p. 60-67, 2001.

MALPAUX, B. Biology of mammalian photoperiod-ism and critical role of pineal gland and melatonin. **J. Biol. Rhythms**, Urbana, v.16, p.336-347, 2001.

MANNAERTZ, B.; UILENBROCK, J.; SCHOT, P.; LEEUW, R. Folliculogenesis in hypophysectomized rats after treatment with recombinant human follicle-stimulating hormone. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 51, n.1, p. 72-81, 1994.

MESSER, L.A.; WANG, L.; TUGGLE, C.K.; YERLE, M.; CHARDON, P.; POMP, D.; PEREIRA, J.C.C. 2001. **Melhoramento genético aplicado a produção animal**. 2.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001. 555p.

National Animal Genome Research Program - Pig Genome Coordination Program (NAGRP). Disponível em: http://www.animalgenome.org. Acesso em: 14 set. 2008.

Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). Disponível em: https://www.fao.org.br. Acesso em: 14 nov. 2009.

PIRES, A.V.; LOPES, O.S.; TORRES, R.A.; EUCLYDES, R.F.; SILVA, M.A.; COSTA, A.R.C. Tendências genéticas dos efeitos genéticos direto e materno em características reprodutivas de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 1689-1697, 2000.

ROTHSCHILD, M.F.; HU, Z.L.; Jiang Z. Advances in QTL Mapping in Pigs. **International Journal of Biological Sciences**, Australia, v. 3, n.3, p. 192-197, 2007.

ROTHSCHILD, M.F.; JACOBSON, C.; VASKE, D.A.; TUGGLE, C.K.; SHORT, T.; SASAKI, S.; ECKARDT, G.R.; MACLAREN, D.G. A major gene for litter size in pigs. IN: PROCEEDINGS OF THE 5t WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 21, 1994, Gelph. p. 225-228.

ROTHSCHILD, M.F.; JACOBSON, C.; VASKE, D.A.; TUGGLE, C.K.; WANG, L.; SHORT, T.; ECKARDT, G.R.; SASAKI, S.; VINCENT, A.; MCLAREN, D.G.; SOUTHWOOD, O.; VAN DER STEEN, H.; PLASTOW, G. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. **Proceedings of the National Academy of Sciences,** Washington, v. 93, n.1, p. 201-205, 1996.

ROTHSCHILD, M.F.; MESSER, L.; DAY, A.; WALES, R.; SHORT, T.; SOUTHWOOD, O.; PLASTOW, G. Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. **Mammalian Genome**, Nova Yorque, v. 11, p. 75-77, 2000.

ROTHSCHILD, M.F.; SOLLER, M. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. Probe, v. 8, p.13-20 , 1997.

ROTHSCHILD, M.F.; SOLLER, M. 1999. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE GENETICA E MELHORAMENTO ANIMAL, 1, 1999,Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. p. 219-242.

ROTHSCHILD, M.F.; VASKE, D.A.; TUGGLE, C.K.; MESSER, L.A.; MCLAREN, D.G.; WANG, L.; SHORT, T.H.; ECKARDT, G.R.; MILEHAM, A.J.; PLASTOW, G. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. **Proceedings of the National Academy of Sciences,** Washington, v. 93, p. 201-205, 1996.

RUSHEN, J.; ROBERT, S.; FARMER, C. Evidence of a limited role for prolactin in the preparturient activity of confined gilts. **Applied Animal Behaviour Science**, Lennoxville, v. 72, n. 4, p. 309-319, 2001.

SEATON, G.; HALLEY, C.S.; KNOTT, S.A.; KEARSEY, M.; VISSCHHER, P.M. QTL Express: Mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. **Bioinformatics**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 339-340, 2002.

SHORT, T.H.; ROTHSCHILD, M.F.; SOUTHWOOD, O.I.; MCLAREN, D.G.; DEVRIES, A.; VAN DER STEEN, H.; ECKARDT, G.R.; TUGGLE, C.K.; HELM, J.; VASKE, D.A.; MILEHAN, A.J.; PLASTOW, G.S. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. **Journal of Animal Science**, Urbana, v. 75, p. 3138-3142, 1997.

SILVA, M.V.; LOPES, P.S.; GUIMARÃES, S.E.; TORRES, R.A. Utilização de marcadores genéticos em suínos. I. Características reprodutivas e de resistência a doenças. **Archivo Latino-americano de Produção Animal**, v. 11, n.1, p. 1-10, 2003.

SOUTHWOOD, O.I.; SHORT, T.H.; PLASTOW, G.S. 1998. Genetic markers for litter size. IN: PROCEEDINGS WORLD CONGRESS ON GENETIC APPLIED TO LIVESTOCK, 26, 1998, Armidale. p. 453.

TORRES-FILHO, R.A.; TORRES, R.A.; LOPES, O.S.; PEREIRA, C.S.; EUCLYDES R.F.; ARAÚJO, C.V.; SILVA, M.A.; BREDA, F.C. 2005. Estimativas de parâmetros genéticos para características reprodutivas de suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n.5, p. 684-689, 2005.

VINCENT, A.L.; SHORT, T.H.; ECKARDT, G.R.; MCLAREN, D.G.;

SOUTHWOOD, O.I.; PLASTOW, G.S.; TUGGLE, C.K.; ROTHSCHILD, M.F. 1998. The prolactin receptor is a associated with increased litter size in pigs. IN: PROCEEDINGS WORLD CONGRESS ON GENETIC APPLIED TO LIVESTOCK, 27, 1998, Armidale.

WOMACK, J.E.; BARENDSE, W.; CRAWFORD, A.M.; NOTTER, D.R.; ROTHSCHILD, M.F. Mapping of the melatonin receptor 1a (MTNR1A) gene in pigs, sheep, and cattle. **Mammalian Genome**, Nova Yorque, v. 8, p. 368-370, 1997.