

BIOTECNOLOGIAS DA REPRODUÇÃO ANIMAL

Biologia molecular aplicada à biotecnologia

Marcella Pecora MILAZZOTTO¹, José Antonio VISINTIN¹, Mayra Elena Ortiz d'Ávila ASSUMPÇÃO¹

A pecuária corresponde hoje a mais da metade da produção agrícola em países desenvolvidos e mais de um quarto em países em desenvolvimento. Em resposta ao crescimento populacional e ao padrão de consumo que se eleva conforme a renda do consumidor, a pecuária cresce mais rápido do que outros setores da agricultura. Atualmente, o aumento na produção visa não só a expansão do número de animais, mas, principalmente, o aumento de sua eficiência.

Além da seleção de animais superiores em relação aos caracteres de produção, busca-se também o desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas que visam o aumento do desempenho reprodutivo dos rebanhos. Apesar de algumas destas biotécnicas existirem há mais de 50 anos, nos últimos dez anos houve um grande aprimoramento das já existentes e o desenvolvimento de novas, sendo que muitos centros de pesquisa migraram para locais mais próximos ao produtor. Atualmente, algumas técnicas já apresentam grande aplicabilidade a campo como a inseminação artificial, a sexagem de sêmen, a transferência e criopreservação de embriões e a produção *in vitro* de embriões, enquanto outras ainda permanecem mais restritas a centros de pesquisa como a transgenia e a clonagem.

No entanto, o melhoramento genético da performance produtiva e reprodutiva em animais de ambiente tropical requer não somente a implantação das biotécnicas de reprodução, mas também o conhecimento do grau de variação genética e das correlações entre genótipos e fenótipos das características envolvidas. Informações sobre as variáveis genéticas nessas condições são escassas na literatura (LÔBO, 1998), o que torna necessário o melhoramento destas tecnologias. Estas melhorias podem ser conseguidas pela adoção e expansão do conhecimento e das metodologias existentes.

De qualquer modo há um substancial desenvolvimento de novos conhecimentos e técnicas no campo, amplamente denominado de "biotecnologia", que oferece a perspectiva de atuar diretamente no melhoramento de animais de produção. A biotecnologia abre novas oportunidades na melhora da produtividade de animais pelo aumento da qualidade da carcaça, maior desenvolvimento ponderal, maiores índices reprodutivos, melhoramento na nutrição e utilização dos alimentos, levando-se em conta a qualidade e a segurança desta produção.

¹ Departamento de Reprodução Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/ USP

Por muitos anos, a seleção genética de animais e plantas foi feita sem o conhecimento dos genes responsáveis pela determinação das características. O crescimento acelerado no campo da Biotecnologia majoritariamente ocorreu a partir da década de 70, com o desenvolvimento de técnicas de manipulação do material genético (DNA). Os trabalhos nesta área, a qual ficou conhecida como Engenharia Genética e, posteriormente, tecnologia do DNA recombinante, levaram ao desenvolvimento da Biotecnologia Moderna. Mesmo assim, até recentemente, as ferramentas para a identificação de genes responsáveis por diferenças entre indivíduos ou populações ainda não estavam disponíveis. A difusão do conhecimento na área da biologia molecular tem mudado esta situação e tem permitido a identificação de genes em humanos, plantas e animais em estudos de associação (BOVENHUIS, 1997). Por esta razão, os estudos hoje estão voltados para a elucidação dos mecanismos bioquímicos mediados pela expressão de genes específicos, responsáveis pela manifestação de determinados fenótipos de interesse, área denominada seleção assistida por marcadores ("marker assisted selection - MAS"), na qual algumas técnicas foram desenvolvidas e vêm sendo utilizadas com grande sucesso. Para a obtenção desses marcadores pode se recorrer à busca de genes principais, onde se objetiva estudar os mecanismos fisiológicos envolvidos com a manifestação das características de produção de interesse, na tentativa de pesquisar variações de genes específicos entre indivíduos que apresentem fenótipos diferentes (WOMACK, 1993).

Mapas genéticos baseados em marcadores moleculares e análise de regiões microssatélites também provêm ferramentas para a detecção e mapeamento de genes de importância econômica. Uma vez identificadas essas regiões e relacionadas com fenótipo de interesse torna-se possível estimar-se os valores das próximas gerações independentemente da observação fenotípica, o que resulta em diminuição do intervalo entre gerações. Com esta análise, primeiramente, ao invés de se ter o conhecimento dos genes de interesse e seus efeitos, são identificadas regiões denominadas *loci* de interesse quantitativo (QTLs – *quantitative trait loci*), que segregam juntamente com o gene responsável pela manifestação de determinada característica na formação dos gametas (BOVENHUIS, 1997). O uso desta ferramenta em animais de produção passou da teoria para a prática durante a década de 90. Mapas de ligação vêm sendo construídos e contêm centenas e até milhares de marcadores microssatélites distribuídos através do genoma o que, associados às análises estatísticas, facilitam o encontro das regiões de interesse e potencialmente dos genes envolvidos nas manifestações fenotípicas (CUNNINGHAM, 1999).

Além das técnicas de busca de marcadores no DNA genômico, novas metodologias para o estudo de expressão gênica vêm sendo desenvolvidas nos últimos anos. Tendo como base de que a expressão gênica é diferente entre tecidos normais e em processos patológicos, a descoberta de genes expressos diferentemente é um ponto crítico na compreensão dos mecanismos moleculares envolvi-

dos em diferentes manifestações fenotípicas (WANG, 1997). A análise da expressão gênica é importante em diversos campos da pesquisa uma vez que mudanças na fisiologia de um organismo ou célula são acompanhadas por mudanças no padrão de expressão gênica (VAN HAL, 2000). Outras técnicas incluindo hibridização diferencial, análise serial de expressão gênica (SAGE), RNA (ácido ribonucleico) *differential display* entre outras são utilizadas para a identificação de moléculas que diferem em abundância entre dois conjuntos celulares (WANG, 1997). Os “chips” de DNA também fazem parte de uma nova e poderosa tecnologia que aumenta substancialmente a velocidade dessas descobertas e baseia-se na hibridização do RNAm (RNA mensageiro) com um arranjo de alta densidade de seqüências alvo, dispostas sobre uma membrana ou lâmina, cada uma correspondendo a um gene específico (VAN HAL, 2000).

Uma outra estratégia para se conhecer a função de um determinado gene são os experimentos de perda-de-função que consistem em diminuir a formação de RNAm e conseqüentemente da proteína por ele formada para se analisar as conseqüências desta inibição no organismo. A partir destas informações, pode-se deduzir a função do gene inativado. A abordagem mais usada atualmente foi descrita por Fire et al (1998) e é denominada RNA de interferência. Nesta metodologia, moléculas de RNA complementares ao RNA mensageiro alvo são inseridas na célula e ativam complexos enzimáticos responsáveis, em última análise

pela degradação do RNAm específico.

No entanto, para a otimização da utilização de qualquer uma das metodologias descritas acima na busca de marcadores é necessária, primeiramente, a compreensão da fisiologia da manifestação do fenótipo a ser estudado. No caso do estudo de animais de produção ainda há pouca literatura o que dificulta sua compreensão. Outro ponto muito importante que vale ser ressaltado é a diferença que existe entre marcadores de acordo com espécies e raças (MARTINS et al, 2006; MILAZZOTTO et al, 2007). Assim, um marcador desenvolvido e validado, por exemplo, para produção de leite em vacas holandesas não necessariamente será efetivo na seleção de vacas com maior produtividade em outras raças. Portanto, cada marcador, antes de ser disponibilizado para uso comercial, deve ser novamente validado para a raça em questão. Além disso, para que haja desenvolvimento biotecnológico, a formação de profissionais altamente qualificados se faz necessária. Esta formação está condicionada ao maior desenvolvimento econômico e social como um todo, bem como à disseminação da informação para a população para a correta aplicação dos recursos biotecnológicos desenvolvidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOVENHUIS, H., VAN ARENDONK, J.A.M., DAVIS, G., et al. Detection and mapping of quantitative trait loci in farm animals. **Livestock Production Science**. v. 52, p. 135 – 144, 1997.

CUNNINGHAM, E.P. – The application of biotechnologies to enhance animal production in

different farm systems. **Livestock Production Science**. v. 58, p. 124, 1999.

FIRE, A., XU, S., MONTGOMERY, M.K., KOSTAS, S.A. et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**. v. 391, 1998

LÔBO, R.N.B. – Genetic parameters for reproductive traits of zebu cows in the semi arid region of Brazil. **Livestock Production Science**. v. 55, p. 245 - 248, 1998

MARTINS, L., MILAZZOTTO, M.P., FEITOSA, W.B. et al. Alpha-lactalbumin gene polymorphism in Dairy nellore breed (*Bos primigenius indicus*). In: 8th International Workshop on the Biology of Lactation in Farm Animals, 2006, Pirassununga. **Revista de Ciências Veterinárias**. Pirassununga: Universidade de São Paulo/Centro Universitário Anhanguera, 2006. v. IV. p. 45-45.

MILAZZOTTO, M.P., RAHAL, P., NICHI, M. et al. New molecular variants of hypothalamus–pituitary–gonad axis genes and their association with early puberty phenotype in *Bos taurus indicus* (Nellore). **Livestock Science**. in press, 2007.

van HAL, N.L.W., VORST, O., van HOUWELINGEN, A.M.M.L. et al. The application of DNA microarrays in gene expression analysis. **Journal of Biotechnology**. v. 78, p. 271 – 280, 2000.

WANG, X., FEUERSTEIN, G.Z. – The use of mRNA differential display for Discovery of novel therapeutic targets in cardiovascular disease. **Cardiovascular Research**. v. 35, p. 414 - 421, 1997

WOMACK, J.E. – The goals and status of the bovine gene map. **Journal of Dairy Science**. v. 76, p. 1199 – 1203, 1993.