

POLIMORFISMO GENÉTICO DA LEPTINA E DO RECEPTOR DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO EM CAPRINOS

GENETIC POLYMORPHISM OF THE LEPTIN AND RECEPTOR GROWTH HORMONE IN GOATS

Silva, N.M.V.^{1*}, Ribeiro, M.N.², Rocha, L.L.³, Gomes Filho, M.A.⁴ e Lima, A.P.S.⁵

¹Departamento de Produção Animal. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife/PE. Brasil.
*nubiamsvieira@yahoo.com.br

²Departamento de Zootecnia. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife/PE. Brasil.
mn.ribeiro@uol.com.br

³Departamento de Fisiologia Animal. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife/PE. Brasil.
manoeladria@yahoo.com.br

⁴Departamento de Zootecnia (UAST). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife/PE. Brasil.
laura_rocha77@yahoo.com.br

⁵Biotecnologia-Renorbio. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife/PE. Brasil. patillima@gmail.com

PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Marcadores moleculares.

ADDITIONAL KEYWORDS

Molecular markers.

RESUMO

Objetivou-se estudar a relação entre o polimorfismo no gene da leptina (LEP), especificamente o exón 2, e o microssatélite do receptor do hormônio do crescimento (SSR-GHR) com as características de crescimento em animais das raças Anglo-Nubiana e Boer, a fim de identificar marcadores que possam ser úteis na seleção desses animais da espécie caprina de elevado mérito genético. Foram obtidas as frequências alélicas e heterozigosidade com auxílio do programa Toolkit. O teste para o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi feito com auxílio do GENEPOL, no qual os marcadores se mostraram em desequilíbrio para as populações. Para a LEP os valores de heterozigosidade observada foram bem maiores do que os esperados e todos os animais apresentaram o mesmo padrão eletroforético com dois alelos (150 e 152 pb). No locus do GHR observou-se cinco alelos com tamanho variando de 90 a 125 pb. Para verificar a influência dos genótipos dos fragmentos polimórficos do GHR e da leptina sobre o desenvolvimento dos animais foram utilizados os pesos ao nascer (PN) e ao desmame (PD), para os quais foi feita análise de variância e teste de médias com auxílio do

procedimento GLM do programa SAS. Observou-se efeito significativo dos genótipos sobre os pesos ao nascer (PN) e à desmame (PD). Sugere-se, o estudo destes polimorfismos em maior número de animais para confirmação do efeito sobre características de crescimento.

SUMMARY

This study aimed to evaluate the relationship between leptin gene polymorphism (LEP), specifically exon 2, and microsatellite of the growth hormone receptor (GHR-SSR) with the growth characteristics of Anglo-Nubian and Boer goats to identify useful markers for selecting animals with high genetic merit. The Toolkit program was used for obtaining the allele frequencies and heterozygosity. Hardy-Weinberg equilibrium test was performed with GENEPOL software. Markers were in disequilibrium in all populations studied. Observed heterozygosity values for LEP were greater than expected heterozygosity. All animals showed the same electrophoretic pattern with two alleles (150 and 152 bp). On GHR locus was detected five alleles ranging from 90 to 125 bp.

Recibido: 29-7-10. Aceptado: 22-9-11.

Arch. Zootec. 61 (234): 187-195. 2012.

Birth weight (BW) and weaning weight (PD) were used to evaluate the influence of polymorphic fragments on the animal growth. They were analyzed by GLM procedure of SAS software. The genotypes showed a significant effect on birth (BW) and weaning weight (PD). It is necessary to increase the number of samples to confirm the relationship among *GHR* and leptina polymorphic fragments *GHR* and growth characteristics.

INTRODUÇÃO

É notória a crescente preocupação com a qualidade da carne nas espécies de interesse econômico devido ao mercado em expansão e a crescente demanda por carnes mais magras e de melhor qualidade. A China, Índia, Austrália, Nova Zelândia e Turquia são os países com maior concentração de rebanhos, enquanto o Brasil vem ocupando o nono lugar (Correia, 2007). O rebanho caprino brasileiro está em torno de 9,450 milhões de cabeças, sendo a região Nordeste detentora de 8,637 milhões (IBGE, 2007). Embora o Nordeste possua condições edafoclimáticas favoráveis para a criação destes animais, (Madruga *et al.*, 2005), o desenvolvimento do agronegócio da caprinocultura, quanto à sua tecnificação, ainda é inexpressiva, se comparada aos de bovinos e suínos. Dentre as raças caprinas com aptidão para produção de carne estão a Boer e Anglo-Nubiana, que segundo (Madruga *et al.*, 2005), vem sendo utilizadas recentemente em cruzamentos com rebanhos SPRD (sem padrão racial definido) e também, com raças nativas como a Moxotó.

Para a cadeia produtiva da caprinocultura de corte alcançar um nível promissor e competitivo é indispensável o desenvolvimento de tecnologias que possam auxiliar a melhoria da qualidade e eficiência na produção. É necessário profunda modificação de logística, para que ocorram mudanças no cenário nacional, em todas as classes envolvidas na produção de caprinos de corte, desde o pesquisador até o produtor.

Uso de dados moleculares como os marcadores bioquímicos e de DNA em pro-

mas de melhoramento genético ajuda o melhorista a alcançar o objetivo desejado e essas vantagens vão desde a seleção precoce de animais, por meio da análise de genes antes que ocorra sua expressão, até a seleção de características que são mensuradas após a morte do animal (Schierholt, 2005), como por exemplo, os parâmetros de qualidade da carne (força de cisalhamento e atividade da calpastatina) que requerem serem realizadas no final do ciclo produtivo.

Coutinho *et al.* (2007) em uma revisão sobre genômica animal, destacam que, dentre as espécies domésticas de interesse econômico, a caprina é a que tem sido menos estudada e seu genoma ainda não foi completamente estudado, com apenas 637 dbEST, ou seja, a *Sequence Tag* é uma subsequência pequena de cDNA transcrita, bem inferiores aos de espécies como bovina, ovina, suína, equina, canina e peixes.

O uso eficiente de marcadores moleculares deve considerar como base, o polimorfismo genético, bem como os aspectos técnicos dos métodos que os definem inclusive as vantagens e limitações de cada classe (Faleiro, 2007). Os marcadores moleculares destacam-se por serem altamente polimórficos, detectados em qualquer fase da vida do indivíduo e apresentarem características dominantes ou co-dominantes, além de não serem influenciados pelo ambiente. Uma das principais metas da pesquisa genômica tem sido a identificação de locos que controlam características quantitativas, sendo a análise de genes candidatos uma das abordagens mais utilizadas para esse fim.

A busca de genes candidatos para características ligadas à produtividade vem aumentando consideravelmente, sendo ferramenta valiosa para o melhoramento animal.

O gene candidato deve apresentar um ou mais polimorfismos nos animais parentais usados; deve-se verificar se a mutação é conservativa e em seguida, realiza-se estudos visando identificar associações com características de interesse nos pro-

POLIMORFISMO GENÉTICO DA LEPTINA E DO *GHR* EM CAPRINOS

gramas de melhoramento (Schierholt, 2005).

Na espécie caprina são poucos os estudos realizados com essa finalidade como o de (Singh *et al.*, 2009) com duas raças indianas, o que torna necessário ampliar os estudos, para identificação de genes candidatos com implicação em características de interesse econômico. Faz parte desta categoria de marcadores, o gene do hormônio do crescimento e o gene da leptina. Ambos exercem atividades biológicas no organismo, podendo estar associados a uma ou mais características de produção.

A caracterização do gene da leptina na região do exón 2 tem sido analisada em diferentes espécies, como suína, bovina, bubalina, humana (Liefers *et al.*, 2002; Zwierzchowski *et al.*, 2001). Dois alelos (T e C) foram observados no gene da leptina com a enzima de restrição *HinfI*, análise de restrição na espécie suína (Stratil *et al.*, 1998). O padrão de polimorfismo foi associado com a deposição de gordura corporal e maior nível de RNAm da leptina no tecido adiposo em bovinos de corte (Buchanan *et al.*, 2002). O presente estudo teve como objetivo estudar um seguimento do gene da leptina na região do exón 2 e o microssatélite do receptor do hormônio do crescimento em duas raças de caprinos Anglo-Nubiana e Boer, investigando a ocorrência de polimorfismos e sua associação com características de crescimento, com a finalidade de gerar informações que possam auxiliar na seleção destes animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 62 caprinos, dos quais 30 da raça Boer (25 fêmeas e 5 machos) e 32 da raça Anglo-Nubiana (24 fêmeas e 8 machos) provenientes de diferentes fazendas dos municípios: Bezerros (16 Anglo-Nubiana) e Chã-Grande (15 Boer) do Estado de Pernambuco e do município Juazeiro (16 Anglo-Nubiana) e (15 Boer), Estado da Bahia.

Para as análises moleculares foram coletados cerca de 5 mL de sangue periféri-

co de cada animal, por punção da veia jugular, utilizando-se tubos *vacutainer* contendo 7,5 mg de EDTA. Após a colheita, os tubos foram mantidos à -20°C até o momento da extração de DNA. No momento da coleta de material biológico também foram obtidos dados de peso ao nascer e ao desmame de cada indivíduo.

As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Animal Molecular Aplicada do Departamento de Morfologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A extração do DNA foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Maniatis *et al.* (1989). Posteriormente a obtenção do DNA genômico realizou-se uma análise qualitativa.

O DNA extraído mostrou-se íntegro, sem quaisquer sinais de contaminação e em boa quantidade, como pode ser observado na figura 1.

As reações de PCR foram realizadas em termociclador (Biocycler) utilizando água ultra-pura, tampão, dNTP, primers sintetizados para o gene da leptina na região do exón 2 e para o gene do *GHR*.

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE AMPLIFICAÇÃO POR PCR DO EXÓN 2 DA LEP E DO GENE DO *GHR*

As genotipagens dos polimorfismos do

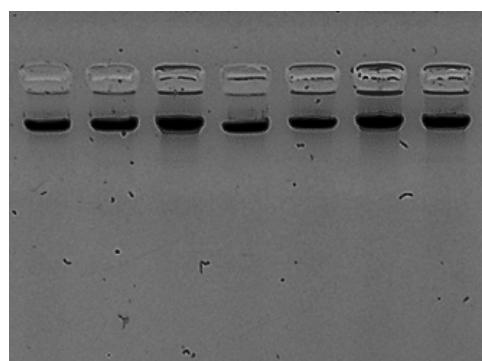


Figura 1. Eletroforese contendo amostras de DNA genômico extraído. (Electrophoresis of samples containing the extracted genomic DNA).

éxon 2 do gene da leptina e do microssatélite do gene *GHR* (SSR-*GHR*) foram realizadas por PCR, utilizando oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) descritos por Neuenschwander *et al.*, 1996 para leptina: primer Forward - 5'-TGC AGT CTG TCT CCT CCA AA - 3' primer Reverse: 5'- CGA TAA TTG GAT CAC ATT TCT G - 3' e por Lucy *et al.* (1998) para o microssatélite do *GHR*: primer Forward - 5' gtg ctc taa tct ttt ctg gta cca gg 3' e primer Reverse - 5' cct ccc caa atc aat tac att ttg tc 3PCR - leptina.

Para o éxon 2 do gene da leptina foi utilizado o PCR Optimizer Kit (Invitrogen), constituído por tampão com 200 mM de Tris-HCl e 50 mM de sulfato de amônio. Para a reação foi utilizado 2 µL de DNA genômico (20 ng/µL) adicionados a 23 µL do mix de reação compostos pelos seguintes reagentes: 2,5 de um tampão de buffer; 2,5 µL de dNTP (2 mM), 1,5 µL MgCl₂, 1 µL (2 mM) de cada primer (10 pmoles/µL), 0,1 µL (1U) de enzima Taq DNA polimerase (Invitrogen), para um volume final de 25 µL. O termociclador foi programado para 35 ciclos térmicos constituídos por: desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos (1 ciclo); desnaturação a 95°C por 1 minuto; anelamento dos primers a 55°C por 1 minuto; extensão a 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 7 minutos (1 ciclo). Após amplificação, os amplicons foram visualizados em gel de agarose 2% para posterior digestão com enzima pela técnica PCR-RFLP, como pode ser visto na figura 2.

A análise da região do exón 2 revelaram o produto amplificado de 150 pb.

PCR-RFLP *HinfI*

A digestão com a enzima *HinfI* (Fermentas), que reconhece sitio de restrição, 5'-G↓ANTC-3'3'-CTNA↑G-5', conduziu-se de acordo com o seguinte protocolo (cada reação): 1,5 µL tampão (10x Buffer R), 1 µL enzima *HinfI* (10 ng/mL), 5 µL PCR da leptina e 2,5 µL água ultra pura, tendo como produto final de 10 µL. Essa etapa foi realizada em termociclador a 37°C por 4 horas. Em segui-

da os produtos da digestão foram analisados em gel de poliacrilamida 5% para eficiência da enzima e avaliação dos tamanhos dos fragmentos utilizando um marcador de 10 bp (Invitrogen).

As amostras de PCR amplificadas foram submetidos à digestão *Hinf-I* e análise de RFLP mostrou um produto de 152 pb no exón 2 do gene da leptina em ambas as raças.

PCR-*GHR*

Para o microssatélite *GHR* a reação de amplificação (PCR) foi constituída por: 10 ng de DNA genômico; 10 pmol de cada primer; 1,25 mM de dNTP mix; 2,5 µL tampão PCR 10x concentrado (200 mM Tris-HCl pH 8,0; 50 mM KCl); 2 mM de MgCl₂ e 0,2 µL e Taq DNA polimerase para um volume final de 25 µL. O termociclador foi programado para 35 ciclos térmicos constituídos por: desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos (1 ciclo); desnaturação a 94°C por 1 minuto; anelamento dos primers a 60°C por 45 segundos; extensão a 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 4 minutos (1 ciclo). Após a PCR, os produtos da amplificação

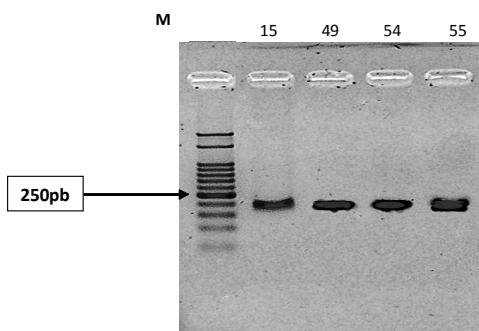


Figura 2. Eletroforese contendo produtos amplificados do gene da leptina do éxon 2 em 4 animais das duas raças, mostrando o padrão de migração dos fragmentos em gel de agarose 2,0%. M: Marcador de DNA de 50 pb. (Electrophoresis whit amplified products from leptin gene exon 2 on animals of Anglo-Nubiana and Boer breeds, pattern migration of the fragments in the agarose gel with 2.0%. M: DNA marker with 50 pb).

POLIMORFISMO GENÉTICO DA LEPTINA E DO *GHR* EM CAPRINOS

foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida 5%.

No gel de poliacrilamida foram utilizados 5 µL de cada produto de PCR e 5 µL do tampão de carregamento da amostra (NaOH, azul de bromophenol, xileno cianol em uma proporção de 1:1). Um marcador de peso molecular de 10pb (Invitrogen) foi utilizado nas eletroforeses a fim de se estimar o tamanho dos amplicons. A eletroforese foi conduzida em uma cuba vertical, a 1500 V, 60MA e 55W, com uma duração média de 1 hora e 30 minutos a uma concentração de 0,5% em tampão de TBE. A revelação dos géis de poliacrilamida foi feita com nitrato de prata.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram obtidas as freqüências alélicas e heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o) segundo Nei (1987) com auxílio do programa Toolkit (Park, 2001). O teste para o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi feito com auxílio do GENEPOP versão 4.0.10, conforme Rousset (2008).

Para verificar a influência dos genótipos dos fragmentos polimórficos do *GHR* e da leptina sobre o desenvolvimento dos animais foram utilizadas as características peso ao nascer (PN) e peso ao desmame (PD) de animais alimentados com ração comercial. Foi feito análise de variância e teste de médias com auxílio do procedimento GLM do programa SAS (1999), de acordo com o seguinte modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + S_i + L_j + L_k + e_{ijl}$$

em que:

y_{ijkl} = variável dependente, peso ao nascer (PN) e ao desmame (PD);

μ = média geral;

S_i = o efeito fixo do sexo i, i= 1 macho ou 2 fêmea;

L_j = o efeito fixo de raça j, j= Anglo-Nubiana ou Boer;

L_k = efeito fixo de local k. k= Fazenda 1, 2, 3 e 4;

e_{ijl} = erro aleatório com média zero e variância σ^2 .

As médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se a amplificação de ambos os marcadores estudados nas duas raças avaliadas. O tamanho de alelos no loco do *GHR* variou de 90 a 125 pb enquanto a leptina apresentou-se com um padrão único de 150 e 152 pb.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi feito com auxílio do GENEPOP versão 4.0.10, conforme Rousset (2008), onde os marcadores se mostraram em desequilíbrio para as populações.

Na **tabela I**, encontra-se a freqüência alélica da leptina no exôn 2 nas raças Anglo-Nubiana e Boer estudas.

Os valores de heterozigosidade observada foram bem maiores do que a esperada, devido ao excesso de heterozigotos nessas populações. Todos os animais apresentaram o mesmo padrão eletroforético, com fragmentos de amplitude de 150 e 152 pb, gerando genótipo heterozigoto (150/152) em todos os animais (**figura 3**). Portanto na amostra estudada, ocorre a presença desse único genótipo no qual possui polimorfismo.

As amostras de PCR amplificados foram submetidos à digestão *Hinf I* e análise de RFLP mostrou um fragmento de 150 e 152 pb (**figura 3**), comprovando a eficácia da digestão pela *Hinf I* no exon 2 do gene da leptina em ambas as raças.

Singh *et al.* (2009) ao analisar o polimorfismo no exôn 2 do gene da leptina em caprinos

Tabela I. Frequências alélicas, heterozigoses observada (H_o) e esperada (H_e) para a leptina nas raças Anglo-Nubiana e Boer. (Allele frequencies, observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity for leptin in both Anglo-Nubian and Boer breeds).

Alelos	Anglo-Nubiana	Boer
150	50,00	50,00
152	50,00	50,00
H_o	1,0	1,0
H_e	0,508	0,508

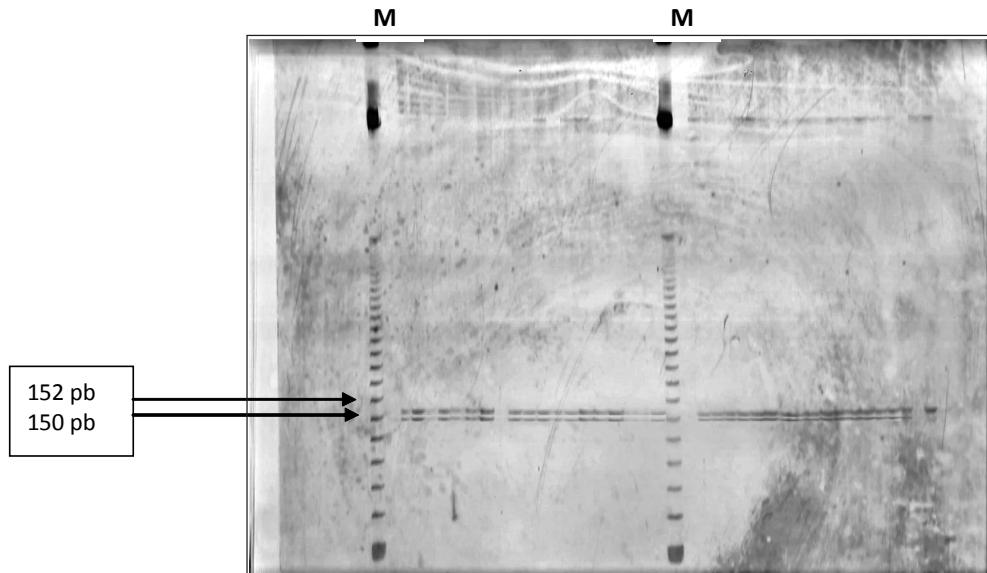


Figura 3. Eletroforese contendo os produtos de digestão pela enzima de restrição Hinf I para o gene leptina na região do exón 2, com visualização dos fragmentos em gel de poliacrilamida 5,0%. M: Marcador de DNA 10 pb. (Electrophoresis containing the products of digestion by the restriction enzyme Hinf I for leptin gene in the region of exon 2, with visualization of the fragments on polyacrylamide gel with 5.0%. M: DNA marker with 10 pb).

indianos da raça Jamunapari e Barbari obtiveram na amplificação um produto homozigoto de 152 pb em ambas as raças.

Na figura 4, apresenta-se os produtos de PCR que foram amplificados do *GHR* em gel de poliacrilamida a 5%.

Os alelos do loco SSR-*GHR* apresentaram alelos de 90, 95, 115, 120 e 125 pb nos rebanhos analisados, mostrando-se bastante polimórfico. O alelo de 125 pb foi exclusivo do rebanho Anglo-Nubiana além do que no grupo Boer os alelos 95 e 120 ocorreram em frequência muito baixa, como pode ser visto na tabela II.

O locus SSR-*GHR* foi um marcador de microssatélite desenvolvido para a espécie bovina. Neste estudo foram identificados cinco alelos com fragmentos de 94, 104, 106, 108 e 112 pb, descritos por Lucy *et al.* (1998). Leal (2009), utilizando este mesmo oligonucleotídeo iniciadores (*primers*) na

espécie ovina com a raça Morada Nova e Santa Inês encontraram polimorfismo nas diferentes raças, independente do número de crias por parto. Contudo, quando se

Tabela II. Freqüência alélica, heterozigoses observadas (H_o) e esperada (H_e) para o *GHR* nas raças Anglo-Nubiana e Boer. (Allele frequencies observed heterozygosity (H_o) and expected (H_e) for *GHR* in both Anglo-Nubian e Boer breeds).

Alelos	Anglo-Nubiana	Boer
90	14,06	48,33
95	35,94	1,67
115	15,63	48,33
120	29,69	1,67
125	4,69	-
H_o	1,0	1,0
H_e	0,748	0,541

POLIMORFISMO GENÉTICO DA LEPTINA E DO *GHR* EM CAPRINOS

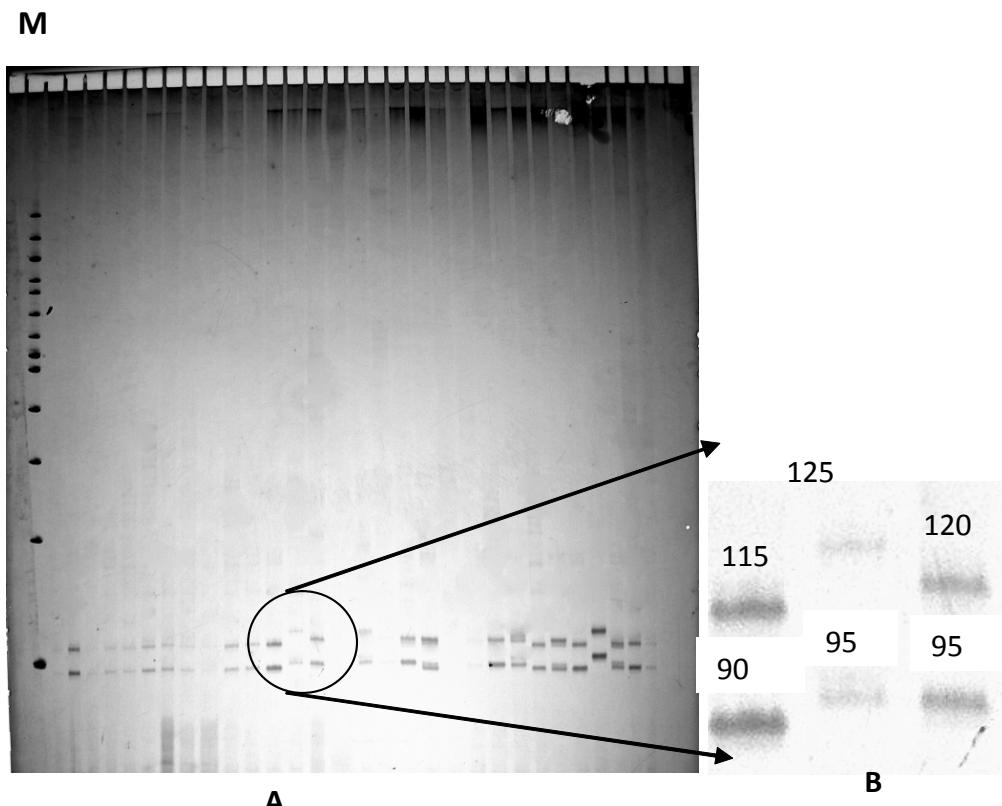


Figura 4. Eletroforese contendo os produtos da PCR para o gene GHR, com visualização dos fragmentos em gel de poliacrilamida 5%. M: Marcador de DNA 100 pb (A). Detalhe dos padrões de migração dos três genótipos encontrados na população(B). (Electrophoresis of PCR products containing the gene for GHR with visualization of the fragments in the polyacrylamide gel with 5%. M: DNA marker with 100 pb (A). Details of the migration patterns for the three genotypes found in the population (B)).

compararam animais de mesma raça com número de crias diferentes esse mostrou-se monomórfico.

Foram identificados os genótipos 90/115, 95/120 e 95/125 com freqüências de 62,9%, 32,26% e 4,84%, para as raças estudadas, respectivamente, sendo o genótipo 95/125 específico da raça Anglo-Nubiana.

Os animais da raça Anglo-Nubiana com genótipo 95/120, 90/115 não apresentaram diferenças nas médias de pesos ao nascer. No entanto, observou-se diferenças significativas nos pesos ao desmame entre esses

genótipos, sendo que os animais de genótipos 95/120 apresentaram peso superior aos demais (**tabela III**).

Na Raça Boer predominou o genótipo 90/115 (96,67%) e esses também apresentaram pesos ao nascer e ao desmame significativamente superiores aqueles de genótipo 95/120.

O genótipo 95/125 exclusivo da raça Anglo-Nubiana apresentou a menor média para PN e PD com uma freqüência de 9,375%. A menor proporção desse genótipo sugere a possibilidade de seleção contra esse

Tabela III. Número de observações (N), média de peso ao nascer (PN), média de peso à desmame (PD), de acordo com genótipos para o gene GHR nas populações Anglo-Nubiana e Boer. (Number of observations (N), mean birth weight (PN), average weight at weaning (PD), according to the gene GHR genotypes in Anglo-Nubian and Boer populations).

Genótipos	Anglo-Nubiana			Boer		
	N	PN	PD	N	PN*	PD
90/115	10	3,18 ^a	14,85 ^b	29	3,90	23,96
95/120	19	3,40 ^a	16,76 ^a	1	3,50	19,0
95/125	3	2,67 ^b	13,50 ^b	-	-	-

*não foi feito teste de média para essa variável nessa raça por conter apenas um animal no genótipo 95120. Letras diferentes em colunas diferem estatisticamente pelo teste t ($p < 0,05$).

genótipo por apresentarem menor peso.

Em geral, observou-se predominância do genótipo 90/115 na raça Boer e 95/120 na raça Anglo-Nubiana, genótipos esses com maior desempenho em ambas as raças, o que sugere que a seleção está sendo direcionada possivelmente para esses genótipos pela maior capacidade produtiva que apresentam.

De uma maneira geral, a literatura é escassa em estudos com marcadores genéticos para características de produção em caprinos. Entretanto, em sistemas de produção de carne, a eficiência da seleção deve ser constantemente avaliada por estarem diretamente relacionadas à rentabilidade econômica da produção.

Os estudos com o GHR tem sido alvo em

trabalhos de associação de alelos com as características quantitativas razão por este fazer parte do eixo somatotrópico e estar envolvido em grande variedade de parâmetros fisiológicos de interesse econômico (Ip *et al.*, 2001).

Hale *et al.* (2000) estudando a presença do alelo S (11-TG) do receptor do hormônio de crescimento em novilhos castrados Angus criados sob condições comerciais, observaram diminuição na média de aproximadamente 17 kg na desmame e 23 kg no abate. Os resultados obtidos por Curi (2004) foram similares, mostrando o efeito negativo do alelo S sobre peso a desmame e peso de carcaça, sem, entretanto afetar área do músculo *Longissimus dorsi* e a deposição de gordura da carcaça.

CONCLUSÕES

As condições em que o trabalho foi realizado foi possível concluir que houve polimorfismo para o gene da leptina no n amostral nas raças Anglo-Nubiana e Boer estudadas. Estudos adicionais são necessários para verificar a real superioridade dos genótipos 95/120 para a raça Anglo-Nubiana e 90/115 para a raça Boer, observada no presente estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudo ao primeiro autor. Ao Banco do Nordeste pelo financiamento deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRPE e criadores, pela oportunidade.

BIBLIOGRAFIA

- Buchanan, F.C., Fitzsimmons, C.J., Van Kessel, A.G., Thue, T.D., Winkelman-SIM, D.C. and Schmutz, S.M. 2002. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol*, 34: 105-116.
- Correia, F.W.S. 2007. Perfil setorial da caprinovinocultura no mundo, Brasil, Nordeste e Sergipe. Sebrae. [http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/49A7E70DA9FFD4FA832573840040EE7C/\\$File/PERFIL%20SETORIAL%20DA%20CAPRINOVINOCULTURA.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/49A7E70DA9FFD4FA832573840040EE7C/$File/PERFIL%20SETORIAL%20DA%20CAPRINOVINOCULTURA.pdf) (10/05/2010).
- Coutinho, L.L., Jorge, E.K., Rosario, M.F., Do Moura, A.S.A.M.T. e Ledur, M.C. 2007. Genômica Animal. <http://WWW.cnpsa.embrapa.br/genoma>

POLIMORFISMO GENÉTICO DA LEPTINA E DO GHR EM CAPRINOS

- frango/publica/20062007Zootec_Luiz%Coutinho_final2007.pdf (02/06/2008).
- Curi, R.A. 2004. Relação entre os polimorfismos de genes envolvidos no controle do crescimento e na composição da carcaça e características de produção de bovinos de corte no modelo biológico superprecoce. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista. Campus de Botucatu. 126 pp.
- Faleiro, F.G. 2007. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF. pp. 102.
- IBGE. 2007. Pesquisa agropecuária municipal. <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/>> (12/03/2010).
- Ip, S.C.Y., Zhang, X. and Leng, F.C. 2001. Genomic growth hormone gene polymorphisms in native Chinese chickens. *Exp Biol Medicine*, 226: 458-462.
- Hale, C.S., Herring, W.O., Shibuya, H., Lucy, M.C., Lubahn, D.B., Keisler, D.H. and Johnson, G.S. 2000. Decreased growth in Angus steers with a short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of the growth hormone receptor gene. *J Anim Sci*, 78: 2099-2104.
- Leal, S.A.C. 2009. Caracterização genotípica de ovinos das raças Santa Inês e Morada Nova para o marcador microssatélite SSR-GHR. Relatório PIBIC-CNPq-UFRPE.
- Liefers, S.C., Tepas, M.F., Veerkamp, R.F. and Vander Lende, T. 2002. Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein Heifers. *J Dairy Sci*, 85: 1633-1638.
- Lucy, M.C., Johnson, G.S., Shibuya, H., Boddy, C.K. and Herring, O. 1998. Polymorphic (GT)n microsatellite in the bovine somatotropin receptor gene promoter. *J Anim Sci*, 76: 2209-2210.
- Madruga, M.S., Narain, N., Duarte, T.F., Souza, W.H., Galvão, M.S., Cunha, M.G. e Ramos, J.L. 2005. Características químicas e sensoriais de cortes comerciais de caprinos SRD e mestiços de Boer. *Ciência Tecnologia Alimentos*, 25: 713-719.
- Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook, J. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual. V. 3, n. 1. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. pp. 1-3.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press. New York. 512 pp.
- Neuenschwander, S., Rettenberger, G., Meijerink, E., Jorg, H. and Stranzinger, G. 1996. Partial characterization of porcine obesity gene (OBS) and its localization to Chromosome 18 by somatic cell hybrids. *Anim Genet*, 27: 275-278.
- Park, S.D. 2001. Trypanotolerance in West African cattle and the population genetics effects of selection. Ph.D Thesis. Trinity College. University of Dublin. Ireland.
- Rousset, F. 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resources*, 8: 103-106.
- SAS®. 1999. User's Guide: Statistics. Version 8. SAS Institute Inc. Cary, NC. USA.
- Schierholt, A.S. 2005. O gene da miostatina: Sequenciamento em suínos e análise filogenética. Tese. Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. Viçosa. Minas Gerais. 75 pp.
- Singh, S.K., Rout, P.K., Agarwal, R., Mandal, A., Singh, S.K., Shukla, S.N. and Roy, R. 2009. Characterization of exon 2 and intron 2 of Leptin gene in Indian goats. *Anim Biotechnol*, 20: 80-85.
- Stratil, A., Kopecny, M., Moser, G., Schroffel Jr, J. and Cepioca, S. 1998. Hpa II and Rsa I PCR-RFLPs within an intron of porcine leptin receptor gene (LEPR) and its linkage mapping. *Anim Genet*, 29: 405.
- Zwierzchowski, L., Opzader, J., Dymnicki, E. and Ozierzbici, P. 2001. An association of growth hormone, α -casein, β -lactoglobulin, leptin and pit 1 loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. Paper and Reports. *Anim Sci*, 19: 65-77.