

Frequência dos genótipos de GHR/*Alul* em vacas da raça Holandês manejadas em sistema semiextensivo e intensivo

FERNANDA TOMAZI^{1,2}; LUCAS TEIXEIRA HAX¹; CAROLINA BESPALHOK JACOMETO¹; JOABEL TONELLOTTO DOS SANTOS¹; AUGUSTO SCHNEIDER¹; CÁSSIO CASSAL BRAUNER^{1,3}

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Campus Universitário – 96010 900 – Pelotas/RS – Brasil
nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec
²tomazife@gmail.com; ³cassiocb@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 50 anos a produção leiteira tem aumentado exponencialmente. Entre os fatores que contribuíram para isto estão a melhor nutrição dos rebanhos e intensa seleção genética para animais com maior potencial para produção de leite (LUCY, 2001). Entretanto essa seleção genética está negativamente correlacionada com a fertilidade das vacas, ocasionando elevadas perdas econômicas nas fazendas produtoras de leite (LUCY, 2001; BUTLER, 1998).

Para maior produção leiteira cada vez mais os produtores tem optado por utilizar sistemas intensivos e semiextensivos. Nos sistemas semiextensivos os animais são manejados em sistemas de semi confinamento ,enquanto no sistema intensivo o manejo é feito com confinamento total dos animais. Esse tipo de exploração leiteira possibilita melhor aproveitamento do espaço disponível das instalações e maior facilidade de manejo dos animais (FERREIRA et al.,2000).

O Hormônio do Crescimento (GH) exerce sua atividade biológica através do seu receptor GHR (AGGREY et al., 1999), afetando diversos aspectos do metabolismo, como a produção de leite e função reprodutiva (ARGETSINGER et al., 1996). Os genes que codificam para proteínas do eixo somatotrópico, como o GH/GHR, têm sido estudados como marcadores para a seleção de animais de produção (MAJ et al., 2008). A transversão de uma adenina por uma timina na posição -1182 *upstream* a região promotora do GHR é descrita como o polimorfismo GHR/*Alul* (MAJ et al., 2008). Em diferentes sistemas de produção de bovinos, tanto leiteiros quanto de corte, polimorfismos GHR/*Alul* foram associados a características de interesse econômico, como síntese e composição do leite (MAJ et al., 2008), características de carcaça e produção de carne (HALE et al., 2000).

Os trabalhos relacionados a identificação dos genótipos GHR/*Alul* têm sido realizados em sistemas intensivos de produção leiteira (BALOGH et al., 2008, MAJ et al., 2008) . Entretanto a frequência genotípica em sistemas semi-extensivos ainda é desconhecida. O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência dos genótipos de GHR/*Alul* em vacas da raça Holandês criadas em sistema semiextensivo e intensivo.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas 858 vacas leiteiras da raça Holandês. Destas, 381 vacas provenientes de uma fazenda comercial do sul do Brasil, manejadas em sistema semiextensivo, com dieta baseada principalmente em pastagem cultivada e suplementação de concentrado, sendo ordenhadas duas vezes ao dia. Os outros 477 animais eram provenientes de uma fazenda comercial do sudeste do Brasil,

manejados em sistema intensivo, alimentados com dieta TMR, sendo ordenhadas três vezes ao dia. As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (do inglês, *National Research Council*) (2001).

Foi realizada coleta de sangue total, através da veia coccígea e o ácido desoxiribonucleico (DNA) foi extraído a partir de uma alíquota de 500 µL de sangue total. A checagem do DNA extraído foi realizada a partir de 2,5 µL das amostras da extração, impregnadas com Gel Red e submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,5% e visualizadas em exposição à luz ultravioleta.

Para determinar os alelos de GHR/*Alul*, foi realizada uma PCR (reação em cadeia da polimerase) utilizando os primers: TGCGTGACAGCAGCTCAACC (forward) e AGCAACCCCACTGCTGGGCAT (reverse), que possibilitaram a amplificação de um fragmento de 836 pares de bases (pb). A reação de digestão foi realizada a partir de 7µL do produto da PCR e 3 unidades da enzima de restrição *Alul* (New England Biolabs, UK). As misturas de digestão foram incubadas em termociclador a 37°C por 3 horas. Após digestão os produtos amplificadas foram impregnados com Gel Red, separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% com um padrão de peso molecular de 100 pb e fotografados por um sistema de foto documentação com luz ultravioleta. O genótipo de cada animal foi determinado por meio da análise do tamanho dos fragmentos representado em pares de base. Os genótipos identificados foram: *Alul* (+/+): 602 pb, 145 pb, 75 pb; *Alul* (+/-): 747 pb, 602 pb, 145 pb, 75 pb; *SnaBI* (-/-): 747 pb, 75pb (AGGREY et al., 1999). Para análise da frequência genotípica entre os sistemas, foi utilizado o teste de qui-quadrado no programa GraphPadPrism 5.03 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, EUA). Foram considerados significantes resultados com $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência genotípica encontrada para sistema semiextensivo foi: 28,61%, 56,67% e 14,72% para *Alul* (-/-), *Alul* (+/-) e *Alul* (+/+), respectivamente (Tabela 1). Para sistema intensivo a frequência foi de 20,1%, 33,5% e 46,4% para *Alul* (-/-), *Alul* (+/-) e *Alul* (+/+), respectivamente (Tabela 1). Os animais de sistema intensivo avaliados apresentaram uma maior frequência genotípica GHR/*Alul* (+/+) quando comparadas a animais mantidos em sistemas semiextensivos ($P < 0,001$), resultado semelhante a estudos realizados em sistema intensivos de produção, com vacas de alta produção leiteira apresentando uma maior frequência do genótipo GHR/*Alul* (+/+) do que do genótipo (+/-), e frequência muito baixa de (-/-) (LUCY et al., 1993, BALOGH et al., 2008), já que as condições ambientais, relacionadas à adaptação, e a herança genética são distintas.

Tabela 1. Frequência genotípica e alélica de GHR/*Alul*, nos animais dos diferentes sistemas de manejo avaliados.

	Sistema semi-extensivo	Sistema intensivo	Valor de <i>P</i>	
GHR/ <i>Alul</i>	(-/-)	103 (28,61%)	81 (20,1%)	0,06
	(+/-)	204 (56,67%)	135 (33,5%)	<0,001
	(+/+)	53 (14,72%)	187 (46,4%)	<0,001
	(-)	0,57	0,37	
	(+)	0,43	0,63	

A frequência genotípica GHR/Alul (+/-) está presente na maioria em vacas criadas em regime semiextensivo, onde as características de adaptabilidade ao meio têm de ser mais pronunciadas sem que haja um prejuízo a produção leiteira (FACÓ, 2002). Houve uma tendência ($P=0,06$) para maior ocorrência do genótipo GHR/Alul (-/-) em animais do sistema semiextensivo, isso pode ter ocorrido devido a vacas com menor produção de leite ter desempenho econômico satisfatório nesse tipo de sistema (SILVA, 2008).

A presença do genótipo GHR/Alul (+/+) está associada com maior adaptabilidade do gado Nelore no Brasil e com maior produção de leite (ANDREA et al., 2001, LUCY et al., 1993), o que nos permite inferir que a maior frequência deste genótipo encontrada no sistema intensivo neste estudo possa estar relacionada com uma maior produção de leite, já que normalmente, vacas manejadas em sistema intensivo tem maior produção do que as vacas manejadas em sistema semi-extensivo. Mais estudos precisam ser realizados para melhor elucidar se estas diferenças nas frequências genotípicas estão associadas a mecanismos de adaptação impostos pelos diferentes sistemas de produção, ou também se há um efeito de seleção genética devido a utilização de touros portadores do alelo (+) (DURÃES et al., 2001).

4. CONCLUSÕES

Genótipos GHR/Alul (+/+) ocorrem em maior frequência em animais manejados em sistemas intensivos do que em animais de sistemas semiextensivos, e isso possivelmente está relacionado a pressão de seleção para produção de leite em sistemas intensivos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGREY, S.E.; YAO, J.; SABOUR, M.P.; LIN, C.Y.; ZADWORNÝ, D.; HAYES, J.F.; KUHNLEIN, V. Markers within the regulatory region of growth hormone receptor gene and their association with Milk-related traits in Holsteins. **Journal of Heredity**, Oxford, v.90, n.1, p.148-151, 1999.

ANDREA, M.V.; GOMES, M.V.M.; MARCONDES, C.R.; OLIVEIRA, K.N.; RAMOS, E.S.; FONTELES, S.B.. Relação entre polimorfismo do gene do hormônio do crescimento e características de precocidade em novilhas da raça Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Belo Horizonte, v.63, n.1, p.153-157, 2011.

BALOGH, O.; SZEPES, O.; KOVACS, K.; KULCSAR, M.; REICZIGEL, J.; ALCAZAR, J.A.; KERESZTES, M.; FEBEL, H.; BARTYIK, J.; FEKETE, S. GY.; FESUS, L.; HUSZENICZA, GY. Interrelationships of growth hormone Alul polymorphism, insulin resistance, milk production and reproductive performance in Holstein-Friesian cows, **Veterinarni Medicina**, v.53, n.11, p. 604–616, 2008.

BALOGH, O., KOVÁCS, K.; KLUCSÁR, M.; GÁSPÁRDY, A.; ZSOLNAI, A.; KÁTAI, L.; PÉCSI, A.; FÉSÜA, L.; BUTLER, W.R.; HUSZEICZA, G.Y. Alul polymorphism of the bovine growth hormone (GH) gene, resumption of ovarian cyclicity, Milk production and loss of body condition at the onset of lactation in dairy cows. **Theriogenology**, n. 71, p. 553-559, 2009.

BUTLER, W.R. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **J Dairy Sci**, New York, n. 81, p. 2533-2539, 1998.

DURÃES, M.C.; FREITAS, A.F.; VALENTE, J.; TEIXEIRA, N.M.; BARRA, R.B. Tendência Genética para a Produção de Leite e de Gordura em Rebanhos da Raça Holandesa no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.30, n.1, p.66-70, 2001.

FACÓ, O.; LÔBO, R.N.B.; FILHO, R.M.; MOURA, A.A.A. Análise do Desempenho Produtivo de Diversos Grupos Genéticos Holandês x Gir no Brasil. **R. Bras. Zootec.** Sertãozinho, v.31, n.5, p.1944-1952, 2002.

FERREIRA, A.F.; DURÃES, M.C.; TEIXEIRA, N.T. Parâmetros Genéticos da Produção de Leite de Animais da Raça Holandesa Mantidos em Sistema Intensivo de Produção do Tipo Free Stall. **Rev. bras. zootec.** Brasil, V.29, p.2008-2012, 2000.

HALE, C.S.; HERRING, W.O.; SHIBUYA, H.; LUCY, M.C.; LUBAHN, D.B.; KEISLER, D.H.; JOHNSON, G.S. Decreased growth in Angus steers with a short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of growth hormone receptor gene. **J Anim Sci** v78, 2099– 2104, 2000.

LUCY M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **J Dairy Sci**, New York n. 84, p. 1277-1293, 2001.

LUCY, M.C; HAUSER, S.D.; EPPARD, P.J.; KRIVI, G.G.; CLARK, J.H.; BAUMAN, D.E.; COLLIER, R.J. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. **Domestic Animal Endocrinology**. New York, vol. 10, p.325-333, 1993.

MAJ, A., SNOCHOWSKI, M., SIADKOWSKA, E., ROWINSKA, B., LISOWSKI, P., ROBAKOWSKA HYZOREK, D., OPRZADEK, J., GROCHOWSKA, R., KOCHMAN, K., ZWIERZCHOWSKI, L. Polymorphism in genes of growth hormone receptor (GHR) and insulin-like growth factor-1 (IGF1) and its association with both the IGF1 expression liver and its level in blood in Polish Holstein – Friesian cattle. **Neuroendocrinology Letters**. Armstrong, v.29, n.6, p.981-989, 2008.

SCHLEE, P.; GRAML, R.; SCHALLENBERGER, E.; SCHAMS, D.; ROTTMANN, O.; OLBRICHBLUDAU, A.; PIRCHNER, F. Growth hormone and insulin-like growth factor. I. Concentrations in bulls of various growth hormone genotypes. **Theor. Appl. Genet.**, Germany, v.88, p.497-500, 1994.

SILVA, H.A.; KOEHLER, H.S.; MORAES, A.; GUIMARÃES, V.A.; HACKI, E.; CARVALHO, P.C.F. Análise da viabilidade econômica da produção de leite a pasto e com suplementos na região dos Campos Gerais – Paraná. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.445-450, mar-abr, 2008.