

EFEITO DO POLIMORFISMO *SnaBI* NO GENE IGF-I SOBRE A COMPOSIÇÃO DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDÊS

LUCAS JACKSON DE SOUZA¹; LUCAS TEIXEIRA HAX²; MÁRCIO NUNES CORREA; NATHALY ANA CARPINELLI²; CÁSSIO CASSAL BRAUNER³

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária

Universidade Federal de Pelotas – UFPel

– lucasjacksondesouza@hotmail.com

²Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária

Universidade Federal de Pelotas – UFPel

– lucashax@gmail.com; marcio.nunescorrea@gmail.com; nathaly_carpinelli@hotmail.com

³Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária

Universidade Federal de Pelotas – UFPel

– cassiocb@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Dentro do setor agropecuário, a cadeia produtiva do leite vem sofrendo grandes transformações nos últimos anos, sendo observados acréscimos expressivos na produção de leite do Brasil oriundos do melhoramento genético (GOMES, 2001). Com um registro de produção de 700 litros de leite/vaca/ano em 1970 (EMBRAPA, 2002), o país chegou a relevantes ganhos de produção, obtendo números próximos a 1.525 litros/vaca/ ano em 2014, ocupando assim a quinta colocação no ranking mundial de produção de leite (IBGE, 2015).

Este aumento de produtividade só é possível com o melhoramento da composição genética dos animais, associados a uma melhora das condições ambientais dos mesmos. Desta forma o enfoque dos especialistas em melhoramento animal são genótipos mais produtivos e adaptados ao clima de cada região (PEREIRA, 2008). Em contrapartida, o mercado está cada vez mais atento a qualidade deste leite, podendo ter sua composição variada conforme o fator genético, fisiológico e ambiental (FOX, 2003). De modo geral, a maior variação está nos teores de sólidos totais do leite, no qual tem extrema importância não apenas para o leite na forma líquida, mas também nos produtos derivados e desidratados, pois alteram seus valores nutricionais e o custo no processamento, sendo desejado, a maior porcentagem de sólidos totais possível no leite (BOLAND, 2003).

Com o surgimento dos marcadores moleculares, é possível otimizar a precisão experimental, colaborando para melhores resultados na seleção de indivíduos. Assim, estudos genômicos vêm sendo realizados em animais de produção com o intuito de selecionar marcadores moleculares preditores de características quantitativas (HAX, 2013). O estudo destes marcadores permite a identificação de alelos favoráveis para seleção em nível de DNA, promovendo uma seleção assistida por marcadores (AGGREY et al., 1999), resultando em um acréscimo na taxa anual de ganho genético dos animais de produção (KASHI et al., 1990).

O fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) é sintetizado principalmente pelo fígado (Jones e Clemmons, 1995), via hormônio do crescimento (GH), cujo receptor do hormônio do crescimento (GHR), apresenta polimorfismos com efeito na qualidade do leite, pois são responsivos tanto ao estado fisiológico (Kobayashi et al., 1999a), quanto ao estado nutricional (Pellet ai. 1993). Estudos apontam um efeito de polimorfismos no IGF-I na síntese e composição do leite (Maj et al., 2008). Por essas razões, o IGF-I é um gene

candidato à marcador molecular de qualidade do leite em programas de SAM.

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do polimorfismo *SnaBI* no gene IGF-1 na qualidade do leite.

2. METODOLOGIA

Todos os procedimentos realizados foram admitidos pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pelotas.

Para realização do trabalho foram avaliadas 361 vacas da raça Holandês de uma fazenda comercial localizada no sudeste do Brasil no ano de 2011.

Os dados de percentual de gordura, proteína, lactose e células somáticas do leite foram obtidos através do software de gestão da fazenda, no qual os dados são alimentados pelos resultados das frequentes análises realizadas pela Clínica do Leite (Piracicaba, São Paulo).

Os animais foram manejados em sistema freestall, cuja totalidade da dieta foi ofertada no cocho com objetivo de atender à exigências nutricionais de cada categoria seguindo o NRC (2001), considerando o grau de produção e o número de lactações. Os elementos da dieta bem como os percentuais de inclusão dos mesmos podem ser observados na tabela 1. As vacas foram ordenhadas 3 vezes ao dia e possuíam acesso *ad libitum* à água.

Tabela 1. Dieta ofertada aos animais do experimento.

Ingredientes das dietas	%
Silagem Milho	33,32%
Pré Secado	7,30%
Caroço Algodão	7,11%
Polpa Cítrica	12,31%
Milho úmido	0,00%
Milho Seco	17,00%
Farelo de Soja	15,30%
Água	0,19%
Gordura Protegida	0,95%
565 BS	6,52%
TOTAL	100,00%

Para análises de polimorfismos nos genes IGF1, foi coletado amostras de sangue total da veia coccígea em tubos contendo EDTA e armazenada a -20°C até a extração do DNA. A extração do DNA genômico foi realizada com base em um protocolo previamente descrito (KANAI et al, 1994).

Na determinação dos alelos de IGF1 *SnaBI* foi amplificado um fragmento desse gene através de PCR e seu produto foi incubado por 3 horas a 37°C para digestão por enzimas de restrição. O produto da digestão foi submetido à eletroforese em gel de agarose 2,0% para posterior visualização em UV. Para determinação dos alelos IGF-I *SnaBI* foi realizada uma PCR utilizando os *primers*:
Forward: TTAAATAATTGGGTTGGAAGACTGC e *Reverse*:
ACCTTACCCGTATGAAAGGAATATACGT.

As análises estatísticas foram realizadas no programa SAS 9.0 software (SAS, Cary, NC, USA) através do procedimento GLM. Os resultados são apresentados como média e erro padrão da média.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 361 vacas analisadas para polimorfismo *SnaBI* do IGF-I, 148 (41,1%) eram do genótipo *Alul* (+/+), 145 (40,2%) eram do genótipo *Alul* (+/-) e 68 (18,9%) eram do genótipo *Alul* (-/-). Os genótipos de IGF-I *SnaBI* não diferiram quanto a número de células somáticas, gordura, lactose e proteína do leite, conforme podemos observar na tabela 1.

Tabela1: Valores de gordura, lactose, proteína e CCS por genótipo.

IGF-1	Gordura (%)	Lactose (%)	Proteína (%)	CCS ($\times 10^3$ céls/mL)
(-/-) (n=68)	5,43 \pm 0,13	3,30 \pm 0,04	4,57 \pm 0,02	3,06 \pm 0,02
(-/+) (n=145)	5,55 \pm 0,09	3,31 \pm 0,03	4,59 \pm 0,01	3,09 \pm 0,02
(+/+) (n=148)	5,26 \pm 0,09	3,31 \pm 0,03	4,60 \pm 0,01	3,09 \pm 0,02

Segundo Maj (2008), vacas com diferentes genótipos de IGF-I *SnaBI* apresentam diferenças na produção de leite. Além disso, o mesmo autor observou uma diferença na composição do leite de animais com diferentes genótipos de IGF-I *SnaBI*. No presente trabalho, os genótipos de IGF-I *SnaBI* não foram associados com a composição do leite, indicando que esse marcador molecular talvez não seja um bom preditor de características relativas à composição do leite em rebanhos sul americanos.

É provável que a composição genética e consequentemente a interação gênica de rebanhos sul americanos seja diferente do que ocorre nos rebanhos norte americanos. Fatores ambientais como clima e manejo podem ter exercido uma pressão de seleção no rebanho estudado que o tornou diferente dos rebanhos citados na literatura. Tal diferença no perfil gênico pode ter sido potencializada pelos critérios de seleção da fazenda e pelos touros utilizados no rebanho. No entanto, em função de ter sido avaliado um reduzido número de animais e de apenas uma fazenda, mais estudos são necessários para avaliar a eficácia da mutação IGF-I *SnaBI* como preditor de características quantitativas na seleção genética assistida por marcadores moleculares para composição do leite.

4. CONCLUSÕES

No presente estudo não foi observado nenhuma associação do genótipo IGF-1 *SnaBI* com a qualidade do leite de bovinos leiteiros criados em regime intensivo. No entanto, estudos com um maior número de animais e fazendas são necessários para avaliar a eficácia desse marcador molecular na seleção genética para composição do leite.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGREY S.E., YAO J., SABOUR M.P., LIN C.Y., ZADWORNÝ D., HAYNES J.F., KUHNLEIN, U. MARKERS within the regulatory region of the growth hormone receptor gene and their association with milk-related traits in Holsteins. **J Herd** **90**, 148-151. 1999.

BOLAND, M. Influences on raw milk quality. In: SMITH, G. (Ed.) Dairy processing improving Quality, **CRC Press**: Boca Raton, Boston, New York, Washington, 2003, Cap. 2.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Importância econômica**. Sistemas de Produção, Cerrado, 2002. Acessado em 15 jul. 2016. Online. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/importancia.html>

FOX, P. F. The major constituents of Milk. In: SMITH, G. (Ed.) Dairy processing improving Quality, **CRC Press**: Boca Raton, Boston, New York, Washington, 2003, Cap. 2.

GOMES, A.T. LEITE, J. L. B. e CARNEIRO, A. V. Agronegócio do leite no Brasil. Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 262p. 2001.

HAX, L. T. **Efeito de polimorfismos no receptor do hormônio do crescimento (GHR) e no fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) no intervalo parto-concepção e produção de leite de vacas da raça Holandês**. 2013. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas.

IBGE. **Estatística da produção pecuária**. Indicadores IBGE, mar. 2016. Acessado em 16 jul. 2016. Online. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201504_publicacao_completa.pdf

JONES JJ, CLEMMONS DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocr Rev.**;v.16: p.3-34,1995.

KANAI N, FUJI T, SAITO K, YOKOYAMA T. Rapid and simple method for preparation of genomic DNA from easily obtainable clotted blood. **J Clin Pathol**, 47:1043-4, 1994.

KASHI Y, HALLERMAN E, SOLLER M. Marker-assisted selection of candidate bulls for progeny testing programmes. **Animal Production**, v. 51, p. 63-74, 1990.

KOBAYASHI, T.; YOKOYAMA, I.; HAYASHI, S.; NEGITA, M.; NAMII, Y.; NAGASAKA, T.; OGAWA, H.; HABA, T.; TOMINAGA, Y.; UCHIDA, K.; TAKAGI, H. Genetic polymorphism in the IL-10 promoter region in renal transplantation. **Transplantation Proc.**, v.31, p.755-756, 1999.

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 in liver and its level in blood in Polish Holstein-Friesian cattle. **Neuroendocrinology**, v.29, n.6, p. 981-989, 2008.

PELL, A.N., SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **J. Dairy Sci.**, v.76 n.4, p.1063-1073. 1993.

PEREIRA, J. C. C. Melhoramento Genético Aplicado a Produção Animal. Belo Horizonte; **FEPMVZ**, UFMG. 618p. 2008.