



46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia

Maringá, PR - UEM - 14 a 17 de julho de 2009



## Mapeamento de QTLs de características fisiológicas relacionadas a estresse térmico em bovinos leiteiros cruzados

Adriana Mércia Guaratini Ibelli<sup>1</sup>, Andrea Roberto Bueno Ribeiro<sup>2</sup>, Maria de Fatima Ávila Pires<sup>3</sup>, Rui da Silva Verneque<sup>3</sup>, Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto<sup>3</sup>, Ana Luisa Sousa Azevedo<sup>3</sup>, Marco Antonio Machado<sup>3</sup>, Vanessa de Almeida Belo<sup>4</sup>, Gustavo Gasparin<sup>5</sup>, Marcelo Cervini<sup>6</sup>, Luiz Lehmann Coutinho<sup>7</sup>, Luciana Correia de Almeida Regitano<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. Bolsista CAPES.. [adriana.ibelli@gmail.com](mailto:adriana.ibelli@gmail.com)

<sup>2</sup> Pós-doutoranda Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. Bolsista: FAPESP.

<sup>3</sup> Pesquisador Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora - MG.

<sup>4</sup> Doutoranda Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

<sup>5</sup> Bolsista PRODOC – CAPES. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

<sup>6</sup> Doutorando Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

<sup>7</sup> Docente ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

<sup>8</sup> Pesquisador Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. [luciana@cnpse.embrapa.br](mailto:luciana@cnpse.embrapa.br)

**Resumo:** O objetivo neste trabalho foi mapear QTLs (*Loci de características quantitativas*) para características fisiológicas relacionadas a estresse térmico em vacas leiteiras cruzadas F<sub>2</sub> (½ Gir x ½ Holandês). Os animais foram submetidos ao conforto térmico (22°C a 70% de umidade relativa) por 12 horas (M1) e ao estresse calórico (42°C e 60% de umidade relativa) (M2) durante seis horas, logo após o período de conforto, nas estações de verão e inverno, em câmara bioclimática. Foram registradas a temperatura retal (TR) e a frequência respiratória (FR) na M1 e M2 e, a taxa de sudorese (TS) na M2. Dados genotípicos obtidos a partir de amostras de DNA das fêmeas Gir, dos animais F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> e dos touros Holandeses foram utilizados para formação de um mapa de ligação que foi utilizado para a análise de QTLs através do delineamento de mapeamento de intervalos múltiplos das famílias F<sub>2</sub>. Para TR foram encontrados QTLs nos cromossomos, 3, 6, 7, 8, 21 e 26; para FR, nos cromossomos 4, 6, 26 e 29 e para TS nos cromossomos 3, 13, 23 e 29, sendo alguns onze de efeitos aditivo e cinco aditivo + dominante. Para todas as características foram identificados QTLs, entre altamente significativos a sugestivos, nas estações de inverno e de verão. Nesse trabalho foi possível mapear seis QTLs altamente significativos e dez QTLs sugestivos relacionados com as diferentes características relacionadas ao estresse térmico, nas duas estações analisadas e em várias regiões do genoma.

**Palavras-chave:** adaptação, bovinos, cruzamento, QTLs, tolerância ao calor

### QTL mapping for physiological characteristics related to heat stress in crossbred dairy cattle

**Abstract:** The aim of this study was to detect QTLs (quantitative trait loci) for physiological parameters related to heat stress in crossbred F<sub>2</sub> (½ Gir x ½ Holstein) dairy cows. The animals were submitted to thermoneutrality for 12 hours (22°C and 70% of relative humidity) (M1) and to heat stress for six hours (42°C and 60% of relative humidity) (M2), in summer and winter season's in bioclimatic chamber. Rectal temperature (TR) and respiratory frequency (FR) were measured at M1 and M2 and sweating rate at M2. Genotypic data obtained from DNA samples of F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> Gir cows and from Holstein bulls were used to build a linkage map that was used for QTL mapping through interval analysis. QTLs were detected on chromosomes 3, 6, 7, 8, 21 and 26 for TR, on chromosomes 4, 6, 26 and 29 for FR, and on chromosomes 3, 13, 21, 23 and 29 for TS. Additive and/or additive + dominant effects were identified for all traits, as well as QTLs ranging from highly significant to suggestive, in summer and winter seasons. In this study it was possible to detect six significant QTLs and ten suggestive QTLs that were related with heat stress characteristics in the two seasons analyzed and in many genomic regions.

**Keywords:** adaptation, cattle, crossbreeding, QTLs, heat tolerance

### Introdução

A produção animal deverá ser uma das atividades altamente afetadas pelo aquecimento global mundial. Segundo IPCC (2007) estima-se um aumento médio da temperatura da superfície terrestre entre

2°C a 6°C até o final do século 21. O estresse térmico afeta de forma importante o bem-estar e o desempenho de animais de produção, reduzindo a ingestão de alimentos, o crescimento, a produção de leite e de carne e a reprodução (HAHN, 1999). Com base neste cenário, a bovinocultura leiteira deverá alicerçar-se, não apenas no potencial de produção dos animais, mas também de adaptação, sendo para isso fundamental a preservação e a identificação de características e de grupos genéticos que possam mitigar os efeitos das mudanças climáticas em curso.

Os avanços na área de genética molecular podem auxiliar a detecção de regiões genômicas relacionadas à resistência ao estresse térmico, visando desta maneira auxiliar o melhoramento animal. Uma das estratégias é o mapeamento de QTLs (*Loci de características quantitativas*) que tem sido utilizada com o objetivo de entender o mecanismo de ação de diferentes genes, suas interações e o quanto contribuem para a variação fenotípica (GASPARIN et al, 2004). Com isso, seria possível a utilização dessas informações em programas de seleção assistida por marcadores. No entanto, ainda são escassos os estudos relacionados à resposta ao estresse térmico em animais de produção.

Dessa maneira, o objetivo neste trabalho foi mapear QTLs para características fisiológicas relacionadas a estresse térmico em vacas leiteiras cruzadas.

### **Material e Métodos**

Este trabalho foi realizado na Fazenda Santa Mônica, campo experimental da Embrapa Gado de Leite, localizado em Vassouras, RJ. Um total de 327 animais, com aproximadamente 15 meses, foram avaliados em câmara climática no inverno e 320 animais no verão, em grupos de cinco animais por vez. Os animais deste experimento (F<sub>2</sub>) foram produzidos a partir do cruzamento de uma geração F<sub>1</sub> mestiços Gir x Holandês.

Na tarde anterior ao estresse térmico os animais foram classificados quanto à coloração da pelagem (totalmente clara, > 50% de pelagem clara, > 50% de pelagem escura ou totalmente escura) e tipo de pêlo (lisos ou lanados) e colocados na câmara climática em condição de termoneutralidade (20°C e 70% de UR). Na manhã seguinte (6:00 h) foram obtidas a temperatura retal (TR) e a frequência respiratória (FR) dos animais. Às 8:00h da manhã a temperatura da câmara foi elevada para 42°C e a UR para 60 % , permanecendo assim por 6h, quando foram realizadas novamente as medidas de TR e FR e a medida da taxa de sudação (TS). A TR foi mensurada por meio de termômetro clínico digital inserido no reto do animal e a FR por meio da contagem dos movimentos respiratórios na região do flanco, por 30 segundos. A TS foi obtida pelo método de cloreto de cobalto, modificado de Schleger &Turner (1965). Durante a permanência dos animais na câmara climática não foram fornecidos alimentos ou água, para reduzir seus efeitos nas respostas obtidas. Para as análises dos QTLs das variáveis TR e FR foram utilizados os dados das diferenças entre a medida final (após desafio) e inicial (anterior ao desafio) realizadas na câmara climática.

Amostras de sangue das fêmeas Gir, dos animais F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> e sêmen dos touros Holandeses foram obtidos para extração de DNA. Os animais foram então genotipados para 180 marcadores microssatélites, com média de espaçamento de 22 cM entre os marcadores para os 29 pares de cromossomos de bovinos. Para que isso fosse possível, foram feitas reações de PCR com 50 ng de DNA genômico e os produtos foram submetidos a análise em equipamento ABI3100 (Applied Biosystems). Os dados genotípicos obtidos foram utilizados para formação de um mapa de ligação, utilizando o software CRIMAP (Green et al, 1990). Para análise de QTLs, foi utilizado o delineamento de mapeamento de intervalos múltiplos de famílias F<sub>2</sub>, obtido no site GridQTL (<http://qtl.cap.ed.ac.uk/>) (Seaton et al, 2002).

### **Resultados e Discussão**

Na tabela 1 são apresentados os cromossomos, o valor de F e o tipo de efeito (aditivo ou aditivo + dominante) dos QTLs identificados para temperatura retal, movimento respiratório e taxa de sudação, nas estações de verão e de inverno.

Para a característica de temperatura retal foram encontrados QTLs nos cromossomos, 3, 6, 7, 8, 21 e 26, sendo que o QTL dos cromossomos 3, 7 e 26 na estação de inverno apresentaram desvio significativo do modelo no qual apenas o efeito aditivo foi considerado ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ , respectivamente). Para frequência respiratória, foram identificados QTLs nos cromossomos 4, 6, 26 e 29, todos com efeito aditivo, sendo que o QTL no cromossomo 4 na estação de inverno e o QTL sugestivo no cromossomo 6 ( $p < 0,05$ ) apresentaram desvios de dominância significativos ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ , respectivamente). Para taxa de sudação, foram encontrados QTLs nos cromossomos 3, 13, 23 e 29, sendo todos de efeito aditivo (Tabela 1). Para todas as características foram identificados QTLs, entre altamente significativos à sugestivos, nas estações de inverno e de verão, sendo que apenas no cromossomo 3, para TR, e no cromossomo 6, para FR, foram encontrados QTLs para a mesma característica em ambas as estações.

**Tabela 1.** QTLs (loci de características quantitativas), valor de F e tipo de efeito detectado para as características temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR) e taxa de sudoreação (TS)

BTA	TR				FR				TS			
	Verão		Inverno		Verão		Inverno		Verão		Inverno	
	F	E <sup>1</sup>	F	E <sup>1</sup>	F	E <sup>1</sup>	F	E <sup>1</sup>	F	E <sup>1</sup>	F	E <sup>1</sup>
3	9,7 <sup>**</sup>	a	7,4 <sup>**</sup>	a + d	-	-	-	-	10,1 <sup>**</sup>	a	-	-
4	-	-	-	-	-	-	7,0 <sup>**</sup>	a+d	-	-	-	-
6	-	-	9,7 <sup>*</sup>	a	5,5 <sup>*</sup>	a+d	10,7 <sup>*</sup>	a	-	-	-	-
7	-	-	5,9 <sup>*</sup>	a+d	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	9,4 <sup>*</sup>	a	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,6 <sup>*</sup>	a
21	13,9 <sup>**</sup>	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,4 <sup>*</sup>	a
26	-	-	5,5 <sup>*</sup>	a+d	7,9 <sup>*</sup>	a	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	9,4 <sup>*</sup>	a	-	-	-	-	9,2 <sup>**</sup>	a

E<sup>1</sup> = Efeito do QTL - a (aditivo), a + d (aditivo + dominante). \*p < 0,05 \*\*p < 0,01.

Os dados encontrados nesse trabalho mostram que existem várias regiões no genoma que podem estar relacionadas à termotolerância. Em todos os cromossomos em que foram encontrados QTLs, existem genes diretamente envolvidos em mecanismos ativados em resposta ao estresse térmico, como por exemplo, genes que codificam proteínas HSPs (*heat shock protein*), fatores de transcrição de HSPs (HSFs) e proteínas organizadoras de HSPs. Isso evidencia a importância de novos estudos com o objetivo de verificar quais genes candidatos estão realmente envolvidos com essa característica.

#### Conclusões

Nesse trabalho foi possível mapear seis QTLs altamente significativos e dez QTLs sugestivos para as diferentes características relacionadas ao estresse térmico, nas duas estações analisadas e em várias regiões do genoma.

#### Agradecimentos

Esse projeto recebeu apoio financeiro da Embrapa-Prodeta e da FAPEMIG. Os autores MA Machado, LL Coutinho e LCA Regitano são bolsistas de produtividade do CNPq.

#### Literatura citada

- HAHN, G. L. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.*, v.77, p.10-20, 1999.
- IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Summary for policy makers*. Online at <http://www.ipcc.cg/SPM13apr07.pdf>
- SCHELEGER, A.V.; TURNER, H.G. Sweating rates of cattle in the field and their reaction to diurnal and seasonal changes. *Austr. J. Agric. Res.*, v.16, p.92-106, 1965.
- GASPARIN, G. et al. Mapeamento de QTL para peso ao nascimento no cromossomo 5 de bovinos (BTA5) em uma população F<sub>2</sub> Gir x Holandes. V Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. 2004.
- GREEN, P. FALLS, K. CROOKS, S. CRIMAP Documentation 2.4. <http://compgen.rutgers.edu/multimap/crimap/>. 1990.
- SEATON, G. et al. QTL express <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>. 2002.