



MARIELLE MOURA BAENA

**ADAPTABILIDADE DE BOVINOS TAURINOS
CRIADOS EM CONDIÇÕES CLIMÁTICAS
SUBTROPICAIS**

LAVRAS - MG

2014

MARIELLE MOURA BAENA

**ADAPTABILIDADE DE BOVINOS TAURINOS CRIADOS EM
CONDIÇÕES CLIMÁTICAS SUBTROPICAIS**

Dissertação apresentada a
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para a obtenção do título
de Mestre.

Orientadora

Dra. Sarah Laguna Conceição Meirelles

Coorientadores

Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano

Dr. Tarcísio de Moraes Gonçalves

LAVRAS – MG

2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Baena, Marielle Moura.

Adaptabilidade de bovinos taurinos criados em condições
climáticas subtropicais/ Marielle Moura Baena. – Lavras: UFLA,
2014.

93 p. : il.

Dissertação (mestrado) -Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Sarah Laguna Conceição Meirelles.

Bibliografia.

1. Angus. 2. Marcadores moleculares. 3. Pelame. 4. Simental.
5. Termorregulação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

MARIELLE MOURA BAENA

**ADAPTABILIDADE DE BOVINOS TAURINOS CRIADOS EM
CONDIÇÕES CLIMÁTICAS SUBTROPICAIS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de dezembro de 2014.

Dr. Andrea Roberto Bueno Ribeiro FMU

Dr. Tarcísio de Moraes Gonçalves UFLA

Dra. Sarah Laguna Conceição Meirelles

Orientadora

Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano

Coorientadora

LAVRAS – MG

2014

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos, oportunidades, força e serenidade para realizar esse trabalho e aos meus mentores e amigos espirituais que me guiam e intuem a respeito da escolha do melhor caminho a seguir e a me proteger.

À Universidade Federal de Lavras, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e à CAPES, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado e concessão de bolsa de estudos.

A todos do Grupo de Estudos em Melhoramento Animal e Biotecnologia (GMAB) pela amizade e pela parceria nos estudos.

Às minhas amigas e companheiras de trabalho, Aline Estopa e Gabriela Rodrigues pela boa convivência e ajuda nos experimentos realizados.

Às minhas amigas, irmãs de república, Amanda, Sarita, Lorena, Fátima e Elaine pelos bons e maus momentos e, por cuidarem de mim como minha família.

A todos os meus amigos de Poços de Caldas, Nathália, Diego, Elaine e Alexandre que mesmo pela distância e ausência nunca descreditaram de nossa amizade.

Aos meus pais, Haroldo e Glória, e aos meus irmãos, Delanno e Gabrielle por acreditarem em mim e por sempre me incentivarem.

A todos os colegas da Embrapa Pecuária Sudeste, pela paciência e colaboração para a realização do experimento, principalmente ao Wilson, Flávia, Polyana, Marcela e Dra. Luciana.

À minha orientadora Professora Sarah pela sua dedicação, amizade, disposição e paciência em me orientar.

À fazenda Casa Branca Agropastoril pelo apoio financeiro e por ceder os animais para a realização desse projeto.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, o meu muito OBRIGADA!

RESUMO

O Brasil apesar de ser um dos maiores produtores de carne possui baixa produtividade em seus rebanhos. Assim, muitos criadores buscam animais geneticamente superiores provenientes de clima temperado, mas a mudança para o clima tropical pode levar à queda de desempenho produtivo. Os objetivos neste trabalho foram estudar características de adaptabilidade (morfológicas, fisiológicas, moleculares) das raças bovinas Angus e Simental às condições climáticas subtropicais. Foram utilizados 145 machos dos dois grupos genéticos, com média de idade de 15 meses, participantes de provas de desempenho (PD) em confinamento, da Fazenda Santa Éster, em Silvianópolis (MG). Para o primeiro estudo, de avaliações morfológicas e fisiológicas, utilizou-se 73 animais das duas raças, participantes da PD de 2012. Obteve-se medidas como comprimento do pelo (CP, cm), número de pelos (NP, pelo/cm²), espessura do pelame (EP, mm) nos meses de julho (inverno) e novembro (primavera) de 2012. As medidas fisiológicas foram obtidas durante os meses de agosto a novembro nos períodos da manhã e da tarde, como frequência respiratória (FR, mov/min) e temperatura do pelame (TP, °C), assim como o índice de temperatura e umidade (THI). Para as análises de variância utilizou-se o método dos quadrados mínimos. No segundo estudo, utilizou-se 72 machos da raça Angus participantes da PD de 2013. Após extração de DNA, 20 amostras de animais extremos (10 extremos positivos e 10 negativos) para as características de FR e TP, foram amplificadas nas regiões de interesse, sequenciados e marcadores do tipo SNPs foram prospectados e caracterizados. Os animais da raça Angus foram os que apresentaram maior EP e CP. Na estação de inverno, o CP, NP e EP foram maiores, independentes de raça. Na interação, observou-se que na primavera as características de EP e CP não diferiram de acordo com a raça. Os animais estavam sob conforto térmico, de acordo com THI. Observou-se efeito de raça, hora, e dia para FR e TP. A raça Angus apresentou maior média para FR e, em geral, as médias de FR e TP foram superiores no período da tarde. No gene *HSF1* nenhum SNP modifica aminoácidos na proteína, mas no gene *HSPA6* quatro SNPs modificam. Detectou-se a presença de TagSNP no gene *HSF1* com região de desequilíbrio de valor máximo de $r^2 = 0,87$ e *MAFs* de 0,10 a 0,50 e de 0,02 e 0,21 no *HSPA6*. Desvios de equilíbrio de Hardy Weinberg foram observados e metade dos *loci* possuíram heterozigosidade superior a 50%. O comportamento das raças é semelhante na estação mais quente, de primavera e os dados sugerem que há grande variação genética nos genes, o que pode contribuir para a identificação e seleção de bovinos mais termotolerantes ao clima subtropical.

Palavras-chave: Angus. Marcadores moleculares. Pelame. Simental. Termorregulação.

ABSTRACT

Although Brazil is one of the largest meat producers worldwide, producers have herds with low productivity. Thus, many cattle raisers seek genetically superior animals from temperate climates; however, the change to a tropical climate may lead to a decline in productive performance. The aims of this study were to examine adaptability characteristics (morphological, physiological, molecular) of the Angus and Simmental cattle breeds to subtropical climate conditions. We studied 145 bull of the two genetic groups with an average age of 15 months that were part of performance testing (PT) in confinement on the Fazenda Santa Éster (Santa Ester Farm) in Silvianópolis, MG. For the first study of morphological and physiological evaluations, 73 animals of the two breeds were used. Measurements of hair length (HL, cm), number of hairs (NH, hair/cm²), and hair coat thickness (HC, mm) were obtained in July (winter) and November (spring) of 2012. Physiological measurements, such as respiratory rate (RR, breaths/min) and coat temperature (CT, °C), as well as the temperature and humidity index (THI) were obtained from August to November in the morning and afternoon. The least square method was used for analyses of variance. In the second study, 72 Angus bulls were used. After DNA extraction, 20 samples of extreme animals (10 positive extreme and 10 negative extreme) for the characteristics of RR and CT were amplified in the regions of interest and sequenced, and SNP type markers were sought and characterized. Angus animals had the highest HC and HL. In the winter season, the HL, NH, and HC were greater, regardless of the breed. In the interaction, it was observed that in the spring, the HC and HL characteristics did not differ according to breed. The animals were under thermal comfort, according to THI. The effect of breed, time, and day was observed for RR and CT. Angus had the highest mean for RR and, in general, the mean values of RR and CT were higher in the afternoon. In the *HSF1* gene, no SNP changes amino acids in the protein, but in the *HSPA6* gene, four SNPs change. The presence of TagSNP was detected in the *HSF1* gene, with maximum disequilibrium region of $r^2 = 0.87$ and MAFs from 0.10 to 0.50, and MAFs from 0.02 to 0.21 in the *HSPA6* gene. Hardy Weinberg equilibrium shifts were observed in the SNPs of genes, and half the loci had heterozygosity greater than 50%. Behavior of the breeds is similar in the hotter season of spring, and the data suggest that there is great genetic variation in genes, which may contribute to identification and selection of cattle more thermotolerant to the subtropical climate.

Keywords: Angus. Molecular markers. Simmental. Thermoregulation.

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Tabela 1 Estatísticas descritivas das características espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento de pelo (CP), nas estações de inverno e primavera de bovinos da raça Angus criados em clima subtropical.58
- Tabela 2 Estatísticas descritivas das características espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento de pelo (CP), nas estações de inverno e primavera de bovinos da raça Simental criados em clima subtropical. 59
- Tabela 3 Resumo das análises de variância das características de espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento de pelo (CP) de animais das raças Angus e Simental criados em clima subtropical.... 61
- Tabela 4 Estimativa das médias das características de espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento do pelo (CP) de acordo com a raça (AN e SI), estação do ano e da interação raça e estação (I = inverno, P = primavera). 63
- Tabela 5 Estatísticas descritivas das medidas frequência respiratória da manhã, frequência respiratória da tarde, temperatura do pelame da manhã, temperatura do pelame da tarde de bovinos da raça Angus criados em clima subtropical. 65

Tabela 6	Estrutura dos dados e estatísticas descritivas das medidas frequência respiratória da manhã, frequência respiratória da tarde, temperatura do pelame da manhã, temperatura do pelame da tarde de bovinos da raça Simental criados em clima subtropical.....	66
Tabela 7	Temperatura do ambiente, umidade relativa do ar, índice de temperatura e umidade (THI) nos períodos da manhã e da tarde durante os meses de agosto a novembro.....	67
Tabela 8	Valores de F e nível de significância dos efeitos de raça, hora, dia, interação raça x hora e idade para as variáveis frequência respiratória (FR) e temperatura do pelame (TP) em bovinos das raças Angus e Simental.....	68
Tabela 9	Médias estimadas e erro padrão das características de frequência respiratória (FR) e temperatura do pelame (TP) de acordo com a raça, hora e dia da coleta em animais das raças Angus e Simental criados em clima subtropical.	69

ARTIGO 2

Tabela 1	Descrição dos primers para os genes <i>HSF1</i> e <i>HSPA6</i> em bovinos. ...	81
Tabela 2	Caracterização dos SNPs prospectados para o gene <i>HSF1</i>	87
Tabela 3	Caracterização dos SNPs prospectados para o gene <i>HSPA6</i>	88
Tabela 4	Valores de equilíbrio de Hardy Weinberg (HW), heterozigosidade (He), frequência do alelo menos comum (<i>MAF</i>) e p -valor do Teste de Fisher para os genes <i>HSF1</i> e <i>HSPA6</i>	91

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 1 Animal da raça Aberdeen Angus..... 24
- Figura 2 Animal da raça Simental (linhagem sul-africana) 26

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 2

- Figura 1 Padrão de desequilíbrio de ligação (r^2) entre os SNPs prospectados do gene *HFS1*. O sombreado escuro representa “LD forte”, sombreado claro evidência de “recombinação gênica” e quadrado branco “sem comprovação estatística”..... 89

LISTA DE ABREVIATURAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 2

HCL	Ácido Clorídrico
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
NaCl	Cloreto de Sódio
EDTA	Do inglês <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
SDS	Do inglês <i>Sodium dodecyl sulfate</i>
Tris	Trisaminometano

LISTA DE SIGLAS

PRIMEIRA PARTE – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

AAS	Do inglês <i>American Angus Association</i>
ABA	Associação Brasileira de Angus
ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne
ASBIA	Associação Brasileira de Inseminação Artificial
CNPC	Conselho Nacional de Pecuária de Corte
DNA	Ácido Nucléico Desoxirribose
FAO	Do inglês <i>Food and Agriculture Organization</i>
FMU	Faculdade Metropolitana Unidas
GWAS	Do inglês <i>Genome Association Study</i>
HSE	Elemento de Choque Térmico
HSP	Do inglês <i>Heat Shock Proteins</i>
HSR	Do inglês <i>Heat Shock Responde</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
NCBI	Do inglês <i>National Center for Biotechnology Information</i>
ONU	Organização das Nações Unidas
QTL	Do inglês <i>Quantitative Trait Locus</i>
RFLP	Do inglês <i>Restriction Fragmente lenght polymorphism</i>
RNA	Ácido Nucléico Ribonucléico
SNP	Do inglês <i>Single Nucleotide Polymorfism</i>
UFLA	Universidade Federal de Lavras

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

AN	Angus
DP	Desvio Padrão
CV	Coefficiente de Variação
NP	Número de Pelos
CP	Comprimento do Pelo
EP	Espessura do Pelame

FR	Frequência Respiratória
FRM	Frequência Respiratória da Manhã
FRT	Frequência Respiratória da Tarde
GL	Graus de Liberdade
GLM	Do inglês <i>General Linear Models</i>
LCI	Do inglês <i>Livestock Conservation Index</i>
MG	Minas Gerais
MIXED	Do inglês <i>Linear Mixed Models</i>
N(n)	Número de Animais
NP	Número de Pelos
P	Probabilidade
SAS	Do inglês <i>Statistical Analysis System</i>
SI	Simental
SP	São Paulo
TA	Temperatura do Ar
TP	Temperatura do Pelame
THI	Índice de Temperatura e Umidade
TPM	Temperatura do Pelame de Manhã
TPT	Temperatura do Pelame de Tarde
UR	Umidade Relativa do Ar

ARTIGO 2

A	Alanina
ddNTP	Dideoxynucleotídeo
F	Do inglês <i>Forward</i>
F	Fenilalanina
H	Histidina
HE	Heterozigosidade
HW	Equilíbrio de Hardy Weinberg
I	Isoulecina
LD	Desequilíbrio de Ligação
MAF	Do inglês <i>Minor Allele Frequency</i>
mRNA	Ácido Nucléico Ribonucléico Mensageiro
OD	Densidade Óptica
P	Prolina
Pb	Pares de Bases Nitrogenadas
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
Q	Glutamina

R	Do inglês <i>Reverse</i>
TA	Temperatura de Anelamento

LISTA DE SÍMBOLOS

PRIMEIRA PARTE – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

°C	Graus Celsius
mm	Milímetros

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

cm	Centímetros
cm ²	Centímetros Quadrados
h	Hora
R ²	Coefficiente de Determinação

ARTIGO 2

a ~	Vetor dos Efeitos Aleatórios
β ~	Vetor dos Efeitos Fixos
e ~	Vetor dos Erros Aleatórios
g	Giros (velocidade)
µg	Mircrograma
µL	Microlitro
mL	Milímetros
mM	Micromolar
ng	Nanograma
pH	Potencial Hidrogeniônico
X	Matriz de Incidência dos Efeitos Eixos
Z	Matriz de Incidência dos Efeitos Aleatórios
y ~	Vetor das Variáveis Dependentes

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	19
2.1 População mundial e pecuária de corte brasileira	19
2.2 Origem e introdução de bovinos no Brasil	20
2.2.1 A importância das raças europeias	21
2.2.2 As raças Aberdeen Angus e Simental	23
2.3 Prova de Desempenho	24
2.4 Termorregulação em bovinos	27
2.4.1 Adaptabilidade	29
2.4.2 <i>Bos taurus taurus</i> versus <i>Bos taurus indicus</i>	30
2.5 Mecanismos celulares da termorregulação	32
2.6 Genes candidatos e polimorfismos relacionados à termorregulação ..	35
2.6.1 Genes <i>HSF1</i> e <i>HSPA6</i>	36
2.7 Marcadores Moleculares	37
2.7.1 SNP	38
REFERÊNCIAS	40
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	48
ARTIGO 1 – Caraterísticas relacionadas a adaptação de bovinos taurinos	48
1 INTRODUÇÃO	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1 Local e Animais	52

2.2	Metodologias de Avaliação das Características Morfológicas	53
2.3	Metodologias de Avaliação das Características Fisiológicas	55
2.4	Índice de Temperatura e Umidade (THI)	55
2.5	Análises estatísticas das características morfológicas	56
2.6	Análises estatísticas das características fisiológicas ... Erro! Indicador não definido.	
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS.....	71
	ARTIGO 2 – Genes candidatos relacionados à adaptabilidade em bovinos taurinos	74
1	INTRODUÇÃO	77
2	MATERIAL E MÉTODO	78
2.1	Local e animais	78
2.2	Extração de leucócitos e DNA.....	79
2.3	Quantificação e verificação da integridade do DNA	80
2.4	Desenho de <i>primers</i>	80
2.5	Seleção de animais com fenótipos extremos para adaptabilidade	82
2.6	Amplificação e purificação	83
2.7	Reação de Sequenciamento e purificação.....	84
2.8	Sequenciamento e prospecção de SNPs.....	85
2.9	Caracterização dos SNPs e associação com o fenótipo	85
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	86
4	CONCLUSÃO.....	92
	REFERÊNCIAS.....	93

PRIMEIRA PARTE – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Considerando o cenário mundial, o Brasil possui o maior rebanho bovino, apresentando aproximadamente 209 milhões de cabeças, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2014). O país também é o segundo maior produtor e maior exportador mundial de carne bovina, obtendo recorde de exportação em 2013 e ultrapassando outros países como Rússia, Venezuela e Estados Unidos (ABIEC, 2014).

Segundo a Organização das Nações Unidas – ONU (2014), estima-se que a população mundial irá atingir um número de 9,6 bilhões de habitantes no ano de 2050 e para alimentar toda essa população, a produção mundial de carne bovina terá mais que dobrar e o Brasil deverá aumentar sua produção em até 43,2 %.

O aumento da produtividade é um desafio, devido aos sistemas de criação heterogêneos adotados, ao impasse da abertura de novas áreas, ao baixo nível tecnológico aplicado, entre outros fatores. Algumas das diversas opções para aumentar a produtividade está em melhorias do potencial genético dos animais e de sua adequação ao clima tropical, através da seleção e cruzamento de genótipos de melhor desempenho produtivo e qualidade de carcaça.

O Brasil possui grande parte do seu território situado na faixa tropical do planeta, onde eventos climáticos como altas temperaturas e elevada radiação solar provocam o estresse térmico em animais de produção, afetando características produtivas em animais menos tolerantes ao calor (MARTELLO et al., 2004; ALMEIDA, 2009).

O gado taurino, apesar de boas características de desempenho produtivo e de qualidade de carcaça, sofre mais com as condições climáticas tropicais se

comparado com animais zebuínos, devido a fatores tanto fisiológicos, morfológicos quanto genéticos.

Desta forma, torna-se necessário que a pecuária de corte, praticada em regiões tropicais, busque o desenvolvimento e a seleção das características de adaptabilidade em animais de origem taurina, adequando o genótipo desses às condições de produção nos trópicos, sem comprometimento das funções produtivas e da qualidade da carcaça.

Portanto, estudos de características relacionadas à adaptabilidade, bem como trabalhos que detectem polimorfismo em genes candidatos relacionados à tolerância ao calor devem ser conduzidos, permitindo-se uma melhor avaliação dos animais quanto à sua capacidade de produção em clima tropical e subtropical.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 População mundial e pecuária de corte brasileira

Atualmente, a população mundial é de 7,2 bilhões de habitantes com estimativa de 9,6 bilhões para o ano de 2050 (ONU, 2014). De acordo com Egito (2007), o crescimento populacional irá estabilizar-se em um patamar mais alto no ano de 2100 e essa estabilização já está ocorrendo em países do primeiro mundo. Isso evidencia que o aumento da população irá acontecer principalmente em países em desenvolvimento que serão obrigados a aumentar sua produção de alimento.

Para alimentar a população de 2050 será necessário mais que dobrar a produção de carne, de 200 milhões de toneladas produzidas atualmente para 470 milhões e segundo o Ministério da Agricultura, a produção de carne no Brasil deverá crescer em 43,2% até 2022 (CNPQ, 2014).

Visando atender a essas exigências e diante do impasse da abertura de novas áreas, torna-se necessário a utilização de técnicas que permitem uma maior produtividade por área atrelando critérios relacionados à sustentabilidade para que não sejam provocados danos ao meio ambiente (ALMEIDA, 2013).

O Brasil ocupa uma posição de destaque na produção e fornecimento de proteína animal para a população mundial. O rebanho bovino brasileiro é o maior rebanho comercial do mundo contendo aproximadamente 209 milhões de cabeças. Desse total, 75% é destinado à produção de carne, o que gera 10,2 milhões de toneladas de carne abastecendo tanto o mercado interno (80,9%) quanto o externo (19,1%). Esses valores mantêm o país como o maior exportador e o segundo maior produtor mundial de carne bovina (ABIEC, 2014; IBGE, 2014).

Apesar desses dados da pecuária brasileira, a produtividade do setor está muito abaixo da sua potencialidade, devido aos sistemas de criação heterogêneos adotados. Desde o período colonial quando a criação de gado ocupava áreas de fronteiras agrícolas, pouca ou nenhuma tecnologia era empregada, assim criou-se a ideia de que o gado deveria ser criado de forma extensiva e sem investimentos em equipamentos e insumos (ALMEIDA, 2013).

Atualmente, a bovinocultura no Brasil sofre grandes pressões quanto ao uso de terra, deslocando-se para regiões distantes dos maiores centros, sendo praticada de forma extensiva, sem intensificação de tecnologia e principalmente caracterizada pela criação a pasto. Devido a esse fato, é visível que o aumento da produção poderia ser através da abertura de novas áreas. Mas, as pressões governamentais e ambientalistas impostas à produção contra a abertura de novas áreas de pastagens faz com que a pecuária de corte brasileira busque novos caminhos para conseguir melhorias em sua produtividade (HOFFMAN et al., 2014).

Para o país aumentar sua produção e atender às expectativas de demanda da população por produtos cárneos, algumas práticas podem ser adotadas: diminuir a fase de recria para acelerar o abate, suplementação no período seco, utilização do sistema de semiconfinamento, melhorias do potencial genético dos animais e sua adequação ao ambiente através da seleção de animais geneticamente superiores e/ou utilização de cruzamentos com animais de maior desempenho produtivo e com melhor qualidade de carcaça, entre outras práticas (HOFFMAN et al., 2014; ALENCAR, 2004).

2.2 Origem e introdução de bovinos no Brasil

A espécie bovina possui como precursor o *Bos primigenius* de origem Asiática. Essa espécie primitiva, primeiramente espalhou-se pela África e Europa originando demais outras subespécies que posteriormente deram origem às duas subespécies atuais. A primeira é o bovino taurino (*Bos taurus taurus*) que compreende as raças europeias e está disseminada em regiões de clima temperado. A segunda é o bovino zebuino (*Bos taurus indicus*), natural de regiões de clima tropical (FAO, 2006).

O estabelecimento do ser humano em diversas regiões do planeta e suas diferentes rotas migratórias influenciaram fortemente a evolução e a expansão dos animais domésticos. Portanto, ao se colonizar a América, as primeiras raças foram introduzidas por portugueses e espanhóis, sendo o Brasil o único país da América do Sul a receber bovinos de Portugal. Essas raças europeias, ao longo dos séculos se adaptaram ao clima e condições dos trópicos e deram origem às raças “naturalizadas” brasileiras (ATHANASSOF, 1957).

No Brasil, devido à necessidade de atender a demanda por produtos de origem animal, começou a partir no século XIX e início do século XX a ocorrer importações de raças ditas “exóticas”, as quais eram altamente produtivas, mas haviam sido selecionadas em regiões de clima temperado e portanto, menos adaptadas se comparada às raças naturalizadas (EGITO, 2007).

Segundo Euclides Filho e Figueiredo (2003), também no início do século XX ocorreu a introdução de animais zebuínos no Brasil. Em razão da maior adaptação ao clima do país, esses animais foram largamente utilizados em cruzamentos com as raças naturalizadas e, atualmente constituem a maior parcela do rebanho brasileiro.

2.2.1 A importância das raças europeias

Os primeiros bovinos de origem europeia foram introduzidos no Brasil após 34 anos do seu descobrimento. Após adaptação e evolução destes animais à nova condição de habitat, surgiram diferentes raças naturalizadas brasileiras tais como: Curraleiro, Franqueiro ou Junqueiro, o Caracu, o Mocho Nacional, o Crioulo Lageado e o Pantaneiro. Essas novas raças tiveram importância fundamental no desenvolvimento do país (PRIMO, 1993; MAZZA, 1994; ALENCAR, 2004).

Os bovinos naturalizados brasileiros foram reconhecidos como animais de grande resistência às condições ambientais e pouco exigentes com relação ao manejo, além de, proporcionar fêmeas com alta eficiência produtiva, de menor tamanho e com carne mais macia e de melhor palatabilidade (EGITO, 2007).

O gado taurino, apesar de bom desempenho produtivo e de possuir melhor qualidade de carne, se comparado aos animais zebuínos, sofre com as condições climáticas tropicais, sendo pouco viável sua utilização nos sistemas de criação adotados no país. Contudo, iniciou-se no Brasil, a utilização sistemática do cruzamento entre os bovinos *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* que proporciona de forma imediata benefícios como o aumento de peso e melhorias relacionadas à qualidade da carcaça (BIANCHINI et al., 2007).

O cruzamento entre essas duas subespécies geneticamente distintas resulta em animais mais produtivos em ambientes tropicais, sendo isso devido a heterose e a complementariedade entre elas.

No Brasil, produtores e empresas privadas utilizam essa estratégia para aumentar a eficiência produtiva dos seus sistemas de produção promovendo mudanças rápidas em seus rebanhos e atendendo às exigências do mercado (ALENCAR, 2004; BARBOSA, 1990).

2.2.2 As raças Aberdeen Angus e Simental

A denominação da raça Aberdeen Angus provém das suas regiões de origem, a região Angus e a região do condado de Aberdeen ao noroeste da Escócia. Não se sabe exatamente a data de sua origem, mas acredita-se que a seleção desses animais teve início em 1880 com o registro oficial da raça em 1835 (ABA, 2014).

O primeiro registro genealógico da raça Aberdeen Angus no Brasil ocorreu em 1906, através da importação do touro chamado Menelik por Leonardo Collares Sobrinho, em Bagé, Rio Grande do Sul. Em 1914, Visconde Ribeiro Magalhães importou cinco matrizes provenientes da Inglaterra, registrando portanto, o primeiro produto nacional. Após os primeiros registros, a raça expandiu-se rapidamente pelo Rio Grande do Sul e posteriormente em todo país, tornando-se a principal raça taurina em 1994 (EGITO, 2007; ABA, 2014).

O Aberdeen Angus é uma raça britânica, desta forma, de porte mediano, precoces sob os aspectos reprodutivo, crescimento e de terminação. Destaca-se entre as raças taurinas por reunir também várias características de importância econômica, dentre elas estão a longevidade, boa fertilidade, rusticidade, excelente qualidade da carne, facilidade de parto e habilidade materna (ABA, 2014).

São animais que atingem a puberdade e o estado de abate mais cedo que outras raças, em mesmas condições de manejo e alimentação. A fêmea apresenta um período curto entre partos e, associado com a longevidade proporciona maior número de crias ao ano, além de, pouco ocorrer distocia durante o parto devido à geração de bezerros de porte médio. São animais que possuem excelente qualidade de carne com 3 a 6 mm de gordura subcutânea, elevada presença de gordura marmorizada e uniforme distribuição de gordura em todo tecido muscular (AAS, 2014).

De acordo com o relatório da ASBIA (2014), essa raça está em primeiro lugar na comercialização de sêmen entre as raças de corte, sendo responsável por 38,02% das doses produzidas no Brasil no ano de 2013. Esse valor ultrapassou a raça Nelore que permaneceu com 35,24% das doses produzidas no mesmo ano.



Figura 1 Animal da raça Aberdeen Angus.
Fonte: particular

A raça Simental

A raça Simental existe desde a Idade Média e tem origem no vale do Simmen, região de Berna, noroeste da Suíça. A denominação da raça foi derivada pela sua região de origem. Os primeiros registros genealógicos da raça, na Suíça, ocorreram em 1862 quando o governo local implantou medidas de melhoramento genético para garantir o padrão racial (EGITO, 2007).

A introdução da raça no Brasil foi em 1911, e nas décadas seguintes ocorreram diversas importações desses animais para os estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Inicialmente, não foi constituído um rebanho significativo devido ao baixo contingente introduzido. Contudo, em 1960, zootecnistas do Ministério da Agricultura empenharam-se em sua preservação e consolidaram os primeiros registros genealógicos. Em 1963 foi criada a Associação de Criadores e desde então essa raça está em grande crescimento em todo o país (EGITO, 2007).

O Simental é uma raça continental apresentando porte grande e de maior peso ao abate. Esses animais acumulam gordura e atingem a puberdade tardiamente, sendo portanto, menos precoces que as raças britânicas. Apesar de apresentarem taxas de crescimento semelhantes às raças britânicas, o bovino continental possui maiores rendimentos de cortes cárneos, mas apresentam menor teor de gordura (CUNDIFF, 2003).

São animais de dupla aptidão, destacando-se na produção de leite na qual o coloca em lugar de destaque dentre as raças europeias. O leite produzido possui maiores valores de sólidos totais e baixo número de células somáticas se comparada a outras raças. Outra característica importante presente na raça é com relação à reprodução na qual a fertilidade atinge índice de 92% e o intervalo entre partos é normalmente curto (EGITO, 2007).

Dentre as linhagens da raça Simental, a linhagem sul africana é a destinada à produção de carne no Brasil, com animais de porte mediano, precoces, com carnes macias e marmorizadas, além de serem melhores adaptados às condições sul africanas, condições essas semelhantes às encontradas no território brasileiro.

No Brasil, as raças Simental e Aberdeen Angus são mais utilizadas visando cruzamentos, principalmente com animais da espécie zebuína, proporcionando excepcional adaptabilidade, rusticidade e habilidade materna (ABA, 2014).



Figura 2 Animal da raça Simental (linhagem sul-africana).
Fonte: particular

2.3 Prova de Desempenho

A prova de desempenho consiste em submeter bovinos machos, portadores de Registro Genealógico de Nascimento (RGN) e com variação de idade de no máximo 90 dias a um mesmo manejo e regime alimentar durante o período de prova. Durante a prova são avaliadas características de desempenho como ganho em peso, peso final, características ligadas a adaptabilidade, carcaça, entre outras características (ABCZ, 2014).

A finalidade dessa prova é testar e disponibilizar ao mercado, tourinhos com alto desempenho produtivo e com biótipo adequado a produção de carne, identificar entre os participantes aqueles de melhor desempenho no ganho em peso, no peso final a uma idade padronizada, auxiliar nas avaliações e testes de progênes de reprodutores, principalmente daqueles que não dispõem de informações anteriores em testes de desempenho individual, possibilitar as avaliações de mudanças genéticas ocorridas nas populações envolvidas nas características selecionadas, através do acúmulo das informações zootécnicas (ABCZ, 2014).

A duração da prova em confinamento normalmente tem duração de 168 dias (56 dias adaptação e 112 dias de prova efetiva) e a idade de entrada dos animais é de 180 a 303 dias (ABCZ, 2014).

2.4 Termorregulação em bovinos

O Brasil possui cerca de dois terços de seu território situado na faixa tropical do planeta, onde predomina altas temperaturas, consequência da elevada radiação solar incidente, além de elevada umidade relativa e baixa movimentação do ar, o que pode provocar o estresse térmico em animais de produção (MARTELLO et.al., 2004; ALMEIDA, 2009).

Segundo Broom e Johenson (1993), o estresse térmico é um efeito ambiental sobre um indivíduo que coloca uma sobrecarga sobre o seu sistema de controle e pode promover aumento de mortalidade e insucesso com relação ao crescimento e reprodução.

O ambiente com seus elementos meteorológicos exerce influência direta sobre o desempenho do animal, positivamente ou negativamente. Fora da zona de termoneutralidade, funções reprodutivas, assim como o desempenho produtivo e parâmetros fisiológicos são afetados negativamente.

A zona de termoneutralidade é atingida quando a regulação da temperatura corporal é controlada por processos físicos não evaporativos, a frequência respiratória é normal, não ocorre sudorese, o custo fisiológico é mínimo, a retenção de energia da dieta é máxima e a produção é otimizada (BACCARI Jr., 2001). Porém, a zona de termoneutralidade é variável de acordo com a idade, sexo, raça, estado produtivo, entre outros fatores (SILVA, 2000).

Segundo Pires e Campos (2008), a temperatura e umidade do ar, a radiação solar e a velocidade do vento são os elementos meteorológicos que

afetam a produção animal. A alta radiação solar e contudo o aumento da temperatura promove a redução de ingestão de alimento pelo animal, disfunção da tireóide, elevação da temperatura corporal e da frequência cardíaca e respiratória, sudorese e gastos de energia para dissipação do calor (SILVA e SOUZA, 2013).

Quando a temperatura está elevada, a carência ou excesso de umidade são prejudiciais (ROBERTO, 2012). Em alta temperatura e umidade o animal tem dificuldade em dissipar o calor através da respiração (GRACIANO, 2013).

Os bovinos são animais homeotérmicos, ou seja, mantêm sua temperatura corpórea constante apesar das variações ambientais (SOUZA e BATISTA, 2013; SILVA, 2012). O controle da temperatura corporal é realizado pelo sistema termorregulador do animal, que está localizado no hipotálamo e que detecta as variações do ambiente térmico (CRUZ, 2011).

Sob condições climáticas adversas às ideais, os animais acionam seu sistema de termorregulação para manter a temperatura corporal, promovendo dissipação de calor ou mesmo adquirindo calor. Todo esse processo requer gastos de energia e essa, que antes seria convertida em produção é perdida por um processo de defesa do próprio organismo. Entretanto, se os animais forem mantidos em ambiente de termoneutralidade, o gasto de energia para sua manutenção seria mínimo e constante, não havendo desvio de energia para manter a temperatura corporal (MEDEIROS e VIEIRA, 1997).

Quando os animais estão sob estresse devido ao frio é necessário a produção de calor (termogênese) que pode ser adquirido pelo maior consumo de alimentos o que produzirá calor endógeno devido à elevação da taxa metabólica. Sob estresse devido ao calor, o animal diminui a ingestão de alimentos para produzir menor calor interno e dissipá-lo para o ambiente através de mecanismos

da termólise como a condução, convecção, radiação e evaporação (ALMEIDA, 2009).

Se o animal está na zona de termoneutralidade, 75% da perda de calor ocorre por condução, convecção ou radiação. Já a perda de calor por evaporação ocorre através da produção de suor, saliva e excreção por vias respiratórias, transpiração e respiração. Essas últimas são dependentes da umidade relativa do ar (AZEVEDO e ALVES, 2009; ROBERTO, 2012).

2.4.1 Adaptabilidade

A adaptação, do ponto de vista biológico, é definida como a associação de características anatômicas, morfológicas, bioquímicas, fisiológicas, genéticas e comportamentais visando promover o bem-estar e a sobrevivência do animal em determinado ambiente (SILVA, 2000).

Segundo Glessner et al. (2004), a adaptação pode promover ajustes a nível genético ou fenotipicamente em um organismo de acordo com determinada condição do meio ambiente. Portanto, todas as características envolvidas com a produção, conservação e dissipação de calor, bem como características de pele e pelame são primordiais para a adaptação do animal em estresse térmico.

O pelame é um dos meios de proteção térmica do animal, sendo uma barreira ao fluxo de calor devido a sua estrutura física, tipo de fibra e principalmente pelo aprisionamento de ar entre os pelos (SILVA, 2008). A temperatura da superfície do pelame é uma resposta fisiológica que mostra os níveis de uso da termorregulação pelo animal. Quando maior esse valor, maior é o estresse que o animal está submetido (SILVA FILHO, 2013).

De acordo com Silva (1999), o ideal em condições climáticas tropicais é o pelame menos espesso possível, curto e bem assentado, associado a uma

epiderme pigmentada e pelagem clara. A epiderme pigmentada evidencia a presença de melanina que protege os animais contra a radiação ultravioleta e, os pelos claros refletem a radiação incidente.

O número de pelos por unidade de área, o ângulo de inclinação do pelo em relação à epiderme, o diâmetro e comprimento do pelo são características relacionadas à transferência térmica da pelagem. Portanto, quanto maior o número de pelos, maior inclinação e menos grossos forem, menor a quantidade de energia térmica conduzida (SILVA, 2000).

A sudorese também é uma característica adaptativa do animal e é dependente da temperatura da pele, da umidade relativa do ar, da densidade, do funcionamento das glândulas sudoríparas e da espessura do pelame (AZEVEDO e ALVES, 2009).

O aumento da frequência respiratória é um dos primeiros sinais visíveis de animais submetidos ao estresse térmico (MARTELLO et al., 2004). Os animais que apresentam menor frequência respiratória são mais tolerantes ao calor segundo Moraes (2010). Valores de frequência respiratória de 40 a 60, 60 a 80, 80 a 120 e 200 movimentos/minuto são baixo, médio, alto e severo índices de estresse térmico em ruminantes, respectivamente.

Em bovinos estressados, devido ao calor, 30% de suas perdas evaporativas ocorrem pelo aumento da frequência respiratória e 70% pela sudorese (SILVA, 2000). Na zona de termoneutralidade, a frequência respiratória varia entre 24 a 36 movimentos/minuto e acima de 26°C começa a aumentar (BACCARI Jr., 2001).

2.4.2 *Bos taurus taurus* versus *Bos taurus indicus*

Os animais *Bos taurus indicus* são reconhecidamente mais tolerantes ao clima tropical, principalmente quanto ao calor quando comparados aos bovinos *Bos taurus taurus* (TUNER, 1980).

Ao comparar animais *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, Hansen (2004) observou que animais de origem zebuína são mais adaptados ao clima tropical pois, produzem menor calor metabólico, associado a melhor capacidade de termólise, dentre outros fatores.

A menor produção de calor metabólico ocorre devido à queda de consumo de oxigênio e conseqüente diminuição do metabolismo. Deste modo, os zebuínos apresentam metabolismo mais baixo do que os animais das raças europeias (CARVALHO, 2011).

Outra característica que comprova a maior resistência ao calor por animais *Bos taurus indicus* quando comparado aos *Bos taurus taurus*, encontra-se nas glândulas sudoríparas. Falcon (1997) relata as diferenças entre o diâmetro e o formato das glândulas sudoríparas entre diferentes raças bovinas. Enquanto o taurino possui o formato enovelado e diâmetro de 100 mm, no zebuíno ocorre o formato saculiforme e diâmetro entre 180 a 200 mm, além de serem mais próximas à superfície, facilitando a secreção e excreção do suor.

Segundo Bianchini et al. (2007), animais de raças europeias possuem também menor área de tecido ocupada por glândulas sudoríparas, o que pode indicar maior dificuldade de adaptação a climas tropicais. Já os zebuínos possuem maior número de glândula sudoríparas, conseqüência da adaptação e da seleção genética realizada visando à termotolerância ao longo dos anos (HANSEN, 2004; SILVA, 2012).

A espessura da pele entre *Bos taurus* e *Bos indicus* também são divergentes. Em animais taurinos a espessura está em torno de 8,15 mm e de zebuínos de 5,75

mm, o que comprova a maior adaptabilidade de uma subespécie sobre a outra (McDOWLL, 1974).

Com relação também à pelagem, algumas raças europeias apresentam normalmente pelos mais longos no inverno que caem nas estações mais quentes, dando lugar a pelos menores e mais assentados. Assim, os animais que realizam essa troca com eficiência sofrem menos com o estresse térmico (SOUZA, 2009).

As raças zebuínas apresentam em sua maioria, a epiderme mais pigmentada que as raças europeias. Contudo, animais com pele despigmentada sofrem mais com os efeitos da radiação ultravioleta.

Segundo Castanheira (2009), a faixa de temperatura ambiental ideal também difere entre raças sendo que para bovinos de origem europeia está entre 0°C e 16°C, para bovinos zebuínos entre 10°C e 27°C e, animais cruzados de 0°C a 35°C.

2.5 Mecanismos celulares da termorregulação

Estudos recentes buscam elucidar os mecanismos celulares envolvidos com as respostas termorregulatórias em animais. Sabe-se que independente do reino, os organismos são submetidos a diversas situações estressantes e respondem a esses estímulos por meio de alterações celulares, ativando seus mecanismos de defesa (CASTRO et al., 2013).

Em resposta ao estresse térmico, por exemplo, ocorre a atuação de seletas proteínas denominadas “proteínas de choque térmico” (*Heat Shock Proteins*), ou seja, as proteínas HSPs (LINDQUIST e GRAIG, 1988).

Nos anos 60, descobriu-se que a partir da exposição ao calor e a alguns agentes químicos, células da glândula salivar de *Drosophila buskii* sofriam um novo padrão de espessamento ou “puffs” cromossômicos que representavam sítios

específicos de transcrição com intensa produção de RNA. Esse estresse térmico ou químico ativavam a expressão de genes quiescentes, os quais faziam com que células sob estresse fabricassem grande quantidade de proteínas HSPs (TISSIERE et al., 1974).

Segundo Dastoor e Dreuer (2000), apesar de vários fatores induzirem o aumento da HSP, a distribuição intracelular desta proteína é diferente de acordo com o tipo de estresse. Esse fato, com relação à resposta a cada tipo de agressão sofrida, sugere uma distinção na atuação da HSP frente às diversas condições estressantes.

A resposta ao estresse térmico promove o aumento das proteínas de choque, embora outros estressores de diversas naturezas induzem também à síntese, tais como metais pesados, óxido nítrico, infecções microbianas, etanol, entre outros (CRAIG, 1985; KIANG e TSOKOS, 1998).

As HSPs são uma classe de proteínas altamente conservadas e presentes desde seres primitivos até no próprio homem, o que comprova seu grande valor evolutivo. Estão presentes no citosol, mitocôndrias, retículo endoplasmático e no núcleo, possuindo meia vida relativamente longa de 48 horas em células epidérmicas humana (KIANG e TSOKOS, 1998; PEETERMANS, 1995).

As proteínas de choque são agrupadas em famílias de acordo com sua sequência de aminoácidos e peso molecular: HSP-27, HSP-47, HSP-60, HSP-70, HSP-90 e HSP-110. Para cada família existem diferentes proteínas, como por exemplo, na família HSP-70 há as proteínas HSP70-2, HSP70-3, HSPA70-6 que são produzidas por diferentes genes e assim possuem padrões de indução e expressão gênica distintos. As famílias HSP-60 e HSP-70 são as mais ligadas ao processo de dobramento de proteínas nas células. A família HSP-70 é a mais conhecida, pois é a de maior atuação em respostas ao estresse celular, sendo

portanto, utilizada em muitos estudos como indicadora de estresse (JAATTELÃ e WISSING, 1992).

O processo da resposta celular ao estresse ficou conhecido como “*Heat Shock Response*” (HSR), ou resposta ao choque térmico. Posteriormente, descobriu-se que a HSR era um fenômeno universal que ocorria praticamente em todo ser vivo (JAATTELÃ e WISSING, 1992).

A HSR ocorre a partir do acúmulo de proteínas dobradas incorretamente provocada pelos agentes estressores. Esse dobramento afeta a conformação e conseqüentemente a função das proteínas (MEYER, 1999).

Quando a HSR se inicia, ocorre a ativação de um fator de transcrição específico, o HSF-1 (*Heat Shock Factor*) ou fator do choque térmico. Esse fator está presente em células normais e não estressadas, mas na forma inativa. Após sua ativação e em resposta ao acúmulo de proteínas dobradas incorretamente em função do estresse sofrido, o HSF sofre rapidamente uma trimerização, o que torna possível sua ligação com o elemento de choque térmico (HSE) (MINOWADA e WELCH, 1995).

O HSE é uma seqüência repetida de cinco pares de bases localizada na região promotora de genes que codificam as HSPs. Devido à ligação HSF1-HSE, ocorre a transcrição de genes do choque térmico que produzem as proteínas de choque (MINOWADA e WELCH, 1995).

As HSP atuam como “chaperonas” moleculares, ou seja, ligam-se a outras proteínas e mediante a agregação evitam interações incorretas entre elas, auxiliam na montagem final das mesmas, atuam também na síntese, dobramento e degradação de proteínas (ELLIS, 1987).

O processo de dobramento das proteínas é de fundamental importância, pois converte cadeias lineares de polipeptídeos em cadeias tridimensionais as quais são necessárias para a funcionalidades vitais das proteínas. Portanto, para a

síntese e translocação das proteínas para outros compartimentos celulares é preciso a conformação temporariamente desdobrada ou parcialmente dobrada (ELLIS e HARTL, 1996).

Quando em forma nativa, as proteínas podem interagir entre si causando agregações nocivas para o meio celular, mas quando corretamente dobradas isso não ocorre. As HSPs atuam evitando essas agregações aleatórias agindo como “protetoras moleculares” até que se finalize o processo de dobramento das proteínas. Para que não ocorra essas agregações, as HSPs ligam-se à superfície das proteínas e facilitam o dobramento de polipeptídeos nascentes ou desdobrados (MEYER, 1999).

O efeito do ambiente térmico na expressão gênica das HSPs foi estudado em caprinos por Dangi et al. (2012), nos quais observaram que apenas HSP60 e HSP70 exibiram uma expressão diferenciada quando comparou-se as estações do ano em uma região de clima temperado. Todos esses resultados podem sugerir um possível envolvimento da família HSP na redução dos efeitos negativos do estresse térmico.

2.6 Genes candidatos e polimorfismos relacionados à termorregulação

Os genes candidatos são genes localizados em certas regiões cromossômicas e estão associados com características de interesse. Esses genes estão envolvidos em uma via metabólica e codificam proteínas relacionadas à variável em estudo. O conhecimento da função biológica de um gene pode indicar seu envolvimento na expressão do fenótipo (ELZO et al., 2012).

Vários genes candidatos e polimorfismos foram associados à termorregulação. Basirico et al. (2011), trabalhando com vacas Holandesas encontraram marcadores do tipo SNP no gene candidato *HSP70-1*, sendo esse

sugerido como um possível marcador molecular para seleção assistida em bovinos.

Alguns resultados semelhantes foram encontrados por Li et al. (2011), trabalhando com vacas Holandesas na China, enquanto que Charoensook et al. (2012) estudando bovinos nativos Tailandeses e mestiços Holandeses, demonstraram a influência de polimorfismos no gene *HSP 90-AB1* na tolerância ao calor. Wang et al. (2011) também encontraram três novos SNPs no gene *HSBP1* em bovinos Holandeses na China.

2.6.1 Genes *HSF1* e *HSPA6*

O gene *HSF1* é um dos quatro genes conhecidos entre os fatores de transcrição específicos (*HSF1*, *HSF2*, *HSF3* e *HSF4*), sendo ele o maior regulador da resposta ao choque térmico em eucariotos (BENAVIDES, 2013).

Segundo Winter et al. (2007), o gene *HSF1* foi mapeado no cromossomo 14 em bovinos. Esse gene possui 19.753 pares de bases e produz uma proteína que contém 526 aminoácidos (NCBI, 2014).

Li et al. (2011), também estudaram o gene *HSF1* em bovinos da raça Holandesa. Em seus estudos encontraram novos SNPs com associações significativas com a termotolerância.

O gene *HSPA6* produz a proteína 6 da família de proteínas de choque HSP70, sendo essa família a de maior atuação em resposta ao estresse celular (REGITANO et al., 2006). Em bovinos, esse gene está localizado no cromossomo três e possui 2.513 pares de bases (NCBI, 2014).

Ribeiro et al. (2009) relataram a expressão gênica dos genes *HSPA6* e *HSF1* em fêmeas Nelore, Senepol x Nelore e Nelore x Angus durante um teste de tolerância ao calor. O gene *HSF1* apresentou maior resposta ao estresse térmico

imposto, enquanto o gene *HSPA6* apresentou apenas uma tendência de expressão no período a tarde.

2.7 Marcadores Moleculares

Entende-se por marcadores moleculares toda e qualquer característica herdável presente no DNA e que diferencia um indivíduo do outro. Essas “marcas” são alterações na sequência de nucleotídeos de uma molécula de DNA denominados de polimorfismo (SOLOMON, 1991).

A principal aplicação dos marcadores moleculares em programas de melhoramento genético animal tem sido em análises de paternidade que fornecem informações exatas de pedigree, no diagnóstico de doenças monogênicas e também auxiliam na estimativa do valor genético do animal, aumentando a acurácia de predição (TIZIOTO, 2014).

Existem alguns pontos fundamentais para o uso do marcador molecular. O primeiro é que o marcador deve ser herdável e de fácil avaliação, ou seja, possuir um valor de herdabilidade próximo a um. Outro ponto importante é estar ligado ao alelo ou gene de interesse, pois assim, eles tendem a ficarem juntos na seleção e sempre que um indivíduo expressar o fenótipo do marcador, ele deverá expressar também o fenótipo do gene desejado (RAMALHO et al., 2008).

A maior vantagem da utilização de marcadores moleculares é devido à variabilidade observada em uma molécula de DNA, na qual consegue-se um número de marcadores suficientes para marcar todos os alelos ou genes de uma espécie. A desvantagem é o fato de que as técnicas laboratoriais são mais onerosas se comparada a outras técnicas (RAMALHO et al., 2008).

Existem diferentes tipos de marcadores moleculares, sendo que inicialmente estudou-se o marcador molecular conhecido como polimorfismo de

comprimento de fragmentos de restrição, o RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) em suínos e bovinos. Em seguida, nos anos 90, identificaram tipos de marcadores como os microssatélites em suínos, bovinos e equinos. Após avanços tecnológicos, surgiram metodologias de alto desempenho e de baixo custo para a prospecção de marcadores moleculares do tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (CHARDON et al., 1985).

2.7.1 SNP

A alteração de uma única base na sequência de DNA constitui um marcador molecular tipo SNP. Os SNPs são variações abundantes no genoma, presentes em indivíduos de uma mesma espécie ou de espécies próximas (JORDAN et al., 2002).

Para ser considerado um SNP propriamente dito, a frequência do alelo menos frequente deve ser igual ou superior a 1% na população em estudo, caso contrário pode ser considerado uma mutação ao acaso (VENERONI, 2010).

De acordo com Vignal (2002), a origem dos SNPs está nas mutações do tipo: deleção, adição ou substituição de nucleotídeos. Eles podem ocorrer em regiões codificadoras, mas na maioria das vezes são encontrados em espaços intergênicos, sem função determinada.

Os SNPs apresentam baixo conteúdo de polimorfismo por loco pois, são usualmente bialélicos, ou seja, possuem duas variantes em uma espécie. Como são abundantes no genoma, oferecem facilidade de automação sendo utilizados em estudos de frequência alélica e de desequilíbrio de ligação, estudos de associação com genes candidatos, detecção de QTLs (*Quantitative trait locus*) e mais recentemente tornaram-se marcadores eficazes para os estudos de associação ampla do genoma (GWAS - *Genome Association Study*) através da utilização de

chips de genotipagem de alta densidade(SCHOTTERE, 2004; GEORGES, 2007; ELZO et al. 2012).

Em animais de produção, os estudos de GWAS possuem muitas aplicações como: detecção de QTLs, determinação de redes gênicas e seleção genômica (FORTES et al., 2012). A seleção genômica utiliza-se de grande número de marcadores genéticos do tipo SNPs, cobrindo todo genoma para prever com maior acurácia o valor genético do animal (GODDARD e HAYES, 2007).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. M. **Suplementação com farelo de soja ou grão de soja para novilhas de corte semi precoces em pastejo**. 2013. 54 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.

ALMEIDA, G. L. P. **Climatização na pré-ordenha de vacas da raça Girolando e seus efeitos na produção e qualidade do leite e no comportamento animal**. 2009. 158 p. Dissertação (Mestre em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

ALENCAR, M. M. Perspectivas para o melhoramento genético de bovinos de corte no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE MELHORAMENTO ANIMAL, REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. 1 CD ROM.

AMERICAN ANGUS ASSOCIATION. Disponível em: <<http://www.angus.org/>>. Acesso em: 3 maio 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/41_exportacao_ano.asp/>. Acesso em: 25 mar. 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/home/>>. Acesso em: 3 maio 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBU. **Manual da PGP da ABCZ: Minhas Gerais**. Disponível em: <<http://www.pmgz.com.br/?pgpManual>>. Acesso em: 28 ago. 2014.

ATHANASSOF, N. **Manual do criador de bovinos**. 2. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1957. 818 p.

AZEVEDO, A. M. M. R.; ALVES, A. A. **Bioclimatologia aplicada à produção de bovinos de leite nos trópicos**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009. 83 p. (Comunicado Técnico, 188).

BACCARI JÚNIOR, R. F. **Manejo ambiental da vaca de leite em climas quentes**. Londrina: UEL, 2001. 142 p.

BARBOSA, P. F. Cruzamentos para produção de carne bovina no Brasil. In: FUNDAMENTOS DA EXPLORAÇÃO RACIONAL, 1., 1990, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p. 459-511.

BASIRICÒ, L. et al. Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows. **Cell Stress and Chaperone**, Davis, v. 16, n. 4, p. 441–448, 2011.

BENAVIDES, L. E. E. **Indicadores fisiológicos de estresse e expressão do gene hsp70 em juvenis do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após implante de cortisol**. 2013. 50 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2013.

BIANCHINI, W. et al. Desempenho produtivo de bovinos jovens Nelore, Simental e seus mestiços. **Pubvet**, Londrina, v. 1, n. 10, 2007. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=251>. Acesso em: 31dez. 2015.

BROOM, D. M.; JOHNSON, K. G. **Stress and animal welfare**. Londres: Lower, 1993.

CARVALHO, T. K. F. **Suplementação com gordura protegida sobre os parâmetros fisiológicos de vacas da raça Girolando**. 2011. 18 p. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2011.

CASTANHEIRA, M. **Análise multivariada de características que influenciam a tolerância ao calor em equinos e ovinos**. 2009. 107 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

CASTRO, S. V. et al. Proteínas de choque térmico Hsp 70: Estrutura e atuação em resposta ao estresse celular. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v. 7, n. 4, p. 261-271, 2013.

CHARDON, P. et al. Restriction fragment length polymorphism of the major histocompatibility complex of the pig. **Immunogenetics**, Heidelberg, v. 21, p. 161-171, 1985.

CHAROENSOOK, R. et al. Polymorphisms in the bovine HSP90AB1 gene are associated with heat tolerance in Thai indigenous cattle. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburg, n. 44 p. 921–928, 2012.

CONSELHO NACIONAL DE PECUÁRIA DE CORTE. Disponível em: <<http://www.cnpc.org.br/>>. Acesso em: 1 abr. 2014.

CRUZ, L. V. Efeito do estresse térmico na produção leiteira: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica da Medicina Veterinária**, Garça, v. 9, n. 16, 2011. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/3Kbw8tpmIaJpspv_2013-6-26-10-55-41.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2014.

CUNDIFF, L. V. (Ed.). Beef cattle: breeds and genetics. In: **ENCYCLOPEDIA of Animal Science**. New York: M. Dekker, 2003. p. 781-783.

DANGI, S. S. et al. Expression profile of HSP genes during different seasons in goats (*Capra hircus*). **Tropical Animal Health and Production**, Edinburg, v. 8, n. 44, p. 8-13, 2012.

DASTOOR, Z.; DREYER, J. L. Nuclear translocation and aggregate formation of heat shock cognate protein 70 (Hsc70) in oxidative stress and apoptosis. **Journal of Cell Science**, London, n. 113, v. 16, p. 2845-2854, 2000.

EGITO, A. A. **Diversidade Genética, ancestralidade individual, miscigenação nas raças bovinas do Brasil com base em microssatélites e haplótipos de DNA mitocondrial**: subsídios para a conservação. 2007. 246 p. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

ELLIS, R. J.; HARTL, F. U. Protein folding in the cell: competing models for chaperonin function. **The FASEB Journal**, Bethesda, n.10, p. 6-20, 1996.

ELLIS, R. J. Proteins as molecular chaperones. **Nature**, London, n. 328, p. 9-378, 1987.

ELZO, M. A.; LAMB, G. C.; JOHNSON, D. D. Genomic-polygenic evaluation of Angus- Brahman multibreed cattle for feed efficiency and postweaning growth using the Illumina 3k chip. **Journal of Animal Science**, Champaign, n. 90, p. 2488-2497, 2012.

EUCLIDES FILHO, K.; FIGUEIREDO, G. R. Retrospectiva e perspectivas de cruzamentos no Brasil. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE CRUZAMENTO**

DE BOVINOS DE CORTE, 1., 2003, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2003. 1 CD ROM.

FALCON, J. E. **Bioclimatologia animal**. Lavras: UFLA, 1997. p. 59.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION / WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rome, 2006. 449 p.

FORTES, M. R. S.; SNELLING, W. M.; REVERTER, A. Gene network analyses of first service conception in Brangus heifers: use of genome and trait associations; hypo-thalamic-transcriptome information; and transcription factors. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 2894-2906, 2012.

GEORGES, M. Mapping; fine mapping, and molecular dissection of quantitative trait loci in domestic animals. **Rev. Genomics Hum. Genetic**, n. 8, p. 131-162, 2007.

GLESSLER, S. L.; BERGMAM, J. A. G.; GLESSLER, M. G. M. Dicotomia da seleção natural versus seleção artificial no melhoramento da fertilidade de bovinos. **Caderno técnico de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 45, p. 1-18, 2004.

GODDARD, M. E.; HAYES, B. J. Genomic selection. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, n. 124, p. 323-330, 2007.

GRACIANO, D. E. **Aplicações da termografia infravermelha na produção animal**. 2013. 52 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

GRAIG, E. A. The heat shock response. **Critical Reviews in Biochemistry**, Boca Raton, v. 18, n. 3, p. 239-280, 1985.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress Animal Reproduction. **Animal Science**, Penicuik, v. 82/83, p. 349-360, 2004.

HOFFMANN, A. et al. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período seco. **Revista Nativa**, Sinop, v. 2, n. 2, p. 119-130, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 25 mar. 2014.

JÄÄTTELÄ, M.; WISSING, D. Emerging role of heat shock proteins in biology and medicine. **Annals of Medicine, Helsinki**, n. 24, p. 58-249, 1992.

JORDAN, B. et al. Genome complexity reduction for SNP genotyping analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, Washington, v. 99, n. 5, p. 2942-2947, 2002.

KIANG, J. G.; TSOKOS, G. C. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. **Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 80, n. 2, p. 183-201, 1998.

LI, Q. et al. Novel SNPs in HSP70A1A gene and the association of polymorphisms with thermo tolerance traits and tissue specific expression in Chinese Holstein cattle. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, n. 38, p. 2657-2663, 2011.

LINDQUIST, S.; GRAIG, E. A. The heat-shock proteins. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, n. 22, p. 631-677, 1988.

MARTELLO, L. S. et al. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em lactação submetidas a diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, n. 33, p. 181-191, 2004.

MAZZA, M. C. M. **Entobiologia e conservação do bovino Pantaneiro**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP, 1994. 61 p.

McDOWELL, R. R. **Bases biológicas de la producción animal em zonas tropicalis**. Acribia: Zaragoza, 1974. p. 69.

MEDEIROS, L. F. D.; VIEIRA, D. H. **Bioclimatologia animal**. Rio de Janeiro: Ministério da Educação e Cultura, 1997.

MEYER, T. N.; SILVA, A. L. Resposta celular ao estresse. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 8-181, 1999.

MINOWADA, G.; WELCH, W. I. Clinical implications of the stress response. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 95, p. 3-12, 1995.

MORAES, J. B. **Termorregulação e adaptabilidade ao clima em caprinos no semiárido piauiense**. 2010. 37 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Piauí, Teresina, 2010.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Disponível em: <<http://www.onu.org.br/>>. Acesso em: 25 mar. 2014.

PEETERMANS, W. E. Heat shock proteins in medicine. **Acta Clinica Belgica**, Brussels, n. 50, p. 6-131, 1995.

PIRES, M. F. A.; CAMPOS, A. T. **Conforto animal para maior produção de leite**. Viçosa, MG: CTP, 2008. 255 p.

PRIMO, A. T. The discovery of Brazil and the introduction of domestic animals. In: GLOBAL CONFERENCE ON CONSERVATION OF DOMESTIC ANIMAL GENETIC RESOURCE, 5., 1993, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1993. 1 CD ROM.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. Lavras: UFLA, 2008. 464 p.

REGITANO, L. C. A.; MARTINEZ, M. L.; MACHADO, M. A. Molecular aspects of bovine tropical adaptation. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: WCGALP, 2006. 1 CD ROM.

RIBEIRO, A. R. B. et al. Termorregulação de novilhas Nelore, Senepol x Nelore e Angus x Nelore submetidas a teste de tolerância ao calor na região Sudeste do Brasil. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.

ROBERTO, J. V. B. **Efeito do ambiente térmico e uso de termografia de infravermelho em caprinos Saanen e seus mestiços com Boer no semiárido brasileiro**. 2012. 90 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2012.

SCHOTTERER, C. Opinion: the evolution of molecular markers just a matter of fashion. **Nature**, London, v. 5, p. 63-69, 2004.

SILVA FILHO, F. P. **Adaptabilidade ao calor e índices ambientais para vacas da raça Holandesa no semiárido**. 2013. 87 p. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVA, J. C. P. M. **Bem estar do gado leiteiro**: a importância do conforto térmico para o alto desempenho do gado. Porto Alegre: Aprenda Fácil, 2012. 125 p.

SILVA, R. G. **Biofísica ambiental. os animais e seu ambiente**. Jaboticabal: Funep, 2008. 393 p.

SILVA, R. G. Estimativa do balanço térmico por radiação em vacas Holandesas expostas ao sol e à sombra em ambiente tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 28, p. 1403-1411, 1999.

SILVA, R. G. **Introdução a bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000. 286 p.

SILVA, T. P. D.; SOUZA, J. S. C. Produção de leite de vacas submetidas a diferentes períodos de exposição à radiação solar no sul de Piauí. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 6, n. 21, p. 320-325, 2013.

SOLOMON, J. M. Changes in HSP70 alter thermotolerance and heat-shock regulation in *Drosophila*. **The New Biologist**, Philadelphia, v. 3, n. 11, p. 1106-1120, 1991.

SOUZA, B. B.; BATISTA, N. L. Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 8, n. 3, p. 6-10, 2013.

SOUZA, J. M. D. **Características de adaptabilidade em bovinos de corte**. Campo Grande: [s. n.], 2009.

TISSIERE, A.; MITCHELL H. K.; TRANCY, U. Protein synthesis in salivary blands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosomal puffs. **Journal of Molecular Biology**, Amsterdam, n. 84, v.3, p. 389-398, 1974.

TIZIOTO, P. C. **Identificação de regiões genômicas e genes candidatos associados com qualidade de carne e conteúdo de minerais no músculo em bovinos da raça Nelore**. 2014. 25 p. Tese (Doutorado em Genética Evolutiva e Biologia Molecular) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

TURNER, J. W. Genetic and biological aspects of zebu adaptability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, p. 1201-1205, 1980.

VENERONI, G. B. **Associação de SNPs em genes candidatos e de regiões cromossômicas com espessura de gordura subcutânea em bovinos de raça Canchim**. 2010. 140 p. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

VIGNAL, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their user in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, Local, v. 34, p. 275-305, 2002.

WANG, Z. et al. Novel SNPs in the ATP1B2 gene and their associations with milk yield, milk composition and heat-resistance traits in Chinese Holstein cows. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, n. 38, p. 1749-1755, 2011.

WINTER, A.; ALZINGER, A.; RUEDI, F. Assessment of the gene content of the chromosomal regions flanking bovine DGAT1. **Genomics**, San Diego, v. 83, p. 172-180, 2007.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 – Características relacionadas a adaptação de bovinos taurinos

RESUMO

A pecuária brasileira tem vivenciado o aumento da introdução de raças taurinas adaptadas e não adaptadas ao clima tropical, bem como o uso do cruzamento industrial visando à melhoria da produtividade, da qualidade do produto e da eficiência dos sistemas de produção. Todavia, pouco se sabe sobre a adaptabilidade destes grupos genéticos às condições climáticas brasileiras. Assim sendo, os objetivos neste trabalho foram estudar características relacionadas à adaptabilidade de bovinos das raças Angus e Simental às condições climáticas tropicais, através de avaliações de parâmetros morfológicos e fisiológicos, assim como analisar a diferença de adaptação entre e dentro de cada grupo genético. O projeto foi executado na Fazenda Santa Éster, do grupo Casa Branca Agropastoril Ltda., em Silvianópolis, MG, onde utilizou-se 73 machos dos dois grupos genéticos com média de 15 meses de idade. Foram coletadas características morfológicas como comprimento do pelo (CP,cm), número de pelos (NP,pelo/cm²), espessura do pelame (EP, mm) durante os meses de julho (inverno) e novembro (primavera) de 2012. Algumas medidas fisiológicas também foram obtidas durante os meses de agosto a novembro nos períodos da manhã e da tarde, como frequência respiratória (FR, mov/min) e temperatura do pelame (TP, °C), assim como o índice de temperatura e umidade (THI). Para as análises de variância utilizou-se o método dos quadrados mínimos. Foi encontrado efeito significativo de raça e da interação raça x estação para as características EP e CP. Também houve efeito significativo da estação em todas as variáveis estudadas e diferença de animais dentro de raça foi observado no CP. Os animais da raça Angus apresentaram maior EP e CP do que animais da raça Simental. Na estação de inverno, todas as características morfológicas foram maiores, independentes de raça. Na interação, observou-se que na primavera as características de EP e CP não diferiram de acordo com a raça. Os THI calculados indicaram que os animais estavam sob conforto térmico. Observou-se efeito de raça, hora e dia para as características fisiológicas FR e TP. A raça Angus apresentou maior média para FR e, em geral, todas as médias foram superiores no período da tarde. Portanto, o comportamento das raças é semelhante na estação mais quente, de primavera. Os períodos das tardes se mostram mais estressantes que os períodos das manhãs aos animais, mesmo estes estando em conforto térmico. A estação do ano interfere nas características morfológicas de bovinos das raças Angus e Simental criados em clima subtropical.

Palavras-chave: Angus. Termorregulação. Pelame. Simental.

ABSTRACT

There has been increasing introduction of taurine breeds adapted and non-adapted to tropical climate in Brazilian cattle raising, as well as the use of industrial crossbreeding to improve productivity, product quality, and efficiency of production systems. However, little is known regarding the adaptability of these genetic groups to Brazilian climate conditions. Thus, the aims of this study were to examine characteristics related to the adaptability of Angus and Simmental cattle breeds to tropical climate conditions through evaluations of morphological and physiological parameters, as well as analyze differences in adaptation between and within each genetic group. The project was carried out on the Fazenda Santa Éster (Santa Ester Farm) of the Casa Branca Agropastoril Ltda. group in Silvianópolis, MG, with the use of 73 bulls of the two genetic groups, with an average age of 15 months. Morphological characteristics such as hair length (HL, cm), number of hairs (NH, hairs/cm²), and hair coat thickness (HC, mm) were collected in July (winter) and November (spring) of 2012. Some physiological measurements were also obtained during August and November in the morning and in the afternoon, such as respiratory rate (RR, breaths/min) and coat temperature (CT, °C), as well as the temperature and humidity index (THI). The least square method was used for analyses of variance. A significant effect of breed and of the breed x season interaction was found for the HC and HL characteristics. There was also a significant effect of the season on all the variables studied and differences of animals within the breed was observed in HL. Angus animals showed higher HC and HL than Simmental animals. In the winter, all the morphological characteristics were greater, regardless of breed. In the interaction, it was observed that in the spring, the HC and HL characteristics did not differ according to breed. The THI calculated indicated that the animals were under thermal comfort. The effect of breed, time, and day was observed for the physiological characteristics RR and CT. Angus showed a higher mean value for RR and, in general, all the mean values were higher in the afternoon. Therefore, behavior of the breeds is similar in the hotter season, spring. The afternoon period proved to be more stressful than the morning period for the animals, even though they were in thermal comfort. The season of the year interferes in the morphological characteristics of Angus and Simmental breed cattle raised in a subtropical climate.

Keywords: Angus. Thermoregulation. Simmental.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil tem sido um dos maiores produtores e exportadores mundiais de carne bovina. Porém, esse resultado relaciona-se mais com o tamanho do rebanho comercial do que com sua produtividade. Para aumentar a produção, muitos produtores optam por adquirir animais geneticamente superiores que em alguns casos são de origem de regiões de clima temperado. Contudo, a mudança para o clima tropical ou subtropical pode levar à queda dos índices produtivos desses animais.

Dois terços do território brasileiro está situado na faixa tropical do planeta, onde eventos climáticos, como altas temperaturas e elevada radiação solar afetam animais menos tolerantes ao calor. O estresse térmico é um dos fatores mais preocupantes na criação zootécnica, pois pode causar queda produtiva no rebanho, uma vez que a energia destinada para produção é desviada para a ação dos mecanismos da termorregulação.

Os bovinos são animais homeotérmicos e em geral adaptáveis a diversas condições ambientais. De acordo com Silva (2000), a adaptação pode ser definida como a associação entre características anatômicas, morfológicas, bioquímicas, fisiológicas, genéticas e comportamentais visando à sobrevivência do animal a um determinado ambiente. Portanto, o nível de adaptação de um animal pode variar dependente de sua idade, raça, estágio e nível produtivo.

As mudanças nas condições térmicas dos animais e o nível de adaptabilidade entre eles podem ser analisadas por diversos meios, entre eles a avaliação de respostas fisiológicas como a frequência respiratória e temperatura do pelame, bem como avaliação de características do pelame como espessura, comprimento e número de pelos.

A utilização de raças melhoradas ou adaptadas (puras ou cruzadas), ou a seleção entre e dentro de raças para características de adaptabilidade, constituem os mecanismos pelos quais se pode melhorar geneticamente a adaptação dos rebanhos ao ambiente tropical (CONCEIÇÃO JUNIOR, 1996).

Desta maneira, os objetivos neste trabalho foram estudar características relacionadas à adaptabilidade de bovinos das raças Angus e Simental às condições climáticas subtropicais nos períodos de julho a novembro de 2012, através de avaliações de parâmetros morfológicos e fisiológicos assim como, analisar a diferença de adaptação dentro e entre grupo genético.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Animais

Os animais utilizados neste trabalho foram provenientes da Fazenda Santa Éster, de propriedade da Casa Branca Agropastoril Ltda., localizada no município de Silvianópolis – MG, de latitude 22° 01' 46" S, longitude 45° 50' 06" W, altitude 897 metros e caracterizado por um clima subtropical úmido com temperatura média anual de 19,9 °C.

Utilizou-se 73 machos reprodutores da raça bovina Angus (n = 30) e da raça Simental, linhagem sul-africana (n = 43). Dentre os animais da raça Angus, somente três apresentavam pelagem vermelha (Red Angus), já na raça Simental, todos os animais apresentavam pelagem padrão da raça, ou seja, vermelha e branca.

Todos os animais nasceram em 2011 e possuíam média de 15 meses de idade quando avaliados em sistema de confinamento de uma prova de desempenho realizada no ano de 2012. Os animais recebiam água e a

alimentação em cocho coberto. Somente os animais da raça Angus tinham acesso à sombra devido à instalação de sombrite no piquete.

A prova de desempenho teve duração de 108 dias, com um período de adaptação de 23 dias. As pesagens ocorreram a cada 28 dias de prova estando os animais em jejum hídrico e alimentar de 12 horas. Para a realização das pesagens e obtenção das medidas morfológicas e fisiológicas, os animais foram direcionados do curral de manejo 12 horas antes permanecendo também sem acesso à sombra até que iniciassem as mensurações. Os animais eram conduzidos ao tronco de contenção coberto aos poucos para permanecerem sem acesso à sombra o máximo de tempo possível.

2.2 Metodologias de Avaliação das Características Morfológicas

Uma amostra de pelo foi coletada a 20 cm da coluna vertebral, no centro do tronco de cada animal, sob auxílio de um alicate “bico de pato” adaptado com um afastador para que suas mandíbulas ficassem afastadas a uma distância de 21 mm. Para a apreensão dos pelos, o alicate foi introduzido em ângulo reto em relação à epiderme do animal e deslocado, penteando os pelos e tocando a epiderme. Em seguida, o afastador foi retirado, os pelos apreendidos e o alicate puxado firmemente.

Cada amostra de pelo coletada foi acondicionada em um saquinho plástico devidamente identificado com o número do animal sendo avaliada quanto ao número de pelos (NP) e comprimento médio dos pelos (CP), seguindo as metodologias citadas por Silva (2000).

Número de pelos (NP)

O número de pelos por unidade de área (pelos/cm²) foi obtido através da contagem do número de pelos de cada amostra, correspondente à área de 21 mm da abertura entre as mandíbulas do alicate “bico de pato” e depois transformado em cm².

Comprimento do pelo (CP)

Para determinação do comprimento médio dos pelos (mm), foi realizada a média aritmética do comprimento dos dez maiores pelos, eleitos através de uma análise visual da amostra e medidos com paquímetro digital, seguindo os procedimentos recomendados por Udo (1978).

O comprimento dos pelos é a distância entre seu extremo superior e o ponto de inserção na epiderme (BERTIPAGLIA et al., 2007).

Espessura do Pelame (EP)

A medida da espessura do pelame (mm) foi realizada na mesma região de coleta das amostras de pelos com o auxílio de uma régua metálica fina milimetrada (SILVA, 2000). Esta foi introduzida verticalmente no pelame até tocar levemente a epiderme do animal e foi mensurada da epiderme até à superfície da pelagem. A espessura do pelame é a distância perpendicular entre a epiderme e a superfície de pelos (BERTIPAGLIA et al., 2007).

As medidas de número de pelos (NP), comprimento do pelo (CP) e espessura do pelame (EP) foram coletadas nos meses de julho e novembro, sendo considerada estação de inverno e primavera, respectivamente. Esse período foi compreendido pelo início e final da prova de desempenho.

2.3 Metodologias de Avaliação das Características Fisiológicas

Temperatura do pelame (TP)

As medidas de temperatura do pelame (°C) foram realizadas utilizando-se um termômetro infravermelho digital. Essa medida foi realizada na região próxima ao local de amostragem dos pelos.

Frequência respiratória (FR)

A avaliação da frequência respiratória foi realizada contando-se por duas vezes o número de movimentos respiratórios na região do flanco, em um período de 15 segundos e multiplicando-se a média desses valores por quatro, para a obtenção do número de movimentos respiratórios/minuto (SILVA, 2000).

As coletas das TP e FR foram realizadas a cada 28 dias, ou seja, uma vez ao mês, por quatro meses consecutivos, de agosto a novembro. A cada dia do mês de coleta as medidas foram realizadas nos horários das 7h da manhã e às 13 horas da tarde.

2.4 Índice de Temperatura e Umidade (THI)

O THI foi calculado a partir do modelo definido por Thom (1959):

$$\text{THI} = 0,8 * \text{TA} + \text{UR} * [(\text{TA} - 14,3) + 46,3]$$

onde:

TA= temperatura do ar (°C) e UR = umidade relativa do ar (%).

As medidas de TA e UR foram coletadas às 7h da manhã e 13h da tarde nos meses de agosto a novembro simultaneamente com as demais medidas, com o auxílio de um termohigômetro.

De acordo com a classificação do *U.S.Livestock Weather Safety Index* (LCI,1970), os valores de THI até 74 são considerados de conforto térmico, entre 74 e 79 de alerta, entre 79 e 84 de perigo e valores maiores que 84 de emergência.

2.5 Análises estatísticas das características morfológicas

Para realizar o estudo das características morfológicas, as medidas coletadas foram analisadas por meio de análises de variância realizadas pelo método dos quadrados mínimos.

Utilizou-se o procedimento GLM do SAS (SAS, 2010) considerando um modelo misto com efeitos fixos de raça (Angus e Simental), estação (inverno e primavera) e interação raça x estação e efeito aleatório de animal dentro de raça.

2.6 Análises estatísticas das características fisiológicas

Inicialmente foi realizada uma análise exploratória dos dados coletados durante a prova de desempenho, com o objetivo de conhecer a variabilidade desses dados podendo detectar a existência ou não de dados *outliers*.

A detecção de *outliers* foi realizada segundo metodologia descrita por Freitas et al. (2008) na qual realizou-se uma avaliação por grupo genético (Angus e Simental) e por medida (frequência respiratória e temperatura do pelame).

Após a análise exploratória dos dados e retiradas dos *outliers*, os efeitos de tratamento foram analisados por meio do procedimento MIXED do SAS (SAS,

2010), considerando um modelo que incluiu os efeitos de raça (Angus e Simental), hora (7h e 13h), dia (dia 1 = julho ao dia 5 = em novembro) interação raça x hora e idade como covariável. Os modelos estatísticos, na forma matricial foram:

$$\underset{\sim}{y} = X \underset{\sim}{\beta} + Z \underset{\sim}{a} + \underset{\sim}{e}$$

Em que:

$\underset{\sim}{y}$ é o vetor das variáveis dependentes; X é a matriz de incidência dos efeitos fixos; $\underset{\sim}{\beta}$ é um vetor contendo a média geral (μ) e todos os efeitos fixos; Z é a matriz de incidência dos efeitos aleatórios; $\underset{\sim}{a}$ é o vetor dos efeitos aleatórios; $\underset{\sim}{e}$ é o vetor dos erros aleatórios associados a cada observação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 estão as estatísticas descritivas das características de espessura do pelame (EP), número de pelo (NP) e comprimento do pelo (CP) das raças Angus e Simental coletadas nas estações de inverno (julho) e primavera (novembro).

Pode-se observar que as médias de todas as características na estação de inverno foram superiores às médias na estação de verão, tanto em animais da raça Angus (Tabela 1) quanto em animais da raça Simental (Tabela 2). Esse fato relaciona-se com o processo de muda do pelo, realizada pelo animal para que possa se adaptar à nova condição climática.

Os valores de máximo e mínimo (Tabela 1 e 2) obtidos podem indicar a variabilidade entre os animais dentro da mesma raça, principalmente para as características de EP e CP que possuíram os maiores valores de CV.

Tabela 1 Estatísticas descritivas das características espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento de pelo (CP), nas estações de inverno e primavera de bovinos da raça Angus criados em clima subtropical.

Característica	Inverno					
	N	Média	DP	CV(%)	Mínimo	Máximo
EP(mm)	30	2,99	1,21	40,55	0,80	5,50
NP(cm²)	30	1320,00	613,36	46,47	380,95	3200,00
CP(mm)	30	37,0	10,8	29,34	19,6	56,1
	Primavera					
EP(mm)	29	0,83	0,43	52,65	0,30	1,80
NP(cm²)	30	651,11	418,12	64,22	176,19	1842,86
CP(mm)	30	15,5	6,3	40,99	7,6	34,4

N = número de animais com a medida; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

Os animais da raça Angus possuíram as maiores médias para quase todas as características durante as duas estações, se comparados às médias da raça Simental também nas duas estações (Tabela 1 e 2). Exceto a média do NP na estação de primavera (Tabela 1) foi inferior à média de NP na mesma estação em animais da raça Simental (Tabela 2). Esses valores podem indicar a diferença de adaptabilidade ao calor entre essas duas raças.

Tabela 2 Estatísticas descritivas das características espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento de pelo (CP), nas estações de inverno e primavera de bovinos da raça Simental criados em clima subtropical.

Característica	Inverno					
	N	Média	DP	CV(%)	Mínimo	Máximo
EP(mm)	43	1,86	1,06	57,05	0,30	4,20
cm²	43	1158,47	448,26	38,69	504,76	2357,14
CP(mm)	43	27,7	7,7	27,87	15,4	52,1
	Primavera					
EP(mm)	43	0,59	0,27	45,84	0,30	2,00
NP(cm²)	43	783,61	239,85	30,61	276,19	1266,62
CP(mm)	43	13,1	3,9	29,64	8,2	28,2

N = número de animais com a medida; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

As médias da EP e NP na estação de primavera das raças Angus e Simental (Tabela 1 e 2) foram inferiores aos encontrados por Maia et al. (2003) que trabalharam com bovinos da raça Holandesa na região de Descalvado - SP no

período do verão. Essa diferença pode ser devida tanto a fatores genéticos entre as raças quanto às diferenças climáticas entre as duas regiões.

Todas as médias de EP e CP foram superiores às médias observadas por Cardoso (2011) ao estudar bovinos meio sangue Angus, com idades semelhantes e de mesmo período de coleta que os dados do presente estudo. Esse resultado demonstra a superioridade dos animais mestiços em relação aos puros, estudados nesse trabalho, provavelmente pela contribuição da heterose e da complementariedade entre as raças.

Shiota (2013), trabalhando com bovinos Nelore, com idade entre 12 a 18 meses, na região de Uberaba – MG, nos períodos de verão e inverno, observou valores muito inferiores às médias de NP e CP deste trabalho para ambas as raças, confirmando a maior adaptabilidade de bovinos zebuínos em relação aos taurinos.

Valores inferiores também foram encontrados por Nicolau et al. (2004) em bovinos da raça Caracu, com NP de 168,67 no inverno e no verão de 145,47 pelos/cm² e CP de 11,77 e 8,08 mm, no inverno e verão, respectivamente. Com esses resultados, os animais desse trabalho podem ser menos adaptados se comparados aos animais dessa raça estudada por esses autores. Segundo Andrade (2001), a raça Caracu é a raça taurina mais adaptada às condições tropicais brasileiras, confirmando, portanto, os resultados obtidos.

Para verificar os efeitos dos meios sobre as características relacionadas a adaptabilidade dos animais, foram realizadas análises de variância. Somente as características EP e CP foram influenciadas pela raça e pela interação raça x estação ($P < 0,01$). O efeito de estação foi significativo para todas as variáveis estudadas ($P < 0,01$). Houve diferença entre os animais dentro de raça apenas para o CP a nível de 5% de significância (Tabela 3). Esses resultados são melhores compreendidos a partir da observação das médias estimadas na Tabela 4.

Ribeiro et al. (2008) também encontraram efeito de raça sobre as características de CP e EP, efeito de estação do ano sobre EP, NP e CP e efeito de animal dentro de raça para a características de CP em novilhas Nelore, Angus x Nelore e Senepol x Nelore na região sudeste do Brasil. Isso demonstra que a composição genética dos animais e a estação do ano são variáveis importantes quando se observa a adaptabilidade dos animais ao ambiente tropical. Dessa forma é importante avaliar nas populações essas características para poder identificar animais superiores.

Tabela 3 Resumo das análises de variância das características de espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento de pelo (CP) de animais das raças Angus e Simental criados em clima subtropical.

Fonte de variação	Quadrados médios			
	GL	EP(mm)	NP(cm ²)	CP(mm)
Raça	1	17,99**	7445,71	12,07**
Estação	1	98,54**	9625653,31**	115,63**
Animal (raça)	71	0,81	176629,58	0,69*
Raça x estação	1	5,89**	763857,27	4,18**
Resíduo	70	0,58	201341,08	28,40
CV (%)		50,62	45,93	27,74
R²(%)		0,81	0,61	0,86

*P<0,05; **P<0,01; GL = grau de liberdade; CV = coeficiente de variação; R² = coeficiente de determinação.

Efeito de estação do ano sobre características de CP e EP também foi observado por Pinheiro (2012), ao estudar bovinos da raça Holandesa em Ribeirão Preto – SP, comprovando novamente, a ocorrência de alterações nas características do pelame do animal, de acordo com a estação do ano.

Na Tabela 4 pode-se observar que animais da raça Angus apresentaram maiores espessura de pelame e comprimento de pelo do que animais da raça Simental. Já a média de número de pelos não diferiu entre as duas raças.

De acordo Silva (2000), o pelame é um dos meios de proteção térmica do animal, sendo uma barreira ao fluxo de calor através da sua estrutura física, tipo de fibra e principalmente pelo aprisionamento de ar entre os pelos. Em climas quentes, pelames menos espessos e menos densos são interessantes para facilitar a troca de calor com o ambiente, favorecendo a perda de calor por convecção. Maia et al., (2003), comentam que o CP menor facilita tanto a termólise convectiva como a evaporativa na superfície cutânea do animal.

Essas diferenças das características do pelame entre as raças, bem como entre animais dentro de raça podem ser devidas às diferenças genéticas relacionadas à adaptabilidade desses animais quanto ao clima subtropical (Tabela 4). De acordo com Prayaga (2003), as diferenças genéticas que envolvem a tolerância ao calor são relacionadas a atributos termorregulatórios tal como o tipo de pelagem, incluindo suas formas e pigmentações.

Independente da raça, no inverno, os pelos foram mais longos, o pelame mais espesso e com maior número de pelos (Tabela 4). Esses dados são semelhantes aos dados relatados por Ribeiro et al. (2008) para características de EP, CP e NP e por Nicolau et al. (2004) para EP e CP em animais da raça Shorthorn.

Segundo Nicolau et al. (2004), as características morfológicas da pelagem variam de acordo com a estação do ano. Nos meses mais frios do ano os animais

apresentam pelagem mais espessa e pelos mais longos, enquanto que nos meses mais quentes os pelos se tornam menos espessos e mais curtos, devido a mudança de temperatura.

Silva (2000) também comenta que a variação no comprimento do pelo entre as estações podem ser devido ao processo de muda de pelame do inverno para o verão. Essa muda ocorre geralmente no final da primavera.

Tabela 4 Estimativa das médias das características de espessura do pelame (EP), número de pelos (NP) e comprimento do pelo (CP) de acordo com a raça (AN e SI), estação do ano e da interação raça e estação (I = Inverno e P= primavera).

Raça	Estação	EP(mm)	NP(cm²)	CP(mm)
AN	I	2,99 ^a	1320,00	37,0 ^a
	P	0,89 ^b	651,11	15,5 ^b
SI	I	1,86 ^c	1158,47	27,7 ^c
	P	0,58 ^b	783,61	13,1 ^b
AN		1,94 ^a	985,55 ^a	26,2 ^a
SI		1,22 ^b	971,04 ^a	20,4 ^b
	I	2,43 ^a	1239,23 ^a	32,4 ^a
	P	0,74 ^b	717,36 ^b	14,3 ^b

^{a,b,c,d} Médias com letras distintas nas colunas diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05); AN = Angus; SI = Simental.

Os resultados, nesse trabalho, indicam que houve esse processo de adequação do pelame às condições climáticas de cada estação (Tabela 4) e o importante é avaliar quais animais conseguem adequar seu pelame de maneira

mais eficiente, de acordo com a estação do ano, não prejudicando seu desempenho ou minimizando as perdas no desempenho.

Apesar do efeito da interação raça x estação para as características de EP e CP, observa-se que na estação de primavera, onde supostamente poderia haver o estresse do calor sobre esses animais, as raças não diferiram. Esse fato demonstra que essas duas raças podem estar em um nível semelhante de adaptação ao clima subtropical.

Nas Tabelas 5 e 6 estão apresentadas as estatísticas descritivas das medidas de frequência respiratória da manhã (FRM), frequência respiratória da tarde (FRT), temperatura do pelame de manhã (TPM) e temperatura do pelame da tarde (TPT) das raças Angus e Simental coletadas nos meses de agosto a novembro.

Em geral, pode-se observar que para ambas as raças os valores de FRM e TPM são inferiores aos valores de FRT e TPT (Tabelas 5 e 6). Esse fato se deve ao aumento da temperatura do ambiente do período da manhã para o período da tarde (Tabela 7).

Apesar do aumento da temperatura, a umidade relativa do ar diminuiu do período da manhã para o período da tarde (Tabelas 5 e 6). Essa combinação é importante para os animais, pois facilita a perda de calor corporal por processos evaporativos. Essa combinação também explica os THI que permaneceram dentro da faixa de conforto térmico em animais bovinos (Tabela 7).

De acordo com Silva (2000), é de fundamental importância considerar a carga térmica radiante sobre os animais criados em clima tropical. A temperatura e umidade do ar podem afetar a produção dos bovinos, sendo que quanto mais elevadas, menor é a ingestão de alimento pelo animal o que diminui a produção de carne e de leite, bem como prejudica a conversão alimentar (MORRISON, 1983). Quando a umidade relativa do ar estiver alta, as perdas de calor na forma

de evaporação são prejudicadas, sendo que o animal não consegue perder calor através da epiderme de forma eficiente por já existir no ar certa quantidade de água na forma gasosa. Esses fatores podem ocasionar um elevado estresse calórico no animal e conseqüentemente afetar seu desempenho produtivo e reprodutivo.

Tabela 5 Estatísticas descritivas das medidas frequência respiratória da manhã, frequência respiratória da tarde, temperatura do pelame da manhã, temperatura do pelame da tarde de bovinos da raça Angus criados em clima subtropical.

Medida	Média	DP	CV (%)	Mínimo	Máximo
Agosto N= 35					
FRM	51,30	6,61	12,90	40,00	60,00
FRT	89,26	15,64	17,52	68,00	128,00
TPM	24,59	1,78	7,22	21,50	30,00
TPT	31,04	1,18	3,80	28,00	33,50
Setembro N = 35					
FRM	48,69	4,40	9,02	40,00	56,00
FRT	52,34	6,53	12,49	40,00	68,00
TPM	27,84	1,60	5,75	24,00	31,50
TPT	27,00	1,73	6,40	22,50	31,00
Outubro N = 35					
FRM	56,34	7,90	14,03	48,00	76,00
FRT	61,94	9,27	14,97	44,00	80,00
TPM	29,54	1,11	3,75	27,00	31,00
TPT	32,56	0,98	3,02	30,00	35,00
Novembro N= 35					
FRM	40,74	6,86	16,84	30,00	56,00
FRT	41,48	8,52	20,53	28,00	64,00
TPM	31,74	1,70	5,37	28,00	34,00
TPT	31,67	1,06	3,34	29,00	33,50

FRM = frequência respiratória da manhã (mov/minuto); FRT = frequência respiratória da tarde (mov/minuto); TPM = temperatura do pelame de manhã (°C); TPT = temperatura do pelame de tarde (°C); DP = desvio padrão; CV= coeficiente de variação; N = número de animais.

Tabela 6 Estatísticas descritivas das medidas frequência respiratória da manhã, frequência respiratória da tarde, temperatura do pelame da manhã, temperatura do pelame da tarde de bovinos da raça Simental criados em clima subtropical.

Medida	Média	DP	CV (%)	Mínimo	Máximo
Agosto N = 43					
FRM	52,84	5,49	10,39	40,00	64,00
FRT	62,23	5,54	8,90	48,00	72,00
TPM	27,50	1,54	5,60	24,50	30,00
TPT	31,27	1,57	5,02	28,50	35,00
Setembro N = 43					
FRM	42,98	4,28	9,97	36,00	56,00
FRT	45,40	4,35	9,59	36,00	52,00
TPM	30,16	1,06	3,50	28,00	32,50
TPT	29,66	1,60	5,39	27,50	36,00
Outubro N = 43					
FRM	48,00	5,24	10,91	40,00	60,00
FRT	54,97	5,66	10,30	48,00	68,00
TPM	28,72	1,56	5,44	24,00	32,00
TPT	32,35	0,98	3,03	30,00	34,00
Novembro N = 43					
FRM	40,74	4,54	11,13	30,00	50,00
FRT	59,39	16,20	27,28	40,00	102,00
TPM	30,32	0,90	2,99	29,00	33,00
TPT	32,88	1,12	3,41	30,50	36,00

FRM = frequência respiratória da manhã (mov/minuto); FRT = frequência respiratória da tarde (mov/minuto); TPM = temperatura do pelame de manhã (C°); TPT = temperatura do pelame de tarde (C°); DP= desvio padrão; CV= coeficiente de variação N = número de animais.

Independentemente do mês e dos períodos manhã e tarde, os valores de THI desse experimento são considerados como de conforto térmico, de acordo com classificação do *U.S.Livestock Weather Safety Index* (LCI,1970), pois são

valores inferiores à 74 e não ocorreram valores de temperatura e umidade suficientes para provocar um desconforto térmico nos animais (Tabela 7). Apesar disso, foi observado que existe variabilidade na adaptabilidade de animais para diversas características avaliadas.

Tabela 7 Temperatura do ambiente, umidade relativa do ar, índice de temperatura e umidade (THI) nos períodos da manhã e da tarde durante os meses de agosto a novembro.

	Temperatura (°C)	Umidade Relativa (%)	THI
Agosto			
Manhã	18,4	58	43,95
Tarde	38	54	68,20
Setembro			
Manhã	20,8	74	55,71
Tarde	25,9	73	62,99
Outubro			
Manhã	23	57	49,75
Tarde	35,9	41	56,56
Novembro			
Manhã	24,20	74	58,70
Tarde	26,25	63,5	57,99

Na Tabela 8 são apresentados os valores de F e nível de significância dos efeitos de raça, hora, dia, interação raça x hora e idade para as variáveis frequência respiratória (movimentos/minuto) e temperatura do pelame (°C).

Foram encontrados efeitos de raça, hora e dia para FR e TP nas duas raças estudadas (Tabela 8). Novamente, esses resultados indicam que pode existir uma diferença genética entre as raças com relação a adaptação ao calor, que há diferença entre as medidas coletadas do período da manhã para o período da tarde devido às mudanças de temperatura nesses períodos (Tabela 7), além de haver

diferença nas características de acordo com dia/mês de coleta, provavelmente devido às diferenças de temperatura, umidade e ocorrência da mudança de estação do ano, de inverno para primavera.

Tabela 8 Valores de F e nível de significância dos efeitos de raça, hora, dia, interação raça x hora e idade para as variáveis frequência respiratória (FR) e temperatura do pelame (TP) em bovinos das raças Angus e Simental.

Efeito	GL	FR (mov/min)	GL	TP (°C)
Raça	1	16,87*	1	23,32*
Hora	1	176,10*	1	223,75*
Dia	4	61,11*	3	63,20*
Raça*Hora	1	1,31	1	0,56
Idade	1	0,01	1	0,20

*p < 0,01; GL = graus de liberdade.

Observa-se na Tabela 9 que os animais da raça Angus possuíram maior média de FR do que os animais da raça Simental, mas o mesmo não se observa para TP. Com exceção de dois animais, a maioria dos animais da raça Angus eram de pelagem e epiderme pretas, esse fato pode justificar a maior FR obtida nesses animais, os quais absorvem maior quantidade de energia térmica que os animais Simentais, de pelagem e epiderme claras.

O valor de TP obtida na raça Simental pode ser algo positivo com relação a adaptação desses animais ao calor, indicando que uma maior TP pode implicar em uma menor absorção de calor, retendo-o no pelame do animal.

De modo geral e independente da raça, as médias das FR e TP às 7 horas da manhã foram inferiores às médias no horário das 13 horas da tarde. Este último resultado assemelha-se também aos resultados obtidos por Ribeiro et al. (2009).

Tabela 9 Médias estimadas e erro padrão das características de frequência respiratória (FR) e temperatura do pelame (TP) de acordo com a raça, hora e dia da coleta em animais das raças Angus e Simental criados em clima subtropical.

RAÇA	FR (mov/min)	TP (°C)
AN	55,77 (0,78) ^a	29,48 (0,13) ^a
SI	51,07 (0,70) ^b	30,37 (0,12) ^b
HORA		
7 horas	48,13 (0,61) ^a	28,08 (0,11) ^a
13 horas	58,70 (0,70) ^b	31,05 (0,11) ^b
DIA		
Dia 1	55,04 (1,41) ^a	-----
Dia 2	63,40 (0,93) ^b	28,66 (0,17) ^a
Dia 3	47,27 (0,86) ^c	28,76 (0,15) ^b
Dia 4	55,14 (0,90) ^a	30,71 (0,16) ^c
Dia 5	46,24 (1,02) ^c	31,57 (0,17) ^d

^{a,b,c,d,e,f,g,h} médias seguidas por letras distintas diferem entre si ($P < 0,01$) pelo teste de Tukey; AN = Angus; SI = Simental; mov/min = movimentos/minuto; °C = graus Celsius.

As FR ao longo dos dias de coletas foram em geral, distintas entre si, não sendo explicadas pelas diferenças de temperatura e umidade obtidas nos mesmos dias. Já, a TP aumenta de acordo com a aproximação dos meses mais quentes do ano.

Os valores da FR da raça Simental (Tabela 9) são superiores aos 35 mov/min encontrado por Carvalho et al. (1995) em bovinos Simental nativos e, próximos aos 64,3 mov/min em bovinos Simental importados obtido pelos mesmos autores. Já as TP foram, nos meses mais quentes, semelhantes ao encontrado por Kazama et al. (2008) em animais cruzados entre RedAngus, Nelore, Guzerá, Limousin, Simental e Marchigiana nos meses de setembro a novembro.

As frequências respiratórias observadas nas duas raças, nas duas horas, e em quase todas os dias, apresentaram-se dentro do limiar fisiológico, pois são valores até 60 movimentos por minuto, que indicam animais ainda sem sinais de estresse térmico. Valores que ultrapassam 120 mov/min já refletem carga excessiva de calor e acima de 160 faz-se necessário medidas de emergência para reduzir essa carga. (BACCARI, 2001; HAHN e MADER, 1997). Martello et al. (2004) afirmam em seus estudos que o aumento da frequência respiratória é o primeiro sinal visível de animais com estresse calórico.

A temperatura do pelame é um dos principais parâmetros de avaliação de dissipação de calor realizada pelo animal (SILVA, 2000). Nesse estudo, os valores de TP, dependentes ou não da raça foram inferiores à 35 °C. Isso indica segundo Collier et al. (2006), que os bovinos, nessa condição de temperatura, ainda conseguem de modo eficaz utilizar outros mecanismos de troca de calor com o meio ambiente.

De qualquer forma, o estudo do nível de adaptação dos animais ao longo de vários meses, estudar se existe variabilidade dentro e entre raças é de grande importância para auxiliarmos os produtores na seleção e acasalamento de seus rebanhos.

4 CONCLUSÃO

O comportamento das raças é semelhante na estação mais quente, de primavera.

Os períodos das tardes se mostram mais estressantes que os períodos das manhãs para os animais, mesmo estes estando em conforto térmico.

A estação do ano interfere nas características morfológicas de bovinos das raças Angus e Simental criados em clima subtropical.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. B. F. **Análise genética da infestação de fêmea da raça Caracu por carrapato (*Boophilus microplus*) e mosca-dos-chifres (*Haematobia microplus*)**. 2001. 104 f. (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2001.
- BACCARI JÚNIOR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em clima quente**. Londrina: UEL, 2001. 142 p.
- BERTIPAGLIA, E. C. A.; SILVA, R. G.; CARDOSO, V. Hair coat characteristics and sweating rate of Braford cows in Brazil. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 112, n. 1/2, p. 99-108, 2007.
- CARDOSO, C. P. **Comparação da resistência natural a endoparasitas e ectoparasitas em bovinos das raças Crioula Lageana e Aangus**. 2011. 11 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- CARVALHO, F. A. et al. Breed affects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3570-3573, 1995.
- COLLIER, R. J.; DAHL, G. E.; VANBAALE, M. J. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1244-1253, 2006.
- CONCEIÇÃO JÚNIOR, V. Características de adaptabilidade nos cruzamentos de raças Européias x Zebu. **Caderno Técnico da UFMG**, Belo Horizonte, n. 18, p. 29-35, 1996.
- FREITAS, A. R. et al. Técnicas de análises exploratórias em dados de cultivares de alfafa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 9, p. 1532-1532, 2008.
- HAHN, G. L.; MADER, T. L. Heat waves in relation o thermoregulation, feeding behavior, and mortality of feedlot cattle. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 1., 1997, Minnesota. **Proceedings...** St. Joseph: ASAE, 1997. p. 125-129.

KAZAMA, R. et al. Orientação e sombreamento do confinamento na temperatura da superfície do pelame de bovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 211-216, 2008.

LIVESTOCK CONSERVATION INDEX. **Patterns of transit losses**. Omaha, 1970.

MAIA, S. C.; SILVA, R. G.; BERTIPAGLIA, E. C. A. Características do pelame de vacas Holandesas em ambiente tropical: um estudo genético e adaptativo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 4, p. 843-853, 2003.

MARTELLO, L. S. et al. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em lactação submetidas a diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, n. 33, p. 181-191, 2004.

MORRISON, S. R. Ruminant heat stress: effect on production and means of alleviation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 57, p. 1594-1600, 1983.

NICOLAU, C. V. J. et al. Características da pele e do pelame em bovinos d araçá Caracu. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 53, p. 25-34, 2004.

PRAYAGA, K. C. Evaluation of beef cattle genotypes and estimation of direct and maternal genetic effects in a tropical environment. 2. Adaptive and temperament traits. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 54, p. 1027-1038, 2003.

PINHEIRO, M. G.; SILVA, R. G. Estação do ano e características do pelame de vacas de raça holandesa. **Revista Boletim de Industria Animal**, Nova Odessa, v. 57, n. 2, p. 99-103, 2012.

RIBEIRO, A. R. B.; ALENCAR, M. M.; OLIVEIRA, M. C. S. Características do pelame de bovinos Nelore, Angus x Nelore e Senepol x Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: SBZ, 2008. 1 CD ROM.

RIBEIRO, A. R. B. et al. Termorregulação de novilhas Nelore, Senepol x Nelore e Angus x Nelore submetidas a teste de tolerância ao calor na região Sudeste do Brasil. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.

SHIOTA, A. M. et al. Parâmetros fisiológicos, características de pelame e gradientes térmicos em novilhas Nelore no verão e inverno em ambiente tropical. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, p. 1687-1695, 2013.

SILVA, R. G. **Introdução a bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000. 286 p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide**: version 9.3. Cary: SAS Institute, 2010.

THOM, E. C. Cooling degree: day air conditioning, heating and ventilating. **Transactions of the American Society of Heat Refrigeration and Air-Condition Engineering**, St. Joseph, v. 55, n. 7, p. 65-72, 1959.

UDO, H. M. J. **Hair coat characteristics in Friesian heifers in the Netherlands and Kenya**. Wageningen: Meded. Landbouwhogeschool Wageningen, 1978. 135 p.

ARTIGO 2 – Genes candidatos relacionados à adaptabilidade em bovinos taurinos

RESUMO

O estresse térmico induz a uma maior transcrição de proteínas do choque térmico, que agem como chaperonas celulares protegendo o organismo contra os efeitos negativos do estresse sofrido. Estudos de variações genéticas em genes candidatos associados à resposta ao choque térmico, podem proporcionar melhor avaliação genética de animais quanto à sua capacidade de produção em clima tropical. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi prospectar e caracterizar marcadores moleculares do tipo SNP nos genes candidatos *HSF1* e *HSPA6* relacionados à adaptabilidade em bovinos da raça Angus criados em clima subtropical no Brasil. O projeto foi executado na Fazenda Santa Éster, do grupo Casa Branca Agropastoril Ltda., em Silvianópolis, MG. Utilizou-se 72 machos, com média de 15 meses de idade, criados em sistema de confinamento e participantes de uma prova de desempenho realizada no ano de 2013. Amostras de sangue dos 72 animais foram coletadas para extração de DNA. Apenas 20 amostras de DNA de animais extremos, sendo 10 extremos positivos e 10 extremos negativos, para as características de adaptabilidade (frequência respiratória e temperatura do pelame) foram amplificadas nas regiões de interesse e sequenciados. Em seguida, marcadores do tipo SNPs foram prospectados e caracterizados. No gene *HSF1* foram encontrados 12 SNPs, mas nenhum deles modificam aminoácidos na proteína produzida pelo gene. Encontraram-se seis SNPs no gene *HSPA6* sendo que quatro deles modificam aminoácidos na sequência da proteína. Também foi detectado a presença de um TagSNP no gene *HSF1* com região de desequilíbrio de valor máximo de $r^2 = 0,87$ e *MAFs* (*Minor Allele Frequency*) de 0,10 a 0,50. Valores inferiores de *MAFs* foram encontrados no gene *HSPA6* entre 0,02 e 0,21. Em geral, desvios de equilíbrio de Hardy Weinberg foram observados em quase todos os SNPs dos dois genes e metade dos *loci* possuíam heterozigosidade superior a 50%. Os dados sugerem que há grande variação genética nos genes *HSF1* e *HSPA6*, o que pode contribuir para a identificação e seleção de bovinos mais termotolerantes ao clima subtropical.

Palavras-chave: Angus. Marcadores moleculares. Termorregulação.

ABSTRACT

Heat stress induces greater transcription of heat shock proteins, which act as cellular chaperones, protecting the organism from the negative effects of the stress undergone. Studies on genetic variations in candidate genes associated with response to heat shock may provide better genetic evaluation of animals in regard to their productive capacity in a tropical climate. Thus, the aim of this study was to identify and characterize SNP type molecular markers in the candidate genes *HSF1* and *HSPA6* related to adaptability in Angus cattle raised in a subtropical climate in Brazil. The project was carried out on the Fazenda Santa Éster (Santa Ester Farm) of the Casa Branca Agropastoril Ltda. group in Silvianópolis, MG. We used 72 bulls with an average age of 15 months, raised in a confinement system, that were part of performance testing carried out in 2013. Blood samples from the 72 animals were collected for DNA extraction. Only 20 DNA samples from extreme animals (10 positive extremes and 10 negative extremes for the adaptability characteristics - respiratory rate and coat temperature) were amplified in the regions of interest and sequenced. Subsequently, SNP type markers were sought and characterized. Twelve SNPs were found in the *HSF1* gene, but none of them modify amino acids in the protein produced by the gene. Six SNPs were found in the *HSPA6* gene, and four of them modify amino acids in the protein sequence. In addition, the presence of one TagSNP was detected in the *HSF1* gene, with maximum disequilibrium region of $r^2 = 0.87$ and MAFs (Minor Allele Frequencies) from 01.0 to 0.50. Lower values of MAFs were found in the *HSPA6* gene, from 0.02 to 0.21. In general, Hardy Weinberg equilibrium shifts were observed in almost all the SNPs of the two genes, and half the loci had heterozygosity greater than 50%. The data suggest that there is great genetic variation in the *HSF1* and *HSPA6* genes, which may contribute to identification and selection of cattle more thermotolerant to the subtropical climate

Keywords: Angus. Molecular markers. Thermoregulation.

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2014), o Brasil possui o maior rebanho bovino do mundo, apresentando aproximadamente 209 milhões de cabeças, sendo também o segundo maior produtor e maior exportador mundial de carne bovina (ABIEC, 2014).

Existe uma grande preocupação com o conforto térmico de animais nos sistemas de criação brasileiro, já que no país o clima predominante é o tropical, com altas temperatura e radiação solar o que podem ocasionar o estresse térmico e afetar o desempenho produtivo desses animais.

O animal de produção expressa todo seu potencial produtivo quando em condições ambientais ideais, mas quando em condições não adequadas ocorre um reflexo negativo em sua produtividade (SILVA, 2000). De acordo com McManus et al. (2012), mesmo os animais de raças altamente produtivas podem não expressar todo seu potencial quando submetidos a um estresse ambiental.

As condições ambientais estressantes podem ser um fator limitante para a produção de bovinos nos trópicos, pois o ambiente térmico tem efeito direto sobre a eficiência do sistema de produção, bem como na saúde e bem estar animal (PAIM et al., 2013). Contudo, para o estabelecimento de um sistema de criação economicamente viável é necessário a busca por raças ou indivíduos que sejam adequados às condições ambientais locais.

Para minimizar os problemas devido ao estresse térmico, uma das estratégias é a seleção e o desenvolvimento genético de animais menos sensíveis ao calor ambiental. Portanto, avanços na área de genética molecular como os estudos de genes relacionados à adaptabilidade e o uso de marcadores moleculares do tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) têm complementado os métodos de melhoramento genético animal auxiliando no processo de seleção.

Alguns genes candidatos têm sido elencados para associação com tolerância ao calor em bovinos, entre eles o gene *HSF1* que no trabalho de Benavides (2013) foi localizado no cromossomo 14 e o gene *HSPA6* que nos estudos de Regitano et al. (2006) foi localizado no cromossomo três em bovinos. Esses genes são responsáveis pela produção das proteínas HSPs (*Heat Shock Proteins*) que estão envolvidas na redução dos efeitos negativos sobre as células, causadas pelo estresse térmico.

Assim, o objetivo neste estudo foi prospectar e caracterizar marcadores moleculares do tipo SNP nos genes candidatos *HSF1* e *HSPA6*, relacionados à adaptabilidade em bovinos da raça Angus criados em clima subtropical.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e animais

Os animais utilizados neste experimento foram provenientes da Fazenda Santa Éster, de propriedade da Casa Branca Agropastoril Ltda., localizada na região de Pouso Alegre, município Silvianópolis – MG, de latitude 22° 01' 46" S, longitude 45° 50' 06" W, altitude 897 metros e caracterizado por um clima subtropical úmido com temperatura média anual de 19,9 C°.

Utilizou-se 72 machos da raça bovina Angus nascidos em 2012 e com média de 15 meses de idade, participantes de uma prova de desempenho em confinamento realizada no ano de 2013.

A prova de desempenho teve duração de 108 dias, com um período de adaptação de 23 dias. As medidas ocorreram a cada 28 dias de prova estando os animais em jejum hídrico e alimentar de 12 horas. Para a obtenção das medidas fisiológicas, os animais foram direcionados do curral de manejo 12 horas antes

permanecendo também sem acesso à sombra até que iniciassem as mensurações. Os animais eram conduzidos ao tronco de contenção coberto aos poucos para permanecerem sem acesso à sombra o máximo de tempo possível.

2.2 Extração de leucócitos e DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de amostras de sangue coletadas dos 72 animais conforme protocolo descrito por Regitano et al. (2001). Essas amostras de sangue dos bovinos foram coletadas por punção da veia jugular em tubos vacutainer 5 mL contendo anticoagulante 50µL EDTA potássico a 15%.

Primeiramente, o sangue foi tratado com solução de hemólise para a separação dos leucócitos, para posterior lise das células e isolamento das moléculas de DNA, conforme descrito a seguir.

As células vermelhas do sangue foram gradualmente desintegradas em tampão de hemólise apropriado (Tris-HCl 10 mM pH 7,6, MgCl₂ 5 mM, NaCl 10 mM), e o resíduo celular peletizado por centrifugação (700g, 10 minutos). Este processo de desintegração foi repetido até que um precipitado ou pellet branco fosse obtido, sem resíduos de hemoglobinas.

As células brancas do sangue foram ressuspendidas em uma solução de lise que contém 500 µL de Tris-HCl 10 mM pH 8,0, EDTA 10 mM pH 8,0, NaCl 100 mM, 0,5% SDS, com 2 µg de proteinase K e incubadas a 55°C por quatro horas ou “overnight”, até que o pellet fosse dissolvido.

Após a incubação foram adicionados 240 µL NaCl 5M e 210 µL de TE (Tris HCl 10 mM pH 7,6 + EDTA 1 mM pH 8,0) e os tubos agitados por inversão até formar pequenos coágulos de proteína, em seguida incubados em gelo por 15 minutos e centrifugados por 15 minutos a 16.000 g, para promover a precipitação das proteínas.

O sobrenadante contendo o DNA foi recuperado e este precipitado pela adição de dois volumes de etanol absoluto gelado (1 mL). Logo em seguida, foi lavado com etanol 70% gelado (500 µL) e depois secado ao ambiente. Posteriormente, o precipitado foi dissolvido em 250 µL de solução TE + RNase (10 µg por mL de amostra) e incubado por uma hora a 37°C. Em seguida as amostras foram armazenadas em freezer a aproximadamente a -20 °C.

2.3 Quantificação e verificação da integridade do DNA

As amostras foram quantificadas por espectrofotometria, utilizando um equipamento Nanodrop® ND-1000 que além de determinar a concentração das amostras também fornece a relação de densidade óptica OD_{260}/OD_{280} .

A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1%, utilizando-se cerca de 2 µL de DNA extraído por amostra. Após a eletroforese, o gel foi levado a um transiluminador com radiação ultravioleta e fotografado.

Em seguida as amostras foram diluídas em água para se obter uma concentração final de 40 ng/µl e conservadas em freezer a -20 C°.

2.4 Desenho de *primers*

Primeiramente buscou-se as sequências *fasta* dos genes *HSF1* e *HSPA6* em bovinos, no banco de dados de bioinformática do *NCBI* disponíveis no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>). Os *primers* foram desenhados para vários fragmentos/regiões de cada gene com o auxílio do software *Primer 3 plus*, disponível online (<http://www.bioinformatics.nl/cgi->

bin/primer3plus/primer3plus.cgi). Os fragmentos foram escolhidos de modo que abrangessem toda a extensão de cada gene.

Tabela 1 Descrição dos *primers* para os genes *HSF1* e *HSPA6* em bovinos.

Primers	Sequência 5' - 3'	Tamanho do amplicon (pb)	TA (C°)
GENE <i>HSF1</i>			
Regiao1_F	TCCTTTTGGGGTCTTAGCCG		
Regiao1_R	AGGCACCTGGTAGAAAGCAG	845	57,5
Regiao2_F	CTGCGGAGCGAGGACATAAA		
Regiao2_R	CCAAGGCCACCTAATCCCAC	877	59,5
Regiao3_F	TCTGACCCCCTAAAGGCACA		
Regiao3_R	CGCACCTCTCGTCTACACTC	879	59,5
Regiao4_F	CTGTTCAGCCCCTCGGTAC		
Regiao4_R	CCTGGCTCATCGGTCTGTTT	780	59,5
Regiao5_F	CTGTCTGTCCTACCACCCCA		
Regiao5_R	CATGGCTTGTCAGCATGGTC	795	57,5
GENE <i>HSPA6</i>			
Regiao1_F	GGTCTCCCGCAACTGGATAAA		
Regiao1_R	GATTCTCAGGACGTTGAGCCC	703	57,7
Regiao2_F	TAATCACGGTGCCTGCCTAC		
Regiao2_R	GTAGTCATCACCCCACCAGC	808	59,5
Regiao3_F	GGCAGGGAGCTGAACAAAAG		
Regiao3_R	GTCTTGTACTTTGCGCCTGTC	651	57,7
Regiao4_F	GTGGAGAGGATGGTTTCGTGAG		
Regiao4_R	AGGGTAAGATTCTCCTCCACTC	500	59,7

F = forward; R = Reverse; pb = pares de base; TA = temperatura de anelamento.

As sequências *forward* (F) e *reverse* (R) dos *primers* desenhados para as ampliações dos genes *HSF1* e *HSPA6* estão descritos na Tabela 1, assim como os tamanhos de seus amplicons (pb) e suas temperaturas de anelamento (°C).

2.5 Seleção de animais com fenótipos extremos para adaptabilidade

Do total de 72 animais foram selecionados para a realização do sequenciamento e prospecção de SNPs, 20 animais extremos para as características de adaptabilidade (frequência respiratória e temperatura do pelame).

As medidas de adaptabilidade foram coletadas uma vez ao mês durante a realização de uma prova de desempenho em confinamento, durante cinco meses consecutivos (julho a novembro) e nos períodos da manhã (7h) e da tarde (13h).

As médias da frequência respiratória (FR) e da temperatura (TP) do pelame nos 10 animais extremos “negativos” (animais considerados menos tolerantes ao calor) durante os cinco meses variaram de 64,8 a 82,8 mov/min e de 30,9 a 34°C, respectivamente. Os animais extremos “positivos” (animais considerados mais tolerantes ao calor) obtiveram médias de FR de 40,4 a 50,4 mov/min e de 31,2 a 33° C de TP.

A frequência respiratória foi obtida contando-se por duas vezes o número de movimentos respiratórios na região do flanco, em um período de 15 segundos e multiplicando-se a média desses valores por quatro, para a obtenção do número de movimentos respiratórios/minuto. A temperatura do pelame, em °C, foi realizada através de um termômetro infravermelho digital mirado a 20 cm abaixo da coluna vertebral do animal.

Após a obtenção das medidas, gerou-se um índice para cada animal contendo as duas características. As médias das frequências respiratórias e das temperaturas do pelame da tarde foram calculadas para compor o índice, nas quais cada uma correspondeu a 50% do índice.

Assim, a seleção dos 20 animais baseou-se nesses índices nos quais foram selecionados os dez maiores e os dez menores índices. Os dez maiores valores foram considerados como animais de extremos “negativos” e os dez menores como animais de extremos “positivos” para futuro Teste de Fisher.

2.6 Amplificação e purificação

As amplificações para todos os fragmentos dos genes foram realizadas em um termociclador modelo T100 (Bio-Rad) utilizando uma reação padrão de PCR contendo 1 µl de DNA molde 80 ng, 0,5 µl de *primers* a 10 µM, 2 µl de tampão Buffer com MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, água miliQ e 0,2 µl de enzima *Taq DNA polimerase*. Estes foram submetidos a um programa padrão para PCR que consistia em algumas etapas.

A etapa inicial de desnaturação a 95 °C por três minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 40 segundos, anelamento por 56 °C por 30 segundos e extensão por 50 segundos a 72 °C. Após os 35 ciclos, o produto amplificado foi submetido a uma extensão final por 5 minutos a 72°C. Após o término da amplificação, o *amplicon* foi resfriado a 4 °C.

Para a amplificação dos fragmentos, foram utilizadas temperaturas de anelamento distintas que variaram de 47 a 61 °C. Em seguida, a qualidade dos *amplicons* dos segmentos foi verificada com a técnica de eletroforese em gel de agarose a 2%.

Antes do sequenciamento, as reações de PCR foram purificadas adicionando-se 2µl da enzima *ExoSap* a 5µl do amplicon e submetidos a um ciclo de 15 minutos a 37 °C seguidos de 15 minutos a 80 °C no termociclador.

2.7 Reação de Sequenciamento e purificação

As reações para o sequenciamento seguiram o protocolo de Regitano (2001) utilizando o kit *Big Dye terminator v.3.1. cycle sequencing*, da Applied Biosystems. Portanto, para a reação foi adicionado 6,6 µl de água miliQ, 1µl de tampão (Tris-HCL, Mg⁺²), 0,4 µl de primer 10 µM, 1 µl de fluoróforo Big dye (contém DNA polimerase, ddNTPs marcados e dNTPs) e 1µl do *amplicón* purificado.

Após o preparo da reação foi utilizado o termociclador com as seguintes etapas: pré-incubação a 94 C° por 2 minutos, amplificação de 25 ciclos com as temperaturas de 96 C° por 20 segundos, temperatura de anelamento do primer por 10 segundos, em seguida 4 minutos a 60 °C e etapa final de resfriamento a 4 °C.

Para que não ocorresse interferência na leitura do sequenciamento, após o uso do termociclador, os produtos para sequenciamento foram purificados. Para isso, 26 µl de uma mistura contendo 9,1mL de isopropanol 65%, 4,9 mL de água miliQ e 560 µl de acetato de sódio 3,8% foram adicionados em cada poço da placa que já continha a reação de sequenciamento. Em seguida foram homogeneizados e incubados por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente. Ao passar esse período, centrifugou-se por 45 minutos a 20°C, descartou-se o sobrenadante, adicionou-se 150 µl de álcool a 70%, centrifugou-se novamente por 10 minutos, descartou-se novamente o sobrenadante e deixou-se secar por duas horas no escuro à temperatura ambiente. Passado esse tempo, as placas foram armazenadas em freezer -20 °C.

2.8 Sequenciamento e prospecção de SNPs

Após os fragmentos de DNA apresentarem os fluoróforos na molécula, o produto da reação de sequenciamento foi ressuspendido em 10 µl de formamida e em seguida desnaturados por 5 minutos a 95 °C e resfriados por 5 minutos a 4°C no termociclador. Posteriormente, as amostras foram submetidas à eletroforese capilar pelo *ABI Avant 3100* utilizando o polímero POP6, capilar de 50 cm e tampão de corrida da Applied Biosystems.

Os eletroferogramas foram gerados pelo software *GenScan* e a análise de qualidade das sequências pelo programa *Phred* que fornece um valor de qualidade que quanto maior for, menor a probabilidade de ter ocorrido erro na designação do nucleotídeo. A montagem das sequências foi realizada pelo programa *Phrap* que agrupa as sequências na forma de *contigs*. Para a visualização dos *contigs* gerados foi utilizado o programa *Consed* que também fornece a visualização de SNPs presentes nas sequências.

2.9 Caracterização dos SNPs e associação com o fenótipo

Os 20 animais sequenciados foram genotipados para os SNPs encontrados e anotados os nucleotídeos mutantes.

A partir da localização dos SNPs encontrados nos fragmentos de DNA dos genes, foi verificado se estes estavam presentes ou não em regiões éxons. Para tanto, foi utilizado as sequências dos genes armazenados no banco de dados do site do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>).

Para a análise de alteração de aminoácido na proteína produzida pelos genes foi utilizado o programa *Gene Runner* (disponível em: <http://www.generunner.net>).

A presença de TagSNPs, valores de desequilíbrio de ligação, heterozigiosidade, equilíbrio de Hardy Weinberg e *Minor Allele Frequency (MAF)* dos SNPs prospectados foram obtidos através do programa Haploview.

Para a verificação de associação entre os genótipos e o fenótipo (adaptado e não adaptado) utilizou-se o Teste de Fisher com o auxílio do programa SAS (SAS, 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 12 SNPs no gene *HSF1*, oito destes, estavam em regiões codificadoras, mas que não modificam a sequência do aminoácido na proteína produzida por esse gene. Portanto, esses SNPs foram mutações silenciosas que alteraram os nucleotídeos, mas não o aminoácido (Tabela 2).

As mutações silenciosas podem afetar o nível de expressão de proteínas. Segundo Curi (2004), essas mutações podem promover processamentos alternativos do RNA, geração ou supressão de códons de iniciação/terminação ou até mesmo alterar as sequências de regiões promotoras. Parmley et al. (2006) constataram que mutações silenciosas afetavam a estabilidade da estrutura secundária de mRNA em mamíferos.

Os demais marcadores localizaram-se em regiões intergênicas, sem função definida e, conseqüentemente não promovem mudança de aminoácidos (Tabela 2). Segundo Zan et al., 2007, apesar da região intergênica não alterar aminoácidos ela desempenha uma função importante na regulação do *splicing* do mRNA, na transcrição e na expressão gênica. Assim, SNPs encontrados nessa região podem ser importantes para a função da proteína.

Li et al. (2011) ao estudar vacas leiteiras Holandesas também encontraram SNPs associados a tolerância ao calor na região 4693 do gene *HSF1*.

Assim como, Liu et al. (2010) e Adamowicz et al. (2005) encontraram SNPs em outros genes relacionados a termorregulação como *HSP70A1A* e *ATPIA1*, respectivamente. Entretanto, poucos estudos têm relatado variações genéticas associadas à tolerância ao calor em bovinos da raça Angus.

Tabela 2 Caracterização dos SNPs prospectados para o gene *HSF1*.

SNP	Localização no gene(pb)	Região gênica	Sequência 5'-3'	Nucleotídeo consenso	Nucleotídeo mutante
1	15.029	íntron	CACCCCCAG	C	A
2	15.011	íntron	AGAGGTAC	G	A
3	15.009	íntron	AGGTACGTC	A	C
4	15.511	éxon	GCGTCCTTC	C	T
5	15.954	íntron	CACGTGGG	T	A
6	17.384	éxon	GCAAGCAA	C	T
7	19.842	éxon	CCGGCACTT	C	G
8	19.841	éxon	CGGCACTTC	A	G
9	19.832	éxon	GGGTCCACT	C	A
10	19.727	éxon	TGGTCCGGA	C	T
11	19.728	éxon	GTGGTCCGG	T	C
12	19.788	éxon	CCCCCGGTG	C	T

A = adenina; C = citosina; G = guanina; T = timina; pb = pares de base.

Observa-se na Tabela 3, a descrição dos SNPs encontrados no gene *HSPA6*. Todos os SNPs encontrados estavam presentes em regiões codificadoras do gene. Apenas os SNPs (4) e (6) não promoveram alteração de aminoácidos na proteína. O SNP (1) alterou o aminoácido alanina em serina, o SNP (2) alterou o aminoácido histidina em glutamina, o SNP (3) alterou uma isoleucina em fenilalanina e o SNP (5) alterou uma prolina em alanina.

Segundo Curi (2004), quando o polimorfismo promove a alteração do aminoácido na proteína ele é chamado de polimorfismo “não sinônimo”, ocorrendo a mutação de sentido errado na qual determina uma disfunção da proteína e conseqüente variação fenotípica.

A proteína produzida pelo gene *HSP70A1A*, da família das HSP70, é a principal chaperona atuante sobre um organismo submetido ao estresse térmico. Homóloga a ela, as proteínas do gene *HSPA6* também atuam em condições severas de estresse térmico. Mohanarao et al. (2013) em seus estudos observou aumento de 14,4 vezes na expressão desse gene quando caprinos foram submetidos a altas temperaturas.

Tabela 3 Caracterização dos SNPs prospectados para o gene *HSPA6*.

SNP	Localização no gene(pb)	Região gênica	Sequência 5'-3'	Nucleotídeo consenso	Nucleotídeo Mutante	Novo aminoácido
1	1.564	éxon	TCCGGAA	G	T	S ao invés de A
2	1.287	éxon	GTCCACT	C	G	Q ao invés de H
3	1.195	éxon	TTTATCTC	A	T	F ao invés de I
4	2.040	éxon	CAGCTTC	C	T	****
5	2.002	éxon	GTCCTCC	C	G	A ao invés de P
6	2.451	éxon	CTGTGGT	T	A	****

A = alanina; C = citosina; G = guanina; T = timina; S = serina; A = alanina; Q = glutamina; H = histidina; F = fenilalanina; I = isoleucina; P = prolina; **** sem alteração de aminoácido.

Observa-se na Figura 1 a presença de um TagSNP no gene *HSF1*. O SNP(3) é o TagSNP, ou seja, é o polimorfismo que sinaliza a presença de um conjunto de SNPs que estão próximos no cromossomo e, contudo tendem a terem o mesmo comportamento na divisão celular. Portanto, o haplótipo formado por esses SNPs apresentou uma região de desequilíbrio de ligação (LD) com valor máximo de $r^2 = 0,87$.

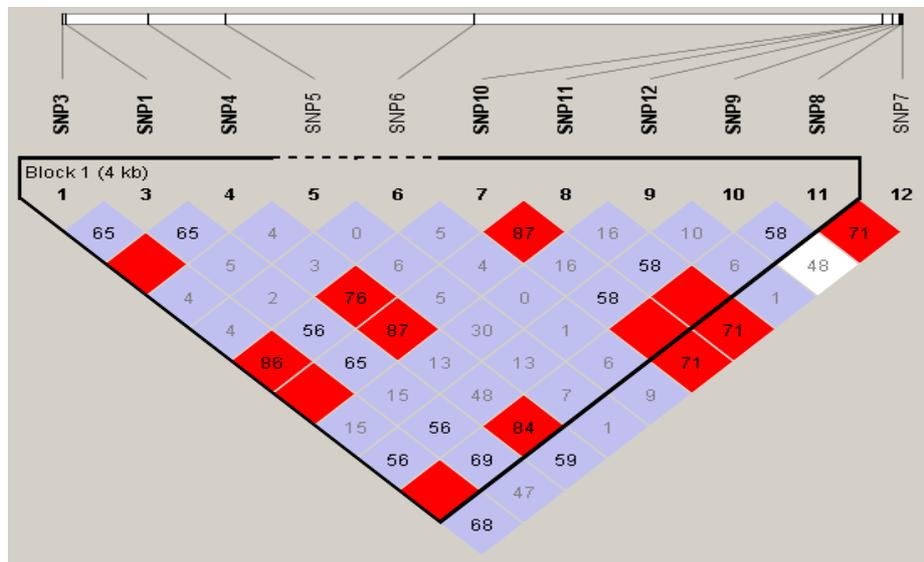


Figura 1 Padrão de desequilíbrio de ligação (r^2) entre os SNPs prospectados do gene *HFS1*. O sombreado escuro representa “LD forte”, sombreado claro evidência de “recombinação gênica” e quadrado branco “sem comprovação estatística”.

O desequilíbrio de ligação refere-se à associação não aleatória de alelos de diferentes *loci* (McKay et al., 2007). Quanto maior o LD entre os SNP, maior a frequência desses SNPs ocorrem juntos no cromossomo do que separados. Li et al. (2011) ao estudar bovinos da raça Holandesa, na China, também encontraram dois haplótipos de maior frequência no gene *HFS1* mas, com LD fraco entre os polimorfismos ($r^2 = 0,10$).

LD fortes foram encontrados em 22, 22% (10 de 45) pares de SNPs (sombreado escuro). No entanto, 35 pares de SNP (sombreado claro) mostraram-se em evidência de recombinação gênica. Curiosamente, alguns pares de SNP dos 35 que demonstravam recombinação (SNP1 com SNP3; SNP9 com SNP8; SNP10 com SNP11 e 12 e SNP11 com 12) são SNPs vizinhos. Este fato pode ser explicado pela ocorrência da conversão de genes.

Para o gene *HSPA6* não foi encontrado a presença de TagSNP e consequentemente não foi encontrado a formação de haplótipos.

Os valores referentes ao equilíbrio de Hardy Weinberg, heterozigidade observada, frequência do alelo menos comum (*Minor Allele Frequency - MAF*) e p valor do Teste Exato de Fisher dos genes *HSF1* e *HSPA6* encontram-se descrito na Tabela 4.

Os resultados de equilíbrio de Hardy-Weinberg demonstraram-se em desvios para a maioria dos SNPs encontrados nos dois genes. Isso implica que houve uma diferença significativa nas frequências genotípicas e alélicas dentro de cada *loci* do gene, bem como a ocorrência de endogamia ou fluxo de genes provenientes de outras populações.

O equilíbrio de um gene pode ser afetado por fatores tais como mutação, migração, deriva genética e seleção, pois promovem alterações nas frequências genotípica e alélica de um gene ao longo das gerações. Li et al. (2011) também observaram desvios de equilíbrio para os dois polimorfismos encontrados no gene *HSF1*.

Os SNPs (1), (2), (3), (4), (8) e (11) do gene *HSF1* apresentaram elevado grau de heterozigidade média observada, com valores acima de 70% (Tabela 4). A heterozigidade pode ser considerada uma medida de variabilidade genética e de acordo com Ott (1992), é considerado altamente polimórfico um marcador que apresenta heterozigidade acima de 70%.

Os marcadores (5), (6) e (9) do gene *HSF1* e todos os SNPs do gene *HSPA6* apresentaram nível reduzido de heterozigidade, com valores inferiores a 50 %. Em geral, a heterozigidade média observada em 50% dos *loci* foi superior a 50%, indicando moderada variabilidade genética dos marcadores analisados nos genes (Tabela 4).

Tabela 4 Valores de equilíbrio de Hardy Weinberg (HW), heterozigosidade (He), frequência do alelo menos comum (*MAF*) e p -valor do Teste de Fisher para os genes *HSF1* e *HSPA6*.

Gene <i>HSF1</i>				
SNP	HW	He	<i>MAFs</i>	p -valor
1	0,0061	0,85	0,42	0,4945
2	0,0000	1,00	0,50	****
3	0,0245	0,92	0,46	0,6429
4	0,0034	0,93	0,46	0,6667
5	1,0000	0,06	0,03	0,6667
6	1,0000	0,06	0,03	0,6250
7	0,4218	0,61	0,30	0,2720
8	0,1103	0,81	0,38	0,4895
9	0,6678	0,20	0,26	0,4079
10	0,0660	0,53	0,37	0,3709
11	0,0264	0,76	0,40	0,4821
12	1,0000	0,61	0,10	0,2637
Gene <i>HSPA6</i>				
1	0,8701	0,43	0,21	0,3427
2	1,0000	0,35	0,17	0,4196
3	1,000	0,33	0,16	0,3394
4	1,0000	0,26	0,13	0,3251
5	1,0000	0,05	0,02	0,5263
6	1,0000	0,25	0,12	0,4308

Neste estudo observou-se apenas dois tipos de genótipos para todos os SNPs de ambos os genes. Sendo que a frequência do alelo menos comum (*Minor*

Allele Frequency - MAF) para os SNPs do gene *HSF1* variou de 0,10 a 0,50 e para o gene *HSPA6* variou de 0,02 a 0,21 (Tabela 4). Diversos trabalhos de seleção assistida por marcadores moleculares removem SNPs com *MAFs* menores que 0,10 , alegando que estes não promovem efeito genético na população em estudo.

As frequências alélicas geradas pelo teste de Fisher nos 20 animais extremos estudados não indicou associação dos SNPs com as características de adaptabilidade para ambos os genes analisados. Por esse motivo, o restante da população de touros da raça Angus não foi genotipado. Valores baixos de *MAFs*, SNPs em desequilíbrio de HW, a presença de apenas dois genótipos na população e a metodologia de escolha dos animais extremos podem explicar a não associação prévia do genótipo com o fenótipo.

4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos no presente trabalho sugerem que há grande variação genética nos genes *HSF1* e *HSPA6* o que pode contribuir para a identificação e seleção de bovinos termotolerantes ao clima subtropical.

Este estudo é um trabalho preliminar, mas outros estudos deverão ser realizados em populações maiores para que possa ser avaliada a associação de marcadores moleculares com as características relacionadas a tolerância ao calor na raça Angus.

REFERÊNCIAS

ADAMOWICZ, T.; PERS, E.; LECHNIAK, D. A New SNP in the 30-UTR of the Hsp70-1 Gene in *Bos taurus* and *Bos indicus*. **Biochemical Genetics**, New York, v. 43, p. 623–627, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/41_exportacao_ano.asp/>. Acesso em: 12 out. 2014.

BENAVIDES, L. E. E. **Indicadores fisiológicos de estresse e expressão do gene hsp70 em juvenis do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após implante de cortisol**. 2013. 50 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2013.

CURI, R. A. **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**. 2004. 126 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 25 mar. 2014.

LI, Q. L. et al. Two novel SNPs in HSF1 gene are associated with thermal tolerance traits in Chinese Holstein cattle. *DNA and Cell Biology*, New York, v. 30, p. 247-254, 2011.

LIU, Y. et al. A novel SNP of the ATP1A1 gene is associated with heat tolerance traits in dairy cows. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 38, n. 1, p. 83-88, 2010.

McKAY, S. D. et al. Whole genome linkage disequilibrium maps in cattle. **BMC Genetics**, London, v. 8, p. 74, 2007.

McMANUS, C. et al. The challenge of sheep farming in the tropics: aspects related to heat tolerance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, p. 107-120, 2011.

MOHANARAO, J. C. G. et al. HSP70 family genes and HSP27 expression in response to heat and cold stress in vitro in peripheral blood mononuclear cells of goat (*Capra hircus*). **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 116, p. 94-99, 2013.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Disponível em: <<http://www.w.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 17 jun. 2014.

OTT, J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, Local, v. 51, p. 283-290, 1992.

PAIM, T. P., et al. Thermographic evaluation of climatic conditions on lambs from different genetic groups. **International Journal of Biometeorology**, Berlim, v. 56, n. 1, p. 1, 2012.

PARMELEY, J. L.; CHAMARY, J.; HURTS, L. D. Evidence for purifying selection against synonymous mutations in mammalian exonic splicing enhancers. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 23, n. 2, p. 30-309, 2006.

REGITANO, L. C. A.; COUTINHO, L. L. **Biologia molecular aplicada à produção animal**. Brasília: Embrapa-informação tecnológica, 2001. 215 p.

REGITANO, L. C. A.; MARTINEZ, M. L.; MACHADO, M. A. Molecular aspects of bovine tropical adaptation. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte: WCGALP, 2006. 1 CD ROM.

SILVA, R.G. **Introdução a bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000. 286 p.

ZAN, L. S.; ZHANG, J. L.; LIU, X. W. Association study on AGPAT6 intron3 polymorphism and milk performance of dairy cattle. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 40, p. 1498–1503, 2007.