

EFEITO DO POLIMORFISMO NO GENE STAT5A NO INTERVALO PARTO- CONCEPÇÃO DE VACAS DA RAÇA HOLANDÊS

LUCAS TEIXEIRA HAX¹; PATRÍCIA MATTEI²; JÚLIA DAMÉ PASCHOAL²;
AUGUSTO SCHNEIDER²; MARCIO NUNES CORRÊA³

¹Universidade Federal de Pelotas – PPG Biotecnologia – lucashax@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária

³Universidade Federal de Pelotas – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária –
marcio.nunescorrea@pesquisador.cnpq.br

1. INTRODUÇÃO

A seleção genética realizada nas últimas décadas na pecuária de leite buscou a identificação e multiplicação de animais de maior produção, o que levou ao aumento na média de produção dos rebanhos. No entanto, a seleção genética com foco na produção acarretou na redução do desempenho reprodutivo dos animais (LUCY et al., 2001).

O aumento da demanda energética para produção de leite no pós-parto recente culmina em um período de balanço energético negativo (BEN) (BUTLER et al., 2003). Esse momento é caracterizado por uma redução na glicemia e insulinemia (BUTLER et al., 2003). A insulina estimula a expressão do receptor de GH (GHR) no tecido hepático. Durante esse período o fígado permanece refratário ao hormônio do crescimento (GH), causando um desacoplamento no eixo GH-IGF e com isso a concentração sérica do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 1 (IGF-I) é acentuadamente reduzida (VICINI et al., 1991).

O IGF-I estimula a mitose das células do folículo e a sua maturação (SPICER et al., 1993). Vacas com maior concentração de IGF-I apresentam um menor intervalo parto-primeira ovulação (BEAM et al., 1998). O IGF-I circulante é majoritariamente produzido pelo fígado em resposta ao GH (JONES & CLEMMONS 1995). A ligação do GH no seu receptor ativa o fator de transdução e ativador de transcrição 5A (STAT5A). O STAT5A atua na regulação da transcrição do IGF-I (KIESSELEVA et al., 2002).

Khatib et al (2008) identificou um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), no gene STAT5A. Esse ponto de mutação (G→T) fica no éxon 8 na posição 12195. Os mesmos autores observaram que, em vacas de alta produção criadas em sistema intensivo, a sobrevivência embrionária é afetada pelos alelos dessa mutação. Shirasuna et al (2011) também observaram diferença na frequência alélica dessa mutação entre vacas de alta produção ovulatórias e anovulatórias nas primeiras semanas pós-parto. Dessa forma, o STAT5A se apresenta como gene candidato à pesquisa de alelos favoráveis à fertilidade para seleção genética em animais criados em sistema semi-extensivo.

Com base nessas evidências, o objetivo desse trabalho foi avaliar a associação entre as variações do gene do STAT5A e o intervalo parto-concepção (IPC) em vacas da raça Holandês criadas em sistema semi-extensivo.

2. METODOLOGIA

Foram avaliados os dados referentes ao ano de 2011 de 308 vacas da raça Holandês com até seis lactações de uma fazenda comercial do sul do Brasil. Os dados foram fornecidos pelo responsável pelos animais mediante assinatura do

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPEL (Cod. 10516).

Foram coletadas as informações de data do parto, data da prenhez, e produção de leite da última lactação ajustada para 305 dias a partir do *software* de gestão da fazenda, ALPRO® Herd Management System DeLaval.

Os animais foram mantidos em sistema semi-extensivo, no qual a dieta foi baseada em pastagens cultivadas de acordo com a estação do ano. Os animais eram suplementados com concentrado e sal mineral para ajuste da exigência nutricional de cada categoria segundo o NRC (2001).

Para obtenção do DNA foi realizada uma coleta de sangue de cada animal por punção da veia coccígea. De uma alíquota de 500uL de sangue foi realizada a extração do DNA.

Os genótipos foram verificados através de reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os *primers* STAT5A FW: GAGAAGTTGGCGGAGATTATC e RV: CCGTGTGTCCTCATCACCTG. O fragmento amplificado de 840 pares de base, foi posteriormente digerido com 3U das enzimas *BstEII* (New England Biolabs – UK) a 37°C por 3h e submetidos a eletroforese em gel de agarose 2% para posterior visualização em UV.

As análises estatísticas foram realizadas através do procedimento GLM no programa estatístico SAS. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado como significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada associação entre o genótipo de STAT5A e o intervalo parto-concepção ($P > 0,05$). A média de IPC entre os animais foi de $117 \pm 57,8$ dias. A média de produção de leite foi de 5652 ± 1170 L em 305 dias.

Khatib et al (2008) observaram que a presença do alelo G no polimorfismo do gene STAT5A está associada com baixa sobrevivência embrionária. Por outro lado, Shirasuna et al (2011) observaram que a frequência do mesmo alelo foi maior em vacas que ovularam no pós-parto recente em relação à vacas que não ovularam nas primeiras semanas após o parto.

Os estudos que observaram associação entre o polimorfismo (G→T) no éxon 8 e o desempenho reprodutivo foram realizados em vacas de alta produção criadas em sistema intensivo. Em virtude dessa condição de elevado desafio metabólico, é possível que os efeitos deletérios do BEN na reprodução sejam atenuados por um melhor funcionamento do sistema GH-GHR-STAT5A-IGF-I proveniente da mutação estudada.

Por outro lado, nosso trabalho foi realizado com vacas de baixa produção, criadas em sistema semi-extensivo. Esse cenário nos possibilita inferir que o desafio metabólico dos animais utilizados foi pequeno, gerando um leve ou inexistente BEN. Consequentemente, é provável que o efeito do polimorfismo no gene do STAT5A não tenha afetado a reprodução, visto que o eixo GH-IGF não foi fortemente desacoplado.

4. CONCLUSÕES

Não foi observada associação entre o polimorfismo STAT5A *BstEII* e o intervalo parto-concepção em vacas da raça Holandês criadas em sistema semi-extensivo. Segue a necessidade de mais estudos com animais de maior desafio metabólico para melhor entender o efeito dessa mutação na reprodução.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science** 81, 121-131, 1998.

JONES, J.J. & CLEMMONS, D.R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrine Reviews** 16, 3-34, 1995.

KHATIB, H.; MONSON, R.L.; SCHUTZKUS, V.; KOHL, D.M.; ROSA, G.J.M. AND RUTLEDGE, J.J. Mutations in STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. **Journal of Dairy Science** 91, 784-793, 2007.

KIESSELEVA, T.; BHATTACHARYA, S.; BRAUNSTEIN, J. AND SCHINDLER C.W. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. **Gene** 281, 1-24, 2002.

LUCY, M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where Will it end? **Journal of Dairy Science** 84, 1277-1293, 2001

SHIRASUNA, K., KAWASHIMA, C., MURAYAMA, C., AOKI, Y., MASUDA, Y., KIDA, K., MATSUI, M., SHIMIZUT, T., MIYAMOTO A. Relationships between the first ovulation postpartum and polymorphism in genes relating to function of immunity, metabolism and reproduction in high-producing dairy cows. **Journal of Reproduction and Development** 57, 135-142, 2011.

SPICER, L.J.; ALPIZAR, E.; ECHTERNKAMP, S.E. Effects of insulin, insulin-like growth factor I and gonadotropins on bovine granulose cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. **Journal of Animal Science** 71, 1232-1241, 1993.

VICINI, J.L; BOUNOMO, F.C.; VEENHUIZEN, J.J.; MILLER, M.A.; CLEMMONS, D.R. & COLLIER, R.J. Nutrient balance and stage of lactation effect responses of insulin-like growth factor-I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. **Journal of Nutrition** 121, 1656 – 1664, 1991