

PERSPECTIVAS PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO EM BOVINOS DE LEITE

Mario Luiz Martinez^{1,2}; Marco Antônio Machado¹
Marcos Vinicius G. B. da Silva¹; Rui da Silva Verneque^{1,2}

A abordagem sobre esse tema pode ser feita basicamente de duas maneiras: a primeira seria discutir como as raças e/ou grupos genéticos está se desenvolvendo dentro dos nossos sistemas de produção; a segunda forma seria abordar como as tecnologias disponíveis atualmente podem impactar o melhoramento das raças. A primeira abordagem é muito dependente dos diversos ambientes nos quais os animais são criados e por isso nos parece ser restrito aos ecossistemas existentes no Brasil. Assim, os autores deste trabalho decidiram abordar o tema dentro da segunda visão, ou seja, como as tecnologias metodológicas, reprodutivas e moleculares podem contribuir para o aumento do ganho genético nas populações de bovinos de leite. Desta forma, a discussão pode ser enriquecida e os tópicos a serem abordados permeariam, de forma geral, todas as raças e grupos genéticos explorados nas condições brasileiras.

Assim, o que deve preocupar qualquer melhorista é saber como se pode aumentar o ganho genético em uma população, utilizando-se os recursos genéticos (raças puras, sintéticas e mestiços) e as tecnologias disponíveis. A tradicional equação do ganho genético ($\Delta G = A \cdot i \cdot \sigma_g / IG$) pode ser satisfatoriamente explorada para se discutir os meios pelos quais se podem realizar o melhoramento genético. Em geral, eles podem ser categorizados em: 1) métodos e modelos de avaliação; 2) técnicas de reprodução e 3) genética molecular.

1. MÉTODOS E MODELOS DE AVALIAÇÃO

A procura por procedimentos, métodos e modelos que possam aumentar a precisão das avaliações genéticas de animais constitui permanente desafio dos pesquisadores. O aumento da capacidade e velocidade dos recursos computacionais e o desenvolvimento e/ou adaptação de algoritmos disponíveis têm ditado a forma e a evolução da aplicação dos métodos e modelos de avaliação genética em todo o mundo.

Os métodos e os modelos que vêm sendo implementados para a avaliação genética dos animais afetam basicamente a precisão (A) da equação do ganho, porque utilizam mais informações do conjunto de dados, favorecem a melhor predição dos valores genéticos dos animais avaliados, possibilitando exercer uma seleção mais precisa.

Métodos Bayesianos, de aplicação complexa, mas com amplo desenvolvimento teórico nos últimos anos e bastante adequado para aplicações em genética animal, ainda não conseguiram ter sua utilização mais difundida. Por certo, nos próximos anos teremos uma ampliação no uso desses métodos na realização de avaliações genéticas em gado de leite, principalmente pelo desenvolvimento de novos algoritmos computacionais e melhor divulgação de *softwares* de utilização livre no mercado.

Outra questão relevante que merece destaque é a melhoria dos modelos de avaliação genética atualmente em uso. Novas fontes de variação, tais como uso de substâncias estimulantes da produção, que podem causar grandes vícios nas avaliações, precisam ser consideradas ou modeladas. A melhor definição de grupos contemporâneos e a consideração, como efeito fixo, das pessoas diretamente envolvidas no manejo dos animais são fatores que podem inflacionar o efeito residual e que ao serem considerados representam um refinamento dos modelos de avaliação, possibilitando melhorar substancialmente a precisão das avaliações genéticas.

Atualmente, no Brasil, as avaliações de touros e vacas são realizadas considerando-se apenas uma característica por vez, isto é, avaliação para produção de leite, de gordura, de proteína etc. A obtenção das predições da habilidade de transmissão (PTA) simultaneamente para duas ou mais características pode

¹ Pesquisador da Embrapa Gado de Leite. Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco - 36038-330 - Juiz de Fora - MG

² Bolsista do CNPq

resultar em avaliação mais precisa, especialmente para características correlacionadas, dado que a avaliação por características múltiplas aumenta a precisão na estimação da resposta correlacionada, particularmente para características com correlação genética negativa (Freeman e Lindberg, 1993).

Fatores como a estrutura dos dados, informações perdidas e o número de características avaliadas afetam significativamente as necessidades computacionais para realização das análises, dificultando a avaliação considerando características múltiplas. Nos dias atuais, no entanto, computadores que tenham memória e velocidade suficientes para realizar essas análises não são muito caros, sendo acessíveis à maioria das equipes responsáveis pela execução das avaliações genéticas. Todavia, a carência de programas confiáveis ou suficientemente testados é ainda um problema quando se analisam simultaneamente várias características. No entanto, espera-se que num futuro bem próximo, as avaliações genéticas de touros e vacas se darão por meio da análise de características múltiplas, principalmente em nossas condições em que o número de observações não é tão grande.

Outro avanço que vem ocorrendo em vários países, e que pode ser implementado em nossas condições, é a avaliação de touros e vacas por modelos que consideram a produção no dia do controle (test-day model) (CARVALHEIRA et al., 2002; LIDAUER et al., 2000; LIU et al., 2000 e SWALVE, 1995). Neste caso, é possível a aplicação de grande número de procedimentos com desenvolvimento teórico bastante consolidado, como a avaliação considerando a produção no dia do controle de uma ou mais características, uma ou mais lactações e métodos tradicionais ou que usam regressão aleatória. Por esses modelos poderiam ser avaliadas simultaneamente e com grande precisão as produções de leite, de gordura, de proteína, a contagem de células somáticas etc. A idéia geral destes modelos e procedimentos é que os ajustamentos para as diferenças em manejo sejam feitos individualmente para cada rebanho e animal, ao contrário do que se faz hoje, em que os ajustes para idade, correção para número de ordenhas etc. são calculados considerando o conjunto geral dos dados. As informações resultantes forneceriam subsídios para outros programas que gerariam excelentes informações para os produtores manejarem os seus animais. Além disso, disponibilizariam informações genéticas que seriam usadas nas avaliações de vacas e touros.

2. TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ANIMAL

As biotecnologias reprodutivas são de fundamental importância para o desenvolvimento da pecuária no País, independentemente de quais sistemas de produção de leite devam vigorar no futuro, com animais puros (zebuínos ou taurinos) ou mestiços. As tecnologias reprodutivas afetam todos os fatores que influenciam o ganho genético (G), ou seja, a intensidade de seleção (i), a precisão das estimativas (A), a variância genética (σ_g^2), e o intervalo de gerações (IG).

2.1 Inseminação Artificial (IA)

A inseminação artificial tem sido a biotecnologia da reprodução de maior sucesso e eficácia em produção animal, sendo responsável por índices de incremento genético na pecuária leiteira em torno de 1,0 a 1,5% ao ano (Lohuis, 1995).

A IA revolucionou a população comercial de gado de leite nos últimos 50 anos, permitindo a disseminação de genótipos superiores em grande escala. Em alguns países, praticamente 100% das vacas de leite são acasaladas por meio da inseminação artificial. A rápida disseminação dessa tecnologia deveu-se à combinação de fatores genéticos, econômicos e técnicos. O uso da inseminação artificial permitiu a implantação dos testes de progênie e conseqüentemente a avaliação do mérito genético de touros em muitos rebanhos. Além disso, tornou disponíveis os melhores genótipos a toda a população de animais. A pesquisa genética foi bastante favorecida com a IA, por se poder usar os touros em vários rebanhos, o que eliminou o confundimento do efeito do touro com o efeito do rebanho, no desempenho produtivo. Os avanços técnicos relacionados aos aspectos da qualidade, envasamento, congelamento e armazenamento do sêmen tornaram a inseminação artificial uma prática indicada e confiável. Esses avanços fizeram com que o custo da IA se mantivesse praticamente constante nos países desenvolvidos, permitindo a sua ampla utilização. Tal fato possibilitou que maior número de produtos de um mesmo reprodutor possa ser medido em diferentes ambientes e aumentando a precisão das estimativas do mérito genético; permite também

maior intensidade de seleção devido à oportunidade de se testar mais indivíduos. Todavia, o uso intensivo de um número pequeno de reprodutores pode aumentar a endogamia e assim reduzir a variância genética da população.

2.2 Transferência de Embriões (TE) e Fertilização *in vitro* (FIV)

A transferência de embriões (TE) compreende a superovulação de doadoras, a coleta de embriões e a transferência destes para as receptoras, a fresco ou congelados. O principal benefício da TE é produzir mais bezerros de uma mesma vaca do que seria possível pela reprodução normal. Segundo Hansel e Godke (1992), uma vaca chega a ter cerca de 75.000 óvulos em potencial (ovócitos) em seus ovários, produzindo em média de quatro a cinco bezerros em toda a sua vida. O número de descendentes, com o uso da TE, pode variar de 25 a 30 e, com as novas tecnologias como FIV, a 100 ou mais. Os benefícios de se aumentar a eficiência reprodutiva de vacas selecionadas são:

- 1) Vacas consideradas como elite, pelo seu valor genético, podem contribuir mais para os programas de melhoramento. Esta contribuição pode ser maximizada, caso seus filhos sejam selecionados para os programas de teste de touros e posterior uso na IA.
- 2) Aumento da taxa de seleção materna, que, combinada com a rápida mudança genética, pode ser usada para estabelecer programas especiais de melhoramento (MOET, por exemplo) (Nicholas e Smith, 1983), podendo até dobrar o ganho genético em relação aos programas convencionais.

A transferência de embriões pode também ser utilizada para a rápida expansão da genética de rebanhos elite, como nos programas especiais de melhoramento (MOET) que estão sendo ou foram executados no Canadá (TEAM), Dinamarca (FY-BI), Finlândia (ASMO), França (Genétique Avenir), Alemanha (Osnabrück), Inglaterra (Genus) e Nova Zelândia (Delta) (Callesen et al., 1996). De 1985 a 1995, o programa MOET da Dinamarca, denominado projeto FY-BI, foi essencial para melhorar o potencial genético do gado de leite dinamarquês usando sistematicamente superovulação e transferência de embriões.

Nos últimos anos, as pesquisas têm-se concentrado na fertilização *in vitro*, tecnologia quase toda conduzida dentro do laboratório, onde os ovócitos imaturos de animais vivos ou abatidos são coletados dos ovários e posteriormente maturados e fertilizados em laboratório. Em seguida, são mantidos em cultivo para se desenvolverem até um determinado estágio, quando então são transferidos para uma receptora ou congelados para transferência posterior. Todo o processo é conhecido como PIV ou Produção *in vitro* de embriões, usando-se também a terminologia Fertilização *in vitro* (FIV) (Gordon, 1994; Tervit, 1997).

Nos últimos dez anos a produção de embriões por meio de FIV tem sido bastante acelerada, em consequência da aspiração de ovários em matadouros ou da aspiração transvaginal *in vivo* (punção folicular), com auxílio de equipamento de ultra-som. Este procedimento tornou-se uma forma muito atrativa de se produzir animais provenientes de doadoras elites, incluindo aquelas com problemas reprodutivos (Den Daas e Merton, 1994). Quando utilizada em novilhas, a FIV pode contribuir significativamente para o melhoramento genético dos rebanhos (Greve et al., 1993).

A produção de embriões pela FIV deve contribuir decisivamente para maior eficiência reprodutiva e genética, como instrumento de multiplicação rápida do material genético melhorado existente, encurtando o intervalo entre gerações e intensificando a seleção. A sua importância vai além do interesse comercial, pois, ao permitir a produção em larga escala de ovócitos maturados e fecundados, servirá de ferramenta indispensável para outras biotecnologias como clonagem, produção de células totipotentes, preservação de ovócitos, transgênese, formação de gêmeos idênticos etc (Trounson, 1992).

2.3 Sexagem de espermatozoides e de embriões

A seleção do sexo em bovinos é de grande interesse para a atividade leiteira, por ser a fêmea a unidade produtiva. A seleção do sexo em bovinos pode ser feita por sexagem dos espermatozoides ou dos embriões. Por vários anos muitas tentativas de sexar espermatozoides têm sido realizadas. Em síntese, pode-se dizer que vários métodos vêm sendo testados na sexagem dos espermatozoides baseados nas diferenças físico-químicas entre espermatozoides X ou Y (sensibilidade ao pH, carga elétrica das

membranas plasmáticas, morfologia do núcleo e cabeça, velocidade de migração, diferenças na densidade) ou diferenças biológicas (antígenos de superfície, conteúdo de DNA) (Cotinot et al., 1993; Hossepian et al., 1997). Todavia, os resultados são ainda contraditórios, imprecisos e com baixa repetibilidade, mas certamente essa tecnologia estará disponível nos próximos anos.

Outra forma que vem sendo utilizada para obtenção de produtos com sexo predeterminado é a sexagem de embriões. Com as tecnologias atuais é possível se extrair uma célula de um embrião jovem (Thomsen et al., 1991; Bredbacka et al., 1994) e, com o uso de marcadores moleculares de DNA, verificar se o mesmo é macho ou fêmea. Todavia, esta metodologia não é ainda amplamente utilizada, em razão do alto custo, e por tratar-se de um método invasivo, pois com o rompimento da zona pelúcida, há aumento o risco de redução na taxa de fertilidade, não sendo permitida a comercialização do produto internacionalmente, em razão de barreiras sanitárias (Hossepian et al., 1997). A pré-seleção *in vitro* de embriões de bovinos tem sido bastante estudada em vários laboratórios e é aceito, em geral, que embriões machos desenvolvem-se mais rapidamente do que embriões fêmeas, pelos menos em alguns sistemas *in vitro* de produção de embriões (Avery et al., 1991, 1992; Valdivia et al., 1993; Dufour et al., 1994).

Dentro do contexto da FIV, em que alguns poucos milhares de espermatozoides são necessários para a fertilização, é possível se utilizar sêmen sexado para a produção de embriões em larga escala. Os custos poderão ser reduzidos substancialmente e a grande maioria dos embriões produzidos seria do sexo desejado. Existem, entretanto, alguns problemas que devem ser resolvidos, tais como custo, qualidade genética e disponibilidade de ovócitos e meios de cultivo de embriões mais eficientes, além da obtenção de taxas razoáveis de fertilidade com sêmen congelado, envasado e sexado, e sêmen fresco sexado e depois envasado e congelado. A viabilidade comercial deste processo é possível, mas certamente transcorrerá ainda algum tempo antes que se torne realidade.

2.4 Clones

A clonagem de embriões em bovinos pode ser uma tecnologia competitiva para alguns propósitos, destacando-se:

a) Aumento da taxa de ganho genético: Nos programas de seleção de gado de leite baseado nos testes de progênie, as taxas de ganho anual para características de produção estão entre 1% a 2%, sendo que a maior fração destes ganhos é proveniente da maior intensidade e precisão na seleção dos touros. Como mais da metade das fêmeas é necessária para produzir novilhas de reposição, a intensidade de seleção desta via é muito pequena. Com testes e produção eficientes de clones como base para a seleção, a taxa de ganho pode, a princípio, ser aumentada. Teepker e Smith (1989) analisaram a resposta à seleção de clones obtidos via TE e a resposta à seleção entre os clones considerando apenas a variância genética aditiva. Neste caso, a resposta à seleção ocorre apenas uma única vez, quando se dá a escolha dos clones e a vantagem desta primeira seleção é equivalente a aproximadamente quatro anos de seleção convencional (teste de progênie). O teste destes grupos de clones e o seu uso na população comercial, segundo os autores, podem produzir ganhos semelhantes ao obtidos em 15 a 17 anos, quando a seleção é realizada por meio de testes de progênies. Ganhos adicionais dependeriam dos testes dos clones e posterior acasalamento entre eles.

Existem, todavia, algumas desvantagens. A realização de testes precisos dos clones, especialmente para características de baixa herdabilidade, não pode ser feita com precisão em condições de campo. Além disso, o uso de clones pode reduzir rapidamente a variabilidade genética de população, reduzindo as perspectivas de ganho no futuro, e, possivelmente, reduzindo a capacidade adaptativa em curto intervalo de tempo. Alguns estudos têm concluído que, no geral, o ganho potencial não parece ser suficiente para justificar a clonagem como meio de acelerar o melhoramento genético em gado de leite (De Boer et al., 1994; Ruane et al., 1997).

b) Multiplicação de animais transgênicos: Em virtude das baixas taxas de sucesso e do alto custo envolvido na obtenção de um animal transgênico funcional, certamente haverá grande interesse comercial na multiplicação de tais animais. Neste caso, o interesse da indústria de produtos farmacêuticos será maior do que o da indústria de produção de alimentos.

c) Exploração da heterose: Nos cruzamentos entre raças de leite taurinas e zebuínas ou de origem local, nos países tropicais, uma quantidade razoável (25% ou mais) de heterose tem sido regularmente observada nos diversos estudos conduzidos (Cunningham e Syrstad, 1988; Martinez et al., 1988; Madalena et al., 1990). Isto é relativamente fácil de se obter na primeira geração de cruzamento utilizando-se sêmen das raças *Bos taurus* em fêmeas *Bos indicus*. Entretanto, as diferentes estratégias de acasalamentos subseqüentes não retêm toda a heterose do primeiro cruzamento. Todavia, se for possível produzir continuamente indivíduos F1, a heterose máxima será mantida. Uma solução interessante pode ser o uso da TE utilizando-se embriões que foram clonados de células de vacas F1 elites. Os aspectos econômicos desta tecnologia foram examinados por Jarvis (1996), o qual afirmou que as circunstâncias nas quais essa solução poderá ser economicamente viável são bastante limitadas. Em primeiro lugar, o custo exige que o retorno líquido por vaca seja razoavelmente alto, o que implica alta produção por vaca e um preço de leite razoavelmente alto. Em segundo lugar, é necessário que se tenha bom serviço de suporte, dada a especificidade da tecnologia. Em terceiro lugar, a produção destes animais pode ser de interesse apenas de países tropicais, em virtude da heterose apresentada pelos indivíduos F1.

2.5 Potencialidades das tecnologias reprodutivas

Para efeito de avaliação do impacto das biotecnologias reprodutivas, tais como IA, TE e FIV sobre o ganho genético, será utilizado como população de estudo o gado Gir Leiteiro, que participa de um programa de seleção com base no teste de progênie.

Considerando-se o tamanho da população zebuína atualmente sob processo de seleção para produção de leite, simulou-se o aumento da população e da produção de leite baseando-se na inseminação artificial (IA), transferência de embriões (TE) e fertilização *in vitro* (FIV).

Para isto, considerou-se que: 1) apenas 10% das melhores matrizes da população sob controle leiteiro seriam mães da próxima geração; 2) 70% de fertilidade das fêmeas; e 3) taxa de mortalidade até a idade de reprodução de 5%, tanto para machos quanto para fêmeas. Ainda, assumiu-se que a TE permitiria cinco vezes mais produtos por ano do que a IA, ou seja, 3,5 produtos, e que com a FIV, dez vezes mais produtos que com a TE, ou seja, 35 produtos por ano. As demais vacas da população (90% restantes) foram apenas acasaladas via IA, obedecendo-se aos índices anteriormente mencionados. Para todas as situações, considerou-se que o descarte anual seria de 20% ao ano, incorporando-se ao rebanho as demais novilhas produzidas.

Os resultados desta simulação para um período de 15 anos, são apresentados no Quadro 1. Observa-se que, com a reprodução via IA, são necessários quinze anos para que se tenha uma população cerca de três vezes (10.405 vacas) maior que a população inicial (3.500 vacas). Todavia, quando a TE é utilizada em 10% da população, isto é, em 350 matrizes, e as demais são acasaladas via IA, após quinze anos têm-se cerca de 27.000 vacas, em que a grande maioria é composta por filhas de 10% das matrizes, consideradas elites. Se a FIV tornar-se uma técnica acessível economicamente à grande maioria dos criadores, é possível se obter aumento expressivo na população (cerca de 5 milhões de matrizes) em aproximadamente quinze anos, caso 10% das matrizes da população sejam utilizadas anualmente via FIV. Saliente-se que após cinco a seis anos de execução de um esquema desta natureza, o número de matrizes a ser utilizado em FIV seria de 1.000 a 1.500 (mantida a taxa de 10% da população). Observa-se, assim, o grande potencial desta tecnologia, pois já no quinto ano têm-se novilhas em idade de reprodução, filhas das melhores vacas, suficientes (cerca de 5.819) para a substituição de todo o rebanho. O progresso genético nesta situação será bastante acelerado se as condições de manejo e alimentação permitirem que os animais expressem o seu potencial genético de produção.

Objetivando estimar o aumento potencial na produção de leite com base nas três alternativas reprodutivas (IA, TE ou FIV), considerou-se que a PTA média (metade do valor genético) do grupo composto por 10% das melhores matrizes era de 300 kg de leite e que elas foram acasaladas com touros provados, cuja PTA média era de 150 kg (médias reais atualmente obtidas na seleção do Gir leiteiro). Assim sendo, todos os produtos nascidos teriam potencial de +450 kg de leite. Considerou-se também a utilização dos produtos machos em monta natural, acasalando-os com 25 matrizes de valor genético igual a zero. Os resultados desta simulação, para apenas uma geração, encontram-se no Quadro 2. Novamente, é importante observar o grande potencial das tecnologias de TE e FIV na produção de machos que poderão ser utilizados em monta natural. O aumento potencial da produção via acasalamento dos machos

elites (matrizes elites com touro provado) com vacas comuns só ocorrerá após a parição de suas filhas, o que em nossos sistemas de produção levará de seis a sete anos após o nascimento dos machos elites. Todavia, o aumento da produção via fêmea já ocorrerá na primeira geração, quando estas parirem. Ressalte-se que o aumento do potencial genético permanece com o indivíduo por toda a sua vida e que a cada geração metade de seu valor genético é transmitido à sua progênie. Assim, o aumento contínuo de produção só ocorrerá se um sistema bem planejado de melhoramento genético for acompanhado da melhoria do manejo e alimentação que permita expressar o seu progresso genético.

Quadro 1. Aumento populacional considerando-se três sistemas de reprodução, IA, TE e FIV.

Descrição	Anos														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
IA															
Pop. Básica	3500	3500	3500	3500	3500	3964	4428	4892	5356	5881	6467	7116	7826	8605	9462
Nov. Reprod.	0	0	0	0	1164	1164	1164	1164	1318	1472	1627	1781	1955	2150	2366
Substituição	0	0	0	0	-700	-700	-700	-700	-793	-886	-978	-1071	-1176	-1293	-1423
Acréscimo	0	0	0	0	464	464	464	464	525	586	649	710	779	857	943
Total	3500	3500	3500	3500	3964	4428	4892	5356	5881	6467	7116	7826	8605	9462	10405
TE															
Pop. Básica	3500	3500	3500	3500	3500	4429	5358	6442	7680	9190	10998	13166	15757	18858	22569
Nov. Reprod.	0	0	0	0	1629	1629	1784	1938	2396	2880	3456	4127	4939	5911	7075
Substituição	0	0	0	0	-700	-700	-700	-700	-886	-1072	-1288	-1536	-1838	-2200	-2633
Acréscimo	0	0	0	0	929	929	1084	1238	1510	1808	2168	2591	3101	3711	4442
Total	3500	3500	3500	3500	4429	5358	6442	7680	9190	10998	13166	15757	18858	22569	27011
FIV															
Pop. Básica	3500	3500	3500	3500	3500	9666	15832	32249	58917	113491	213012	404891	764871	1449266	2742006
Nov. Reprod.	0	0	0	0	6866	6866	17117	27368	56507	102687	198329	371763	707093	1335342	2530568
Substituição	0	0	0	0	-700	-700	-700	-700	-1933	-3166	-6450	-11783	-22698	-42602	-80978
Acréscimo	0	0	0	0	6166	6166	16417	26668	54574	99521	191879	359980	684395	1292740	2449590
Total	3500	3500	3500	3500	9666	15832	32249	58917	113491	213012	404891	764871	1449266	2742006	5191596

Quadro 2. Aumento potencial da produção de leite por lactação considerando-se os três sistemas de reprodução.

Sistema de Reprodução	Número de Produtos		Aumento Potencial de leite (ton) via	
	Machos ^a	Fêmeas ^b	Machos	Fêmeas
IA	116	81	152,36 ^c	36,45
TE	582	407	761,80	183,15
FIV	5.819	4.073	7.618,02	1.832,85

^a Machos em idade de monta natural, filhos de matrizes elites (PTA média de 300 kg) e touros provados (PTA média de 150 kg)

^b Filhas paridas de matrizes elites e touros provados

^c Produção potencial considerando-se que cada macho foi acasalado via monta natural com 25 vacas de VG=0

Os resultados aqui simulados para o aumento potencial da produção de leite, com base em uma população composta por animais zebuínos, são extrapoláveis quando a utilização destes for feita para em cruzamentos. No caso das populações puras serem utilizadas para produzirem animais cruzados (F1 principalmente), é necessário se fazer o devido ajuste do aumento da população considerando-se que apenas cerca de 40% seria utilizada para manter a população pura estável e que 60% seriam utilizados para o cruzamento. Nesta situação, apenas as técnicas de TE e FIV permitiriam o aumento da população dos zebuínos selecionados para leite.

3) GENÉTICA MOLECULAR

Os avanços nas tecnologias de DNA, nos últimos dez anos, oferecem possibilidades de se identificar animais geneticamente superiores de uma forma mais direta. Na maioria dos organismos superiores, apenas cerca de 3% do genoma de um indivíduo é constituído por genes, sendo o restante do genoma composto por seqüências de DNA estrutural. Existem inúmeras regiões no genoma que contêm seqüências repetidas simples denominadas microssatélites, por exemplo, poly(TG), poly(AT), poly(CAC). Estas seqüências repetidas estão espalhadas por todo genoma e por isto têm sido amplamente utilizadas como marcadores moleculares, tendo sido aplicadas no melhoramento animal e também na confirmação de genealogia.

A importância dos marcadores moleculares de DNA no estudo de características de importância econômica é que eles não têm nenhum efeito sobre a característica. Todavia, se um determinado marcador estiver localizado perto de um gene de interesse (por exemplo, para maior síntese de proteína do leite), ele tende a ser herdado conjuntamente. Assim, por meio da identificação do marcador teremos boa chance de identificar os indivíduos que possuem o gene desejável.

Com o desenvolvimento de marcadores moleculares de DNA, que permitem o monitoramento da segregação de seqüências de DNA transmitidas de pai para filho, vários genes de interesse econômico poderão ser identificados no genoma bovino, possibilitando selecionar animais mais eficientemente. O ganho genético, para características de difícil mensuração, baixa herdabilidade e limitadas pelo sexo, poderá ser aumentado com a utilização da seleção assistida por marcadores (MAS). Para que a MAS possa ser aplicada comercialmente, é necessária a identificação e caracterização de locos de caracteres quantitativos (QTLs), que são regiões no genoma significativamente associadas a caracteres de interesse. A seleção para alelos de um QTL é uma nova forma de seleção genética. Os princípios envolvidos nas técnicas da genética quantitativa são relevantes para as formas de seleção que são qualitativas.

3.1 Seleção Assistida por Marcadores (MAS)

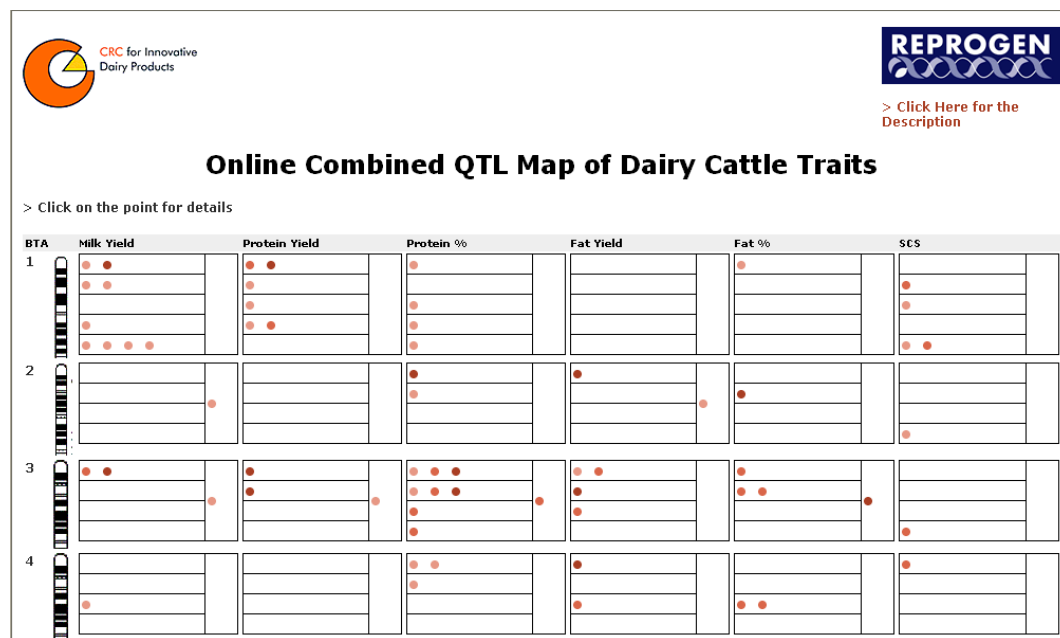
A aplicação do conhecimento da genética molecular nos programas de melhoramento animal depende da integração das seguintes áreas: a) genética molecular - técnicas para detecção de polimorfismos na seqüência do DNA (marcadores moleculares); b) mapeamento de QTLs – detecção e estimação da associação de regiões genômicas com características de importância econômica; c)

avaliação genética – integração dos dados genéticos e fenotípicos em modelos estatísticos para estimar o mérito genético dos animais; e d) seleção assistida por marcadores – desenvolver estratégias genéticas para o uso das informações moleculares em programas de acasalamentos e seleção. Assim, o desenvolvimento simultâneo dessas áreas pode levar à implementação, com sucesso, das estratégias da seleção assistida por marcadores (MAS).

A seleção assistida por marcadores (MAS) utiliza-se das informações de regiões específicas dos cromossomos, em que os genes que afetam as características quantitativas (QTL) estão localizados, para identificar indivíduos com combinações favoráveis de QTLs. Quando a MAS é comparada à seleção baseada apenas no fenótipo, ela pode ser mais precisa, pois não é afetada pelos efeitos do meio ambiente, não é limitada pelo sexo e não requer testes caros ou que destruam o indivíduo. A MAS pode ser realizada bem cedo na vida do indivíduo, reduzindo o intervalo de gerações. Pode ainda incluir todos os indivíduos e mesmo aqueles que ainda não nasceram, por meio da análise do genótipo do embrião, e aumentando a intensidade de seleção. Existem três fases no desenvolvimento de programas de seleção com auxílio de marcadores. Na fase de detecção, os polimorfismos do DNA são utilizados como marcadores para detectar QTLs que estejam segregando em determinadas populações com frequências alélicas específicas. Quando um ou mais alelos associados com o QTL são identificados, o efeito do alelo do QTL determinado e a sua posição no genoma são estimados. Na fase de avaliação, os marcadores são testados em populações-alvo ou em famílias para determinar se o QTL está segregando nestas populações. Na fase de implementação, os marcadores são utilizados dentro e entre famílias para gerarem um banco de dados de genótipos. Estes dados serão então combinados com as informações fenotípicas e de *pedigree* na avaliação do mérito genético dos indivíduos dentro de uma população.

Vários QTLs têm sido detectados em populações experimentais e comerciais de bovinos, suínos e ovelhas. Em gado de leite têm sido reportados marcadores para produção de leite e seus componentes (Cowan et al., 1990; Hoeschele e Meinert, 1990; Bovenhuis et al., 1992; Georges et al., 1995), para produção de queijo (Graham et al., 1984), para a Síndrome de “Weaver” (Georges et al., 1993a) e para BLAD (Shuster et al., 1992; Kehrlí et al., 1994).

Entretanto, tais estudos são realizados em populações distintas, com diferentes mapas de ligação e características produtivas e reprodutivas. No intuito de reunir, uniformizar e sintetizar as informações disponíveis na literatura, Khatkar et al. (2004) realizaram uma meta-análise para obter um mapa de consenso em relação às localizações dos QTLs e aos efeitos de substituição alélica desses QTLs, que está disponível em uma página da Internet (http://www.vetsci.usyd.edu.au/reprogen/QTL_Map/). Nesta página (Figura 1), é possível acessar uma base de dados contendo informações resumidas acerca de cada um dos trabalhos utilizados na meta-análise, facilitando as comparações. Tais trabalhos foram desenvolvidos usando varreduras genômicas parciais e totais, varreduras de único cromossomo e de mapeamento fino, contendo todas as publicações disponíveis até o momento, pois as atualizações são feitas periodicamente.



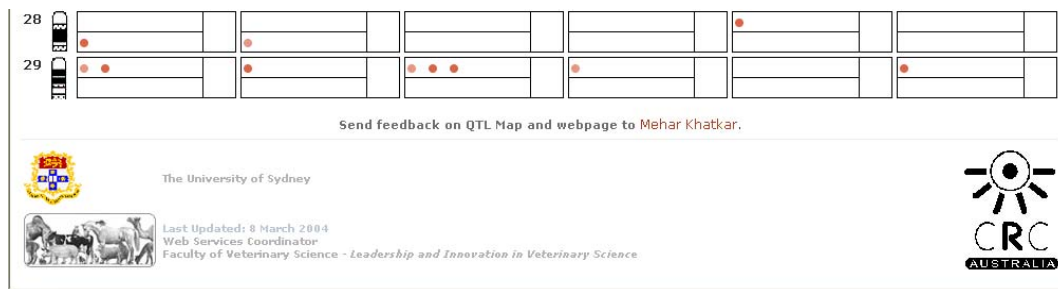


Figura 1. Mapa mostrando QTLs, em bovinos de leite, para as características de produção de leite, de proteína, de gordura, percentagem de proteína e de gordura e contagem de células somáticas para os 29 cromossomos autossômicos.

Os pontos no mapa mostram QTLs relatados sobre o genoma dos bovinos a intervalos de 30 cM. Cada ponto representa um diferente QTL e a intensidade da cor do ponto indica o nível de significância para ele: ● $P < 0,001$; ● $0,001 < P < 0,01$; e ● $0,01 < P < 0,05$. Clicando sobre os pontos, pode-se acessar uma tabela contendo informações detalhadas sobre a população de origem e o delineamento, método analítico, mapa de ligação usado, posição do QTL e intervalo de confiança, teste estatístico usado, intensidade do efeito e a referência da publicação.

Estudos de simulação têm investigado a taxa extra de resposta à seleção com a incorporação de marcadores moleculares nas avaliações genéticas (Lande e Thompson, 1990; Zhang e Smith, 1992; Gimelfarb e Lande, 1994; Whittaker et al., 1995; Meuwissen e Goddard, 1996). A magnitude do aumento do ganho genético é dependente do número de gerações de seleção, tamanho e estrutura da população, número de marcadores, herdabilidade da característica, magnitude do efeito do QTL, distância entre marcador e QTL, e da eficiência da seleção sem a informação dos marcadores. Em geral, os benefícios da MAS são maiores em situações em que a seleção tradicional é limitada ou ineficiente. Isto inclui a seleção para características de baixa herdabilidade, de difícil mensuração (resistência a parasitas, doenças, eficiência alimentar, características de carcaça etc.) e limitadas pelo sexo. Visscher et al. (2000) afirmaram que, com o uso da MAS, maiores ganhos genéticos seriam obtidos em programas de melhoramento, quando comparados aos ganhos obtidos pelos métodos tradicionais. Obviamente, este aumento é dependente dos parâmetros genéticos assumidos, como herdabilidade da característica, tipo e tamanho do efeito do QTL, frequência do QTL e frequência de recombinação entre marcador e QTL. No entanto, alguns problemas relacionados com a MAS, como o alto custo e inconsistência dos efeitos do marcador em populações diferentes, foram relatados por Webb (2000), que ainda afirmou que, no estágio atual, o uso da MAS é arriscado, enquanto a seleção pelo BLUP já possui eficiência comprovada e menores custos. Em relação aos ganhos genéticos obtidos por BLUP e pela MAS, segundo Corrêa (2001), no longo prazo, a menor eficiência do BLUP é minimizada.

Uma boa discussão sobre a resposta à seleção com MAS foi apresentada por Dekkers (1999). Nesse trabalho são discutidos os principais aspectos que podem levar a menor resposta com a MAS em relação à seleção tradicional. Um ponto importante a ser considerado, conforme apresentado pelo autor, está relacionado à otimização do peso que se deve dar ao QTL em relação ao efeito poligênico quando de sua incorporação no modelo. No trabalho de Dekkers e Van Arendonk (1998) é mostrado que o uso da MAS pode resultar em maiores ganhos comparada à seleção tradicional, independentemente do número de gerações simuladas. Dekkers (1999) simulou a resposta à seleção com a otimização do peso do QTL no modelo *versus* a seleção tradicional para uma série de parâmetros. Nesse trabalho ele verificou que os benefícios da seleção otimizada foram maiores para as frequências gênicas intermediárias e aumentaram com o aumento dos efeitos aditivos e de dominância em até 9%. Quando a frequência gênica foi menor que 0,05 ou maior do que 0,85, a resposta extra foi mínima. O autor concluiu dizendo que, dependendo do grau de dominância, efeito e frequência do QTL, sempre será necessário se otimizar a seleção com base no QTL, mesmo que o objetivo seja maximizar o ganho em uma única geração.

Como exemplo prático da utilização da seleção assistida por marcadores em bovinos, pode ser citado o trabalho desenvolvido por Maillard et al. (2003), na Martinica, no qual animais da raça Brahman foram selecionados para os alelos *9 e *45 do gene Bola DRB3.2. Esses alelos, de acordo com os autores,

estão associados a maior suscetibilidade à dermatofilose, doença responsável por alta mortalidade de bovinos e, conseqüentemente, grandes prejuízos econômicos àquele país.

Um programa de implementação da MAS para características de produção, reprodução e resistência à mastite, em gado de leite, foi iniciado na França, em 2000 (Boichard et al., 2002). Este programa, desenvolvido no âmbito nacional, envolve três raças de bovinos leiteiros (Holandesa, Normanda e Montbéliarde) e oito empresas privadas.

4. OUTRAS CONSIDERAÇÕES

4.1 Ovulação múltipla e transferência de embriões (MOET)

Uma alternativa para aumentar a taxa de ganho genético em uma população é por meio da superovulação de vacas de mérito genético superior e a posterior coleta e transferência de embriões (MOET). Nicholas e Smith (1983) introduziram o conceito MOET em um esquema de melhoramento para aumentar o ganho genético em 30% na seleção de uma característica. A diminuição do intervalo de gerações, mais do que compensa a perda da precisão devido à seleção apenas pelo *pedigree*. Joen et al. (1990) usaram simulação para avaliar diversos esquemas de MOET e na maioria dos casos estudados, o ganho genético obtido com o MOET foi superior ao ganho obtido via teste de progênie.

Esquemas alternativos de MOET têm sido estudados por muitos autores. McDaniel e Cassell (1981) fizeram um resumo sobre os usos alternativos da TE e seus efeitos sobre as taxas de ganho genético. Powell (1981) avaliou as possibilidades de erros nas avaliações genéticas, principalmente para mães de touros, que poderiam resultar da TE. Dekkers e Shook (1990) estimaram, por meio de simulação, que o valor presente da taxa de retorno de 20 anos de um esquema de seleção em um núcleo aberto de MOET foi de 10 a 20% maior do que o do teste de progênie convencional.

A maioria dos cálculos do ganho genético para a seleção com MOET pressupõe que todos os embriões viáveis transferidos irão produzir o número esperado de fêmeas, e que o ganho genético esperado pela seleção de irmãos também será obtido. Essas pressuposições a respeito do ganho esperado em geral não são obtidas. A outra razão de não se obter o ganho genético esperado é a herança citoplasmática das mitocôndrias que são transmitidas maternamente. Diante disso, as diferenças entre vacas, que são devido aos efeitos do RNA mitocondrial, são incluídas como parte da expressão fenotípica das características de importância econômica. Assim, quando a seleção de fêmeas é utilizada, os efeitos destas mitocôndrias são incluídos na estimativa do valor genético da fêmea, mas não são transmitidos através de seus irmãos machos para as filhas destes, produzindo assim um erro na diferença predita dos touros jovens nos esquemas MOET. A correção para este efeito pode ser facilmente realizada, incluindo-se no modelo de avaliação genética, um efeito fixo para cada linha materna, que pode ser considerada fixa por não ocorrer segregação e recombinação no RNA mitocondrial, pois ele passa intacto da mãe para as filhas. As linhas maternas podem ser definidas, voltando-se no *pedigree* materno até a uma vaca fundadora de populações que esteja registrada. Outra forma seria a utilização de marcadores mitocondriais, para características de importância econômica, visando ao ajuste das diferenças por causa destes efeitos sobre o fenótipo das fêmeas.

Um problema com este esquema é o aumento da taxa de consangüinidade em populações pequenas, como no caso da seleção combinada com MOET. Todavia, o uso de sondas de DNA para escolher os animais geneticamente mais divergentes entre aqueles aparentados, pode minimizar os efeitos da consangüinidade.

4.2) Mitocôndrias

Outra fonte de variação genética que pode ser útil no futuro são as mitocôndrias, que produzem mais de 90% da energia nos mamíferos e tem sido denominada a “casa de energia” da célula.

As vacas leiteiras usam uma quantidade enorme de energia e entender a função das mitocôndrias e desenvolver alguma forma de selecionar linhagens maternas com mitocôndria superior pode levar ao aumento da produção. As mitocôndrias têm seu próprio DNA (mtDNA) e são herdadas da mãe. As fêmeas transmitem mitocôndrias para seus filhos e filhas, mas os filhos não transmitem mitocôndria para suas filhas ou filhos. Na produção de uma vaca estão incluídos os efeitos do DNA do núcleo e das mitocôndrias. Assim, se uma vaca tem um efeito bom ou ruim da mitocôndria, isto irá afetar a sua

produção e a sua habilidade de transmissão pode ser super ou subestimada. Se a vaca é uma mãe de touro, o efeito da sua mitocôndria será transmitido para o seu filho, mas ele não transmitirá mitocôndria para suas filhas. Dessa forma, a PTA pode estar viesada positiva ou negativamente. As PTAs dos touros pode e provavelmente serão ajustadas para o efeito de mitocôndria de suas mães e dessa forma aumentarão a precisão da seleção.

4.3 Saúde Animal

Os avanços na medicina veterinária e as pesquisas na área zootécnica tiveram considerável impacto na produção animal pelo controle ou pela eliminação de algumas das devastadoras doenças que afetam a indústria animal. Apesar destes avanços, as doenças continuam a ser o fator de maior impedimento à obtenção de produções mais eficientes, sendo responsável por cerca de 20% das perdas do potencial de produção nos Estados Unidos (AAVMC, 1984). As perdas por doenças infecciosas derivam não apenas da morte dos animais, mas também da perda da eficiência dos que sobrevivem. No Brasil, perdas equivalentes a 50 kg de ganho de peso foram registradas em bezerros de até 12 meses de idade (Ploeger et al., 1990). Segundo Honer e Gomes (1990), um bovino infestado com carrapato e vermes, se não for tratado, sofre perdas de 18 a 47 kg de peso/ano. Furlong et al. (1996) estimaram em fêmeas mestiças Holandês-Zebu queda na produção de 23% devido à infestação por carrapatos. Semelhantemente, Teodoro et al. (1998) verificaram perda de 26% (529 kg) na produção de leite por lactação em vacas holandesas infestadas com carrapatos.

4.4 Seleção para resistência a doenças

Em geral, o acréscimo na produção vem acompanhado por aumento da incidência de distúrbios da saúde, a menos que as práticas de manejo possam aliviar esses problemas. Mesmo com os avanços na medicina veterinária, no manejo, no conhecimento da zootecnia, as doenças continuam a ser a maior barreira para uma produção eficiente. Nos Estados Unidos, as doenças são responsáveis por perdas de cerca de 20% da produção potencial. Apenas a perda por mastite custa aos produtores americanos pelo menos US\$ 1 bilhão por ano. Em virtude destes aspectos, existem algumas razões para se selecionar, no futuro, para resistência a doenças: I) o que acontecerá se o uso de todos os antibióticos e drogas forem proibidos para vacas em lactação; II) com o aumento da produção, maiores problemas de saúde tendem a aparecer; e III) tratamento “ético” das vacas.

O gado de leite está sujeito a ampla variedade de problemas metabólicos e doenças infecciosas e, em razão disso, o melhoramento genético deve ser feito para resistência a uma gama de distúrbios. Uma das grandes preocupações é saber se é possível selecionar para resistência a doenças em geral. A literatura mostra que existe variação genética para a resistência a doenças em muitas espécies, incluindo todas as grandes espécies animais. Na Noruega e Suécia, os antibióticos e as drogas somente podem ser administrados por veterinários e eles devem reportar o tratamento utilizado a cada animal a uma central. Essas informações têm sido utilizadas, juntamente com as de produções e tipo, para seleção. Nos programas de melhoramento de gado leiteiro da Noruega, desde 1978, a cetose e a mastite têm sido incluídas como critério de seleção de touros. Eles estimam que a incidência de mastite tenha diminuído em 2,2% por geração de touro. Todavia, este declínio foi acompanhado de uma redução de 15% na produção de leite. Existem, todavia, touros nos Estados Unidos que parecem ser superiores em características indicadoras de menor incidência de mastite e também superiores para a produção.

O grande problema é saber o que fazer quando não há ainda uma boa base de dados sobre os distúrbios da saúde do animal. Nessa situação, a seleção indireta pode ser solução. A alternativa indireta é medir a resposta imunológica e tipos de antígenos do linfócito bovino (BoLA) nos touros das centrais de IA para prever a saúde de suas filhas sob condições de campo. O sistema BoLA nos bovinos é equivalente ao complexo maior de histocompatibilidade em humanos e está associado com diferenças em saúde dos animais. Estudos nesta área sugerem que no futuro estes conhecimentos poderão ser utilizados na seleção indireta de indivíduos que transmitirão a suas progênes maior resistência às doenças em geral.

Os efeitos genéticos que predisõem os animais a doenças letais ou semiletais tendem a se tornar menos importantes. Isto é porque os conhecimentos em imunogenética e genética molecular estão

avançando muito rápido e têm permitido detectar animais que são portadores dos genes destes tipos de doenças. Ocasionalmente, um gene que predispõe a uma condição desfavorável está ligado a genes para o aumento da produção, como é o caso do gene “weaver” no gado Pardo-Suíço. A condição “weaver” se expressa geralmente antes do parto e os transforma em animais sem utilidade. Ela está associada a um aumento de cerca de 740 kg de leite e 28 kg de gordura. Este exemplo ilustra como um gene desfavorável permanece em uma população e indica como transplante de genes ou terapia de genes pode ser útil.

5. CONCLUSÕES

Os aspectos abordados neste trabalho mostram claramente que é possível se aumentar o ganho genético, mesmo quando as populações são pequenas. O uso de métodos/modelos matemáticos mais apropriados para uma determinada situação permite obter estimativas mais precisas e conseqüentemente influenciar positivamente a resposta à seleção. Simplesmente com o uso de avaliações simultâneas para mais de uma característica que sejam correlacionadas, há maior precisão das estimativas, levando ao aumento da resposta à seleção. Semelhantemente, a redefinição de um efeito no modelo, como, por exemplo, a estação de parição, pode influenciar a taxa de ganho. A aplicação da Inferência Bayesiana, da análise usando o dia do controle etc., que atualmente são possíveis de ser implementadas, dado que a capacidade computacional não é mais problema, terão cada vez mais efeitos significativos na qualidade das estimativas que se utiliza nos programas de melhoramento.

Não resta a menor dúvida de que são as tecnologias reprodutivas atualmente disponíveis que podem causar enorme impacto na taxa de ganho. A TE e/ou FIV com o uso de sêmen sexado certamente irão promover grande impacto na taxa de ganho genético animal, principalmente nos sistemas de produção onde o manejo reprodutivo é mais organizado. Necessário dizer, ainda, que é a IA que pode promover grande impacto na melhoria da qualidade genética dos animais, apesar de sua baixa utilização no Brasil.

As ferramentas disponíveis com o avanço da genética molecular deverão ser, a cada dia que passa, mais e mais utilizadas. A combinação delas com as técnicas reprodutivas e com o uso de modelos matemáticos que possam incorporá-las fará com que as taxas de ganho sejam maximizadas. Essa tecnologia veio para ficar e os programas de melhoramento que a ignorarem certamente serão ultrapassados.

Outros fatores e condições serão também muito importantes nos programas futuros de melhoramento de bovinos de leite. Por exemplo: como incluir nos programas de seleção os efeitos da herança mitocondrial? Possivelmente será muito importante avaliarmos, em nossas condições, a magnitude deste efeito e, a partir daí, como podemos utilizá-lo para aumentar o ganho genético. Também, como incluir em nossos programas de seleção a ênfase em outras características que venham a reduzir os custos de produção sem afetar o desempenho produtivo? A seleção de animais mais resistentes a endo e ectoparasitas e a algumas doenças certamente terá um papel cada vez mais relevante na elaboração de programas de seleção. Em resumo, pode-se dizer que as tecnologias estão disponíveis, novos conhecimentos estão sendo gerados muito mais rapidamente do que nós, melhoristas, estamos sendo capazes de utilizá-los. A aplicação delas certamente promoverá a melhoria dos nossos sistemas produtivos de uma forma mais sustentável.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WORKSHOP ON ANIMAL HEALTH RESEARCH IN AMERICAN AGRICULTURAL RESEARCH, 1984, Petit Jean Mountain, Morrilton, AR. **Report...** Petit Jean Mountain: AAVMC - Association of American Veterinary Medical Colleges, Council of Deans, 1984. Report of a Winrock Int. Conf. Ctr.

AVERY, B.; MADISON, V. GREVE, T. Sex and development in bovine in-vitro fertilized embryos. **Theriogenology**, v. 35, p. 953-963, 1991.

BOICHARD, D.; FRITZ, S.; ROSSIGNOL, M. N. et al. Implementation of marker-assisted selection in French dairy cattle. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 7., 2002, Montpellier. **Anais...** Montpellier: WCGALP, 2002. 1 CD.

- BOVENHUIS, H.; VAN ARENDONK, J. A. M.; KORVER, S. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. **J. Dairy Sci.**, v. 75, p. 2549-2559, 1992.
- BREDBACKA, P.; VELMALA, R.; PEIPPO, J.; BREDBACKA, K. Survival of biopsied and sexed bovine demi embryos. **Theriogenology**, v. 41, p. 1023-1031, 1994.
- CALLESEN, H.; LIBORIUSSEN, T.; GREVE, T. Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer un cattle. **Anim. Rep. Sci.**, v. 42, p. 215-226, 1996.
- CARVALHEIRA, J.; POLLAK, E. J.; QUASS, R. L.; BLAKE, M. R. W. An autoregressive repeatability animal model for test-day records in multiple lactations. **J. Dairy Sci.**, v. 85, n. 8, p. 2040-2045, 2002.
- CORRÊA, F. J. C. **Avaliação de métodos tradicionais, assistida por marcadores moleculares e por genes candidatos, com dados simulados.** 2001. 65p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- COTINOT, C.; McELREAVEY, K.; FELLOUS, M. Sex determination: genetic control. In: THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M. C.; HUNTER, H. F. (Ed.). **Reproduction in Mammals and Man.** Paris: Ellipses, 1993. p. 213-226.
- COWAN, C. M.; DENTINE, M. R.; AX, R. L.; SCHULER, L. A. Structural variation around prolactin gene linked to quantitative traits in an elite Holstein sire family. **Theor. Appl. Genet.**, v. 79, p. 577-582, 1990.
- CUNNINGHAM, E. P.; SYRSTAD, O. Crossbreeding *Bos indicus* and *Bos taurus* for milk production in the tropics. **FAO Animal Production and Health Paper**, n. 68, 1988. 90 p.
- DE BOER, I. J. M.; MEUWISSEN, T. H. E.; VAN ARENDOK, J. A. M. Combinig the genetic and clonal responses in a closed dairy cattle nucleus scheme. **Anim. Prod.**, v. 59, p. 345-358, 1994.
- DEKKERS, J. C. M.; SHOOK, G. E. Genetic and economic evaluation of nucleus breeding schemes for commercial artificial insemination firms. **J. Dairy Sci.**, v. 73, p. 1926, 1990.
- DEKKERS, J. C. M.; Van ARENDONK, J. A. M. Optimizing selection for quantitative traits with information on an identified locus in outbred populations. **Genet. Res.**, Camb., v. 71, p. 257-275, 1998.
- DEN DAAS, N.; MERTON, S. *In vitro* embryo production, its use. In: SCIENTIFIC MEETING OF A.E.T.E., 10., 1994, Lyon, France. **Proceedings...** Lyon, 1994. p. 117-124.
- DUFOR, E.; MARQUANT-LE GUIENNE, B.; THUARD, J. M.; ESPOSITO, L.; THIBIER, M. Sex related differential development rate of *in vitro* produced bovine embryos. In: SCIENTIFIC MEETING OF A.E.T.E., 10., 1994, Lyon, France. **Proceedings...** Lyon, 1994. p. 166.
- FREEMAN, A. E.; LINDBERG, G. L. Challenges to dairy cattle management: Genetic considerations. **J. Dairy Sci**, v. 76, n. 10, p. 3143-3159, 1993.
- FURLONG, J.; DEREZ, F.; MATOS, L.L.; BALBI, M.V. The effect of cattle tick *Boophilus microplus* (*Acari Ixodidae*) infestation on feed intake and milk yield of Holstein x Zebu crossbred cows. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE VETERINÁRIA, 15., 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 1996. p. 340.
- GEORGES, M.; DIETZ, A. B.; MISHRA, A.; NIELSEN, D.; SARGEANT, L. S.; SORENSEN, A.; STEELE, M. R.; ZHAO, X.; LEIPOLD, H.; WOMACK, J.; LATHROP, M. Microsatellite mapping of

the gene causing weaver disease in cattle will allow the study of a associated quantitative trait locus. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 90, p. 1058-1062, 1993.

GEORGES, M.; NIELSEN, D.; MACKINNON, M.; MISHRA, A.; OKOMOTO, R.; PASQUINO, A. T.; SARGEAN, L. S.; SORENSEN, A.; STEELE, M. R.; ZHAO, X.Y.; WOMACK, J. E.; HOESCHLE, I. Mapping, quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. **Genetics**, v. 139, p. 907-920, 1995.

GIMELFARB, A.; LANDE, R. Simulation of marker-assisted selection in hybrid populations. **Genet. Res. Camb.**, v. 63, p. 39-47, 1994.

GORDON, I. Laboratory Production of Cattle Embryos. *Biotechnology in Agriculture*. **CAB International**, Wallingford, UK, n. 11, 1994. 640p.

GRAHAM, E. R. B.; McLEAN, D. M.; ZUIEDRANS, P. The effect of milk protein genotypes on the cheesemaking properties of milk and on yield of cheese. In: CONF. AUSTR. ASSOC. ANIM. BREED. GENET., 4., 1984, Adelaide. **Proceedings...** Adelaide, 1984. p. 136.

GREVE, T.; AVERY, B.; CALLENSSEN, H. Viability of in-vivo and in-vitro produced embryos. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 28, p. 164-169, 1993.

HANSEL, W.; GODKE, R. A. Future perspectives on animal biotechnology. **Animal Biotechnology**, v. 3, p. 111-137, 1992.

HOESCHELE, I.; MEINERT, T. R. Association of genetic defects with yield and type traits: the weaver locus effect on yield. **J. Dairy Sci.**, v. 73, p. 2503-2515, 1990.

HONER, M. R.; GOMES, A. **O manejo integrado de mosca dos chifres, berne e carrapatos em gado de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1990. (Embrapa Gado de Corte. Circular Técnica, 22.)

HOSSEPIAN, V.; FRANCESCHINI, P. H.; RODRIGUES, L. H.; RAMALHO, M. D. Seleção do sexo em bovinos. **O Embrião**, n. 3, p. 4-7, 1997.

JARVIS, L. S. **The Potencial Effect of Two New Biotechnologies on the World Dairy Industry**. Westview: Press. Boulder. CO, 1996.

JOEN, G. L.; MAO, I. L.; JENSEN, J.; FERRIS, T. A. Stochastic modeling of multiple ovulation and embryo transfer breeding schemes in small closed dairy populations. **J. Dairy Sci.**, v. 73, p. 1938, 1990.

KEHRLI, M. E.; ACERMANN, M. R.; SHUSTER, D. E.; GILBERT, R. O.; RYNCARZ, R. E. Bovine leukocyte adhesion deficiency. *Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* v. 21, p. 157-163, 1994.

LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, v. 124, p. 743-756, 1990.

LIDAUER, M.; MANTYSAARI, E. A.; STRANDÉN, I.; POSO, J. Multiple-trait random regression test-day model for all lactations. **Interbull.**, v. 25, p. 1-6, 2000.

LOHUIS, M. M. Potential benefits of bovine embryo-manipulation technologies to genetic improvement programs. **Theriogenology**, v. 43, p. 51-60., 1995.

MADALENA, F. E.; TEODORO, R. L.; LEMOS, A. M.; MONTEIRO, J. B. N.; BARBOSA, R. T. Evaluation of strategies for crossbreeding of Dairy Cattle in Brazil. **J. Dairy Sci.**, v. 73, p. 1887-1901, 1990.

- MAILLARD, J. C.; BERTHIER, D.; CHANTAL, I. et al. Selection assisted by a BoLA-DR/DQ haplotype against susceptibility to bovine dermatophilosis. **Genet. Sel. Evol.**, v. 35, Suppl. 1, S193-S200, 2003.
- MARTINEZ, M. L.; LEE, A. J.; LIN, C. Y. Age and Zebu-Holstein additive and heterotic effects on lactation performance and reproduction in Brazil. **J. Dairy Sci.**, v. 71, p. 800-808, 1988.
- McDANIEL, B. T.; CASSEL, B. G. Alternative uses of embryo transfer and their effect on rate of genetic changes. **J. Dairy Sci.**, v. 64, p. 2484, 1981.
- MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E. The use of marker-haplotypes in animal breeding schemes. **Genet. Sel. Evol.**, v. 28, p. 161-176, 1996.
- NICHOLAS, F. W.; SMITH, C. Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. **Anim. Prod.**, v. 36, p. 341, 1983.
- PLOEGER, H. W.; KLOOSTERMAN, A.; EYSKER, M.; BORGSTEEDE, F. H. M.; VAN STRAALEN, W.; VERHOEFF, J. Effect of naturally occurring nematode infections on growth performance of first season grazing calves. **Veterinary Parasitology**, v. 35, p. 307-322, 1990.
- POWELL, R. L. Possibles rates of embryo transfers on evaluation of bulls and cows. **J. Dairy Sci.**, v. 64, p. 2476, 1981.
- RUANE, J.; GUNNAR, K.; SEHESTED, E. Views of the potential impact of cloning on animal breeding and production. **Acta Agric. Scand.**, Sect. A. Animal Sci., v. 47, p. 209-212, 1997.
- SHUSTER, D. E.; KEHRLI, M. E.; ACKERMANN, M. R.; GOLBERT, R. O. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 89, p. 9225-9229, 1992.
- SWALVE, H. H. Test day models in the analysis of dairy production data – a review. **Arch. Tierz.**, v. 38, v. 6, p. 591-612, 1995.
- TEEPKER, G.; SMITH, C. Combining clonal response and genetic response in dairy cattle improvement. **Anim. Prod.**, v. 49, p. 163, 1989.
- TEODORO, R. L.; LEMOS, A. M.; MADALENA, F. E. Effects of ticks *Boophilus microplus* infestations on milk yield of *Bos taurus/Bos indicus* crosses. In: Proceeding of the 6th World Congress on Genetic Applied to Livestock Production. v. 27, p. 137-180, 1998.
- TERVIT, H. R. *In vitro* production of cattle embryos. In: WELCH, R. A. S.; BURNS, D. J. W.; DAVIS, S. R.; PROPAY, A. I.; PROSSER, C. G. (Ed.). **Milk Composition, Production and Biotechnology**. Wallingford, UK: CAB Internacional, 1997. p. 341-355.
- THOMSEN, P. D.; SCHWERIN, M.; POULSEN, P. H.; AVERY, B. Sex determination of bovine embryo biopsies using in situ hybridization. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 26, p. 66-69, 1991.
- TROUNSON, A. The production of ruminant embryos in vitro. *Animal Reproduction Science*, v. 28, p. 125-137, 1992.
- VALDIVIA, R. P. A.; KUNIEDA, T.; AZUMA, S.; TOYODA, Y. PCR sexing and developmental in preimplantation mouse embryos fertilized and cultured *in vitro*. **Mol. Reprod. Dev.**, v. 35, p. 121-126, 1993.

VISSCHER, P.; PONG-WONG, R.; WHITTEMORE, C.; HALEY, C. Impact of biotechnology on (cross)breeding programmes in pigs. **Livest. Prod. Sci.**, v. 65, n. 1-2, p. 57, 2000.

ZHANG, W.; SMITH, C. Computer simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium. **Theor. Appl. Genet.**, v. 83, p. 813-820, 1992.

WEBB, J. New oportunities for genetic change in pigs. **Advances in pork production**, v. 11, p. 83, 2000.

WHITTAKER, J. C.; CURNOW, R. N.; HALEY, C. S.; THOMPSON, R. Using marker-maps in marker-assisted selection. **Genet. Res. Camb.**, v. 66, p. 255, 1995.