



Instituto Politécnico de Coimbra

Escola Superior Agrária de Coimbra

Licenciatura em Biotecnologia

Relatório de Estágio

Profissionalizante

Identificação de SNPs nos genes da prolactina e do recetor da prolactina e sua associação com a produção e a qualidade do leite em ovelhas Assaf.

Daniela Sofia de Sousa Teixeira Ribeiro

20150238

Coimbra, 2018



Instituto Politécnico de Coimbra

Escola Superior Agrária de Coimbra

Licenciatura em Biotecnologia

Relatório de Estágio

Profissionalizante

Identificação de SNPs nos genes da prolactina e do recetor da prolactina e sua associação com a produção e a qualidade do leite em ovelhas Assaf.

Orientador interno: Prof. Doutor Fernando José dos Santos Delgado

Orientador externo: Doutora Maria do Rosário Fernandes Marques

Local do estágio: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

Daniela Sofia de Sousa Teixeira Ribeiro

20150238

Coimbra, 2018

Trabalho realizado no âmbito do projeto ALT20-03-0145-FEDER-000019 – GenPrOv: “Marcadores Genéticos para a Produção e qualidade do leite em Ovelhas da raça Assaf”, financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), Portugal 2020 e Alentejo 2020¹.

¹

Cofinanciado por:



Resumo

A produção de leite pode ser influenciada por diversos fatores, sendo um deles o potencial genético do animal. Desta forma, polimorfismos de um único nucleótido (SNPs) têm sido estudados em vários genes, como por exemplo no gene da prolactina (*PRL*) e do recetor da prolactina (*PRLR*), e associados com a produção e qualidade do leite em diferentes espécies. A *PRL* desempenha várias funções, designadamente no desenvolvimento da glândula mamária e na síntese de leite, a qual se designa por lactogénese. O *PRLR*, ativado pela *PRL*, destaca-se pela capacidade de atuar em cascatas de sinalização onde a via mais conhecida é a de Jak-STAT.

O objetivo do presente trabalho é aprofundar o conhecimento acerca de cinco SNPs do gene da *PRL* e de quatro no gene do *PRLR* e encontrar possíveis associações entre esses SNPs e a produção e qualidade do leite em ovelhas Assaf.

Os fragmentos contendo os SNPs de interesse, foram amplificados em simultâneo por PCR-multiplex e os SNPs foram analisados pelo método de extensão de uma única base em 450 ovelhas da raça Assaf. Verificou-se que os nove SNPs são polimórficos em ovelhas Assaf. A análise estatística indicou a existência de associações significativas no gene da *PRL* dos genótipos do SNP rs412263261 com a produção de leite normalizada aos 150 dias de lactação (P150d; $P < 0,01$) e com a produção total de leite (PTotal; $P < 0,05$); do SNP rs406266481 com a PTotal ($P < 0,01$) e a duração da lactação (DLact; $P < 0,01$); e no gene do *PRLR*, dos genótipos do SNP rs604784916 com a PTotal ($P < 0,05$) e a DLact ($P < 0,05$). Relativamente à qualidade do leite, os genótipos do SNP rs600947105 do gene do *PRLR* afetaram significativamente o teor em proteína do leite ($P < 0,05$) e tendeu a afetar o teor em sólidos totais (TST; $P < 0,10$). Verificaram-se ainda efeitos significativos da interação dos SNPs * mês da lactação sobre a produção diária de leite e sobre os teores em lactose, em ST e ST isentos de matéria gorda.

Estes resultados, apesar de preliminares sugerem que os SNPs do gene da *PRL* e do *PRLR* poderão vir a ser interessantes como marcadores genéticos a utilizar em programas de melhoramento da raça Assaf com vista ao aumento da produção de leite.

Palavras-chave: SNPs, prolactina, recetor da prolactina, produção de leite, qualidade do leite.

Abstract

The milk production can be influenced by many factors, one of which is the genetic potential of the animal. Thus, single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been studied in several genes, such as in the prolactin (*PRL*) and prolactin receptor (*PRLR*) genes and are associated with milk production and quality traits in different species. The PRL has a multiplicity of functions, for example in the development of the mammary gland and the milk synthesis which is called lactogenesis. The PRLR, activated by PRL, is recognized for its ability to act in signaling cascades where the most used pathway is the Jak2-STAT.

The aim of the present work is to increase the knowledge about five SNPs of the *PRL* gene and four SNPs in the *PRLR* gene and find possible associations between these SNPs and the production and quality of milk in Assaf sheep.

Fragments containing the SNPs of interest were simultaneously amplified by multiplex PCR and the SNPs were analyzed by the single base extension method on 450 Assaf sheep. It has been found that all de nine SNPs were polymorphic in Assaf sheep. The statistical analysis indicated the existence of significant associations in the *PRL* gene of the SNP rs412263261 genotypes with the 150 days adjusted milk yield (P150d; $P < 0.01$) and total milk yield (PTotal; $P < 0.05$); of the SNP rs406266481 with PTotal ($P < 0.01$) and lenght of lactation (DLact; $P < 0.01$); and in the *PRLR* gene, of the SNP rs604784916 genotypes with PTotal ($P < 0.05$) and DLact ($P < 0.05$). Regarding milk quality, the genotypes of SNP rs600947105 of the *PRLR* gene significantly affected the milk protein content ($P < 0.05$) and there was a tendency to affect the total solids content (TST; $P < 0.10$). Significant effects of the interaction of the SNPs * month of lactation on daily milk production and on lactose, ST and ST fat-free contents were also observed.

These results, although preliminary, suggest that *PRL* and *PRLR* gene SNPs may prove to be interesting as genetic markers for use in breeding programs of the Assaf breed in order to increase milk production.

Kew-words: SNPs, prolactin, prolactin receptor, milk production, milk quality.