

Efeito do polimorfismo em genes do eixo somatotrópico na produção e qualidade do leite de ovelha

Marcadores genéticos em genes do eixo somatotrópico podem ser ferramentas úteis para a seleção de reprodutores de elevado mérito genético para a produção de leite de qualidade, potenciando o aumento da sustentabilidade económica das explorações de ovelhas leiteiras.

M.R. Marques, A.T. Belo, J.M.B. Ribeiro,
A.P. Martins, C.C. Belo . INIAV, I.P.



Desde a sua domesticação há cerca de 10 000 anos (Zeder, 2008), os ovinos foram usados para a produção de lã, carne e leite. Ao longo do tempo, por adaptação a diferentes regiões e condições climáticas, e posteriormente através da modernização dos sistemas de criação e pelo estabelecimento de esquemas de seleção, surgiram raças mais adaptadas à produção de leite. Estas raças encontram-se principalmente nos países mediterrânicos.

A maior parte do leite de ovelha produzido é transformado em queijo e iogurte, pois devido aos seus elevados teores em proteína, gordura e sólidos totais, em relação a outras espécies, permite a obtenção de produtos

de elevada qualidade nutricional e organoléptica, muitos deles com Denominação de Origem Protegida (DOP), cuja procura tem vindo a aumentar em muitos países, incluindo os Estados Unidos da América do Norte (Balthazar *et al.*, 2017). Em Portugal, entre 2009 e 2017, apesar de a produção de leite de ovelha ter baixado de 85,2 para 73,8 mil toneladas, a produção de queijo exclusivamente de ovelha aumentou de 3,8 para 5,6 mil toneladas (Eurostat, 2019). A par com a diminuição do efetivo, verificou-se a substituição das raças nacionais por raças exóticas e alterações no modo de produção, hoje mais dependente do consumo de alimentos concentrados, com o consequente aumento dos custos de produção por litro de leite.

A produtividade/sustentabilidade dos sistemas de exploração de ovinos leiteiros depende, pois, da obtenção de leite de qualidade, utilizando, para isso, ferramentas que permitam a adequação do potencial

genético das ovelhas e dos recursos alimentares. Entre essas ferramentas, a seleção assistida por marcadores moleculares é particularmente interessante para caracteres que se desenvolvem num só sexo ou tardiamente na vida dos indivíduos, como é o caso da produção de leite, permitindo selecionar mais cedo os animais com maior potencial genético, eliminando os custos de recria com os animais de menor potencial leiteiro e aumentando a produtividade das explorações.

Fatores que afetam a produção e a qualidade do leite

A produção, a qualidade do leite e a sua aptidão tecnológica dependem de fatores como: a genética animal, a alimentação, o número de borregos, o número da lactação, a fase da lactação, a alimentação e a saúde do animal (Morand-Fehr *et al.*, 2007). O conhecimento dos mecanismos que regulam a lactação é,





pois, fundamental para uma gestão adequada das explorações leiteiras com vista a maximizar a produção de leite.

A produção de leite, sendo um processo dinâmico, é coordenada por sinais nutricionais e endócrinos. Estes últimos têm um papel essencial no desenvolvimento da glândula mamária, no início e na manutenção da lactação. De modo a que todos estes processos estejam convenientemente coordenados é necessária a intervenção de três tipos de hormonas que variam com o estado fisiológico do animal: as hormonas ligadas à reprodução, à regulação do metabolismo e à regulação da atividade da glândula mamária (Neville *et al.*, 2002). Muitas dessas hormonas fazem parte do eixo somatotrópico, como sejam a hormona do crescimento (GH - *growth hormone*), o lactogénio placentário, a prolactina (PRL), os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF - *insuline-like growth factor*), os respetivos recetores, proteínas de ligação e fatores de transcrição.

A regulação endócrina e a fisiologia da produção de leite são conhecidas. No entanto, ainda não foram encontrados todos os fatores genéticos subjacentes a este processo, que é dinâmico e variável ao longo do tempo. Contudo, com a utilização de técnicas de biologia molecular cada vez mais poderosas, o genoma ovino foi sequenciado (International Sheep Genomics Consortium *et al.*, 2010) e foram desenvolvidas ferramentas que permitiram identificar polimorfismos de um único nucleótido (SNPs - *Single Nucleotide Polymorphism*) em genes candidatos, associados a características produtivas, como sejam o crescimento, tamanho corporal, morfologia do esqueleto e reprodução (Kijas *et al.*, 2012) e a persistência da lactação (Jonas *et al.*, 2011). A produção de leite, a persistência da produção e a qualida-

de do leite são características suscetíveis de serem controladas por diferentes genes em cromossomas distintos. No entanto, Jonas *et al.* (2011) colocaram a hipótese de que a produção de leite, bem como a persistência da lactação podem ser controladas por um mesmo gene localizado no cromossoma II ovino (OAR11).

Genes do eixo somatotrópico

O OAR11 contém vários genes do eixo somatotrópico, entre eles, o gene da GH, o qual foi associado com a produção e a qualidade do leite em ovelhas Serra da Estrela (Marques *et al.*, 2006) e Sardas (Vacca *et al.*, 2013). Desde a década de 1990, foram encontrados marcadores moleculares no próprio gene da GH, no seu recetor (GHR), e em fatores de transcrição das principais vias conhecidas por serem reguladas pela GH. Esses marcadores parecem afetar de forma significativa o desenvolvimento normal da glândula mamária (Bauman, 1999; Kann *et al.*, 1999), a produção de leite e têm sido implicados no controlo de fatores de transcrição envolvidos na regulação da expressão dos genes das caseínas e proteínas do soro do leite (Rosen *et al.*, 1999).

Foram também encontrados marcadores moleculares no gene da PRL e do seu recetor (PRLR). A PRL é uma hormona libertada pela glândula pituitária anterior que regula a manutenção da lactação, sendo também libertada pela glândula mamária, esta essencial para dar início à diferenciação celular no fim da gestação de modo a preparar a glândula mamária para a lactação (Chen *et al.*, 2012). Dados os efeitos da prolactina sobre a produção de leite/manutenção da lactação, o aumento da expressão na glândula mamária do PRLR pode ser um fator de automediação determinante da capacidade de síntese de leite (Weaver e Hernandez, 2016).

A seleção com base em tais marcadores parece, assim, oferecer um enorme potencial para melhorar a produção de leite, a sua qualidade e aptidão tecnológica.

O projeto GenPrOv

O projeto GenPrOv⁽¹⁾, a decorrer na Estação Zootécnica Nacional (INIAV, IP), cofinanciado por Fundos Europeus, visa gerar novos conhecimentos sobre os efeitos de genes do eixo somatotrópico na produção, qualidade e aptidão tecnológica do leite, e persistência da lactação em ovelhas Assaf, ao identificar SNPs em genes candidatos, a serem usadas em programas de seleções da raça. O projeto visa contribuir para aumentar o conhecimento técnico e científico e a sustentabilidade económica da produção de leite de ovelha no Alentejo.

Para alcançar estes objetivos, foram otimizados protocolos de genotipagem para 60 SNPs em 15 genes do eixo somatotrópico. Foram colhidas amostras de sangue a 97 carneiros e 450 ovelhas Assaf do rebanho da Fertiland (Vaiamonte), extraído do ADN e está em fase de conclusão a genotipagem de

⁽¹⁾ Projeto GenPrOv - Marcadores GENéticos para a PRodução e qualidade do leite em OVelhas da raça Assaf (ALT20-03-0145-FEDER-000019) cofinanciado pelo programa Alentejo2020 através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional.



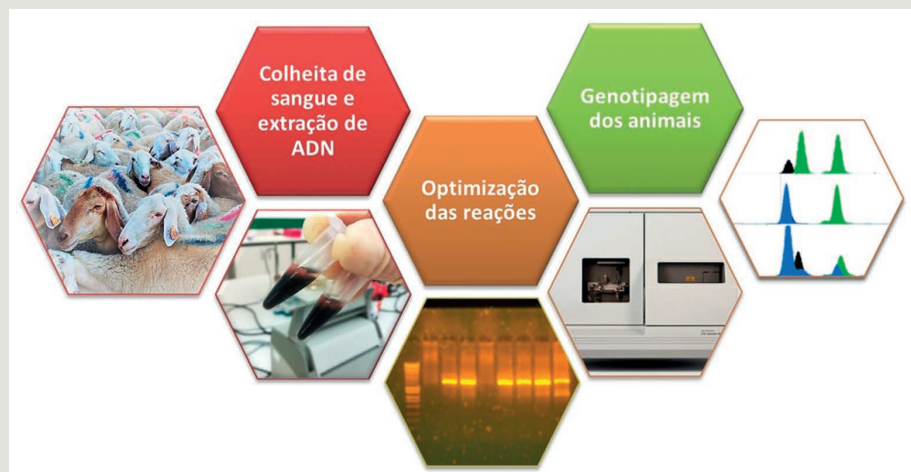


Figura 1 – Processo de genotipagem de uma amostra de sangue

todos os animais (Figura 1). As ovelhas a genotipar foram selecionadas de acordo com o seu nível produtivo, tendo por base a informação fenotípica registada pelo criador. Foram também colhidas amostras de sangue, para identificação de metabolitos e hormonas, e de leite, para determinação da gordura, proteína, lactose, sólidos totais, ureia e dos parâmetros tecnológicos de aptidão leiteira (tempo de coagulação e firmeza da coalhada).

Resultados preliminares

Os SNPs analisados, até ao momento, permitiram verificar a existência de um elevado grau de polimorfismo genético entre as ovelhas genotipadas.

Em relação aos SNPs analisados no gene da GH, não foi ainda concluída a sua correlação com os níveis produtivos medidos ao longo das lactações. Contudo, os SNPs não mostraram associações significativas com a qualidade do leite, nomeadamente no que se refere ao teor em proteína [efeitos esses observados em ovelhas Serra da Estrela por Marques *et al.* (2014)], mas influenciaram significativamente a firmeza da coalhada, podendo pois afetar as características dos produtos obtidos. No gene do GHR foi encontrado um SNP associado com os teores em proteína do leite, o qual também teve impacto sobre o pH, o tempo de coagulação e os parâmetros de firmeza da coalhada. Em vacas leiteiras, onde estes estudos se encontram mais avançados, SNPs no gene do GHR, entre outros, também foram associados com a composição do leite, com os parâmetros de coagulação e com a contagem de células somáticas (Viale *et al.*, 2017).

No gene da PRL e do PRLR, os resultados obtidos apontam para a existência de SNPs associados com a produção de leite aos 150 dias de lactação e com a duração da lacta-

ção. Os SNPs nos referidos genes parecem também influenciar a composição do leite e alguns parâmetros da coagulação nas ovelhas Assaf genotipadas, corroborando as descobertas de Kijas *et al.* (2012) que referiram a existência de seleção positiva para caracteres leiteiros na região do genoma ovino que contém o gene PRLR.

Os resultados encontrados até agora comprovam a associação dos genes do eixo somatotrópico com caracteres leiteiros na raça ovina Assaf e reforçam a sua possível mais-valia como genes candidatos a integrar programas de seleção assistida por marcadores.

A implementação da seleção assistida por marcadores moleculares em programas de melhoramento é ainda limitada em Portugal, podendo contribuir para o aumento de produção das fêmeas leiteiras, assegurando a manutenção/aumento dos efetivos, potenciando a sustentabilidade dos sistemas de produção de pequenos ruminantes, o que se reveste de uma relevância social, económica e ecológica inquestionável.

Perspetivas futuras

No âmbito do projeto GenPrOv, estão em fase de conclusão a associação entre os caracteres fenotípicos e os SNPs dos genes da GH, GHR, PRL e PRLR e em outros genes do eixo somatotrópico, de modo a desenvolver um protocolo molecular para genotipagem rápida, fiável e acessível de um painel de SNPs associados com a produção, a qualidade do leite e o rendimento queijeiro para ser usado pelos criadores da raça ovina Assaf, visando o aumento do valor genético da raça para a produção de leite e a rentabilidade dos criadores. ☺

Bibliografia

- Balthazar, C.F.; Pimentel, T.C.; Freitas, M.Q. *et al.* (2017). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **16**(2):247-262.
- Bauman, D.E. (1999). *Domestic Ani. Endocrinol.*, **17**(2-3): 101-116.
- Chen, C.C.; Stairs, D.B.; Chodosh, L.A. *et al.* (2012). *Genes & development*, **26**(19):2154-2168.
- International Sheep Genomics Consortium; Archibald, A.L.; Wade, C. *et al.* (2010). *Ani. Genet.*, **41**(5):449-453.
- Jonas, E.; Thomson, P.C.; Raadsma, H.W. *et al.* (2011). *Genetics Selection Evolution*, **43**(1):22.
- Kann, G.; Delobelle-Deroide, A.; Djiane, J. *et al.* (1999). *J. Endocrinol.*, **160**(3):365-378.
- Kijas, J.W.; Lenstra, J.A.; Paiva, S. *et al.* (2012). *PLoS Biology*, **10**(2):e1001258.
- Marques, M.R.; Martins, A.P.L.; Belo, C.C. *et al.* (2014). *Options Méditerranéennes*, **109**(A):345-348.
- Marques, M.R.; Santos, I.C.; Cravador, A. *et al.* (2006). *J. Dairy Res.*, **73**:394-405.
- Morand-Fehr, P.; Fedele, V.; Decandia, M.; LeFrileux, Y. (2007). *Small Rum. Res.*, **68**(1-2):20-34.
- Neville, M.C.; McFadden, T.B.; Forsyth, I. (2002). *J. Mammary Gland Biology and Neoplasia*, **7**(1):49-66.
- Rosen, J.M.; Wyszomierski, S.L.; Hadsell, D. (1999). *Annual Review of Nutrition*, **19**(1):407-436.
- Vacca, G.M.; Dettori, M.L.; Pazzola, M. *et al.* (2013). *Molec. Biol. Rep.*, **40**(9):5285-5294.
- Viale, E.; Tiezzi, F.; Cassandro, M. *et al.* (2017). *J. Dairy Sci.*, **100**(9): 7271-7281.
- Weaver, S.R.; Hernandez, L.L. (2016). *J. Dairy Sci.*, **99**(1): 842-853.
- Zeder, M.A. (2008). *PNAS*, **105**(33):11597-11604.