

9 - 3 | 2021

Efeito do genótipo da miostatina nas características produtivas de bovinos de raça Preta

Effect of myostatin genotype in Preta cattle breed on productive traits

Efecto del genotipo de miostatina en ganado de raza Preta sobre parámetros productivos

**António Vicente | André Sebastião | Filomena Ferreira |
Nuno Carolino**

Electronic version

URL: ISSN: 2182-9608

Publisher

Revista UI_IPSantarém

Printed version

Date of publication: 31st December 2021 Number of pages: 16

ISSN: 2182-9608

Electronic reference

Vicente, A., Sebastião, A., Ferreira, F. e Carolino, N. (2021). *Efeito do genótipo da miostatina nas características produtivas de bovinos de raça Preta*. Revista da UI_IPSantarém. *Edição Temática: Ciências Naturais e do Ambiente*. 9(3), 33-48. <https://revistas.rcaap.pt/uiips/>

EFEITO DO GENÓTIPO DA MIOSTATINA NAS CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS DE BOVINOS DE RAÇA PRETA

Effect of myostatin genotype in Preta cattle breed on productive traits

Efecto del genotipo de miostatina en ganado de raza Preta sobre parámetros productivos

António Andrade Vicente^{1,2,3}

¹Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Santarém, 2001-904 Santarém; Portugal

²Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais SPREGA – Vale de Santarém, Portugal;

³CIISA. Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa;

antonio.vicente@esa.ipsantarem.pt | ORCID 0000-0003-3869-5509 | Ciência ID 231F-EDE4-4366

André Ferreira Sebastião¹

¹Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Santarém, 2001-904 Santarém; Portugal

andre.sebastiao9@gmail.com

Filomena Ferreira⁴

⁴Associação de Criadores de Bovinos de Raça Preta – ACBRP, 2139-909 Samora Correia; Portugal

fferreira.acbrp@gmail.com

Nuno Carolino^{2,3,5,6}

²Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais SPREGA – Santarém, Portugal;

³CIISA. Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa, Portugal

⁵Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos, INIAV, Polo da Fonte Boa, Vale de Santarém; Portugal

⁶Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra; Portugal

nuno.carolino@iniav.pt | ORCID 0000-0001-9079-7380 | Ciência ID 5D15-EB0D-1C9B

RESUMO

A Preta é uma raça bovina autóctone portuguesa explorada essencialmente em regime extensivo. O aparecimento da mutação no gene da miostatina, veio permitir que esta raça pudesse ser explorada em linha pura, dado o aumento substancial da produtividade.

Neste trabalho, foi recolhida informação no Centro Nacional de Testagem da Associação de Criadores de Bovinos da Raça Preta com o objetivo de comparar animais de diferentes genótipos (homozigóticos e heterozigóticos) para esta mutação. Foram estudados parâmetros produtivos (ganho médio diário – GMD – e índice de conversão – IC), com o objetivo de compreender os benefícios associados à presença da mutação.

Compilaram-se e analisaram-se dados de 333 animais provenientes de 14 explorações (2002 a 2019). Desenvolveu-se uma análise de variância onde o modelo considerou como efeitos fixos o criador, o teste de performance e o peso inicial.

Estimaram-se as médias dos quadrados mínimos onde os animais heterozigóticos para a mutação apresentaram melhor desempenho produtivo (GMD - $1,167 \pm 0,032$ kg/dia; IC - $5,189 \pm 0,168$). O segundo melhor resultado, verificou-se para os animais com genótipo selvagem (GMD - $1,161 \pm 0,034$ kg/dia; IC - $5,380 \pm 0,177$). Os homozigóticos apresentaram os piores desempenhos produtivos (GMD - $1,024 \pm 0,056$ kg/dia; IC - $5,804 \pm 0,269$). Os resultados obtidos sugerem que o sistema produtivo em regime extensivo poderá não ser o mais indicado para os animais homozigóticos.

O modelo de análise foi significativo, com diferenças consideráveis entre os genótipos estudados, para o GMD e IC, com todos os efeitos fixos considerados igualmente significativos. Este estudo pretendeu fornecer mais informação aos criadores e contribuir para a implementação e adequação de estratégias de seleção mais ajustadas ao sistema de produção.

Palavras-chave: ganho médio diário; garupa dupla; índice de conversão; mutação; raça autóctone.

ABSTRACT

Preta is an autochthonous Portuguese cattle breed produced essentially on an extensive basis. The appearance of the mutation in the myostatin gene, allowed this breed to be exploited in pure breeding, given the substantial increase in productivity.

In this study, information was collected at the National Testing Center of the Associação de Criadores de Bovinos da Raça Preta to compare animals of different genotypes (homozygous and heterozygous) for this mutation. Productive parameters (average daily gain – GMD – and feed conversion index – IC) were studied to understand the benefits associated with the presence of the mutation.

Data from 333 animals from 14 farms (2002 to 2019) were compiled and analyzed. An analysis of variance was developed where the model considered as fixed effects the breeder, the performance test and the initial weight.

Least squares means were estimated where heterozygous animals for the mutation showed better productive performance (GMD - 1.167 ± 0.032 kg/day; IC - 5.189 ± 0.168). The second-best result was found for animals with wild genotype (GMD - 1.161 ± 0.034 kg/day; IC - 5.380 ± 0.177). The homozygous had the worst productive performance (GMD - 1.024 ± 0.056 kg/day; IC - 5.804 ± 0.269). The results obtained suggest that the productive system in extensive regime may not be the most suitable for homozygous animals.

The analysis model was significant, with considerable differences between the studied genotypes, for GMD and IC, with all fixed effects considered equally significant. This study intended to provide more information to breeders and to contribute to the implementation and adaptation of selection strategies more suited to the production system.

Keywords: autochthonous breed; average daily gain; double muscling; feed conversion index; mutation.

1 INTRODUÇÃO

Num país como Portugal, onde grande parte do território apresenta solos pobres, pouco férteis com reduzida aptidão para atividades agrícolas, é cada vez mais importante a adaptação dos sistemas de exploração pecuária a regimes extensivos sustentáveis e eficientes. O uso de raças autóctones nestes sistemas é uma realidade e, por isso, neste trabalho pretendemos focar esses aspetos relacionando-os com os bovinos da raça Preta.

Dia após dia os consumidores estão a tornar-se cada vez mais exigentes na aquisição de produtos e bens de consumo, de entre os quais se inclui a carne de bovino. O sucesso de uma exploração de bovinos de carne passa pela implementação de métodos de produção eficientes que permitam rentabilizar e maximizar a produtividade dos efetivos. O aparecimento de mutações no gene da miostatina, que controla a produção de tecido muscular, conduziu à evidência do fenótipo da “garupa dupla”, responsável pela hipertrofia muscular nos bovinos de Raça Preta que representa um fator crucial no aumento da produtividade e consequentemente no sucesso da sua exploração.

Diversas alterações genéticas podem determinar a presença de características de interesse para a seleção animal. No entanto, também poderão ocorrer efeitos menos desejáveis, pelo que será importante avaliar o impacto de uma mutação em diversas características (Gadano, 2014). A mutação em causa - nt821 (del11) - conduz à inibição da atividade da proteína miostatina (Dunner *et al.*, 2003) e consiste na deleção de 11 pares de bases do nucleótido 821 do genoma bovino.

Um dos resultados desta inibição é o aumento do desenvolvimento muscular, observado em algumas raças bovinas, que se revela ser extremamente útil (Grobet *et al.*, 1998). No entanto, observam-se também algumas desvantagens, nomeadamente a redução da fertilidade nas fêmeas, dificuldades no parto ou ainda uma menor viabilidade dos vitelos (Casas *et al.*, 2004; Gadano, 2014; Weiner *et al.*, 2009).

O gene da miostatina (GDF-8) encontra-se situado no cromossoma 2 dos bovinos, levando, por sua vez, a que cada célula possua duas cópias deste, sendo sempre visível uma característica comum, a presença de 3 exões e 2 intrões (Chelh *et al.*, 2009; Dunner *et al.*, 2003). A designação MH (*Muscular Hypertrophy*) é a mais usual de entre uma variedade de símbolos para denominar o alelo responsável pela hipertrofia muscular enquanto que WT (*Wild Type*), representa o fenótipo normal, sem a mutação. É uma proteína que exerce um efeito inibidor no crescimento e desenvolvimento muscular. Algumas mutações no gene GDF-8 estão associadas à perda de função desta proteína, com consequente aumento exagerado da massa muscular (Carolino, 2015). Estes fenómenos denominam-se por hiperplasia (aumento do número de fibras) e hipertrofia (aumento do tamanho individual das fibras) (Carolino *et al.*, 2008; Dunner *et al.*, 2003; Vicente, 2013). De acordo com a simbologia utilizada para representação do gene mutante, MH, os três genótipos que podem surgir são apresentados como MH/MH, MH/WT (heterozigótico portador de um alelo mutante) e WT/WT. Ao nível da massa muscular, os bovinos sofrem um aumento de pouco mais de 20%, devendo-se este às duas principais causas do duplo músculo, a hiperplasia e hipertrofia (McPherron & Lee, 1997).

Com a realização deste trabalho pretendeu-se analisar, comparar e avaliar se a presença da mutação no gene da miostatina em bovinos da raça Preta contribui para a melhoria dos indicadores de produtividade estudados, ganho médio diário (GMD) e o índice de conversão alimentar (IC), obtidos no teste de performance em estação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Este estudo decorreu no Centro Nacional de Testagem da Associação de Criadores de Bovinos de Raça Preta. Abrangeu 333 animais inscritos no Livro de Nascimentos (LN) provenientes de 14 explorações distintas, distribuídos em 3 grupos de acordo com o genótipo para a miostatina,

respetivamente, MH/MH, MH/WT e WT/WT. A determinação do genótipo dos animais foi feita através de análises de ADN realizadas a partir de amostras de sangue analisadas nos laboratórios do INIAV, I.P. (Polo da Fonte Boa - Santarém) e de Genética Molecular (Xenetica Fontao - Espanha).

A informação recolhida para este estudo correspondeu ao período entre 2002 e 2019, inclusive. Nesta análise foram incluídos animais do sexo masculino, com idades compreendidas entre os 6 e os 9 meses, analisados para despiste de sete polimorfismos do gene da miostatina, sem quaisquer anomalias físicas visíveis e que tivessem concluído o teste de performance. Para este teste, considerou-se um período de adaptação mínimo de 28 dias. Os animais que revelaram má adaptação às condições padrão estabelecidas para a testagem, durante o período de adaptação, foram excluídos da amostragem. Os restantes animais foram submetidos a ensaios com duração mínima de 120 dias. No final de cada ciclo de teste, todos os indivíduos foram classificados de acordo com a sua performance. Os parâmetros produtivos GMD e IC foram calculados durante a testagem e tidos em conta aquando da classificação dos animais no fim do teste. Para os animais serem aprovados tiveram que apresentar um GMD mínimo de 0,850 kg e um valor máximo de IC de 7. Os animais cujos resultados alcançados na testagem não cumpriram estes critérios foram abatidos, não podendo ser utilizados como reprodutores. No final de cada teste de performance foram selecionados os machos com melhores índices de crescimento com vista à recolha de sêmen para beneficiação de fêmeas da raça e cedência ao Banco Português de Germoplasma Animal (BPGA).

2.2 Recolha de dados para análise

Com a Associação de Criadores de Bovinos de Raça Preta e recorrendo à plataforma informática online Genpro da Ruralbit, que dispõe da base de dados de todos os bovinos inscritos no Livro Genealógico e que participaram na testagem em estação, foi gerada uma listagem em Excel sendo considerada a seguinte informação:

- Identificação do animal (nº do SNIRB);
- Data de nascimento;
- Sexo;
- Identificação do criador de origem;
- Código do teste de performance;
- Ganho médio diário;
- Índice de conversão;
- Genótipo para despiste de polimorfismos do gene da miostatina.

2.3 Caracteres produtivos analisados

Os parâmetros de produção analisados foram o Ganho Médio Diário (GMD) e o Índice de Conversão Alimentar (IC), obtidos a partir das fórmulas seguintes:

Cálculo do Índice de Conversão (IC) na testagem em estação – kg de Alimento ingerido por kg de peso vivo:

$$IC = \frac{[Consumo\ de\ alimento]}{[P2 - P1]}$$

Em que:

[Consumo de alimento] = total de alimento ingerido num intervalo de tempo.

[P2 – P1] = Peso final menos peso inicial, em kg, nesse mesmo intervalo.

Expresso em unidades de peso como quilograma ingerido de matéria seca (MS) por quilograma de ganho de peso vivo (Adaptado de Schunicht *et al.*, 2003 citados por Mixão, 2019).

Cálculo do Ganho Médio Diário (GMD) – kg por dia:

$$GMD = \frac{[Peso\ Final - Peso\ Inicial]}{[N^{\circ}\ de\ Dias\ em\ Teste]}$$

2.4 Regime Alimentar

Todos os animais foram sujeitos ao mesmo tipo de alimentação composta por alimento composto comercial e palha de trigo. Inicialmente foi considerado um período de adaptação aos alimentadores automáticos e restantes condições padrão estabelecidas, nunca inferior a 28 dias. O alimento concentrado foi fornecido na forma de granulado, com fórmula comercial (NANTA) para novilhos em fase de crescimento, inicialmente administrado na quantidade aproximada de 4 Kg por dia. O controlo da velocidade de crescimento foi efetuado quinzenalmente com recurso a balança eletrónica (Iconix FX41), tendo sido a quantidade de alimento ajustada de forma individualizada a cada animal, em função do aumento de peso observado. Este ajuste foi feito de forma progressiva face à evolução do crescimento e à adaptabilidade individual demonstrada às condições da testagem, inicialmente na proporção de 2% do peso, e posteriormente até aos 2,5%.

O balastro foi assegurado com recurso a palha de trigo administrada à descrição. O controlo da ingestão de alimento concentrado e ajuste da sua proporção, foi efetuado com recurso a duas plataformas informáticas (Smart Dairy® e Herd Metrix®). O "acesso" aos alimentadores foi alcançado através de um transponder eletrónico individual colocado nas coleiras dos animais, para a comunicação entre as boxes de alimentação e as plataformas atrás mencionadas.

2.5 Análise estatística

Inicialmente, através do PROC MEANS do programa SAS® (SAS Institute, 2019), procedeu-se à determinação de parâmetros estatísticos para descrever e caracterizar os dados disponíveis. De seguida, através do PROC CORR do mesmo programa estimaram-se as correlações entre o GMD, IC e Peso Inicial de entrada no teste de performance.

As variáveis de resposta GMD e IC foram analisadas com um modelo linear (1), através do PROC GLM do programa SAS®, que incluiu os efeitos fixos do Criador, Teste, Ano de Nascimento e Genótipo para a Miostatina.

$$y = X\beta + e \quad (1)$$

Em que y representa os valores das variáveis de resposta (GMD e IC), β os efeitos fixos considerados, "e" o erro residual e X a matriz de incidência que relaciona, respetivamente, os efeitos fixos (β) com os registos da variável de resposta (y). O vetor "e" contém os erros associados às avaliações dos indivíduos ($V(e) = R$).

Todos os efeitos fixos inicialmente considerados revelaram-se significativos e como tal, foram incluídos no modelo final de análise.

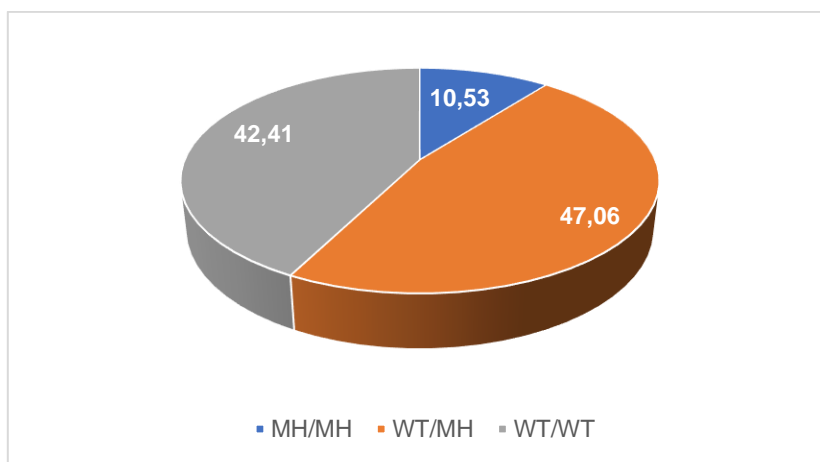
Posteriormente, foram estimadas as médias dos quadrados mínimos (*LSMeans*) segundo os diversos níveis de cada um dos efeitos fixos classificados que influenciaram significativamente as variáveis de resposta e ainda os coeficientes de determinação (r^2) e de regressão das variáveis de resposta GMD e IC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a validação dos dados, foram excluídos da amostragem 10 animais de um total de 333, tendo sido os restantes considerados para efeitos de estudo. Dos 323 novilhos em estudo, 137 (42,41%) não apresentavam a mutação da garupa dupla, correspondendo ao genótipo selvagem (WT/WT), 152 (47,06%) eram heterozigóticos (MH/WT) e 34 (10,53%) eram homozigóticos para a mutação (MH/MH). A Figura 1 ilustra a distribuição do número de animais por genótipo.

Figura 1

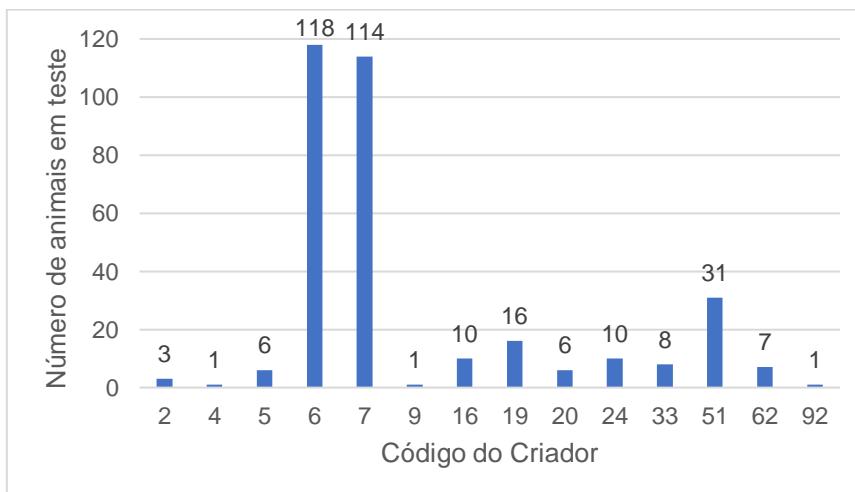
Distribuição dos diferentes genótipos para a miostatina dos animais estudados (%). WT/WT – não portadores de mutação; MH/WT – heterozigóticos portadores; MH/MH – homozigóticos para a mutação.



A Figura 2 representa a distribuição dos animais testados por criador de origem. Constatou-se discrepância acentuada dos valores observados, com dois criadores (6 e 7) a participarem no teste de performance com um número de animais consideravelmente mais elevado. Este facto é explicado por serem os dois principais criadores produtores de bovinos da raça Preta.

Figura 2

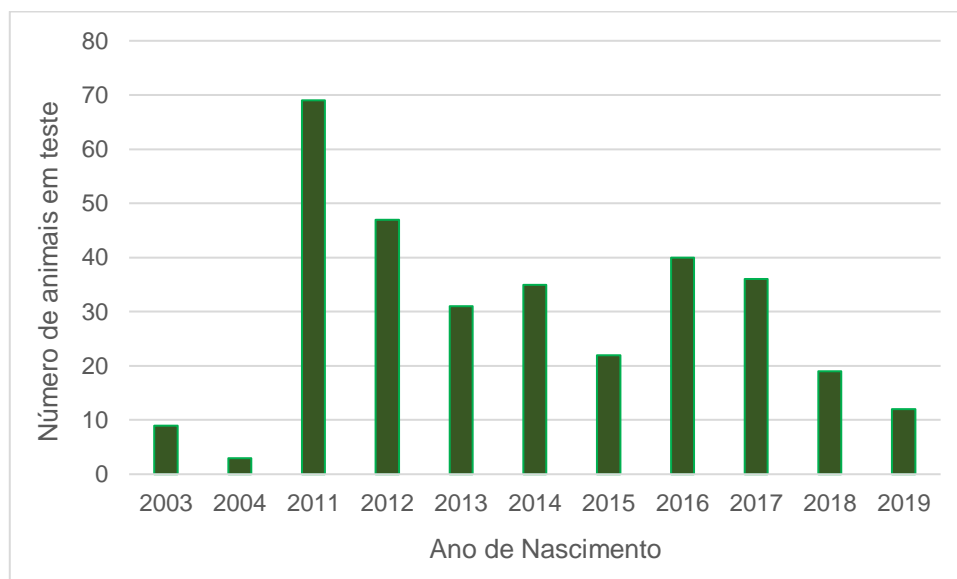
Distribuição do número de animais testados por criador de origem



A Figura 3 apresenta a distribuição do número de animais testados por ano de nascimento. Observou-se uma oscilação anual do número de animais que realizaram o teste de performance, com uma tendência para um decréscimo nos últimos anos.

Figura 3

Distribuição do número de animais testados por ano de nascimento.



As estatísticas descritivas globais para as variáveis estudadas nos animais testados encontram-se sumarizadas na Tabela 1. Constatou-se uma dispersão acentuada dos valores de peso inicial dos animais testados, bem como dos valores dos coeficientes de variação, superiores a 20%.

Tabela 1

Estatísticas descritivas para os caracteres produtivos (GMD e IC) e peso inicial de entrada em teste para os animais submetidos ao teste de performance em estação.

Variável	N	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Mínimo	Máximo
GMD (kg/dia)	323	1,14	0,33	28,56	0,25	1,87
IC (kg / kg PV)	259	4,96	1,13	22,81	2,84	12,10
Peso Inicial (kg)	323	268,01	58,08	21,67	148,00	485,00

Legenda: GMD – Ganho médio diário; IC – Índice de Conversão Alimentar.

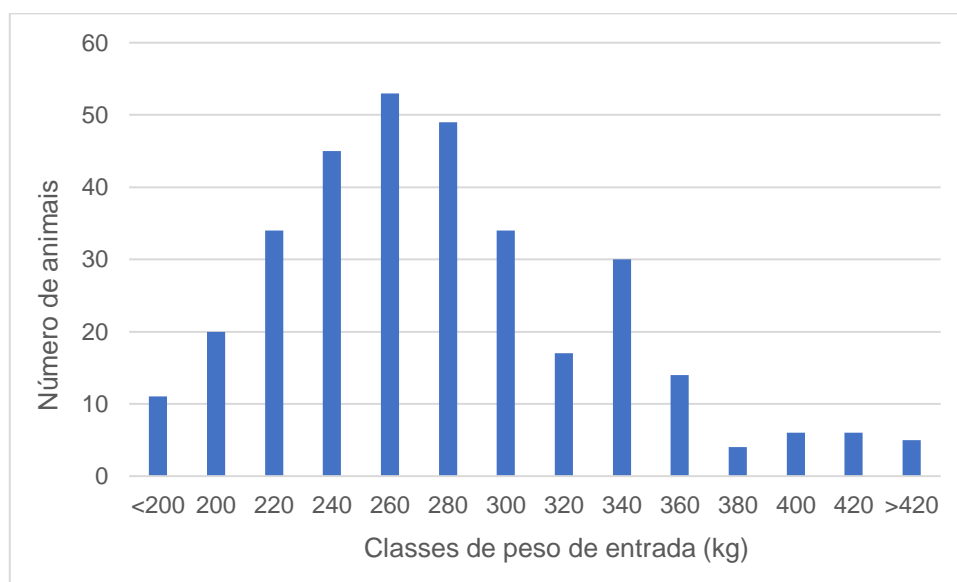
A média global do GMD dos animais machos da raça Preta submetidos ao teste de performance foi de $1,14 \pm 0,33$ kg/dia e para o IC de $4,96 \pm 1,13$ kg MS por kg de ganho de peso (Tabela 1).

Comparando estes resultados com os obtidos noutra raça autóctone em estudos congéneres, observou-se que os bovinos da raça Preta apresentam melhores indicadores. Citam-se por exemplo, em animais da raça Mertolenga, valores médios de IC de 6,31 (Pais, 2013; citado por Mixão, 2019) ou de GMD de 0,937 kg/dia (Paulo, 2020).

Verificou-se uma grande discrepância nos valores de pesos de entrada dos bovinos no teste de performance (Tabela 1 e Figura 4). A média apurada para este parâmetro foi de 268 kg, verificando-se um desvio padrão de 58,08 kg e um coeficiente de variação de 21,7%. O animal que iniciou o teste com menor peso registou 148 kg contrastando com o máximo observado de 485 kg. Esta variância e dispersão tão acentuadas poderão ter contribuído significativamente para a desigualdade de performance observada entre os animais estudados, devendo a Associação equacionar a possibilidade de diminuir o intervalo estabelecido para a idade dos animais à entrada para o teste de performance.

Figura 4

Distribuição dos pesos dos animais no início do teste de performance em estação.



As correlações entre as variáveis estimadas foram significativas e, conforme esperado, existe uma correlação negativa entre o GMD e o IC, indicando que animais que crescem mais e apresentam GMD superiores são mais eficientes na conversão do alimento e, como tal, apresentam IC menores (Tabela 2). No entanto, seria interessante no futuro obter-se correlações mais elevadas entre as características estudadas. Numa tentativa de se melhorar a precisão das estimativas, será desejável recolher mais elementos de estudo no futuro, que possam ser complementados e analisados, comparativamente com informação recolhida nas explorações dos Criadores, em condições de produção normais.

No que diz respeito ao modelo linear utilizado e à influência dos diferentes fatores no GMD, constatou-se que todos os efeitos considerados (genótipo para a miostatina, criador, teste de performance e peso inicial de entrada em teste) foram significativos (Tabela 3). O modelo de análise considerado foi significativo, tendo sido obtido um coeficiente de determinação de 0,623.

Tabela 2

Correlações de Pearson entre as diferentes variáveis em estudo, GMD, IC e Peso inicial de entrada em teste

	IC	Peso Inicial
GMD	-0,327**	0,319**

IC 0,310**

Legenda: GMD – Ganho médio diário; IC – Índice de Conversão Alimentar.

** - significativo para $P < 0,01$

Tabela 3

Efeitos fixos (do tipo III) significativos para o Ganho Médio Diário (GMD)

PARÂMETRO	GL	MEDIA DOS QUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
Criador	10	0,158	3,620	0,0001
Teste	12	0,922	21,130	<0,0001
Genótipo Miostatina	2	0,139	3,190	0,0425
Peso Inicial	1	4,694	107,610	<0,0001

Legenda: GL – graus de liberdade

Analogamente, investigou-se se o modelo linear proposto para análise do IC, incluindo os mesmos efeitos considerados para o GMD, tendo sido igualmente significativo, como se pode constatar na Tabela 4, onde se apresentam os efeitos fixos do tipo III, significativos para o IC. O coeficiente de determinação estimado (r^2) para este modelo de análise foi significativo com um valor de 0,480.

Tabela 4

Efeitos fixos (do tipo III) significativos para o Índice de Conversão (IC)

PARÂMETRO	GL	MEDIA DOS QUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
Criador	10	3,405	4,64	<0,0001
Teste	10	3,530	4,81	<0,0001
Genótipo Miostatina	2	2,551	3,47	0,0327
Peso Inicial	1	6,158	8,38	0,0041

Legenda: GL – graus de liberdade

No que diz respeito às estimativas das médias dos quadrados mínimos (*LSMeans*) segundo os diversos níveis para cada efeito fixo que influenciaram significativamente ($P < 0,05$) as variáveis de resposta (GMD e IC), apresentam-se os valores obtidos para o criador (Tabela 5), para o teste de performance (Tabela 6) e para o efeito do genótipo da miostatina (Tabela 7). Esta é uma técnica de otimização matemática que procura encontrar o melhor ajuste para um conjunto de dados, tentando minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre o valor estimado e os dados observados.

Tabela 5

Médias dos Quadrados Mínimos para o GMD (kg/dia) e IC \pm erro padrão (EP), por criador de origem que submeteu animais a teste de performance (a *itálico* o pior valor e a **negrito** o melhor valor)

Criador	GMD \pm EP	IC \pm EP
2	1,603\pm0,154	3,239\pm0,697
5	0,950 \pm 0,098	5,176 \pm 0,409
6	0,994 \pm 0,029	5,414 \pm 0,142
7	1,107 \pm 0,033	5,152 \pm 0,149
16	1,015 \pm 0,060	5,082 \pm 0,339
19	1,053 \pm 0,074	5,391 \pm 0,384
20	<i>0,905\pm0,092</i>	6,190 \pm 0,381
21	1,289 \pm 0,107	5,481 \pm 0,800
24	1,081 \pm 0,102	<i>8,777\pm0,688</i>
33	1,248 \pm 0,092	4,852 \pm 0,394
51	1,046 \pm 0,050	5,281 \pm 0,216

Verificou-se que existem variações consideráveis nos valores de crescimento obtidos consoante o criador, com um mínimo de 0,905 \pm 0,092 kg/dia e máximo de 1,603 \pm 0,154 kg/dia para o GMD e mínimo de 3,239 \pm 0,697 e máximo de 8,777 \pm 0,688 para o IC. A variação observada poderá, em parte, ser explicada pela elevada amplitude de valores de pesos de entrada dos animais para o teste, do número de animais testados por criador e da proveniência distinta dos animais de diferentes explorações, com sistemas de produção e linhas genéticas diferenciadas.

Em relação às médias dos quadrados mínimos por teste de performance (Tabela 6), as diferenças observadas foram ainda mais discrepantes, variando entre 0,517 \pm 0,087 e 1,390 \pm 0,059 kg/dia para o GMD e entre 4,809 \pm 0,431 e 7,304 \pm 0,413 para o IC. Pode, no entanto, verificar-se que houve uma tendência de melhoria global daqueles dois parâmetros produtivos ao longo do tempo e à medida que se avançou na realização dos testes de performance.

O objetivo principal deste estudo foi o de investigar o desempenho produtivo dos animais da raça Preta em função do genótipo para o gene da miostatina. Observa-se que a melhor performance se centra em animais com genótipo heterozigótico (WT/MH), quer ao nível do GMD quer do IC (1,167 \pm 0,032 kg/dia e 5,189 \pm 0,168, respetivamente). O valor intermédio foi observado nos animais sem a presença da mutação, com o genótipo selvagem (WT/WT) e o pior desempenho registou-se em animais homozigóticos para a mutação (MH/MH) (Tabela 7).

Tabela 6

Médias dos Quadrados Mínimos para o GMD (kg/dia) e IC \pm erro padrão (EP), por teste de performance (a *itálico* o pior valor e a **negrito** o melhor)

Teste de Performance	GMD \pm EP	IC \pm EP
8	<i>0,517\pm0,087</i>	<i>7,304\pm0,413</i>
9	0,978 \pm 0,048	5,204 \pm 0,232
10	1,348 \pm 0,046	5,490 \pm 0,223
11	1,390\pm0,059	5,535 \pm 0,282
12	0,950 \pm 0,073	5,216 \pm 0,329
13	0,829 \pm 0,053	*
14	1,409 \pm 0,049	5,012 \pm 0,235
15	1,027 \pm 0,129	7,063 \pm 0,547
16	1,203 \pm 0,058	4,595 \pm 0,278
17	1,311 \pm 0,099	4,809\pm0,431
18	1,380 \pm 0,049	4,866 \pm 0,238
19	1,012 \pm 0,044	*
20	1,172 \pm 0,048	4,939 \pm 0,220

* não disponível

Tabela 7

Médias dos Quadrados Mínimos para o GMD (kg/dia) e IC \pm erro padrão (EP), consoante o genótipo para a miostatina (a *itálico* o pior valor e a **negrito** o melhor)

Genótipo Miostatina	GMD \pm EP	IC \pm EP
MH/MH	<i>1,024\pm0,056</i>	<i>5,804\pm0,269</i>
WT/MH	1,167\pm0,032	5,189\pm0,168
WT/WT	1,161 \pm 0,034	5,380 \pm 0,177

Legenda: WT/WT – sem mutação; MH/WT – heterozigóticos; MH/MH – homozigóticos para a mutação.

Avaliando individualmente os melhores animais de cada grupo, verificou-se que o novilho que evidenciou melhor GMD apresentava genótipo (MH/MH). No entanto, ao calcular-se a média do grupo de animais daquele genótipo verificou-se que estes apresentam GMD inferiores comparativamente com os restantes grupos correspondentes aos genótipos heterozigótico e selvagem. Este resultado vai contra as expectativas criadas no início deste estudo, visto que, tal como sucede na raça *Blanc Bleu Belge*, onde existe a mesma mutação nt821 (del11), os animais homozigotos para esta mutação (MH/MH) são os que apresentam maior exuberância fenotípica, maior desenvolvimento muscular e conseqüentemente melhores índices produtivos (Cinquart *et al.*,

1998). Resultados semelhantes também foram descritos por Cañon *et al.*, (2002) para a raça espanhola Asturiana de Los Valles, onde a mutação para o gene da miostatina também influenciou negativamente a produtividade dos animais. Também Sarti *et al.* (2014) referem a seleção de animais homozigóticos para a miostatina como problemática e de evitar na raça italiana Marchigiana, utilizando somente em reprodução os animais heterozigóticos (MH/WT) e canalizando para abate os homozigóticos (MH/MH). Casas *et al.* (2004) também evidenciam a superioridade do genótipo heterozigótico, relativamente aos homozigóticos para várias raças creatopoiéticas e seus cruzamentos.

Acredita-se também que os animais homozigóticos são mais tardios, ou seja, expressam o seu máximo potencial produtivo mais tardiamente. Visto que os animais submetidos ao teste de performance considerados na análise, tinham idades compreendidas entre os 6 e os 9 meses, crê-se que quando os animais homozigóticos atingiram a fase em que poderiam ter demonstrado melhores índices de produtividade, estes já não se encontravam em teste, pelo que os seus melhores resultados poderão não ter sido contabilizados para este estudo.

Animais portadores de alelos para a dupla garupa são os que, regra geral, apresentam melhor conformação. No entanto, apresentam também um formato corporal mais pequeno e compacto, quando comparados com animais de outros genótipos. Têm sido frequentemente reportados problemas de aprumos em indivíduos portadores da mutação (Fiems, 2012), aspeto igualmente descrito noutras raças de bovinos. Este fator reveste-se de particular importância na medida em que animais com dificuldades de locomoção têm tendência a piorar os seus índices produtivos à medida que o seu peso aumenta e se acentua a dificuldade de mobilidade e de acesso ao alimento.

Animais com dupla garupa diferem dos animais sem dupla garupa, pois os seus tecidos contêm menos colagénio (Clinkart *et al.*, 1998). Os genes que codificam o colagénio Tipo I e III são regulados negativamente nos músculos com dupla garupa, conseqüentemente, a resistência dos ossos pode ser reduzida. Além disso, a densidade vascular do tecido muscular é menor em animais com dupla garupa. Isso é um fator crítico para o suporte nutritivo dos ossos e membros. Se o aumento da necessidade em fósforo para animais com dupla garupa não for cumprida, pode ser prejudicial para a formação óssea. Portanto, é necessária especial atenção relativamente a precauções quanto à nutrição e confinamento de bovinos com dupla garupa em testes de performance. É também de notar que a energia despendida por estes animais na testagem em estação é 25% superior quando comparada com animais não portadores desta mutação. A rusticidade é um ponto importante a ter em consideração aquando da seleção de fêmeas de reposição no sistema tradicional de produção de bovinos de carne e, verificou-se em estudos anteriores que as fêmeas que possuem a mutação no gene da miostatina, quer sejam heterozigóticas, mas principalmente homozigóticas perdem bastante adaptabilidade e capacidade leiteira (Fiems, 2012). Por todos estes motivos, a seleção de fêmeas homozigóticas para futuras produtoras não é aconselhável.

Todos os aspetos focados poderão ajudar a explicar o pior desempenho dos animais do genótipo MH/MH no teste de performances e dar indicações aos produtores sobre a melhor estratégia a seguir no caso específico da produção desta raça de bovinos em Portugal. Claramente a opção da introdução do gene da miostatina pode revelar-se compensadora, se utilizada em heterozigotia, devido à maior produtividade dos indivíduos de genótipo MH/WT também referida por Casas e Kehrlí Jr (2016) ou Wiener *et al.* (2009). Desta forma uma boa estratégia a seguir poderá ser a utilização de fêmeas sem a mutação (WT/WT) com o uso na vacada de touros portadores do gene da garupa dupla. No entanto a estratégia a seguir por cada criador dependerá sempre do genótipo presente na linha materna e do objetivo produtivo, mais vocacionado para produção de animais de abate ou obtenção de futuros reprodutores.

Para finalizar este estudo estimaram-se os coeficientes de regressão e respetivo erro padrão para o GMD e IC em relação ao peso inicial de entrada no teste de performance (Tabela 8).

Tabela 8

Coeficientes de regressão e respetivo erro padrão do GMD e IC no Peso no início do teste de performance

Peso Inicial	Coef. Regressão	Erro Padrão
GMD	0,00277	0,00027
IC	0,00370	0,00128

4 CONCLUSÃO

Considerando a importância da sustentabilidade económica, ambiental e da economia circular, cada vez mais importante para a zootecnia, em geral, e na produção bovinos de carne, em particular, revela-se fundamental que os criadores se foquem na implementação de métodos produtivos e técnicas de manejo que lhes permitam ser mais eficientes, sustentáveis e, simultaneamente melhorando a produtividade dos seus efetivos.

Deste modo, o estudo em causa, complementarmente aos trabalhos que têm sido realizados no âmbito desta temática, revelou-se pertinente e atual, perspetivando o aumento do conhecimento produtivo da raça Bovina Preta relativamente aos três génotipos para a mutação do gene da miostatina e fornecendo informação mais objetiva com impacto na seleção dos futuros reprodutores e dos animais de engorda nas explorações.

Concluiu-se que, os animais heterozigóticos apresentaram os melhores índices produtivos, destacando-se o GMD e o IC em teste aqui analisados, devendo promover-se junto dos criadores a seleção de animais deste génotipo, de modo a potencializar a rentabilidade das suas explorações.

Seria importante considerar a possibilidade de reestruturação dos critérios de admissão dos animais para a testagem, como forma de reduzir o impacto da variação dos fatores analisados nos resultados obtidos. Cita-se como exemplo a necessidade de maior homogeneização da idade e do peso inicial dos animais no início do teste de performance para aumentar a precisão na colheita de dados e estimativas obtidas. Esta estratégia deverá ser desenvolvida de forma concertada por todos os intervenientes da fileira, incluindo técnicos, criadores, entre outros, por forma a garantir o sucesso e a sustentabilidade desta atividade.

A Associação de Criadores reconhece a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre a influência das alterações do gene da miostatina na raça Preta, pelo que tem desenvolvido trabalhos de investigação em colaboração com diversas entidades com o intuito de melhor esclarecer e aconselhar os seus Associados. Não podemos, no entanto, deixar de frisar que serão sempre necessários mais dados e estudos sobre a produtividade dos animais em diferentes sistemas produtivos e não somente de resultados de testes de performance em estação. Estão atualmente a decorrer ensaios que abrangem um maior número de animais de diferentes génotipos e criadores de modo que se possam tirar conclusões mais assertivas sobre os benefícios e inconvenientes da utilização do gene da miostatina nesta população de bovinos autóctones.

5 REFERÊNCIAS

Associação de Criadores de bovinos de Raça Preta, ACBRP (2012). A raça Preta. Acedido em 15 de maio de 2019, disponível em <http://www.racapreta.com.pt/conteudo.php?idm=97>

Cañon, J., Baro, J. A., Gutierrez, J. P. e Dunner, S. (2002). Trait performances of the double-musled vs normal Asturiana beef cattle. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, Montpellier, France

- Carolino, M. I. (2015). *Influências Genéticas nas Características da Carcaça e Carne de Bovinos – Tese de Doutoramento em Ciências Veterinárias especialidade em Produção Animal: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa*, 240 pp
- Carolino, M. I., Ferreira, M., F., Sousa, M., C., Simões, J., P., Almeida, E. e Gama, L. T. (2008). Incidência e efeito de mutações no gene da miostatina (GDF8) em bovinos das raças Preta e Blanc Bleu Belge.
- Carolino, N. (2006). *Estratégias de selecção na Raça bovina alentejana. Tese de Doutoramento - Faculdade de Medicina Veterinária/Universidade Técnica de Lisboa*. 392pp.
- Casas, E., Bennett, G. L., Smith, T. P. L. e Cundiff, L. V. (2004). Association of myostatin on early calf mortality, growth, and carcass composition traits in crossbred cattle. *Journal of Animal Science*, Volume 82, Issue 10, Pages 2913–2918, <https://doi.org/10.2527/2004.82102913x>
- Casas, E. e Kehrli Jr. M.C. (2016). A Review of Selected Genes with Known Effects on Performance and Health of Cattle. *Front. Vet. Sci.*, 15. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00113>
- Chelh, I., Rodriguez, J., Bonnieu, A., Cassar-Malek, I., Cottin, P., Gabillard, J.C., Leiboitch, S., Hadj Sassi, A., Seiliez, I. e Picard, B. (2009). La myostatine: Un régulateur negative de la masse musculaire chez les vertébrés, *Inra Productions Animales*, 22 (5), 397- 408.
- Clinquart, A., Hornick, J. L., van Eenaeme, C. e Istasse, L. (1998). The influence of double muscling on production and quality of meat in Belgian Blue cattle. *Productions Animales (France)*. Vol. : 11, 4: 285-297.
- Dunner, S., Miranda, M., Amigues, Y., Cañón, J., Georges, M., Hanset, R., Williams, J. e Ménéssier, J. (2003). Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35: 03-118. DOI: 10.1051/gse:2002038
- Field, T.G. e Taylor, R.E. (2014). *Scientific Farm Animal Production: An Introduction To Animal Science*. (11th ed.). University of Nebraska: Pearson. 568pp.
- Fiems, L. O (2012). Double Muscling in Cattle: Genes, Husbandry, Carcasses and Meat. *Animals*. 2(3), 472-506; <https://doi.org/10.3390/ani2030472>
- Gadanho, A. M. (2014). *Mutações no Gene da Miostatina na Raça Bovina Limousine - Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica/Produção Animal: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa*,91pp.
- Gonçalves, N. e Rodrigues, A. (2002). *Caraterização técnica do sistema de produção de bovinos de raça Preta*. Castelo Branco: Escola Superior Agrária de Castelo Branco.
- Grobet, L., Poncelet, D., Royo, L.J., Brouwers, B., Pirottin, D., Michaux, C., Menissier, F., Zanotti, M., Dunner, S. e Georges, M. (1998). Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle, *Mammalian Genome*, 9, 210-213.
- Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T.P.L. e Bass, J.J. (1997). Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscléd Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Research*, 7, 910- 915.
- McPherron, A.C. e Lee, S.J. (1997). Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 94, 12457-12461.
- Mixão, L.I. (2019). *Performance produtiva e qualidade sensorial da carne de bovinos de Aberdeen- Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa*,64pp.
- Owens, F.N., Gill, D.R., Secrist, D.S. e S.W. Coleman. (1995). Review of Some Aspects of Growth and Development of Feedlot Cattle. *Journal of Animal Science*, Volume 73, Issue 10. Pages 3152–3172, <https://doi.org/10.2527/1995.73103152x>
- Paulo, D. A. (2020). *Consumo alimentar residual (CAR) em novilhos de Raça Mertolenga- Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica: Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia*.
- Sarti, F.M, Lasagna, E., Ceccobelli, S., Di Lorenzo, P., Filippini, F., Sbarra, F., Giontella, A., Pieramati, C. e Panella, F. (2014). Influence of single nucleotide polymorphisms in the myostatin and myogenic factor 5 muscle growth-related genes on the performance traits of Marchigiana beef cattle. *Journal of Animal Science*, Volume 92, Issue 9, Pages 3804–3810, <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7669>

SAS Institute Inc. (2019). Copyright© 2019 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Vicente, A. A. (2013). Biotecnologia e Melhoramento Animal. Santarém: Escola Superior Agrária de Santarém – Instituto Politécnico de Santarém. Documento Policopiado.

Wiener, P., Woolliams, J.A., Frank-Lawale, A., Ryan, M., Richardson, R. I., Nute, G.R., Wood, J. D., Homer, D. e Williams, J.L. (2009). The effects of a mutation in the myostatin gene on meat and carcass quality. *Meat Science* 83: 127–134. doi:10.1016/j.meatsci.2009.04.010

6 AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de expressar o seu agradecimento à Associação de Criadores de Bovinos de Raça Preta, pela cedência dos dados alvo de análise e apoio prestado na realização deste estudo. Agradece-se igualmente à Casa Agrícola da Quinta da Foz, Sociedade Agropecuária, Lda., na pessoa do Sr. Dr. João da Costa Ferreira, que possibilitou a realização do estágio de fim de curso que esteve na origem deste trabalho.