

Associação de haplótipos do gene *MyoDI* com atributos de carne em ovinos Santa Inês

Luis Paulo Batista Sousa Júnior¹, Ariana Nascimento Meira², Luiz Lehmann Coutinho², Gerson Barreto Mourão², Hymerson Costa Azevedo³, Evandro Neves Muniz³, Victor Breno Pedrosa⁴, Luís Fernando Batista Pinto^{1*}

¹Universidade Federal da Bahia - UFBA, Salvador – BA, Brasil.

²Embrapa Tabuleiros Costeiros – Aracaju – SE, Brasil.

³Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, Piracicaba – SP, Brasil.

⁴Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa – PR, Brasil.

*Autor correspondente: luisfbp@ufba.br

Resumo: O gene *MyoDI* é responsável pela diferenciação das células miogênicas e por isso pode estar associado a atributos de qualidade de carne. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *MyoDI* e atributos de carne na raça Santa Inês. Um fragmento de 2493 pb, localizado entre o 1º e 3º exons, foi amplificado e sequenciado em 192 cordeiros, para identificação de blocos de haplótipos. Associações entre haplótipos e variáveis como pH, cor, força de cisalhamento e capacidade de retenção de água no músculo *Longissimus Lumborum* foram testadas. Foi encontrado um bloco em desequilíbrio de ligação formado pelas variantes *g.34302401G>A* e *g.34302419T>G*, com os haplótipos GT (93,0%) e AG (6,7%). A substituição GT por AG foi associada com pH0 (1.4260 ± 0.2586), pH24 (1.2510 ± 0.2252), L* (-2.3040 ± 0.9148), b* (-1.0640 ± 0.3855) e força de cisalhamento (-4.1286 ± 1.1631). Logo, haplótipos no gene *MyoDI* estão associados atributos de carne em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: cordeiros, marcadores, miogênese, seleção.

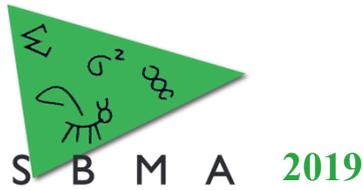
Association of haplotypes in *MyoDI* gene with meat attributes in Santa Ines sheep

Abstract: The *MyoDI* gene is responsible for the differentiation of myogenic cells and therefore may be associated with meat quality attributes in livestock. Thus, this study aimed to test the association between haplotypes in the *MyoDI* gene and meat quality attributes in the Santa Ines sheep. A 2493 bp fragment, between the 1st and 3rd exons, was amplified and sequenced in 192 lambs, to identify blocks of haplotypes. Associations between haplotypes and pH, color, shear force and water-holding capacity in the *Longissimus Lumborum* muscle were tested. A linkage disequilibrium block formed by variants *g.34302401G>A* and *g.34302419T>G* was found, with GT (93.0%) and AG (6.7%) haplotypes copies. The GT by AG replacement was associated with pH0 (1.4260 ± 0.2586), pH24 (1.2510 ± 0.2252), L* (-2.3040 ± 0.9148), b* (-1.0640 ± 0.3855), and shear force (-4.1286 ± 1.1631). Therefore, haplotypes in the *MyoDI* gene are associated with meat attributes in Santa Ines sheep, which may be useful in breeding programs.

Keywords: lambs, molecular markers, myogenesis, selection

Introdução

O *MyoDI* (Diferenciador Miogênico 1 ou *MyF3*) é um dos responsáveis pela diferenciação das células miogênicas que precedem a sua transformação em mioblastos e pela sua proliferação, sendo conhecido como fator de transcrição primário. Por isso, é possível que neste gene existam variantes associadas com características de carcaça e de carne em animais de produção. Estudos com suínos revelaram efeitos de variantes no *MyoDI* sobre pH da carne (Kapelański *et al.*, 2005; Knežević *et al.* 2013) em diferentes músculos. também reportaram associação com pH da carne suína, enquanto Knežević *et al.* (2013) reportaram efeito sobre a composição de gordura e relação gordura/carne em suínos. Contudo, não existem relato de estudos envolvendo o gene *MyoDI* e atributos de carne na raça Santa Inês. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *MyoDI* e atributos de carne na raça Santa Inês.



XIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Salvador, BA – 17 e 18 de junho de 2019

Material e Métodos

Todos os procedimentos realizados neste estudo foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (Protocolo No. 02/2010). Foram avaliados 192 cordeiros da raça Santa Inês, com aproximadamente 240 dias de idade. Destes, 106 pertenciam à fazenda experimental Pedro Arle da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros e os demais à fazenda experimental da Universidade Federal da Bahia. Os animais tiveram amostras do músculo *Longissimus lumborum* coletadas para avaliação dos parâmetros de pH, cor, força de cisalhamento e capacidade de retenção de água, conforme descrito em Jucá *et al.*, (2016). Os valores médios e desvios-padrão estão descritos na Tabela 1.

Para amplificação da região alvo do gene *Myf6* foram utilizados os primers 5'CAGACCCTCAGTGCTTTGCT3' (forward) e 3'CCTGCCCTGCCGTATAAACAT5' (reverse), tendo obtido um fragmento de 2493 pb, localizado entre o 1º e 3º exons. Este fragmento foi sequenciado em todos os animais e posteriormente identificadas as variantes em função do alinhamento com a sequência referência deste gene (ID: 443405). Polimorfismos em equilíbrio Hardy-Weinberg e que apresentaram menor frequência alélica (MAF) $\geq 1\%$ foram utilizados para identificação de haplótipos no gene, utilizando-se o software Haploview. As análises de associação foram realizadas com a sub-rotina haplo.glm do pacote haplo.stat versão 1.7.7, segundo Lake *et al.*, (2003). O nível de significância ($P = 0,025$) foi determinado pela correção de Bonferroni a 5%.

Tabela 1 - Tamanho amostral (N), média e desvio-padrão (DP) das dos atributos de carne analisados em ovinos Santa Inês.

Característica	N	Média	DP
Luminosidade da carne (L*)	185	44,59	5,51
Intensidade de vermelho (a*)	185	20,9	5,69
Intensidade de amarelo (b*)	185	8,38	2,42
Capacidade de retenção de água	99	0,24	0,02
Força de cisalhamento	185	1,79	0,92
pH inicial (pH0)	99	6,63	0,18
pH final (pH24)	99	5,46	0,27

Resultados e Discussão

Dos 59 polimorfismos identificados no gene *MyoD1*, 20 atenderam aos critérios de apresentar simultaneamente MAF $> 0,1\%$ e equilíbrio Hardy-Weinberg. Com esses 20 polimorfismos foi identificado um bloco de desequilíbrio de ligação (Figura 1), sendo formado pelos SNPs *g.34302401G>A* e *g.34302419T>G*. Os haplótipos encontrados neste bloco foram *GT* e *AG*, com frequências de 93% e 6,7%, respectivamente. Logo, os haplótipos raros *GG* e *AT* apresentaram conjuntamente frequência de apenas 0,3% e não foram utilizados nos testes de associação. A substituição do haplótipo *GT* pelo *AG* foi associada com pH0 (1.4260 ± 0.2586), pH24 (1.2510 ± 0.2252), L* (-2.3040 ± 0.9148), b* (-1.0640 ± 0.3855) e força de cisalhamento (-4.1286 ± 1.1631). Os sinais dos coeficientes de regressão indicam que essas substituições aumentam os valores de pH, além de reduzir os valores de L*, b* e força de cisalhamento. Os sinais dos coeficientes de regressão indicam que essa substituição de haplótipos está associada com maiores valores de pH da carne Santa Inês e menores valores força de cisalhamento e faz intensidades de brilho (L*) e de amarelo (b*).

Os efeitos aqui encontrados para pH confirmam prévios achados de Kapelański *et al.* (2005), os quais identificaram associação do SNP *g.489C>T* no gene *MyoD1* sobre pH final do músculo *Longissimus lumborum* 48 horas pós-abate em suínos. Enquanto Knežević *et al.* (2013) associaram este mesmo SNP ao pH mensurado no músculo Semimembranosus 45 minutos e 24 horas pós-abate, além de efeito sobre pH24 no músculo *Longissimus* de suínos. O impacto sobre essas variáveis da carne pode ser uma consequência na composição e densidade das fibras musculares. Lee *et al.* (2012) identificaram associação significativa de dois haplótipos no gene *MyoD1* de suínos com composição (número e área de fibras tipo I, IIa e IIb) e densidade das fibras musculares, o que impactou também a área total de olho de lombo do músculo *Longissimus*. Outro fator que pode explicar os efeitos sobre pH, L* e maciez é a

composição de gordura. Knežević *et al.* (2013) reportaram efeito de polimorfismo no gene *MyoD1* sobre a composição de gordura e relação gordura/carne em suínos.

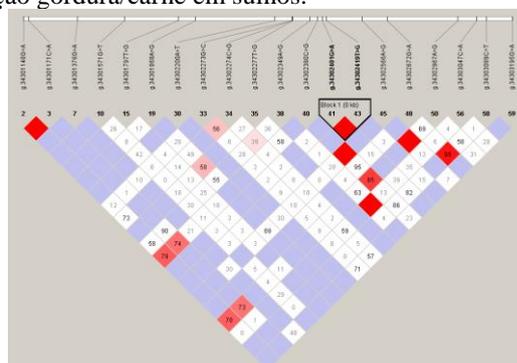


Figura 1. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MyoD1* em ovinos Santa Inês.

Tabela 2. Coeficiente de regressão (β) e erro-padrão (EP) obtidos com a análise de associação de haplótipos no gene *MyF6* em ovinos Santa Inês.

Característica	Substituição de Haplótipos	$\beta \pm EP$	P-valor
pH0	GT > AG	1,4260 \pm 0,2586	< 0,001
pH24	GT > AG	1,2510 \pm 0,2252	< 0,001
L*	GT > AG	-2,3040 \pm 0,9148	0,013
b*	GT > AG	-1,0640 \pm 0,3855	0,006
Força de cisalhamento	GT > AG	-4,1286 \pm 1,1631	0,001

Conclusão

Substituição de haplótipos no gene *MyoD1* está associada com atributos de carne em ovinos Santa Inês, o que pode ser útil para os processos de seleção.

Agradecimentos

À Embrapa Tabuleiros Costeiros e a UFBA pela infraestrutura e animais utilizados; Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio ao financeiro aos projetos 455611/2014-9, 562551/2010-7 e 474494/2010-1; O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Literatura citada

- Kapelański W., Grajewska S., Kurył J., Bocian M., Wszyńska-Koko J. & Urbański P. 2005. Polymorphism in coding and non-coding regions of the *MyoD* gene family and meat quality in pigs. **Folia Biologica**, 53, 45-49.
- Knežević D., Đurkin I., Kušec G., Kralik G. & Jerković I. 2013. Influence of C489T SNP at *MYOD1* gene on carcass, meat quality traits and chemical composition of hybrid pigs. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, 78, 193-196.
- Lake S.L., Lyon H., Tantisira K., Silverman E.K., Weiss S.T., Laird N.M. & Schaid D.J. 2003. Estimation and tests of haplotype environment interaction when linkage phase is ambiguous. **Human Heredity**, 55, 56-65.
- Lee E.A., Kim J.M., Lim K.S., Ryu Y.C., Jeon W.M. & Hong K.C. 2012. Effects of variation in porcine *MYOD1* gene on muscle fiber characteristics, lean meat production, and meat quality traits. **Meat Science**, 92, 36-43.