

Haplótipos no gene *MyF6* associados a maciez de carne em ovinos Santa Inês

Mayra Silva Dias¹, 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 fator miogênico 6 (MyF6) é um gene que regula a miogênese e, portanto, é candidato a estudos de associação com características do tecido muscular em animais de produção. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *MYF6* e características de qualidade de carne em ovinos Santa Inês. Um fragmento de 1126 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. Quatro polimorfismos foram identificados, os quais formaram dois blocos de haplótipos. Um bloco com as variantes *g.116445836A>G* e *g.116445837G>T*, os quais formaram os haplótipos *AG* (73,4%) e *GT* (25,8%), e outro com as variantes *g.116445882C>A* e *g.116446029C>T*, que teve os haplótipos *CC* (92,9%) e *AT* (6,1%). A substituição do haplótipo *AG* por *GT* foi associada com força de cisalhamento ($1,92 \pm 0,85$ kgf). Logo, haplótipos no gene *MYF6* estão associados a maciez de carne em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: cordeiros, marcadores, miogênese, seleção

Haplotypes in the *MyF6* gene associated with tenderness in Santa Ines sheep

Abstract: - The myogenic factor 6 (MyF6) has a key role in myogenesis and, therefore, is a candidate gene for association studies with meat quality traits in livestock. Thus, this study aimed to test the association between haplotypes in the *MYF6* gene and meat quality traits in Santa Ines sheep. A fragment of 1126 bp, between the 1st and 3rd exons, was amplified and sequenced in 192 lambs to identify haplotype blocks. Associations between haplotypes and variables such as pH, color, shear-force, and water-holding capacity in the *Longissimus lumborum* muscle were tested. Four polymorphisms were identified, which formed two haplotype blocks. The block-1 included *g.116445836A>G* and *g.116445837G>T* variants, which formed the haplotypes *AG* (73.4%) and *GT* (25.8%). The block-2 included *g.116445882C>A* and *g.116446029C>T* variants, which formed the haplotypes *CC* (92.9%) and *AT* (6.1%). The replacement of the *AG* haplotype by *GT* in the block-1 was associated with shear force (1.92 ± 0.85 kgf). Therefore, haplotypes in the *MYF6* gene are associated with meat tenderness in Santa Ines sheep, which may be useful in breeding schemes.

Keywords: lambs, myogenesis, markers, selection.

Introdução

A expressão do gene *MyF6* inicia-se durante o desenvolvimento fetal e continua ao longo dos estágios pós-natais, sendo predominantemente expresso nas fibras musculares adultas (Moretti *et al.*, 2016). Com o silenciamento do *MyF6* no músculo esquelético adulto, há um aumento no tamanho da fibra muscular, sugerindo que este gene é um regulador negativo do crescimento muscular. Portanto, é um gene candidato a estudos de associação com características do tecido muscular em animais de produção. Existem trabalhos que encontraram associação entre polimorfismos no gene *MyF6* e características de qualidade ou produção de carne em suínos (Kapelański *et al.*, 2005, Wyszynska-Koko *et al.*, 2006). Contudo, estudos de associação com características da carne ovina ainda não foram reportados. Logo, o

objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *MyF6* e características de qualidade carne em ovinos Santa Inês.

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).

Para amplificação da região alvo do gene *MyF6* foram utilizados os primers 5'CTTGACGGGGAAAATGTTA3' (forward) e 3'GAGGAAATGCTGTCCACGAT5' (reverse), tendo obtido um fragmento de 1126 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: 100188930). Polimorfismos em equilíbrio Hardy-Weinberg e que apresentem menor frequência alélica (MAF) $\geq 1\%$ foram utilizados para identificação de haplótipos no gene, utilizando-se o software Haploview (Barrett *et al.*, 2005). 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 ($P = 0,0111$) foi determinado pela correção de Bonferroni a 5%.

Resultados e Discussão

O presente estudo identificou quatro variantes *g.116445836A>G* (rs595997498), *g.116445837G>T* (rs591524187), *g.116445882C>A* (rs409632361) e *g.116446029C>T* (rs399504900) no gene *MyF6* de ovinos Santa Inês, todas em equilíbrio Hardy-Weinberg e com MAF $\geq 1\%$ (Tabela 1). A variante *g.116446029T>C* foi a única mutação localizada no exon 3, mas trata-se de uma mutação sinônima. Suas frequências genotípicas foram iguais a 1,6% (*TT*), 11,0% (*TC*) e 87,4% (*CC*), as quais são semelhantes àquelas observadas para a população MOOA (0,6% *TT*, 5,6% *CT* e 93,8% *CC*) no projeto NextGen, um forte indicativo de que nosso sequenciamento foi realizado com sucesso.

No gene *MyF6* foram encontrados dois blocos de haplótipos (Figura 1). O bloco-1, formado pelos SNPs *g.116445836A>G* e *g.116445837G>T*, apresentou os haplótipos *AG* (73,4%) e *GT* (25,8%). Já o bloco-2, formado pelos SNPs *g.116445882C>A* e *g.116446029C>T*, teve como haplótipos *CC* (92,9%) e *AT* (6,1%). Haplótipos raros tiveram frequência menor que 1%.

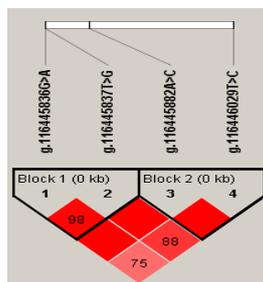
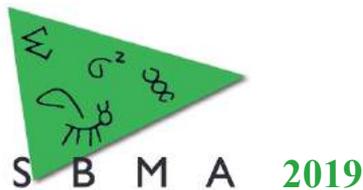


Figura 1. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MyF6* em ovinos Santa Inês

Foi encontrada associação do bloco-1 com a força de cisalhamento (Tabela 2). A substituição de cada cópia do haplótipo *AG* pelo *GT* foi associada a um aumento na maior força de cisalhamento de $0,1954 \pm 0,0866$. Aumento de força de cisalhamento é algo indesejável, pois reduz a maciez da carne. Porém, os valores médios de força de cisalhamento já reportados para a raça Santa Inês são geralmente baixos, como por exemplo Costa *et al.* (2014), que reportaram valor médio de $1,45 \text{ kgf/cm}^2$. Contudo, nosso achado revela o potencial do gene *MyF6* como candidato a estudos de associação para maciez de carne. Vale lembrar que outras espécies de ruminantes, como os bovinos, maciez de carne ainda é um



problema para a cadeia produtiva e estudos com o gene *Myf6* podem revelar polimorfismos de grande aplicabilidade prática em bovinos.

Tabela 1. Heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He), menor frequência alélica (MAF) e probabilidade do teste para equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE), dos SNPs encontrados no gene *Myf6* em ovinos Santa Inês.

Polimorfismo	Ho	He	HWE (P-valor)	MAF
<i>g.116445836A>G</i>	0,384	0,385	1,0000	0,261
<i>g.116445837G>T</i>	0,379	0,388	0,8583	0,263
<i>g.116445882C>A</i>	0,111	0,114	1,0000	0,061
<i>g.116446029C>T</i>	0,111	0,132	0,1074	0,071

Tabela 2. Coeficiente de regressão (β) e erro-padrão (EP) obtidos na análise de associação de haplótipos no gene *Myf6* em ovinos Santa Inês.

Característica	Substituição de Haplótipos	$\beta \pm EP$	P-valor
Força de cisalhamento	<i>AG > GT</i>	1,9162 \pm 0,8493	0,025

Conclusão

Uma substituição de haplótipos no gene *Myf6* está associada com maciez de carne em ovinos Santa Inês, o que pode ser útil para os processos de seleção. Além disso, este resultado pode servir de base comparativa para posteriores estudos realizados com esta raça ou outras raças de ovinos.

Agradecimentos

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

Literatura citada

- Costa R.S., Henriques L.S.V., Valle F.R.A.F., Maia-Júnior J.A., Alves É.N., Henry F.C., Quirino C.R. & Santos-Júnior A.C. 2015. Meat quality of Santa Inês and F1 Santa Inês x Dorper Lambs. *Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês e Santa Inês F1 X Dorper. Revista de Ciências Agrárias*, 38, 338-345.
- Jucá A.F., Faveri J.C., Melo-Filho G.M., Ribeiro-Filho A.L., Azevedo H.C., Muniz E.N., Pedrosa V.B. & Pinto L.F.B. 2016. Effects of birth type and family on the variation of carcass and meat traits in Santa Ines sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 48, 435-443.
- Kapelański W., Grajewska S., Kurył J., Bocian M., Wyszynska-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.
- 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.
- Moretti I., Ciciliot S., Dyar K. A., Abraham R., Murgia M., Agatea L., Akimoto T., Bicciato S., Forcato M., Pierre P., Uhlenhaut N.H., Rigby P.W.J., Carvajal J.J., Blaauw B., Calabria E. & Schiaffino S. 2016. MRF4 negatively regulates adult skeletal muscle growth by repressing MEF2 activity. *Nature Communications*, 7, 12397.
- Wyszynska-Koko J., Pierzchała M., Flisikowski K., Kamyczek M., Różycki M., Kurył J. 2006. Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine MYF6 and MYOG genes and expression of the MYF6 gene in m. longissimus dorsi versus productive traits in pigs. *Journal of Applied Genetics*, 47, 131-138.