

Associação de haplótipos do gene *MSTN* 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 *MSTN* atua como regulador negativo do crescimento do músculo esquelético e a falta de sua expressão aumenta o desenvolvimento muscular. Por isso, haplótipos neste gene podem estar associados a atributos de qualidade de carne. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *MSTN* e características de qualidade de carne em ovinos Santa Inês. Um fragmento de 2.380 pb, localizado entre o 1º e 2º exons, foi amplificado e sequenciado em 123 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. A bloco em desequilíbrio de ligação com SNPs *g.118141035G>A* e *g.118141041T>C* foi encontrado, sendo três haplótipos *GT* (70,9%), *AT* (18,4%) e *AC* (10,7%) encontrados. A substituição do haplótipo *GT* pelo *AT* foi associada a força de cisalhamento ($2,4340 \pm 1,0659$) e intensidade de vermelho (a^*) ($-0,8855 \pm 0,4411$), enquanto a substituição de *GT* pelo *AC* foi associado com pH0 ($1,2580 \pm 0,3073$), pH24 ($1,0740 \pm 0,2650$), a^* ($-1,3950 \pm 0,5048$) e força de cisalhamento ($3,8285 \pm 1,2236$). Logo, haplótipos no gene *MSTN* estão associados com atributos de carne em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: marcadores moleculares, ovinocultura, SNP.

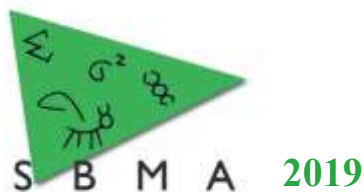
Association of *MSTN* gene haplotypes with meat attributes in Santa Inês sheep

Abstract: The *MSTN* gene is a negative regulator of skeletal muscle growth and the lack of *MSTN* expression change the muscle development. Therefore, haplotypes in this gene may be associated with meat quality attributes in livestock. Thus, the objective of this study was to test the association between haplotypes in the *MSTN* gene and meat quality traits in Santa Ines sheep. A fragment of 2,380 bp, between the 1st and 2nd exons, was amplified and sequenced in 123 lambs, to identify linkage disequilibrium blocks. Associations between haplotypes and pH, color, shear force and water-holding capacity in the *Longissimus lumborum* muscle were tested. A linkage disequilibrium block with SNPs *g.118141035G>A* and *g.118141041T>C* was found, and three haplotypes *GT* (70.9%), *AT* (18.4%), and *AC* (10.7%) were observed. Replacement of *GT* by *AT* was associated with shear force (2.4340 ± 1.0659), and redness (a^*) (-0.8855 ± 0.4411), while the replacement of *GT* by *AC* was associated with pH0 (1.2580 ± 0.3073), pH24 (1.0740 ± 0.2650), a^* (-1.3950 ± 0.5048), and shear force (3.8285 ± 1.2236). Therefore, haplotypes in the *MSTN* gene are associated with meat attributes in Santa Ines sheep, which may be useful in breeding programs.

Keywords: molecular markers, ovine breeding, SNP.

Introdução

O gene *MSTN*, também conhecido como *GDF8* (Growth differentiation factor 8), funciona como um regulador negativo do crescimento do músculo esquelético, ao inibir a proliferação e diferenciação de progenitores musculares (Mcpherron *et al.*, 1997). Em função disso, polimorfismos neste gene têm sido associado a várias características de interesse na produção animal, contudo, qualidade de carne tem sido pouco estudada. Apesar disso, Bagatoli *et al.* (2013) constataram maior expressão de *MSTN* levou



XIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Salvador, BA – 17 e 18 de junho de 2019

animais da raça Santa Inês a apresentarem menor maciez da carne. Resultado que indica a possibilidade de polimorfismo neste gene estar associado a atributos de carne. Assim, o objetivo deste estudo foi testar associação entre haplótipos no gene *MSTN* e características de qualidade de 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 123 cordeiros da raça Santa Inês, com aproximadamente 240 dias de idade, os quais foram oriundos da fazenda experimental Pedro Arle da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros e da 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 estatísticos descritivos estão na Tabela 1.

Para amplificação da região alvo do gene *MSTN* foram utilizados os primers 5'AGAACAGCGAGCAGAAGGAA3' (forward) e 3'CAATGCTCTGCCAAATACCA5' (reverse), tendo obtido um fragmento de 2380 pb, localizado entre o 1º e 2º 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: 443449). 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. 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) 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

Dez SNPs foram identificados no fragmento do gene *MSTN* aqui sequenciado e um bloco em desequilíbrio de ligação foi encontrado (Figura 1). Este bloco é formado pelos SNPs *g.118141035G>A* e *g.118141041T>C* e apresentou três haplótipos *GT* (70,9%), *AT* (18,4%) e *AC* (10,7%). Os testes de associação com haplótipos no gene *MSTN* revelaram efeitos significativos sobre pH0, pH24, a* e força de cisalhamento (Tabela 2). A substituição do haplótipo *GT* pelo *AT* foi associada a força de cisalhamento ($2,4340 \pm 1,0659$) e a* ($-0,8855 \pm 0,4411$), enquanto a substituição do haplótipo *GT* pelo *AC* foi associada com pH0 ($1,2580 \pm 0,3073$), pH24 ($1,0740 \pm 0,2650$), a* ($-1,3950 \pm 0,5048$) e força de cisalhamento ($3,8285 \pm 1,2236$). Os sinais dos coeficientes de regressão indicam que essas substituições do haplótipo mais frequente pelos de menor frequência foi associada com aumentos de pH e força de cisalhamento, mas com reduções na intensidade de vermelho da carne.

Nenhum prévio estudo com ovinos havia encontrado efeito sobre cor e pH da carne. Há apenas um relato de polimorfismo no gene *MSTN* com efeito sobre maciez de carne em ovinos (Kijas et al., 2007), mas o polimorfismo por eles estudado encontra-se na região 5'UTR do gene. Os polimorfismos que formam os haplótipos aqui encontrados na raça Santa Inês estão no intron-1. Nesta região foram reportados polimorfismos (PCR-SSCP) com efeito sobre peso no abate e rendimento de cortes comerciais como pernil, paleta e lombo na raça New Zealand Romney (Ibrahim et al., 2015). Logo, ao afetar aspectos como o rendimento do lombo é possível que isso afete também as características da carne aqui avaliadas como pH, maciez, cor e perdas de água.

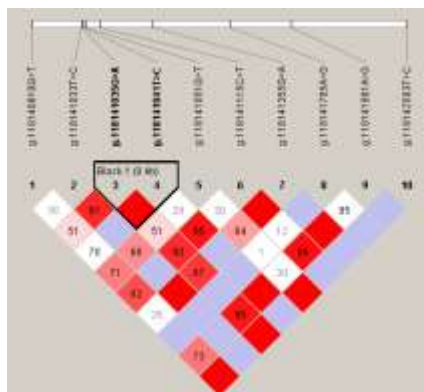


Figura 1. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MSTN* em ovinos Santa Inês.

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

Característica	Substituição de Haplótipos	$\beta \pm EP$	P-valor
pH0	GT > AC	1.2580 \pm 0.3073	< 0.001
pH24	GT > AC	1.0740 \pm 0.2650	< 0.001
a*	GT > AC	-1.3950 \pm 0.5048	0.007
a*	GT > AT	-0.8855 \pm 0.4411	0.047
Força de cisalhamento	GT > AC	3.8285 \pm 1.2236	0.002
Força de cisalhamento	GT > AT	2.4340 \pm 1.0659	0.024

Conclusão

Existem associações entre haplótipos no gene *MSTN* e características de pH, intensidade de vermelho e força de cisalhamento da carne de ovinos Santa Inês, as quais podem ser úteis em 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

- Bagatoli A., Gasparino E., Soares M.A.M., Amaral R.M., Macedo F.A.F., Voltolini D.M. & Del-Vesco A.P. 2013. Expression of calpastatin and myostatin genes associated with lamb meat quality. **Genetics and Molecular Research**, 12, 6168-6175.
- Barrett J., Fry B., Maller J. & Daly M. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics** 21, 263-265.
- 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.
- McPherron A.C., Lawler A.M. & Lee S. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**, 387, 83-90.
- Kijas J.W., Mcculloch R., Edwards J.E., Oddy V.H., Lee S.H. & Van Der Werf J. 2007. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the Ovine GDF8 locus. **BMC Genetics**, 8, 80.
- Ibrahim A.H.M., Zhou H. & Hickford J.G.H. 2015. Variation in intron 1 of the ovine GDF8 gene and its association with growth and carcass characteristics of dual purpose sheep. **Egyptian Journal of Animal Production**, 52, 39-46.