

REFINAMENTO DE UMA REGIÃO DE QTL ASSOCIADA À MACIEZ DE CARNE EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

MINIMIZING ONE QTL REGION RELATED TO TENDERNESS MEAT IN NELORE CATTLE

Wellison Jarles da Silva Diniz⁽¹⁾

Polyana Cristine Tizioto⁽²⁾

Fabiana Barichello Mokry⁽³⁾

Maurício de Alvarenga Mudadu⁽⁴⁾

Luciana Correia de Almeida Regitano⁽⁵⁾

Abstract

Meat tenderness is the key factor for consumer acceptance. It is known that this trait is at least moderately heritable, so the understanding of its genetic architecture can contribute to the development of quantitative and molecular criteria for beef cattle selection. The aim of this work was to construct haplotype blocks in a QTL region previously described in a genome wide association study in order to reduce its size of 1 Mb and associate them with meat tenderness to identify potential positional candidate genes. For this, genotypes of 374 Nelore animals represented in Illumina BeadChip in the BTA 23 at 24 Mb were used. In this QTL region, where 570 SNPs are located, 149 blocks with size ranging from 0.8 to 23 Kb were formed. Among the 149 haplotypes built, 40 blocks was found as associated with the target trait ($p < 0.05$). In this region, nine genes that are related to physiological processes, such as calcium homeostasis, post-transcriptional processing of proteins and genome replication were identified. This strategy allowed the reduction of QTL size and the identification of putative functional genes, however further studies are needed to determine the role of these genes in meat tenderness.

Keywords: Shear force. Meat quality. SNP chip.

1 Introdução

Destaque no panorama internacional em exportações de carne bovina, o Brasil tem no seu rebanho o predomínio de animais da raça Nelore (BRASIL, 2013; ABIEC, 2014), que apesar de bem adaptada às condições tropicais, possuem inferior qualidade de carne quando comparados aos animais taurinos. A qualidade da carne é um conceito complexo e inclui tanto

¹Mestrando em Genética Evolutiva e Biologia Molecular, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos - SP; ²Pós-doutoranda, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ Centro de Pesquisa e Pecuária Sudeste - Embrapa-CPPSE; ³Pós-doutoranda, UFSCar, São Carlos, SP; ⁴Pesquisador, Embrapa-CPPSE, São Carlos, SP; ⁵Pesquisador, Embrapa-CPPSE, São Carlos, SP; Pesquisadora CNPq; Email : wjarles09@gmail.com

aspectos de segurança alimentar e composição nutricional, quanto aspectos tecnológicos, sensoriais, bioquímicos e genéticos (MUCHENJE et al., 2009).

A maciez é fator preponderante na aceitação do produto pelos consumidores, entretanto, por ser uma característica tardia e de mensuração onerosa não é comumente utilizada em programas de melhoramento. Contudo, os recentes avanços na biotecnologia têm permitido o desenvolvimento de importantes ferramentas e estratégias para aplicação no melhoramento animal (REGITANO et al., 2011).

O uso de marcadores genéticos tem possibilitado a identificação de *Quantitative Trait Loci* (QTL) e o mapeamento de genes ou conjunto de genes responsáveis pela variação fenotípica. Além disso, a caracterização de marcadores de nucleotídeo único (SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*) possibilitou o desenvolvimento de plataformas para genotipagem em larga escala através dos *chips* de SNPs que permitem a investigação simultânea de milhares de marcadores (*Genome Wide Selection* – GWS) (REGITANO et al., 2011; RESENDE et al., 2008). Características de maciez, dentre outras, têm sido associadas a polimorfismos genéticos, conforme demonstrado em vários estudos (BARENDSE et al., 2008; REGITANO et al., 2012; TIZIOTO et al., 2012a, 2012b, 2014).

Por meio de estudo de associação genômica ampla, Tizioto et al. (2013) identificaram diversas regiões de QTL e genes candidatos que influenciam características como força de cisalhamento (FC), área de olho de lombo, perda por cocção e luminosidade na gordura e no músculo e cobertura de gordura subcutânea. Neste estudo um QTL localizado no cromossomo 23, a 24 Mb, explicou 0,11% da variância genética para característica força de cisalhamento. Contudo, este QTL está localizado em uma região cromossômica de 1 Mb na qual estão diversos marcadores em desequilíbrio de ligação. Com o objetivo de refinar este intervalo e identificar potenciais genes candidatos, combinações haplotípicas foram construídas a partir dos genótipos provindos do *Illumina BovineHD BeadChip*, as quais foram utilizadas para realizar um estudo de associação com a característica maciez de carne.

2 Material e Métodos

Foram utilizados 374 animais descendentes de 34 touros Nelore, registrados, que representam a variabilidade genética da raça. Após a recria os animais foram confinados na Embrapa Pecuária Sudeste e em Campo Grande durante cerca de 100 dias. Quando abatidos amostras do músculo *Longissimus dorsi*, na região entre a 11^a e 13^a costela, foram coletadas. A maciez medida por meio da FC foi realizada em bifes de 2,5 cm de espessura, 24 horas *post mortem* conforme metodologia descrita em Tizioto et al. (2013).

A genotipagem e o estudo de associação genômica ampla foram conduzidos conforme descrito por Tizioto et al. (2013). As fases de ligação foram inferidas pelo *software Beagle* 3.3.2. (BROWNING; BROWNING, 2011) e os blocos haplotípicos foram construídos utilizando o *software Haploview* (BARRETT et al., 2005).

A região de 1 Mb inicialmente identificada, localizada a 24 Mb foi estendida 500 Kb *upstream* e *downstream* do QTL. Para análise de associação foram utilizados valores genéticos genômicos estimados a partir de análises bayesianas (*BayesB*) de associação genômica ampla realizadas conforme metodologia adotada por Tizioto et al. (2013). As análises de associação entre os valores genéticos genômicos e maciez foram realizadas pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) utilizando o programa SAS.

3 Resultados e Discussão

A região analisada compreendeu 2,1 Mb (23,4 a 25,5 Mb), na qual foram identificados 570 SNPs na plataforma *Illumina BovineHD*. Foram formados 149 blocos haplotípicos, com tamanho variando de 0,8 a 23 Kb e o número de SNPs por bloco variou entre dois a 11. Dentre os 149 blocos haplotípicos construídos, 40 foram associados à característica alvo ($p < 0,05$), contudo 21 destes blocos não apresentaram em suas regiões genes anotados e três *loci* não caracterizados. A Tabela 1 apresenta apenas haplótipos que foram associados à maciez e compreenderam genes candidatos.

Foram identificados nove genes candidatos: *Interleukin 17 (IL17F)*; *Minichromosome maintenance complex component 3 (MCM3)*; *Progesterin and adiponQ receptor family member III (PAQR3)*; *EF-hand domain (C-terminal) containing 1 (EFHC1)*; *Translocation associated membrane protein 2 (TRAM2)*; *Glutathione S-transferase, alpha 3 (GSTA3)*; *Intestinal cell (MAK-like) kinase (ICK)*; *F-box protein 9 (FBXO9)*; *Glial cells missing homolog 1 (GCM1)*.

Os genes EFHC e GSTA3 participam da homeostase do cálcio e do transporte transmembrana de íons, respectivamente. TRAM2 e FBXO9 estão relacionados ao processamento pós-transcricional de proteínas nascentes, enquanto que o gene MCM3 está envolvido na replicação do genoma, na formação das forquilhas de replicação e recrutamento de proteínas relacionadas à replicação (NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE'S, 2014). Embora para nenhum destes genes, até o momento, tenha sido determinado o seu mecanismo de atuação para a característica em estudo, acredita-se que eles participem de processos metabólicos importantes capazes de influenciar a maciez da carne.

Tabela 1 – Haplótipos e genes identificados associados com maciez de carne em animais Nelore.

Haplótipos	Posição (kb)	Nº SNPs	<i>p value</i>	Gene
72	23,25	11	0.0240	IL17F
73	6,46	8	0.0011	MCM3
83	4,15	2	0.0203	PAQR3
89	0,81	3	0.0361	EFHC1
91	2,23	2	0.0576	
95	5,18	3	0.0464	TRAM2
96	2,40	8	0.0110	
111	8,40	5	0.0250	GSTA3
115	14,74	2	0.0050	
118	5,79	3	0.0422	ICK
119	3,82	3	0.0148	
121	3,66	3	0.0222	FBXO9
124	6,04	5	0.0196	GCM1

4 Conclusões

A utilização das combinações haplotípicas permitiu reduzir o tamanho do QTL inicial (124,4 Kb) e identificar genes com possível efeito na característica, no entanto são necessários estudos subsequentes para entender o papel destes na arquitetura subjacente a maciez.

Referências

- BARENDSE, W.; HARRISON, B. E.; BUNCH, R. J.; THOMAS, M. B. Variation at the Calpain 3 gene is associated with meat tenderness in zebu and composite breeds of cattle. **BMC genetics**, v. 9, p. 41, 2008.
- BARRETT, J. C.; FRY, B.; MALLER, J.; DALY, M. J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 21, n. 2, p. 263–5, 2005.
- BROWNING, B. L.; BROWNING, S. R. A fast, powerful method for detecting identity by descent. **American journal of human genetics**, v. 88, n. 2, p. 173–82, 2011.
- MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; STRYDOM, P.E.; HUGO, A. RAATS, J.G. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 279–289, 2009.
- NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE'S. Genetics Home Reference. Disponível em: <<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/EFHC1>>. Acesso em: 14/6/2014.
- REGITANO, L. C. DE A.; MOTA, M. D. S. DA; MUDADO, M. DE A. Seleção genômica para a qualidade da carne: caminhos para a pecuária sustentável. 8º Congresso Brasileiro de Raças Zebuínas - Simpósio “Pecuária Tropical Sustentável: Inovação, Avanços Técnico-Científicos e Desafios.” **Anais...** p.148–149, 2011.

REGITANO, L. C. DE A.; TIZIOTO, P. C.; OLIVEIRA, P. SI. N. DE; MUDADU, M. A.; MOURÃO, G. B. REDE BIFEQUALI. Associação Genômica com maciez de carne na raça Nelore. IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. **Anais...**, 2012.

RESENDE, M. D. V. DE; LOPES, P. S.; SILVA, R. L. DA; PIRES, I. E. Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 56, p. 63–77, 2008.

TIZIOTO, P. C.; DECKER, J. E.; TAYLOR, J. F.; SCHNABEL, R. D.; MUDADU, M. A.; SILVA, F. L.; MOURÃO, G. B.; COUTINHO, L. L.; THOLON, P.; SONSTEGARD, T. S.; ROSA, A. N.; ALENCAR, M. M.; TULLIO, R. R.; MEDEIROS, S. R.; NASSU, R. T.; FEIJÓ, G. L. D.; SILVA, L. O. C.; TORRES, R. A.; SIQUEIRA, F. HIGA, R. H.; REGITANO, L. C. A. Genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiological genomics**, v. 45, n. 21, p. 1012–20, 2013.

TIZIOTO, P. C.; GROMBONI, C. F.; NOGUEIRA, A. R. D. A.; SOUZA, M. M.; MUDADU, M. A.; THOLON, P.; ROSA, A. N.; TULLIO, R. R. MEDEIROS, S. R.; NASSU, R. T. REGITANO, L. C. A. Calcium and potassium content in beef: influences on tenderness and associations with molecular markers in Nellore cattle. **Meat science**, v. 96, n. 1, p. 436–40, 2014. Elsevier Ltd.

TIZIOTO, P. C.; MEIRELLES, S. L.; VENERONI, G. B.; TULLIO, R. R.; ROSA, A. N.; ALENCAR, M. M.; MEDEIROS, S. R.; SIQUEIRA, F.; FEIJÓ, G. L. D.; SILVA, L. O. C.; TORRES, R. A. A.; REGITANO, L. C. A. A SNP in ASAP1 gene is associated with meat quality and production traits in Nelore breed. **Meat science**, v. 92, n. 4, p. 855–7, 2012.

TIZIOTO, P. C.; THOLON, P.; MUDADU, M. D. A.; BRESSANI, F. A.; REDE BIFE DE QUALIDADE; REGITANO, L. C. A. Análise haplotípica do gene ASAP1 associado com maciez de carne em bovinos da raça Nelore. IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. **Anais...**, 2012.

WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE. Genecards the human gene compedium. Disponível em: <<http://www.genecards.org/>>. Acesso em: 14/6/2014.