

**Influência do polimorfismo do gene *PMCH* em características de carcaça e qualidade de carne em bovinos Nelore e seus cruzamentos<sup>1</sup>**

Dias, V. A. D.<sup>2</sup>, Malheiros, J. M.<sup>3</sup>, de Oliveira, H. N.<sup>4</sup>, Curi, R. A.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Parte da tese de mestrado do primeiro autor, financiada pela CAPES

<sup>2</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP/Jaboticabal - SP. Bolsista da CAPES. e-mail: victordiaszootecnista@gmail.com

<sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento Animal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP/Jaboticabal - SP. Bolsista da CAPES. e-mail: jessicamalheiros@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Departamento de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP/Jaboticabal - SP.

<sup>5</sup>Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu-SP.

**Resumo:** As técnicas de biologia molecular utilizadas no melhoramento genético são uma alternativa para o aperfeiçoamento de características de interesse zootécnico. O gene *PMCH* se apresenta como gene candidato para animais de produção, tendo o objetivo de estimar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo DQ499531.1:g.134A>T e avaliar as associações entre esse polimorfismo e características de qualidade da carne. Foram utilizados 499 animais, sendo 313 da raça Nelore e 186 cruzados com raças taurinas. Para esse polimorfismo as frequências alélicas de A foram de 0,850 no Nelore e de 0,905 nos cruzados. Com relação aos estudos de associação, os resultados não mostraram uma relação significativa ( $P < 0,05$ ) entre o polimorfismo e as características avaliadas, mostrando não ser uma ferramenta para seleção em animais com composição genética semelhante às utilizadas.

**Palavras-chave:** genes candidatos, marcadores moleculares, qualidade da carne

**Influence of polymorphism of the *PMCH* gene on carcass and meat traits in Nelore beef cattle and in their crosses**

**Abstract:** The techniques used in the molecular biology in the genetic improvement are an alternative to the improvement of characteristics of zootechnical interest. The *PMCH* gene is presented as candidate gene for production animals, with the purpose of estimating allele frequencies and genotype of polymorphism DQ499531.1: g.134A> T and evaluate the association between this polymorphism and meat quality characteristics. We used 499 animals, 313 Nelore and 186 crossbred with taurine breeds. For on this polymorphism the allelic frequencies of A were 0.850 in Nelore and 0.905 us crossed. With respect to association studies, the results showed no significant ( $P < 0.05$ ) between the polymorphism and the characteristics, showing not be a tool to selection in animals with similar genetic makeup to use.

**Keywords:** candidates genes, molecular markers, quality of meat

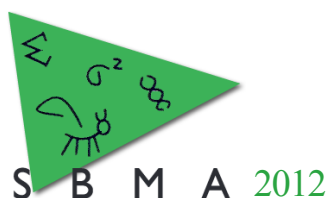
**Introdução**

Para a produção de carne bovina se manter competitiva no mercado, é fundamental que o produtor esteja atento às exigências dos consumidores nacionais e internacionais. A genética é um dos fatores que determina a qualidade da carne, sendo necessário que os estudos estejam relacionados à variação genética de características que influenciam a qualidade de carcaça e carne bovina para que se possam delinear programas de melhoramento, com o intuito de aperfeiçoar tais atributos. (TIZIOTO, 2010).

O melhoramento genético é indispensável em busca do aumento da produtividade e seleção de características de interesse em animais *Bos indicus*, assim este trabalho teve como objetivo estimar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo DQ499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* em bovinos de diferentes grupos genéticos e avaliar as associações entre esse polimorfismo e características de composição de carcaça e qualidade de carne.

**Material e Métodos**

Foram utilizados 499, destes 199 Nelore terminados em confinamento com idade inferior a 2 anos, do programa de melhoramento genético da Conexão Delta G. Utilizou também 256 animais, sendo 114 da raça Nelore, 67 cruzados Angus x Nelore (1/2 *Bos taurus* + 1/2 *Bos indicus*), 41 da raça Canchim



(5/8 Charoles + 3/8 *Bos indicus*), 19 tricross Brangus (9/16 *Bos taurus* + 7/16 *Bos indicus*) e 15 tricross Pardo-Suíço (3/4 *Bos taurus* + 1/4 *Bos indicus*), de rebanhos comerciais terminados no confinamento experimental da UNESP, Botucatu/SP, no sistema de produção Superprecoce. Utilizou também 44 animais Rubia Galega x Nelore (1/2 *Bos taurus* + 1/2 *Bos indicus*), produzidos em sistema semi-intensivo. Após o abate, as carcaças foram resfriadas por 24 hs, e colhidas 2 amostras do músculo *Longissimus dorsi* com espessura de 2,54 cm entre 11 e 13ª costela. Em uma das amostras foi medida a área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e força de cisalhamento (FC), utilizando-se a sonda *Warner Bratzler*. A outra foi utilizada nas análises químicas como lipídeos totais (LT), índice de fragmentação miofibrilar (MFI) determinadas no Laboratório de Bioquímica da Carne – UNESP, Botucatu, conforme as metodologias descritas por BLIGH & DYER (1959), CULLER ET AL. (1978) e WHEELER ET AL. (1995). A genotipagem dos polimorfismos foi realizada pela técnica de PCR-RFLP, na identificação dos alelos A e T do SNP DQ\_499531.1:g.134A>T, localizado no exon 1 do gene *PMCH*, foram identificados pela amplificação de um fragmento de 424 pb e digestão com a enzima *TaiI*, com a sequência de *primers forward* (F - GAT GAT CAT TTC TAA AAT GAC G) e *reverse* (R - GTC GCA TTA TCA CTT ACC TTT G) utilizados na amplificação das regiões de interesse, com temperatura de anelamento de 54°C como descrito por HELGESON & SCHMUTZ (2008).

#### Resultados e Discussão

No polimorfismo DQ\_499531.1:g.134A>T, foram detectados os alelos A e T. O genótipo AA apresentou dois fragmentos com 278 e 146 pb, o genótipo heterozigoto AT apresentou quatro fragmentos de 278, 257, 146 e 21 pb, e o genótipo TT apresentou de três fragmentos de 257, 146 e 21 pb, sendo que o fragmento de 21 pb não pode ser visualizado na eletroforese (Figura 1).

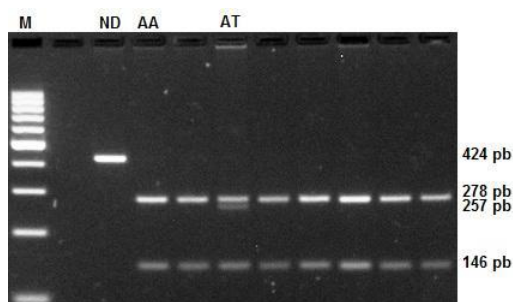
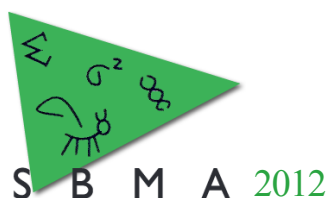


Figura 1 Padrão de bandas obtido na análise por PCR-RFLP para o polimorfismo do gene *PMCH*. M indica o padrão molecular de 100 pb, ND a amplificação do DNA não digerido pela enzima e os genótipos AA e AT decorrentes das digestões dos produtos amplificados pela enzima *TaiI*.

Na Tabela 3 observamos que todos os grupos genéticos possuem uma maior frequência do alelo A em relação ao alelo T. Nas frequências genotípicas observou-se 0,812 para AA que teve uma maior frequência do que os demais genótipos, sendo 0,168 para AT e 0,020 para TT, também se observa que somente no grupo Nelore ocorreu o genótipo TT.

Tabela 3 Frequência alélicas e genotípicas para o polimorfismo DQ\_499531.1:g.134A>T nos diferentes grupos genéticos.

Grupo genético	Frequência alélica		Frequência genotípica		
	A	T	AA	AT	TT
Nelore (313)	0,850	0,150	0,821	0,058	0,121
Angus x Nelore (67)	0,985	0,015	0,970	0,030	0,000
Rubia Galega x Nelore (44)	0,830	0,170	0,659	0,341	0,000
Canchim (41)	0,915	0,085	0,829	0,171	0,000
Tricross Brangus (19)	0,895	0,105	0,789	0,211	0,000
Tricross Pardo Suíço (15)	0,900	0,100	0,800	0,200	0,000
Total (499)	0,896	0,104	0,812	0,168	0,020



## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

As análises de associação entre o polimorfismo DQ\_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH* e as características de composição da carcaça e qualidade da carne, foram realizadas por meio da regressão do número de alelos T em cada animal. Os resultados obtidos não mostraram a ocorrência de associações significativas ( $P>0,05$ ) entre o polimorfismo e as características de qualidade, como mostra a Tabela 4.

Tabela 4 Efeitos de substituição de alelos A para T do polimorfismo DQ\_499531.1:g.134A>T do gene *PMCH*, ( $\alpha$ ) sobre AOL, EGS, LT, FC e MFI, erro padrão (SE), valor de p (p) e valor de p corrigido pelo método de Bonferroni ( $p^2$ ).

Polimorfismo		AOL (cm <sup>2</sup> )	EGS (mm)	LT (%)	FC (Kg)	IFM
<i>PMCH</i> (DQ_499531.1:g.134A>T)	$\alpha$	-0,0836	-0,2083	0,0580	-0,1132	0,9873
	SE	0,6697	0,1881	0,0619	0,0684	1,2737
	p	0,9007	0,2687	0,3493	0,0984	0,4386
	$p^2$	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

As distribuições alélicas obtidas no presente trabalho foram 0,896 para o alelo A e 0,104 para T. HELGESON & SCHMUTZ (2008) encontraram em bovinos *Bos taurus* (Angus) a frequência de 0,830 para o alelo A e 0,170 do alelo T, 0,640 e 0,360, em animais Charolais, e 0,420 e 0,580 em animais Simmental. Analisando as frequências alélicas do polimorfismo entre o grupo dos Nelores e a média do grupo formado pelos os animais cruzados não ocorreu diferença entre as frequências, o que significa que o polimorfismo não é exclusivamente característico de *Bos taurus* ou *Bos indicus*. Teoricamente, esse polimorfismo poderia afetar a EGS em bovinos, que é mediada pela alteração da taxa de transcrição do gene *PMCH* e pela repressão da transcrição do gene *E4BP4*, mas segundo HELGESON & SCHMUTZ, (2008) é possível que o SNP do gene *PMCH* não seja diretamente responsável pelas diferenças nos níveis de gordura subcutânea.

Porém, neste trabalho não foram encontrados resultados significativos para correlação entre o polimorfismo e as características de interesse. Entretanto, HELGESON & SCHMUTZ (2008) relatam que genótipos TT tendem a ter valores mais elevados de força de cisalhamento (FC) que animais do genótipo AA, o que também foi encontrado neste trabalho.

### Conclusões

Com base nos resultados apresentados, pode-se concluir que o polimorfismo DQ\_499531.1:g.134A>T não se mostra promissor como ferramenta de seleção em animais com composição genética semelhantes às utilizadas nesta pesquisa, denotando a necessidade do uso ou desenvolvimento de outros marcadores para o gene ou região cromossômica próxima ao QTL relacionado à características de carcaça e qualidade de carne.

### Literatura citada

- BLING, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v.37, n.8, p.911- 917, 1959.
- CULLER, R. D. et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *Journal of Food Science*, Champaign, v.43, p.1177-1180, 1978.
- HELGESON, S.C.; SCHMUTZ, S. M. Genetic variation in the pro-melaninconcentrating hormone gene affects carcass traits in *Bos taurus* cattle. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, n. 39, p.310-315 2008.
- TIZIOTO, P. C. Genes candidatos para características de produção de carne em famílias de referência da raça Nelore. 2010. 105 f. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.
- WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S. D. Standardized Warner-Bratzler Shear Force procedures for meat tenderness measurement. Roman L. Hruska U. S. MARC. USDA, Clay Center, NE, 1995.