

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Frequência alélica de polimorfismos de genes associados à composição lipídica da carne em raças taurinas localmente adaptadas

Catherine Cecilia Walker², Maria da Graça Morais³, Fabiana Villa Alves⁴, Gelson Luis Dias Feijó⁴,
Maria do Socorro Maués Albuquerque⁵, Andrea Alves do Egito⁴

¹Trabalho financiado pela FUNDECT e EMBRAPA

²Programa de Pós-Graduação Ciência Animal – UFMS, Campo Grande. Bolsista da FUNDECT. e-mail: catherinecwalker@hotmail.com

³Embrapa Gado de Corte, Campo Grande. e-mail: andrea.egito@embrapa.br

⁴Departamento de Zootecnia – UFMS, Viçosa. e-mail: morais.mariazinha@hotmail.com

⁵Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília. e-mail: socorro.maues@embrapa.br

Resumo: Objetivou-se analisar a frequência gênica de polimorfismos dos genes estearoil-CoA dessaturase (SCD1) e ácido graxo sintase (FASN) em diferentes raças taurinas localmente adaptadas. Os animais foram genotipados para os polimorfismos g.16024 A>G e g.16039 T>C do gene FASN pela técnica de PCR-RFLP e os polimorfismos SCD1-702 G>A e SCD1-762 C>T do gene SCD1 por sequenciamento. As frequências do haplótipo favorável TW do gene FASN foi maior nas raças Crioula Lageana e Caracu em relação às demais. Em relação ao gene SCD1, para o polimorfismo SCD1-702 A>G, as raças Curraleira, Crioula Lageana, e Pantaneira apresentaram menor frequência do alelo favorável A (0,05, 0,01 e 0,11) e para o polimorfismo SCD1-762 C>T, apresentam frequências mais altas do alelo favorável T de 0,39, 0,45 e 0,68, respectivamente. Devido a essas divergências entre as frequências, sugeriu-se a validação desses SNPs com dados fenotípicos. Houve uma alta variabilidade genética dos polimorfismos avaliados nas raças localmente adaptadas, evidenciando seu potencial de uso em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: bovinos, FASN, perfil de ácidos graxos, qualidade de carne, SCD1, SNP

Allele frequencies of polymorphisms of genes associated with lipid composition of the meat in locally adapted taurine breeds

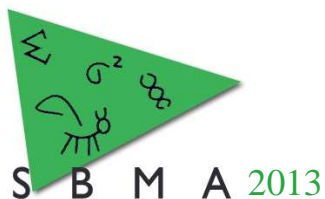
Abstract: The objective was to analyze the frequency of gene polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1), and fatty acid synthase (FASN) in different taurine locally adapted. The animals were genotyped for polymorphisms g.16024 A>G and g.16039 T>C FASN gene by PCR-RFLP and polymorphisms SCD1-702 G>A and SCD1-762 C>T gene SCD1 by sequencing. The frequencies of TW, considered favorable haplotype FASN gene was higher in breeds Crioula Lageana and Caracu in relation to others. Regarding the SCD1 gene, polymorphism SCD1-702 A> G, breeds Curraleira, Crioula Lageana and Pantaneira showed lower frequency of favorable allele A (0.05, 0.01 and 0.11) and SCD1-762 C> T, have a favorable T allele frequencies of 0.39, 0.45 and 0.68, respectively. Because of these differences between the frequencies suggested validating these SNPs with phenotypic data. There was a high genetic variability of the evaluated polymorphisms in locally adapted breeds, showing its potential for use in breeding programs.

Keywords: cattle, FASN, fatty acid profile, meat quality, SCD1, SNP

Introdução

Os avanços na genética molecular, observados durante as últimas décadas, levaram à identificação de polimorfismos em genes que afetam a qualidade da carne e a composição de ácidos graxos. Recentemente, foram publicados estudos sobre polimorfismos dos genes FASN e SCD1, que codificam o complexo enzimático ácido graxo sintase e a enzima estearoil-CoA dessaturase, respectivamente. Foram relatadas associações dos polimorfismos destes genes com variações no perfil lipídico de carnes e leite de bovinos. A composição de ácidos graxos relaciona-se principalmente com as propriedades nutricionais da carne, seus aspectos sensoriais e a estabilidade oxidativa.

Abe et al. (2009) identificaram duas SNPs mutações no éxon 34 do gene FASN (g.16024A>G e g.16039T>C) em bovinos Wagyu x Limousin, que determinam as substituições de aminoácidos treonina (T) para alanina (A) e triptofano (W) para arginina (R). Estes polimorfismos apresentaram associação



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

com a composição lipídica na gordura intramuscular, com efeitos na redução de ácidos graxos saturados e aumento do monoinsaturado C18:1 (ácido oléico), sendo o haplótipo TW considerado favorável.

Taniguchi et al. (2004) identificaram três SNPs na ORF do quinto éxon do gene SCD1 nas posições 702, 762 e 878 em bovinos da raça Wagyu. A mutação não-sinônima SCD1-878 T>C gera a substituição do aminoácido valina para alanina, a qual foi associada ao aumento de ácidos graxos monoinsaturados (C14:1, C16:1 e C18:1) e redução do ponto de fusão nos tecidos adiposos de bovinos Wagyu. Pelos dados observados, Taniguchi et al. (2004) presumiram que os polimorfismos identificados no gene SCD1 estavam em desequilíbrio de ligação podendo, por associação indireta, determinar um SNP a partir dos demais. Estes autores definiram os haplótipos “tipo Valina” (alelos GCT, respectivamente para as posições relatadas acima) considerado selvagem e o “tipo Alanina” (alelos ATC) considerado favorável.

Levando-se em conta que não existem informações sobre estes SNPs em raças bovinas localmente adaptadas, o objetivo deste trabalho foi verificar as frequências alélicas de polimorfismos dos genes FASN e SCD1 visando contribuir para a inserção das mesmas no sistema produtivo.

Material e Métodos

Foi genotipado um total de 160 animais de raças localmente adaptadas, sendo estas: Curraleiro – CU (n=40), Crioulo Lageano – CL (n=40), Caracu – CA (n=40) e Pantaneiro – PAN (n=40).

As genotipagens foram realizadas pela técnica de PCR-RFLP (FASN) e por sequenciamento pelo método de terminação de cadeia utilizando dideoxynucleotídeos marcados com fluorocromos (SCD1). A amplificação do gene FASN foi realizada com o *primer* descrito por Abe et al. (2009), dando origem a um fragmento de 336 pb o qual foi digerido com a enzima de restrição *HhaI* para a detecção do polimorfismo g.16024A>G (alelo A – não há digestão e alelo G – gera um fragmento de 262 pb) e, com *NciI* para o polimorfismo g.16039T>C. (alelo T – não há digestão e alelo C – fragmento de 247 bp). A combinação dos genótipos AA e TT resultam no haplótipo TW/TW, dos genótipos AG e TC no haplótipo TW/AR e os genótipos GG e CC no haplótipo AR/AR. Os fragmentos de DNA digeridos foram separados por eletroforese horizontal em géis de agarose 2%, corados com SyberGold (1:10.000) exposto a luz ultravioleta.

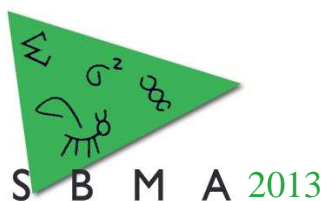
O sequenciamento do fragmento do gene SCD1 foi realizado em um sequenciador automático ABI-3130, da Applied Biosystems. Os eletroferogramas foram analisados por meio do programa *SeqScape® Software v 2.1* (AppliedBiosystems) onde observou-se os alelos dos SNPs nas posições 702 pb e 762 pb, conforme descrito na literatura por Taniguchi et al. (2004).

As frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos do gene FASN e SCD1 foram obtidas por contagem direta.

Resultados e Discussão

A frequência do haplótipo favorável para o gene FASN foi maior em bovinos CL e CA ($p < 0.01$, Tabela 1). Este resultado é condizente com os reportados na literatura para raças taurinas Kaneda et al. (2011). Este fato pode ser estar atribuído ao perfil de criação (corte) dado a estas populações (Egito et al., 2007). As raças PAN e CU apresentaram as menores frequências de TW sendo que isto pode estar relacionado com a introgressão de genes zebuínos, que ocorreu no passado, nestas populações (Mariane & Cavalcanti, 2006).

Para os SNPs do gene SCD1 (Tabela 1) verificou-se que para o polimorfismo SCD1-702 A>G, as raças CU, CL e PAN apresentam baixas frequências do alelo favorável A (0,05, 0,01 e 0,11), situação invertida para o SNP SCD1-762 C>T, onde as frequências do alelo favorável T foram de 0,39, 0,45 e 0,68, respectivamente. Estes resultados demonstram que a utilização da informação de apenas um dos polimorfismos não seria capaz de determinar o alelo favorável ou desfavorável nestas raças. Este resultado sugere que estes polimorfismos devem ser analisados individualmente e demonstram que, nas raças estudadas, pode não haver uma ligação completa entre estes SNPs conforme relatado por Taniguchi et al. (2004) para a raça Wagyu. Desta forma, maiores estudos, incluindo-se dados fenotípicos, são necessários nas raças localmente adaptadas visando validar a associação dos polimorfismos estudados e do polimorfismo SCD1-878 T>C com o aumento de ácidos graxos monoinsaturados.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Tabela 1. Frequências haplotípicas, genótípicas e alélicas dos polimorfismos dos genes FASN e SCD1 nas raças Caracu (CA), Curraleira Pé-duro (CU), Crioula Lageana (CL) e Pantaneira (PAN)

| Raças (n) | Frequências do gene FASN | | | | | Frequências do polimorfismo SCD1-702 G>A | | | | | Frequências do polimorfismo SCD1-762 C>T | | | | |
|-----------|--------------------------|-------|-------|---------|------|--|------|------|---------|------|--|------|------|---------|------|
| | Haplotípica | | | Alélica | | Genotípica | | | Alélica | | Genotípica | | | Alélica | |
| | TW/TW | TW/AR | AR/AR | TW | AR | GG | AG | AA | G | A | CC | TC | TT | C | T |
| CA (40) | 0,05 | 0,45 | 0,50 | 0,27 | 0,73 | 0,68 | 0,30 | 0,02 | 0,82 | 0,18 | 0,68 | 0,30 | 0,02 | 0,82 | 0,18 |
| CU (40) | 0,02 | 0,13 | 0,85 | 0,09 | 0,91 | 0,90 | 0,10 | - | 0,95 | 0,05 | 0,50 | 0,22 | 0,28 | 0,61 | 0,39 |
| CL (40) | 0,05 | 0,55 | 0,40 | 0,32 | 0,68 | 0,80 | 0,20 | - | 0,90 | 0,10 | 0,23 | 0,65 | 0,12 | 0,55 | 0,45 |
| PAN (40) | 0,00 | 0,12 | 0,88 | 0,06 | 0,94 | 0,80 | 0,18 | 0,02 | 0,89 | 0,11 | 0,07 | 0,50 | 0,43 | 0,32 | 0,68 |

A variabilidade observada e a existência de alelos/haplótipos com potencialmente favoráveis nas raças localmente adaptadas indica que as mesmas poderão ser úteis em programas de melhoramento animal que vissem a introgressão destes alelos/haplótipos em raças menos adaptadas ou que possuam uma menor proporção dos mesmos. Caso seja comprovada esta associação poder-se-á buscar a inserção e o fomento destas raças e seus produtos em nichos de mercado diferenciados – carne de qualidade com potencial nutracêutico, por exemplo.

Conclusões

O presente trabalho demonstrou a existência de uma alta variabilidade genética nas raças taurinas localmente adaptadas, demonstrando o potencial de uso destas em futuros programas de melhoramento. Para tanto, sugere-se que sejam realizados estudos visando à validação dos polimorfismos avaliados.

Agradecimentos

A FUNDECT pelo financiamento do projeto e concessão de bolsa de estudos. A Embrapa Gado de Corte pelo oferecimento da infra-estrutura laboratorial.

Literatura citada

- ABE, T.; SABURI, J.; HASEBE, H.; NAKAGAWA, T.; MISUMI, S.; NADE, T.; NAKAJIMA, H.; SHOJI, N.; KOBAYASHI, M.; KOBAYASHI, E. Novel mutations of the FASN gene and their effect on fatty acid composition in Japanese Black beef. **Biochemical Genetics**, v.47, p.397-411, 2009.
- EGITO, A.A.; PAIVA, S.R.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; MARIANTE, A.S.; ALMEIDA, L.D.; CASTRO, S.R.; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. **BMC Genetics (Online)**, v. 8, p. 83, 2007.
- KANEDA, M.; LIN, B.Z.; SASAZAKI, S.; OYAMA, K.; MANNEN H. Allele frequencies of gene polymorphisms related to economic traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle breeds. **Animal Science Journal**, v.82, p.717-721, 2011.
- MARIANTE, A. S.; CAVALCANTE, N. **Animais do Descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: Embrapa Sede / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2ª. Ed. 2006.
- TANIGUCHI, M.; UTSUGI, T.; OYAMA, K.; MANNEN, H.; KOBAYASHI, M.; TANABE, Y.; OGINO, A.; TSUJI, S. Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acids composition in Japanese Black cattle. **Mammalian Genome**, v.14, p.142-148, 2004.