

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## **POLIMORFISMOS NO GENE *CAST* ASSOCIADOS COM CARACTERÍSTICAS DE CARÇA OBTIDAS *IN VIVO* EM OVINOS SANTA INÊS**

Beatriz Bastos SENES<sup>\*1</sup>, Alessandro Lima MACHADO<sup>1</sup>, Ariana Nascimento MEIRA<sup>1</sup>, Evandro Neves MUNIZ<sup>2</sup>, Hymerson Costa AZEVEDO<sup>2</sup>, Gerson Barreto MOURÃO<sup>3</sup>, Luiz Lehman COUTINHO<sup>3</sup>, Luís Fernando Batista PINTO<sup>1†</sup>

†Autor para correspondência: [luisfbp@gmail.com](mailto:luisfbp@gmail.com)

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

<sup>2</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracajú, Sergipe, Brasil

<sup>3</sup>Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil

**Abstract:** Calpastatin (*CAST*) gene is an inhibitor of muscle protein degradation and is associated with muscle growth. Thus, this study aimed to identify association between polymorphisms in the *CAST* gene and carcass traits in Santa Ines sheep. A total of 192 lambs were genotyped for 42 SNPs and measured for rib eye area (REA), fat thickness (FT), and carcass finish score (CFS). A likelihood ratio test was performed to estimate additive and dominance effects, using 5% as suggestive effect. The polymorphisms *g.93395218A>G*, *g.93395805G>A* and *g.93398765C>T* had additive effect on, respectively, REA -0.9693(0.3767), FT 0.0187(0.0086), and CFS 0.0992(0.0302). Therefore, there are polymorphisms in the *CAST* gene associated with carcass traits in Santa Ines sheep, which may be sources of information for marker-assisted selection.

**Palavras-chave:** molecular markers, ovine, selection, SNP

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## Introdução

A calpastatina é uma enzima que inibi a ação da  $\mu$ -calpaína, reduzindo a proteólise das fibras musculares (CALVO *et al.*, 2014). Portanto, ela pode afetar o turnover proteico, levando a modificações na formação de tecido muscular (GOLL *et al.*, 2008). O gene *CAST* é o responsável pela formação da calpastatina e alguns estudos com ovinos reportaram associação entre polimorfismos no gene *CAST* e ganho de peso diário e variáveis de carcaça (YILMAZ *et al.*, 2014). Assim, este estudo teve como o objetivo identificar associação entre polimorfismos no *CAST* e características de carcaça mensuradas *in vivo* em ovinos Santa Inês.

## Material e Métodos

Foram avaliados 192 cordeiros da raça Santa Inês, sendo 106 provenientes da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros e 86 da Universidade Federal da Bahia, os quais tiveram a área do músculo *Longissimus* (AOL) e a espessura de gordura subcutânea (EGS) mensuradas através de ultrassonografia entre 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas. Escore de acabamento de carcaça (EAC) foi determinado atribuindo-se valores de 1 a 5, por um único avaliador, sendo o escore 1 (muito magra), 2 (magra), 3 (regular), 4 (gorda) e 5 (muito gorda). Os valores de média (desvio-padrão) foram 7,165(1,64) cm<sup>2</sup> de AOL, 0,198(0,04) cm de EGS e 2,32(0,37) escores de EAC.

Foram coletado 5 ml de sangue de cada para extração do DNA, a qual foi realizada utilizando método de precipitação com soluções salina e proteinase K seguindo protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2007). Os *primers* utilizados foram 5'-AAAAGCCAAAGAAGAGGATCG-3' (*forward*) e 3'-GGGAAACCACTTCAGAGACG-5' (*reverse*) para amplificação de um fragmento de 4108 pb.

A análise de associação foi conduzida com o programa Qxpak 5 (PÉREZ-ENCISO e MISZTAL, 2011). O modelo geral pode ser descrito como,  $y = \beta X + \sum_{k=1}^n Z \delta_k + \varepsilon$ , onde  $y$  é o vetor contendo os registros da característica analisada,  $\beta$  é o vetor de soluções estimadas para os efeitos fixos,  $\delta_k$  é o vetor de

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

soluções para os efeitos genéticos (QTL) para qualquer um dos  $n$  QTLs que afetam a característica,  $X$  e  $Z$  são as matrizes de incidência que associam observações em  $y$  às soluções em  $\beta$  e  $\delta_k$ , e  $\varepsilon$  é o vetor dos resíduos. Os efeitos fixos incluídos no modelo foram fazenda (2 níveis), ano (4 níveis), mês de nascimento (12 níveis) e as covariâncias peso corporal e idade.

### Resultados e Discussão

Foram encontrados efeitos aditivos sugestivos ( $P < 0,05$ ) dos SNPs  $g.93395218A>G$ ,  $g.93395808G>A$  e  $g.93398765C>T$  sobre AOL, EGS e EAC, respectivamente (Tabela 1). Os alelos associados a maiores valores médios dessas variáveis foram  $G$ ,  $A$  e  $T$ , respectivamente. Enquanto as diferenças entre os homocigotos foram iguais a 1,9386 cm<sup>2</sup> (AOL), 0,0374 cm (EGS) e 0,1984 escores (EAC). Estes resultados reforçam os achados de Yilmaz, *et al.* (2014), os quais reportaram polimorfismo no gene *CAST* associados com EGS e AOL de cordeiros Kivircik. Além disso, há relatos de associação entre polimorfismo no gene *CAST* com EGS e AOL em bovinos da raça Bali (PUTRI *et al.*, 2015).

Tabela 1 – Efeito aditivo (a) e erros-padrão (EP) encontrados nos testes de associação de polimorfismos no gene *CAST* em ovinos Santa Inês

Variável	SNP	a(EP)	Região	Valor P
AOL	$g.93395218A>G$	-0,9693 (0,3767)	Intron-19	0,0156
EGS	$g.93395808G>A$	0,0187 (0,0086)	Intron-20	0,0346
EAC	$g.93398765C>T$	0,0992 (0,0302)	Intron-22	0,0122

Apesar dos mecanismos fisiológicos do sistema calpaína/calpastatina explicarem as associações aqui encontradas, ao consultar a plataforma Ensembl ([www.ensembl.org/Ovis\\_aries/Gene](http://www.ensembl.org/Ovis_aries/Gene)) foi possível constatar que estes SNPs não estão em posições que poderiam torná-los mutações causais. Assim, a principal

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

hipótese é que eles estejam em desequilíbrio de ligação com mutações causais localizadas em outras regiões do *CAST* ou em genes próximos. Portanto, sugere-se o sequenciamento de outras regiões destes dois genes ou de genes próximos, a fim de identificar a mutação causal.

### Conclusão

Existem polimorfismos no gene *CAST* associados a AOL, EGS e EAC em ovinos Santa Inês, os quais podem ser utilizados na seleção assistida por marcadores para melhorar estes atributos. Contudo, recomenda-se ampliar a região sequenciada deste gene a fim de identificar a mutação que causa os efeitos aqui identificados.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESB pelo apoio financeiro concedido ao projeto APP0116/2009; ao CNPq pelo apoio financeiro aos projetos 562551/2010-7 e 474494/2010-1; a Embrapa Tabuleiros Costeiros pela infraestrutura da fazenda experimental; ao Dr. Luiz Lehmann Coutinho pela infraestrutura do laboratório de Biotecnologia Animal da ESALQ/USP.

### Referências

- CALVO, J. H.; IGUÁCEL, L. P.; KIRINUS, J. K.; SERRANO, M.; RIPOLL, G.; CASASÚS, I.; JOY, M.; PÉREZ-VELASCO, L.; SARTO, P.; ALBERTÍ, P. and BLANCO, M. 2014. A new single nucleotide polymorphism in the calpastatin (*CAST*) gene associated with beef tenderness. *Meat Science* 96: 775-772.
- GOLL, D. E.; NETI, G.; MARES, S. W. and THOMPSON, V. F. 2008. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains. *Journal of Animal Science* 86: E19- E35.
- OLIVEIRA, M. D. S.; REGITANO, L. D. A.; ROESE, A. D.; ANTHONISEN, D. G.; PATROCINIO, E. D.; PARMA, M. M.; SCAGLIUSI, S. M. M.; TIMOTEO, W. H. B.; BELICUAS, S. 2007. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:





CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase. São Carlos: EMBRAPA. 43p.

PÉREZ-ENCISO, M. and MISZTAL, I. 2011. Qxpak.5: Old mixed model solutions for new genomics problems. BMC Bioinformatics 12: 202.

PUTRI, R.; PRIYANTO, R.; GUNAWAN, A. and JAKARIA 2015. Association of Calpastatin (CAST) gene with growth traits and carcass characteristics in Bali cattle. Media Peternakan 38: 145-149.

YILMAZ, O.; CEMAL I.; KARACA, O. and ATA, N. 2014. Association of Calpastatin (CAST) gene polymorphism with weaning weight and ultrasonic measurements of loin eye muscle in Kivircik Lambs. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi 20: 675-680.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

