

## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

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

### Efeitos aditivos de polimorfismos no gene *FASN* em bovinos Nelore

Fabio Ricardo Pablos de Souza<sup>1</sup>, Milena Gandin Chiquitelli<sup>2</sup>, Larissa Fernanda Simielli da Fonseca<sup>3</sup>, Humberto Tonhati<sup>4</sup>, Maria Eugênia Zerlotti Mercadante<sup>5</sup>, Lucia Galvão de Albuquerque<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Pós-doutorando em Genética e Melhoramento Animal da FCAV/UNESP - Jaboticabal. Bolsista CAPES. e-mail: [fabiopablos@hotmail.com](mailto:fabiopablos@hotmail.com)

<sup>2</sup>Aluna de Iniciação Científica da FCAV/UNESP - Jaboticabal. Bolsista da FAPESP. e-mail: [miii\\_gc@msn.com](mailto:miii_gc@msn.com)

<sup>3</sup>Aluna de Mestrado em Genética e Melhoramento Animal da FCAV - Unesp/Jaboticabal. Bolsista da FAPESP. e-mail: [la\\_simielli@yahoo.com.br](mailto:la_simielli@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Professor titular da FCAV/UNESP - Jaboticabal. Pesquisador do CNPq e INCT-CA. e-mail: [tonhati@fcav.unesp.br](mailto:tonhati@fcav.unesp.br)

<sup>5</sup>Instituto de Zootecnia de Sertãozinho. e-mail: [Mercadante@iz.sp.gov.br](mailto:Mercadante@iz.sp.gov.br)

<sup>6</sup>Professora titular da FCAV - UNESP/Jaboticabal. Pesquisadora do CNPq e INCT-CA. e-mail: [lgalb@fcav.unesp.br](mailto:lgalb@fcav.unesp.br)

**Resumo:** O objetivo do presente estudo foi de identificar marcadores moleculares para características de crescimento e carcaça para aplicação de seleção assistida por marcadores (SAM) no melhoramento genético de bovinos Nelore. Foram avaliados três polimorfismos SNPs no gene *FASN* (*FASN Msc I*, *FASN DdeI* e *FASN Hae III*). A genotipagem foi realizada por meio de PCR-RFLP em 558 animais da Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho, SP, Brazil. As características avaliadas foram peso ao nascimento (PN), peso à desmama (P210), peso ao sobreano de fêmeas (P550), peso ao sobreano de machos (P378), altura ao sobreano de fêmeas (H550), altura ao sobreano de machos (H378), área de olho do lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e espessura de gordura da garupa (EGG). As associações entre os polimorfismos e as características foram realizadas utilizando PROC MIXED, do programa SAS/STAT 9.1.3. Para o marcador *FASN Hae III* foi observado efeito aditivo para EGG e tendência de efeito aditivo para H378. Para o marcador *FASN DdeI* foi observado efeito aditivo para H378. Apesar deste estudo revelar evidências de associação do gene *FASN* com as características estudadas ainda faz-se necessário estudos mais detalhados.

**Palavras-chave:** carcaça, crescimento, QTL, marcador molecular, PCR-RFLP, SNP

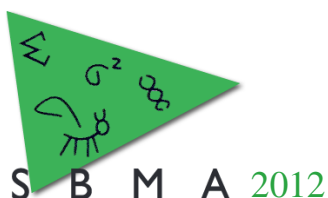
#### Additive effects of the *FASN* polymorphism in Nellore Cattle

**Abstract:** The aim of this study was to identify molecular markers for marker assisted selection in Nellore cattle. Were evaluated three SNPs polymorphisms in gene *FASN* (*FASN Msc I*, *FASN DdeI* e *FASN Hae III*). The genotyping was performed by PCR-RFLP in 558 animals from Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho, SP, Brazil. The traits evaluated were birth weight, weaning weight, yearling weight, yearling height, *Longissimus* muscle area, back fat thickness, and hump fat thickness. The associations were performed using PROC MIXED, from SAS/STAT 9.1.3 program. For *FASN Hae III* additive effect for hump fat thickness and trend of additive effect for male yearling height were observed. For the marker *FASN Dde I* was observed additive effect for male yearling height. The results showed that more detailed analysis is necessary before validate this marker in Nellore cattle.

**Keywords:** carcass, growth, QTL, molecular marker, PCR-RFLP, SNP

#### Introdução

A fatty acid synthase (*FASN*) é uma enzima que tem função central na síntese de novo de ácidos graxos de cadeia longa em mamíferos. Em bovinos polimorfismos no gene *FASN* foram associados à variação de conteúdo de gordura no leite (Roy et al., 2006) e características de composição de ácidos graxos no músculo *Longissimus dorsi* e tecidos adiposos (Zhang et al., 2008). O objetivo do presente trabalho foi de analisar associações entre o gene e características de crescimento e carcaça, de modo a identificar marcadores moleculares para características economicamente importantes na raça Nelore, visando sua aplicação no melhoramento genético animal.



### Material e Métodos

Foram utilizados dados de 558 animais nascidos e criados extensivamente na Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho, nos anos de 2004 à 2009, que fazem parte do Programa de Seleção das Raças Zebuínas e Caracu, iniciado em 1978. Os animais pertencem a três linhas de seleção, sendo duas delas selecionadas para maior peso ao sobreano (NeS e NeT) e uma selecionada para peso ao sobreano próximo da média (NeC). Nas linhas NeS e NeT, as fêmeas são selecionadas pelo maior diferencial de peso aos 550 dias, enquanto que os machos são selecionados pelo maior diferencial de peso aos 378 dias.

As reações de PCR foram realizadas utilizando 100 ng de DNA genômico, 0,75  $\mu$ M de cada primer, e o kit GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA) para volume final de 25 $\mu$ L. Para a genotipagem do polimorfismo *FASN Msc I* e *FASN Dde I* foi utilizado o par de primers descrito por Zhang et al. (2008). Para a genotipagem do polimorfismo *FASN Hae III* foi utilizado o par de primers (F: AAC AAC ACC ATG TGG CAG GAA GTG e R: TCA GTG ATA AGG CTC CGG GTG CCA) desenhado baseado no polimorfismo SNP5 15603 descrito por Morris et al. (2007).

As características avaliadas foram peso ao nascimento (PN), peso à desmama (P210), peso ao sobreano de fêmeas (P550), peso ao sobreano de machos (P378), altura ao sobreano de fêmeas (H550), altura ao sobreano de machos (H378), área de olho do lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e espessura de gordura da garupa (EGG). A associação entre os polimorfismos e as características foi analisada utilizando o PROC MIXED, do programa SAS/STAT 9.1.3 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). As covariáveis aditivas foram 0, 1 e 2 a fim de levar em conta o número de alelos variantes para o *FASN HaeIII* (AA, AG, GG) e o *FASN DdeI* (CC, TC, TT). No teste de dominância, uma outra covariável foi adicionada (valores de 0 para homozigotos e 1 para heterozigotos) e um resultado significativo para esta covariável foi interpretado como evidência de um efeito dominante. Como descrito por Hickford et al. (2010), para todas as análises estatísticas, tendências foram consideradas quando os valores de P foram inferiores à 0,10 e, associações foram consideradas quando os valores de P foram inferiores à 0,05.

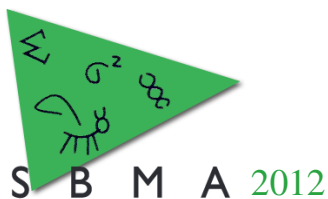
### Resultados e Discussão

O polimorfismo *FASN Msc I* apresentou-se monomórfico para o alelo G. Os alelos mais frequentes foram os alelos G e C para os polimorfismos *FASN Hae III* e *FASN Dde I*, respectivamente. A heterozigosidade foi maior para o marcador *FASN Dde I*. Os genótipos mais frequentes foram os genótipos GG para o *FASN Hae III* e CC para o *FASN DdeI*. O genótipo menos frequente foi o TT para o *FASN Dde I* (Tabela 1). O desmembramento do *FASN Hae III* em efeitos aditivos e de dominância revelou tendência de efeito aditivo ( $P = 0,06$ ) para H378 e efeito aditivo ( $P = 0,03$ ) para EGG (Tabela 2). O marcador *FASN Dde I* mostrou efeito aditivo (0,03) para H378.

**Tabela 1.** Frequências gênica e genotípica dos marcadores estudados na raça Nelore e nas três linhas de seleção para crescimento

Marcador/linha	Frequência Genotípica			Frequência Gênica	
<i>FASN HaeIII</i>	AA	AG	GG	A	G
NeC	0,08	0,16	0,76	0,17	0,83
NeS	0,15	0,13	0,72	0,22	0,78
NeT	0,24	0,14	0,62	0,32	0,68
<i>FASN DdeI</i>	CC	CT	TT	C	T
NeC	0,55	0,42	0,03	0,76	0,24
NeS	0,66	0,31	0,03	0,81	0,19
NeT	0,63	0,32	0,05	0,78	0,22

NeC = Linha Controle; NeS = Linha Seleção; NeT = Linha Tradicional

**Tabela 2.** Valores P para os efeitos aditivos e de dominância, obtidos a partir dos marcadores *FASN HaeIII* e *FASN DdeI*

Marcador	Características	Efeito de aditividade	Efeito de dominância
<i>FASN HaeIII</i>	H378	0,06	0,62
	EGG	0,03	0,26
<i>FASN DdeI</i>	H378	0,03	0,32

H378: altura da garupa dos machos; AOL: área de olho de lombo; EGG: espessura de gordura da garupa

De fato, na mesma região do gene *FASN*, Taylor et al. (1998) e Li et al. (2004) relataram a existência de QTL para gordura subcutânea, sendo que os primeiros relataram também QTL para gordura extraída por éter. Kneeland et al. (2004) relataram QTL para peso ao nascimento e média de ganho diário em confinamento em bovinos *Bos taurus* de linha comercial.

#### Conclusões

Existem evidências de que o gene *FASN*, além de se relacionar fortemente com a composição de ácidos graxos, também pode apresentar efeitos para características de carcaça, como espessura de gordura subcutânea e características de crescimento em bovinos. Contudo, ainda faz-se necessário estudos mais detalhados para que sejam identificadas variações que estejam relacionadas diretamente às características avaliadas de modo que sejam identificados marcadores moleculares mais eficientes para a aplicação de seleção assistida por marcadores no melhoramento destas características.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP e a CAPES pelo auxílio financeiro e à Estação Experimental de Sertãozinho do Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo por ceder as amostras utilizadas no presente trabalho.

#### Literatura citada

KNEELAND, J.; LI, C.; BASARAB, J.; SNELLING, W.M.; BENKEL, B.; MURDOCH, B.; HANSEN, C.; MOORE, S.S. Identification and fine mapping of quantitative trait loci for growth traits on bovine chromosomes 2, 6, 14, 19, 21, and 23 within one commercial line of *Bos taurus*. *Journal of Animal Science*, v.82, p.3405-3414, 2004.

LI, C.; BASARAB, J.; SNELLING, W.M.; BENKEL, B.; KNEELAND, J.; MURDOCH, B.; HANSEN, C.; MOORE, S.S. Identification and fine mapping of quantitative trait loci for backfat on bovine chromosomes 2, 5, 6, 19, 21, and 23 in a commercial line of *Bos taurus*. *Journal of Animal Science*, v.82, p.967-972, 2004.

MORRIS, C.A.; CULLEN, N.G.; GLASS, B.C.; HYNDMAN, D.L.; MANLEY, T.R.; HICKEY, S.M.; MCEWAN, J.C.; PITCHFORD, W.S.; BOTTEMA, C.D.K.; LEE, M.A.H. Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. *Mammalian Genome*, v.18, p.64-74, 2007.

ROY, R.; ORDOVAS, L.; ZARAGOZA, P.; ROMERO, A.; MORENO, C.; ALTARRIBA, J.; RODELLAR, C. Association of polymorphisms in the bovine *FASN* gene with milk-fat content. *Animal Genetics*, v. 37, p.215-218, 2006.

TAYLOR, J.F.; COUTINHO, L.L.; HERRING, K.L.; GALLAGHER, D.S.J.; BRENNEMAN, R.A.; BURNEY, N.; SANDERS, J.O.; TURNER, J.W.; SMITH, S.B.; MILLER, R.K.; SAVELL, J.W.; DAVIS, S.K. Candidate gene analysis of GH1 for effects on growth and carcass composition of cattle. *Animal Genetics*, v. 29, p.194-201, 1998.

ZHANG, S.; KNIGHT, T.J.; REECY, J.M.; BEITZ, D.C. DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. *Animal Genetics*, v. 39, p.62-70, 2008.