

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

**Polimorfismo de nucleotídeo único no gene *FABP4* associado com características de qualidade de carne e carcaça em bovinos de corte<sup>1</sup>**

Isabella Maiumi Zaidan Blecha<sup>2</sup>, Fabiane Siqueira<sup>3</sup>, Gelson Luis Dias Feijó<sup>3</sup>, Roberto Augusto de Almeida Torres Júnior<sup>3</sup>, Anna Beatriz Robottom Ferreira<sup>3</sup>, André Luiz Julien Ferraz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Trabalho financiado pela EMBRAPA e CNPq

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UEMS, Aquidauana, MS. Bolsista da CAPES. e-mail: [isablecha@hotmail.com](mailto:isablecha@hotmail.com)

<sup>3</sup>Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS.

<sup>4</sup>Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Aquidauana, MS.

**Resumo:** Localizado no cromossomo 14 de bovinos, no qual há relatos de QTLs (*Quantitative trait loci*) para características de produção, o gene *FABP4* (*Fatty Acid Binding Protein 4*) tem apresentado associação com marmoreio e deposição de gordura subcutânea. Neste contexto, objetivou-se determinar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo *FABP4/MspAII* (AAFC\_01136716.1:g.7516G>C) em 201 bovinos de corte de sete grupos genéticos e avaliar seus efeitos sobre características de qualidade de carne e carcaça. A genotipagem foi feita por meio de PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism-Polimerase Chain Reaction*) e o efeito de substituição de alelos foi calculado utilizando o procedimento *General Linear Model* do programa estatístico SAS. Observaram-se associações significativas ( $P<0,05$ ) entre esse marcador e escores de marmoreio. Analisando isoladamente os grupos genéticos dos bezerras, foram observadas associações significativas com espessura de gordura subcutânea. Os grupos genéticos dos touros e vacas não contribuíram para os valores significativos. Devido ao fato de diversos polimorfismos no gene bovino *FABP4* nem sempre apresentarem associação com as características deposição de gordura subcutânea e marmoreio tem sido sugerido que o efeito desse gene possa ser pequeno, dificultando a sua detecção em estudos com número de animais reduzidos.

**Palavras-chave:** gene candidato, genotipagem, marcador molecular, melhoramento genético animal, PCR-RFLP

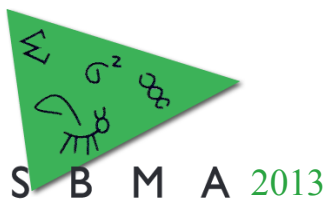
**Single nucleotide polymorphism in the *FABP4* gene associated with meat quality and carcass traits in beef cattle**

**Abstract:** Located on chromosome 14 of cattle, in which there are reports of QTLs (*Quantitative trait loci*) of production traits, the *FABP4* gene (*Fatty Acid Binding Protein 4*) has shown association with marbling and subcutaneous fat deposition. In this context, the objective was to determine the allele and genotype frequencies of the *FABP4/MspAII* (AAFC\_01136716.1: g.7516G> C) polymorphism in 201 beef cattle from seven genetic groups and assess their effects on meat quality and carcass traits in beef cattle. Genotyping was performed by PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism Polymerase Chain Reaction*) and the allele substitution effect was calculated using the General Linear Model procedure within the SAS statistics program. Significant associations ( $P<0.05$ ) were observed between this marker and score marbling. After analyzing the genetic groups of calves, separately significant associations were observed with backfat thickness. The genetic groups of bulls and cows, separately, weren't shown to contribute to significant values. Since various polymorphisms in the bovine *FABP4* gene were not associated with the deposition of subcutaneous fat and marbling, it has been suggested that the effect of this gene may be small, which may thus impair its detection in studies with reduced number of animals.

**Keywords:** animal breeding, candidate gene, genotyping, molecular marker, PCR-RFLP

### Introdução

O gene *FABP4* (*Fatty Acid Binding Protein 4*) está localizado no cromossomo 14 de bovinos, se expressa no tecido adiposo e está associado com metabolismo de lipídios, marmoreio e deposição de gordura subcutânea (Specht et al., 1996; Michal et al., 2006). Os resultados obtidos de trabalhos direcionados com associação de marcadores moleculares em genes candidatos com características de interesse zootécnico estão sendo utilizados para seleção de animais com genótipos superiores, podendo contribuir com o aumento da qualidade da carne bovina produzida no País. Dessa forma, os objetivos do



## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

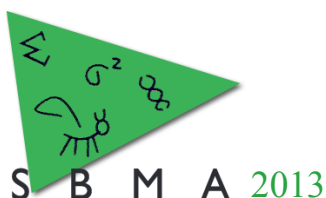
presente estudo foram determinar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo *FABP4/MspAII* em bovinos de corte de sete grupos genéticos e avaliar seus efeitos sobre características de qualidade de carne e carcaça.

### Material e Métodos

Os animais avaliados foram obtidos a partir de cruzamentos de touros Canchim, Caracu e Red Angus com matrizes cruzadas F1 filhas de touros Valdostana, Caracu e Angus com fêmeas Nelore, sendo que o touro Red Angus foi utilizado apenas em matrizes  $\frac{1}{2}$  Caracu +  $\frac{1}{2}$  Nelore, totalizando sete grupos genéticos (CCAN: Canchim -  $\frac{1}{2}$  Red Angus +  $\frac{1}{2}$  Nelore; CCCN: Canchim -  $\frac{1}{2}$  Caracu +  $\frac{1}{2}$  Nelore; CCVN: Canchim -  $\frac{1}{2}$  Valdostana +  $\frac{1}{2}$  Nelore; CRAN: Caracu -  $\frac{1}{2}$  Red Angus +  $\frac{1}{2}$  Nelore; CRCN: Caracu -  $\frac{1}{2}$  Caracu +  $\frac{1}{2}$  Nelore; CRVN; Caracu -  $\frac{1}{2}$  Valdostana +  $\frac{1}{2}$  Nelore; RACN: Red Angus -  $\frac{1}{2}$  Caracu +  $\frac{1}{2}$  Nelore) que foram terminados em sistema superprecoce. Para a extração de DNA genômico foi utilizado o método descrito por Regitano & Coutinho (2001). Os animais foram genotipados para um SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (AAFC01136716.1:g.7516G>C) localizado no gene *FABP4*. Por meio da reação em cadeia da polimerase, foi amplificado um fragmento com 452 pares de bases (pb), o qual foi clivado pela enzima de restrição *MspAII*. Após a clivagem, o alelo G, relatado na literatura como favorável a escores de marmoreio, foi caracterizado pela presença de dois fragmentos de restrição de 100 e 351 pb e o alelo C por um fragmento de 452 pb. As frequências alélicas e genotípicas foram comparadas utilizando o teste de Qui-quadrado. Os desvios das frequências observadas em relação às esperadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg foram analisados a 5% de significância. Nos estudos de associação, os dados obtidos para as características de peso ao início do confinamento (PESOI), peso ao final do confinamento (PESOF), dias em confinamento para atingir acabamento (DCONF), ganho de peso médio diário (GPD), ganho de peso total (GPT), peso pré abate (PABATE), peso da carcaça quente (PCQ), rendimento de carcaça quente (REND), maturação fisiológica (MATFIS), textura da carne (TEXT), espessura de gordura subcutânea (EGS), área de olho de lombo (AOL), escore de marmoreio (MARM) e força de cisalhamento (SHEAR), foram submetidos à análise de variância utilizando o procedimento *General Linear Model* (GLM) do programa estatístico SAS (*Statistical Analysis System* versão 9.2), sob um modelo com os efeitos dos genótipos para o polimorfismo, ano de nascimento, lote, sexo, dieta e grupos genéticos dos bezerros, dos touros e das vacas. Apenas sete animais apresentaram o genótipo GG e foram excluídos dessa análise por serem considerados pouco representativos. Foram realizadas também análises isoladas para os grupos genéticos dos bezerros, dos touros e das vacas.

### Resultados e Discussão

Para calcular as frequências genotípicas e alélicas foram analisados 201 animais, perfazendo um total de sete animais com o genótipo GG (3,5%), 84 com genótipo GC (41,8%) e 110 com genótipo CC (54,7%), sendo que os grupos genéticos CCVN, CRCN e CRVN não apresentaram animais com o genótipo GG. Uma alta frequência do alelo C tem sido relatada na literatura (Michal et al., 2006; Curi et al., 2011). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos genéticos dos bezerros para as frequências alélicas ( $P = 0,2480$ ) e genotípicas ( $P = 0,8602$ ), pelo teste de Qui-quadrado (Tabela 1). Todos os grupos genéticos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg a 5% de significância. O *FABP4* é considerado um gene candidato que afeta características de gordura em mamíferos. Ogino et al. (2003) sugeriram este gene como candidato para a obesidade, após identificarem nos cromossomos 2 e 6 de ratos dois QTLs com efeito nos níveis de leptina sérica. Esses cromossomos são homólogos às regiões dos cromossomos humano 4 e 8, que contêm vários genes candidatos para a obesidade. Analisando animais cruzados, Michal et al. (2006) relataram a descoberta de dois polimorfismos do tipo SNP nesse gene, sendo um destes o utilizado neste estudo, e observaram associação significativa com marmoreio e espessura de gordura subcutânea, entretanto, Curi et al. (2011) analisando esse mesmo polimorfismo não observaram associações significativas para AOL, EGS, MARM, SHEAR e índice de fragmentação miofibrilar em bovinos da raça Nelore, Canchim e cruzados (Angus  $\times$  Nelore; Rubia Gallega  $\times$  Nelore; Brangus *three-way cross*; Braunvieh *three-way cross*) e concluíram que a ausência dessas associações e o pequeno efeito do gene podem desestimular iniciativas futuras. Neste trabalho, foi observada associação significativa entre o marcador *FABP4/MspAII* e escore de marmoreio ( $P < 0,0501$ ) para 194 animais (Tabela 2). Analisando os grupos genéticos dos bezerros de forma isolada, os grupos CCCN e CRVN



apresentaram associação significativa com EGS (Tabela 2). Os demais grupos genéticos não apresentaram associação significativa com as características analisadas. De forma isolada, os grupos genéticos das vacas e dos touros não apresentaram associações significativas. Barendse et al. (2009) demonstraram que o efeito deste gene é muito pequeno e isso pode explicar porque outros estudos não encontraram evidências de associação com as características de interesse.

Tabela 1. Frequências genótípicas e alélicas para o polimorfismo *FABP4/MspAII*

Genótipos/Alelos	Grupos Genéticos						
	CCAN	CCCN	CCVN	CRAN	CRCN	CRVN	RACN
GG	11,5	6,3	0,0	3,5	0,0	0,0	2,9
GC	34,6	56,2	44,0	34,5	39,3	30,8	48,6
CC	53,9	37,5	56,0	62,1	60,7	69,2	48,6
G	28,9	34,4	22,0	20,7	19,6	15,4	27,1
C	71,2	65,6	78,0	79,3	80,4	84,6	72,9

Tabela 2. Efeito da substituição alélica para o polimorfismo *FABP4/MspAII*

Animais/Grupos	Característica	Efeito	P<	Desvio Padrão
GERAL (n=194)	MARM (pontos)	-0,79	0,0501	0,40
CCCN	EGS (centímetros)	-1,04	0,0359	0,46
CRVN	EGS (centímetros)	1,38	0,0344	0,60

### Conclusões

A maior frequência para o alelo C encontrada neste trabalho condiz com resultados descritos na literatura. Apesar de encontrada associação com marmoreio para os bezerros e espessura de gordura subcutânea para os grupos genéticos, os resultados de análises de associações obtidos com o marcador *FABP4/MspAII* não são consistentes de um estudo para outro, sendo necessário o desenvolvimento de trabalhos com outros SNPs localizados neste gene, em outras populações e com tamanho amostral maior para verificar a real contribuição deste gene candidato em características de interesse econômico.

### Literatura citada

- BARENDSE, W.; BUNCH, R.J.; THOMAS, M.B. et al. A splice site single nucleotide polymorphism of the *fatty acid binding protein 4* gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissimus muscle in Australian cattle. **Animal Genetics**, v. 40, p. 770–773, 2009.
- CURI, R.A.; CHARDULO, L.A.L.; ARRIGONI, M.D.B. et al. Associations between *LEP*, *DGATI* and *FABP4* gene polymorphisms and carcass and meat traits in Nelore and crossbred beef cattle. **Livestock Science**, v. 135, p. 244-250, 2011.
- MICHAL, J.J.; ZHANG, Z.W.; GASKINS, C.I. et al. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. **Animal Genetics**, v. 37, p. 400-4002, 2006.
- OGINO, T.; MORALEJO, D.H.; KOSE, H. et al. Serum leptin concentration is linked to chromosomes 2 and 6 in the OLETF rat, an animal model of type 2 diabetes with mild obesity. **Mammalian Genome**, v. 14, p. 239-244, 2003.
- REGITANO, L.C.A. Extração de DNA para aplicação em reação de cadeia da polimerase. In: Regitano L.C.A e Coutinho L.L. (Ed.) **Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, 2001, p. 182-184
- SPECHT, B.; BARTETZKO, N.; HOHOFF, C. et al. Mammary derived growth inhibitor is not a distinct protein but a mix of heart-type and adipocyte-type fatty acid binding protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, p. 19943-19949, 1996.