

# ĐA HÌNH GEN CALPASTATIN (CAST) LIÊN QUAN ĐẾN ĐỘ MỀM THỊT Ở BÒ VÀNG NUÔI TẠI CÁC TỈNH MIỀN TRUNG VÀ TÂY NAM VIỆT NAM

Lê Nữ Anh Thư<sup>1\*</sup>, Dương Thi Hương<sup>1</sup>, Nguyễn Bình Nguyễn<sup>1,2</sup>, Nguyễn Bá Trung<sup>3</sup>, Lê Đình Phùng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

<sup>2</sup>Công ty cổ phần UV Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

## TÓM TẮT

Độ mềm thịt là một trong những yếu tố quan trọng nhất để đánh giá chất lượng thịt và quyết định thị hiếu của người tiêu dùng. Những nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng đa hình nucleotide đơn g.97395177 C>G (rs27318422) trên gen *CAST* liên kết với độ mềm thịt và được đề nghị sử dụng như chỉ thị phân tử trong chọn giống. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân tích tần suất kiểu gen và alen của *CAST* g.97395177 C>G ở quần thể bò Vàng tại miền Trung (Thừa Thiên Huế và Quảng Trị) và Tây Nam Bộ (An Giang) sử dụng phương pháp PCR-RFLP và giải trình tự. Kết quả chỉ ra rằng *CAST* g.97395177 C>G là đa hình trong quần thể bò Vàng được khảo sát, trong đó alen C được báo cáo trong nghiên cứu trước đây cho thịt mềm hơn có tần suất lần lượt ở bò Vàng nuôi tại Thừa Thiên Huế, Quảng Trị, và An Giang là 0,25 (25%); 0,5 (50%) và 0,28 (28%). Thêm vào đó, không có sự sai khác về sự phân bố kiểu gen của bò Vàng nuôi tại miền Trung và Tây Nam Bộ. Kết quả này đề nghị rằng bò Vàng Việt Nam có thể mang kiểu gen liên kết với độ mềm thịt và đây là báo cáo đầu tiên về đa hình gen *CAST* g.97395177 C>G ở *Bos indicus* nói chung và bò Vàng Việt Nam nói riêng.

**Từ khóa:** Bò Vàng, gen *CAST*, độ mềm thịt, PCR-RFLP, đa hình nucleotide đơn (SNPs).

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Độ mềm thịt là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng thịt và quyết định thị hiếu của người tiêu dùng (Robyn *et al.*, 2022). Độ mềm thịt bị ảnh hưởng bởi không chỉ yếu tố sản xuất như giống, kiểu gen, tuổi, chế độ nuôi dưỡng, hoặc khối lượng giết mổ, còn bị ảnh hưởng bởi các yếu tố kỹ thuật như điều kiện giết mổ, tuổi giết mổ và quy trình chế biến (Calvo *et al.*, 2014). Trong đó, yếu tố ảnh hưởng quan trọng nhất đến độ mềm thịt sau giết mổ là sự phân giải các protein sợi cơ quan trọng bởi các enzyme nội sinh trong cơ như Capains và Calpastatins (Bhat *et al.*, 2018).

Calpastatin nằm trong nhóm gen liên quan đến độ mềm của thịt (Pinto *et al.*, 2010) và mã hóa enzyme phân giải các protein sợi cơ (Consolo *et al.*, 2017). Gen Calpastatin của bò zebu (*CAST*) nằm trên nhiễm sắc thể số 7 gồm 35 exon có vị trí từ g. 97310302 – g. 97446918 (NC\_032656.1, *Bos indicus* 1.0, GCF\_000247795.1). Nhiều đa hình nucleotide đơn (SNPs) trên gen *CAST* đã được phát hiện có ảnh hưởng đáng kể đến độ mềm thịt và được đề nghị làm chỉ thị phân tử cho tính trạng chất lượng thịt ở bò (Kostusiak *et al.*, 2023). Trong đó, đột biến thay thế nucleotide C>G tại vị trí g.98533962 C>G (trên bộ gen *Bos taurus* UMD 3.0) liên quan đáng kể đến độ mềm thịt sau giết mổ (Schenkel *et al.*, 2006; Calvo *et al.*, 2014) ở các giống bò *Bos taurus* khác nhau.

Ở Việt Nam, bò Vàng thuộc nhóm giống bò Zebu (*Bos indicus*) được nuôi phổ biến tại các vùng nông thôn nghèo do bò có khả năng thích nghi cao với môi trường địa phương. Bò được chăn nuôi theo hình thức thả tự nhiên nhằm tận dụng nguồn thức ăn sẵn có. Thịt bò Vàng được cho rằng có thớ thịt nhỏ, mịn nên được thị trường ưa chuộng (Lê Hiếu, 2023). Vì vậy, trong những năm qua, chính phủ đã thực hiện chương trình cải tạo giống bò Vàng Việt Nam theo hướng nâng cao năng suất và chất lượng thịt (Thu Hằng, 2023). Ở một số địa phương trên cả nước, để nâng cao giá trị của thịt bò nhằm cải thiện đời sống của người nông dân và kinh tế của huyện xã, chính phủ và nhà chăn nuôi địa phương đã nỗ lực xây dựng nhãn hiệu thịt bò, chẳng hạn như thịt bò Vàng A Lưới nuôi tại huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế, hay thịt bò Ba Tri ở huyện Ba Tri, tỉnh Bến Tre. Tuy nhiên, chất lượng thịt bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, trong đó yếu tố di truyền đóng góp đến 53% (Kostusiak *et al.*, 2023), do vậy để nâng cao chất lượng thịt và cải thiện hiệu quả chọn lọc thì ứng dụng chỉ thị di truyền phân tử là cần thiết.

Xuất phát từ những dẫn chứng này, phân tích đa hình gen *CAST* liên quan đến độ mềm thịt ở quần thể bò Vàng tại các tỉnh miền Trung (Quảng Trị và Thừa Thiên Huế) và Tây Nam (tỉnh An Giang) Việt Nam đã được thực hiện trong nghiên cứu này nhằm làm cơ sở cho chương trình cải thiện giống và nâng cao chất lượng thịt bò Vàng.

**VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**Thu mẫu**

Đàn giống Bò Vàng được sử dụng trong nghiên cứu này được nuôi tại 3 tỉnh Thừa Thiên Huế, Quảng Trị, và An Giang. Để đánh giá sự đa hình, các cá thể gồm cả đực và cái ở các lứa tuổi khác nhau đã được thu thập mẫu máu ngẫu nhiên tại các hộ chăn nuôi bò. Trong đó, 59 mẫu máu được thu thập tại các nông hộ của huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế, 12 mẫu tại huyện Triệu Phong, tỉnh Quảng Trị, và 30 mẫu tại huyện Tịnh Biên và huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. Thể tích máu thu thập là 3 mL / mẫu và được lấy tại tĩnh mạch cổ của bò bằng ống lấy máu chân không với chất chống đông heparin. Sau đó, mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C và chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành tách chiết DNA tổng số.

**Tách chiết DNA**

DNA tổng số được tách chiết theo các bước cơ bản: Thu tế bào bạch cầu bằng phương pháp ly tâm, phân giải protein bằng Proteinase K, chiết DNA bằng hỗn hợp phenol : chloroform : isoamylalcohol và rửa DNA bằng ethanol. Sản phẩm DNA tổng số được đánh giá chất lượng và số lượng bằng máy đo quang phổ NANODROP ONE (Thermo Fisher Scientific Inc, Mỹ).

**Khuếch đại gen CAST**

Đột biến thay thế nucleotide C>G trên gen CAST nằm tại intron 7 ở vị trí g.97395177 của hệ gen bò *Bos indicus* hiện nay (NC\_032656.1, *Bos indicus* 1.0, GCF\_000247795.1). Trên hệ thống cơ sở dữ liệu của ngân hàng gen NCBI, đa hình này có mã là rs27318422. Như vậy, để khuếch đại đoạn gen CAST g.97395177 C>G (rs27318422), chúng tôi sử dụng cặp mồi tự thiết kế bằng phần mềm Primer-BLAST (Ye *et al.*, 2012). Các thông tin về mồi được sử dụng trong phương pháp PCR được trình bày ở bảng 1. Phản ứng PCR (25 µL) gồm các thành phần 10 ng DNA khuôn mẫu, đệm GoTaq Flexi 5X, mồi xuôi 10 µM, mồi ngược 10 µM, dNTP 2,0 mM, MgCl<sub>2</sub> 25 mM, GoTaq hot start polymerase 1,25 U (Promega, Mỹ), và nước cất. Phản ứng PCR được thực hiện ở nhiệt độ biến tính 94°C/30s, gắn mồi 57°C/30s, và kéo dài 72°C/30s trong 35 chu kỳ.

**Bảng 1. Thông tin về CAST g.97395177 C>G (rs27318422) trên bò *Bos indicus* và trình tự mồi đặc hiệu**

Bộ gen <i>Bos indicus</i> 1.0		Trình tự mồi (5' – 3')	Kích thước (bp)	Vị trí tham khảo trên <i>Bos taurus</i> UMD 3.0
ID	Vị trí			
rs27318422	g.97395177	GTGTGGCATCAGCAGGTATTG GAAAACACGCATACACCCCA	239	g.98533962 C>G (Calvo <i>et al.</i> , 2014)

**Điện di gel agarose:** Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2% trong đệm 0,5X TAE ở 100 V trong 30 phút. Kết quả được đọc dưới máy Gel Doc XR+(Bio-rad, Mỹ). Thang chuẩn 100 bp DNA (DM2100 ExcelBand™ Ladder, SMBIO, Đài Loan) được sử dụng để xác định kích thước các đoạn DNA trên gel agarose.

**Xác định đa hình gen CAST**

Phần mềm NEB cutter 2.0 (Vincze *et al.*, 2003) đã được sử dụng để thiết kế và chọn lọc enzyme giới hạn phù hợp có thể nhận biết được điểm cắt. Trong số các enzyme giới hạn, enzyme giới hạn *RsaI* có trình tự cắt phù hợp với trình tự mang đột biến gen CAST g.97395177 C>G đã được sử dụng để tìm điểm đa hình. Hỗn hợp phản ứng gồm: 5 µL sản phẩm PCR, 0,25 µL *RsaI*, 1 µL cutsmart buffer (NEB, Nhật bản) và 3,75 µL nước cất. Hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ 37°C qua đêm. Thông tin trình tự cắt và kích thước của các phân đoạn được cắt bởi enzyme giới hạn *RsaI* được trình bày ở bảng 2. Kết quả phản ứng cắt giới hạn được kiểm tra trên gel agarose 3% trong đệm 0,5X TAE ở 100 V trong 30 phút.

**Bảng 2. Thông tin về phản ứng cắt bằng enzyme giới hạn *RsaI***

Enzyme giới hạn	Trình tự cắt (5'-3')	Kiểu gen	Kích thước (bp)
<i>RsaI</i>	5'....GTAC....3'	CC	239
	3'....CATG....5'	CG	82, 157, 239
		GG	82, 157

**Giải trình tự**

Để xác định sự thành công của quy trình thiết kế mồi và enzyme giới hạn cho nghiên cứu này, 2 mẫu PCR của 2 cá thể mang kiểu gen đột biến (CG và GG) đã được chọn lọc để gửi đi giải trình tự (Azenta, Nhật Bản). Kết quả giải trình tự được phân tích sử dụng công cụ MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021).

**Xử lý số liệu**

Số liệu về tần suất kiểu gen, tần suất alen và Chi-bình phương (X<sup>2</sup>) được tính toán sử dụng phần mềm Microsoft Excell (Microsoft 365 MSO, version 2305).

- Tần suất kiểu gen được tính theo công thức:

Tần suất kiểu gen = Số cá thể mang kiểu gen tương ứng/Tổng số mẫu nghiên cứu.

- Tần suất alen được tính theo các công thức:

$$p = (CC + 1/2CG)/N \text{ và } q = (GG + 1/2GC)/N$$

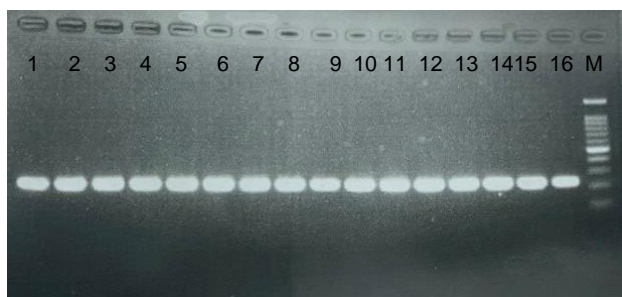
p là tần suất alen C, q là tần suất alen G, N là tổng số mẫu nghiên cứu

Sự sai khác thống kê ( $p < 0,05$ ) về sự phân phối kiểu gen *CAST g.97395177 C>G* theo quần thể khảo sát ở các địa phương khác nhau được phân tích bằng Fisher's exact test (Kim, 2017), sử dụng phần mềm R commander (R package version 2.7-1) (Fox và Bouchet-Valat, 2020).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Kết quả khuếch đại đoạn gen *CAST g.97395177 C>G*

Kết quả khuếch đại đoạn gen *CAST g.97395177 C>G* của bò Vàng với cặp mồi đặc hiệu được điện di trên gel agarose cho thấy xuất hiện 1 băng duy nhất, rõ nét với kích thước ước đoán 239 bp (Hình 1). Điều này cho thấy đã khuếch đại thành công đoạn gen trên.

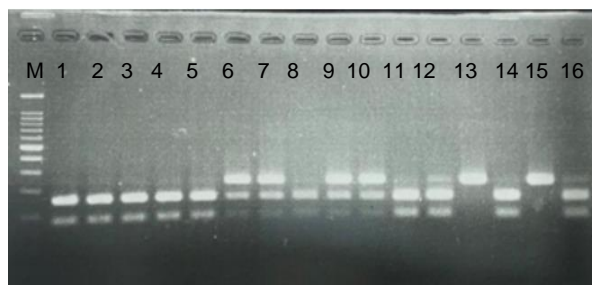


Hình 1. Kết quả khuếch đại đoạn gen *CAST g.97395177 C>G* (rs27318422).

M là thang kích thước chuẩn DM2100 ExcelBand™, giếng 1 – 16: mẫu DNA bò Vàng

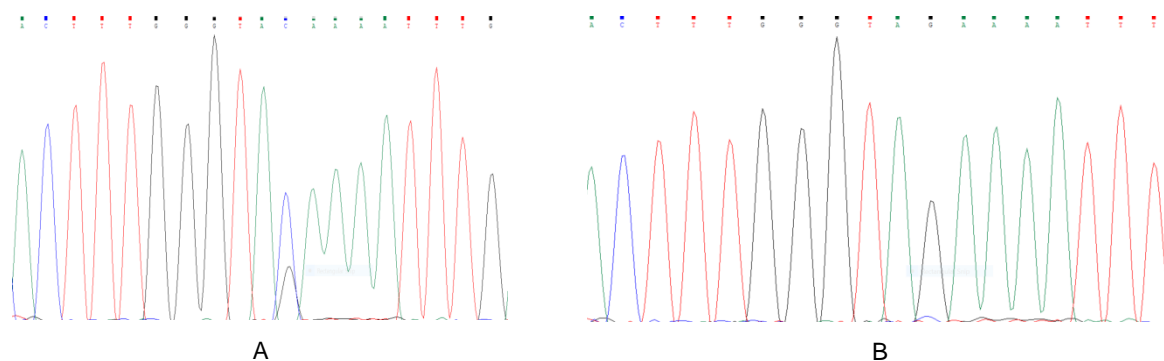
### Kết quả phân tích đa hình gen *CAST g.97395177 C>G*

Để phân tích đa hình gen *CAST g.97395177 C>G*, chúng tôi đã ủ sản phẩm PCR với enzyme giới hạn *RsaI*. Sản phẩm PCR được cắt thành các phân đoạn với kích thước khác nhau tương ứng với kiểu gen CC, CG và GG như được trình bày ở bảng 2. Kết quả kiểm tra kích thước các phân đoạn trên gel agarose tương ứng với các kích thước đã được xác định. Điều này cho thấy kết quả PCR-RFLP đã thực hiện thành công (Hình 2).



Hình 2. Kết quả PCR-RFLP của *CAST g.97395177 C>G*, trong đó, M là thang kích thước chuẩn DM2100 ExcelBand, mẫu 1-16 là các kiểu gen khác nhau của *CAST g.97395177 C>G* ở bò Vàng được khảo sát

Thêm vào đó, để kiểm tra tính khoa học của quy trình thiết kế, chúng tôi đã giải trình tự 2 cá thể mang 2 kiểu gen tương ứng (CG và GG). Kết quả giải trình tự phù hợp với kết quả PCR-RFLP (Hình 3). Như vậy, quy trình thiết kế mồi và enzyme giới hạn để kiểm tra đa hình gen *CAST g.97395177 C>G* ở bò Vàng là thích hợp.



**Hình 3. Kết quả giải trình tự kiểu gen *CAST* g.97395177 C>G (A. Kiểu gen CG; B. Kiểu gen GG)**

Bên cạnh đó, kết quả cho thấy rằng có 3 kiểu gen CC, CG và GG xuất hiện ở quần thể bò Vàng, đề nghị SNP g.97395177 C>G trên gen *CAST* là đa hình ở quần thể bò Vàng tại khu vực được khảo sát.

**Tần suất kiểu gen và alen của gen *CAST* g.97395177 C>G ở bò Vàng nuôi tại các địa phương khác nhau**

Kết quả đánh giá đa hình gen *CAST* g.97395177 C>G trên 101 mẫu DNA của bò Vàng được thể hiện ở Bảng 3. Qua bảng cho thấy, cả ba quần thể bò Vàng tại Quảng Trị, Thừa Thiên Huế và An Giang đều mang 3 kiểu gen CC, CG, và GG. Trong đó, ở tỉnh Thừa Thiên Huế có 35/59 cá thể mang kiểu gen GG, 18/59 mẫu mang kiểu gen CG và 6/59 mẫu mang kiểu gen CC. Tương tự, ở tỉnh An Giang có 17/30 mẫu mang kiểu gen GG, 9/30 mẫu mang kiểu gen CG và 4/30 mẫu mang kiểu gen CC. Ở tỉnh Quảng trị, số cá thể mang kiểu gen GG và CC như nhau (3/12), còn lại 6/12 cá thể mang kiểu gen dị hợp CG. Tính chung cho cả 3 vùng thì tần số alen G (0,66) cao hơn alen C (0,34). Kết quả  $\chi^2$  ở cả 3 quần thể bò Vàng tại Quảng Trị, An Giang, và Thừa Thiên Huế nhỏ hơn giá trị  $\chi^2$  lý thuyết ( $0.05;1$ ) = 3,84 đề nghị rằng các quần thể này có cấu trúc di truyền tuân theo định luật Hardy-Weinberg, như vậy quần thể bò Vàng mang SNP g.97395177 C>G của gen *CAST* tại các địa phương khảo sát chưa chịu áp lực chọn lọc, di nhập cư, hay đột biến.

**Bảng 3. Tần suất kiểu gen và alen của *CAST* g.97395177 C>G ở bò Vàng tại miền Trung và miền Tây Nam Bộ**

Địa phương	Số mẫu	Tần suất kiểu gen			Tần suất alen		$\chi^2$	p
		CC	CG	GG	C	G		
Thừa Thiên Huế	59	0,10	0,31	0,59	0,25	0,75	2,25	0,216
An Giang	30	0,13	0,30	0,57	0,28	0,72	2,05	
Quảng Trị	12	0,25	0,5	0,25	0,50	0,50	0,00	
Tính chung	101	0,16	0,37	0,47	0,34	0,66		

Thêm vào đó, không có sự sai khác thống kê ( $p>0,05$ ) về sự phân bố kiểu gen *CAST* g.97395177 C>G của bò Vàng tại các địa phương khác nhau hay giữa khu vực miền Trung và Tây Nam Bộ. Tuy nhiên, có sự sai khác thống kê ( $p=0,04$ ) về sự phân bố kiểu gen *CAST* g.97395177 C>G của bò Vàng nuôi tại huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế và huyện Triệu Phong, tỉnh Quảng Trị (Bảng 4). Có sự sai khác này có thể do số lượng cá thể khảo sát ở các địa phương khác nhau

**Bảng 4. Sự phân bố kiểu gen *CAST* g.97395177 C>G theo quần thể khảo sát**

Địa phương	Số mẫu	Sự phân bố kiểu gen			p
		CC	CG	GG	
Miền Trung	71	9	24	38	0,95
Tây Nam Bộ	30	4	9	17	
Quảng Trị	12	3	6	3	0,04
Thừa Thiên Huế	59	6	18	35	
Quảng Trị	12	3	6	3	0,168
An Giang	30	4	9	17	
Thừa Thiên Huế	59	6	18	35	0,897
An Giang	30	4	9	17	

## Thảo luận

Calpastatin là protein xuất hiện tự nhiên có tác dụng ức chế quá trình làm mềm thịt sau giết mổ. Vì vậy, *CAST* được sử dụng làm gen dự tuyển liên quan đến độ mềm thịt ở thịt bò (*Kostusiak et al.*, 2023). Theo nghiên cứu trước đây của Schender và đồng tác giả (2006) về ảnh hưởng của *CAST* g.97395177 C>G đến độ mềm thịt của bò Angus, Limousine, Charolais và Simmental đã chỉ ra rằng tần suất xuất hiện alen C ở 4 giống bò lần lượt là 62,5 %, 73,2%, 68,8%, và 36,4%. Bò mang kiểu gen CC có thịt mềm hơn so với bò mang kiểu gen GG và bò CG có độ mềm thịt vừa phải. Lực cắt Warner-Bratzler trung bình của thịt sau giết mổ 7 ngày ở các cá thể mang kiểu gen CC, CG, và GG lần lượt là (4,9 ± 0,11; 5,09 ± 0,12; 5,27 ± 0,15 kg/cm<sup>2</sup>). Tương tự, Calvo và đồng tác giả (2014) đã báo cáo có sự xuất hiện của 3 kiểu gen CC, CG và GG ở cả hai giống bò Parda de Montaña và Pirenaica với tần suất alen C lần lượt là 0,7 và 0,61. Các cá thể mang kiểu gen CG có độ mềm thịt cao hơn (-1,64 kg/cm<sup>2</sup>) so với cá thể mang kiểu gen GG. Như vậy, tần suất xuất hiện alen C ở các giống bò trong nghiên cứu này cao hơn ở quần thể bò Vàng được khảo sát trong nghiên cứu của chúng tôi. Điều này là hợp lý do các giống bò khảo sát trong nghiên cứu trước đây thuộc giống bò *Bos taurus*, được công nhận có độ mềm thịt cao hơn so với giống bò *Bos indicus* (*Bressan et al.*, 2010). Tuy nhiên, tần suất alen C trung bình của gen *CAST* g.97395177 C>G ở bò Vàng Việt Nam cũng khá cao 0,34 (34%).

Trong 3 quần thể khảo sát, bò Vàng nuôi tại A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế được xem là sản phẩm nông nghiệp chủ lực của huyện A Lưới và “thịt bò Vàng A Lưới” cũng đã được Cục sở hữu trí tuệ trao chứng nhận nhãn hiệu tập thể. Việc phát triển bền vững nhãn hiệu này không chỉ góp phần cải thiện thu nhập cho các hộ nông dân còn đóng góp vào sự phát triển kinh tế - xã hội của huyện A Lưới. Như vậy, có thể đề nghị rằng kết quả nghiên cứu này đã cung cấp thông tin khoa học hữu ích cho chương trình cải thiện giống và nâng cao chất lượng thịt bò Vàng. Do đó, để làm cơ sở chính xác cho việc áp dụng SNPs này vào chọn lọc nâng cao độ mềm thịt của giống bò Vàng nuôi tại A Lưới và các địa phương khác ở Việt Nam, cần khảo sát tần suất alen C trong quần thể với số lượng lớn hơn và phân tích mối liên kết giữa đa hình này với độ mềm thịt của bò Vàng sau khi giết mổ và chế biến.

## KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng quần thể bò Vàng tại khu vực miền Trung và miền Tây Nam Bộ Việt Nam có sự đa hình gen *CAST* g.97395177 C>G. Trong đó, tần suất alen C được báo cáo trong nghiên cứu trước đây cho độ mềm thịt cao hơn ở bò Vàng nuôi tại Thừa Thiên Huế, Quảng Trị và An Giang lần lượt là 0,25 (25%); 0,5 (50%) và 0,28 (28%). Không có sự sai khác thống kê về sự phân bố kiểu gen *CAST* g.97395177 C>G của bò Vàng giữa ba tỉnh khảo sát và giữa khu vực miền Trung và Tây Nam Bộ. Đây là báo cáo đầu tiên về đa hình này trên bò *Bos indicus*.

Cần tiếp tục khảo sát đa hình gen *CAST* g.97395177 C>G trên quần thể lớn hơn và phân tích mối liên kết giữa đa hình này với độ mềm thịt sau khi giết mổ và chế biến để đánh giá mức độ biểu hiện giá trị kiểu hình của gen này trong quần thể bò Vàng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhat ZF, Morton JD, Mason SL, Bekhit A (2018). Role of calpain system in meat tenderness: A review. *Food Sci Hum Wellness*, 7 (3): 196 - 204.
- Braz CU, Taylor JF, Decker JE, Bresolin T, Espigolan R, Garcia DA, Gordo DGM, Magalhães AFB, de Albuquerque LG, de Oliveira HN (2018). Polymorphism analysis in genes associated with meat tenderness in Nelore cattle. *Meta Gene*, 18: 73 - 78.
- Bressan MC, Rossato LV, Rodrigues EC, Alves SP, Bessa RJB, Ramos EM, Gama LT (2010). Genotype x environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. *J Anim Sci*, 89: 221–232.
- Calvo JH, Iguácel LP, Kirinus JK, Serrano M, Ripoll G, Casásús I, Joy M, Pérez Velasco L, Sarto P, Albertí P, Blanco M (2014). A new single nucleotide polymorphism in the calpastatin (*CAST*) gene associated with beef tenderness. *Meat Sci*, 96(2): 775-782.
- Consolo NRB, Ferrari VB, Mesquita LG, Goulart RS Silva LFP (2016). Zilpaterol hydrochloride improves beef yield, changes palatability traits, and increases calpain-calpastatin gene expression in Nelore heifers. *Meat Sci*. 2016, 121:375–381.
- Fox J, Bouchet-Valat M (2020). Rcmdr: R Commander. R package version 2:7-1, <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Misc/Rcmdr/>.
- Kim HY. (2017). Statistical Notes for Clinical Researchers: Chi-Squared Test and Fisher's Exact Test. *Restor Dent Endod*, 42: 152-155.
- Kostusiak P, Slószar J, Gołębski M, Grodkowski G, and Puppel K (2023). Polymorphism of Genes and Their Impact on Beef Quality. *Curr Issues Mol Biol*, 6(45): 4749–4762.
- Lê Hiếu. 2023. Thịt bò Vàng A Lưới có gì đặc biệt mà khách hàng ưa chuộng?. *VOV-Miền Trung*. <https://vov.vn/kinh-te/thit-bo-vang-a-luoi-co-gi-dac-biet-ma-duoc-khach-hang-ua-chuong-post1012531.vov>.
- Pinto L, Ferraz JBS, Meirelles FV, Eler JP, Rezende FMD, Carvalho M, Almeida H, Silva R (2010). Association of SNPs on CAPN1 and *CAST* genes with tenderness in Nelore cattle. *Genet Mol Res*, 9:1431–1442.
- Robyn DW, Tommy LW, Minh H, Xin L, Bekhit A, James M, Rozita V, Dunshea FR, Liu R, Purslow P, Zhang W (2022). Meat tenderness: advances in biology, biochemistry, molecular mechanisms and new technologies. *Meat Sci*, 185: 108657.

- Schenkel FS, Miller SP, Jiang Z, Mandell IB, Ye X, Li H, Wilton JW (2006). Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J Anim Sci*, 84(2): 291–299.
- Tamura K, Stecher G, Kumar S (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol*, 38(7): 3022–3027.
- Thu Hằng (2023). Công tác giống và cải tiến di truyền trong chăn nuôi bò thịt tại Việt Nam. <https://nhachannuoi.vn/cong-tac-giong-va-cai-tien-di-truyen-trong-chan-nuoi-bo-thit-tai-viet-nam/>
- Vincze T, Posfai J, Roberts R J (2003). NEBcutter: A Program to Cleave DNA with Restriction Enzymes. *Nucleic Acids Res.*, 31: 3688–3691.
- Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, and Madden T L (2012). Primer-BLAST: A Tool to Design Target-Specific Primers for Polymerase Chain Reaction. *BMC Bioinformatics.*, 18(13): 134.

## POLYMORPHISM OF CAST GENE ASSOCIATED TO MEAT TENDERNESS OF YELLOW CATTLE RAISED IN THE CENTRAL AND SOUTHWESTERN OF VIETNAM

Le Nu Anh Thu<sup>1\*</sup>, Duong Thi Huong<sup>1</sup>, Nguyen Binh Nguyen<sup>1,2</sup>, Nguyen Ba Trung<sup>3</sup>, Le Dinh Phung<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Agriculture and Forestry, Hue University

<sup>2</sup>Vietnam UV Joint Stock company

<sup>3</sup>University of An Giang, Vietnam national University – Ho Chi Minh city

### SUMMARY

Meat tenderness is one of the most important factors determining the meat quality, consumer acceptability and satisfaction. The previous studies indicated that *CAST* g.97395177 C>G (rs27318422) related to meat tenderness should be used as a molecular marker in selection to improve the beef quality. Therefore, this study was performed to investigate the genotypes and allele frequency of *CAST* g.97395177 C>G in Yellow cattle distributed in the central and Southwestern of Vietnam. Results showed that there was polymorphic of *CAST* g.97395177 C>G in the populations of Vietnamese Yellow cattle, in which, the C allele which previously showed the higher tenderness value than those of the G allele, has frequencies of 0.25 (25%), 0.28 (28%), and 0.5 (50%) in Yellow cattle raised in Thua Thien Hue, An Giang, and Quang Tri province respectively. In addition, there were no significant differences in the genotype distribution between the central and southwestern area ( $p > 0.05$ ). The present findings suggest that A Luoi yellow cattle have possibility to possess the favorable allele associated with the meat tenderness, and this is the first report about the polymorphism of *CAST* g.97395177 C>G in *Bos indicus* and Vietnamese Yellow cattle

**Keywords:** Yellow cattle, *CAST*, meat tenderness, PCR-RFLP, single nucleotide polymorphisms (SNPs).

---

\* Author for correspondence: Tel: +84-914008455; Email: lenuanhthu@huaf.edu.vn.