

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**GENOTIPAGEM DOS GENES ESTEAROIL-COA DESSATURASE  
(*SCD1*) E ÁCIDO GRAXO SINTASE (*FASN*) EM RAÇAS BOVINAS E  
SUA ASSOCIAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NA  
RAÇA BRANGUS**

**CATHERINE CECILIA WALKER**

**CAMPO GRANDE, MS  
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**GENOTIPAGEM DOS GENES ESTEAROIL-COA DESSATURASE  
(*SCD1*) E ÁCIDO GRAXO SINTASE (*FASN*) EM RAÇAS BOVINAS E  
SUA ASSOCIAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NA  
RAÇA BRANGUS**

Genotyping of genes Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD1*) and Fatty Acid Synthase (*FASN*) in cattle breeds and its association with the fatty acid composition in Brangus breed

**CATHERINE CECILIA WALKER**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Morais**

**Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Andrea Alves do Egito**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

**CAMPO GRANDE, MS  
2013**

Certificado de aprovação

**CATHERINE CECILIA WALKER**

**GENOTIPAGEM DOS GENES ESTEAROIL-COA DESSATURASE (*SCD1*) E  
ÁCIDO GRAXO SINTASE (*FASN*) EM RAÇAS BOVINAS E SUA  
ASSOCIAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NA RAÇA  
BRANGUS**

Genotyping of genes Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD1*) and Fatty Acid  
Synthase (*FASN*) in cattle breeds and its association with the fatty acid  
composition in Brangus breed

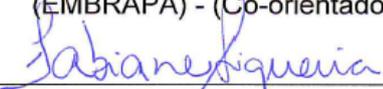
Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Mato grosso do Sul, como requisito à  
obtenção do título de Mestra em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado (a) em: 29/07/2013

**BANCA EXAMINADORA:**

  
\_\_\_\_\_  
Doutora Andréa Alves do Egito  
(EMBRAPA) - (Co-orientadora)

  
\_\_\_\_\_  
Doutora Fabiane Siqueira  
EMBRAPA

  
\_\_\_\_\_  
Doutor Henrique Jorge Fernandes  
UEMS/Aquidauana

*Aos meus familiares e às  
pessoas especiais que me  
apoiam e incentivaram durante  
esta jornada e em todos os  
momentos da minha vida.*

*Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus acima de todas as coisas.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria da Graça Morais, exemplo de dedicação profissional, meus sinceros agradecimentos pela orientação, motivação e confiança depositada.

À minha co-orientadora Dr<sup>ª</sup>. Andrea Alves do Egito, pela sua fundamental participação em minha orientação, pela confiança e principalmente por sua afetuosidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS, pela oportunidade oferecida.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS, pelos conhecimentos ministrados durante o curso.

À FUNDECT, pela concessão de bolsa de estudos e financiamento do projeto.

À EMBRAPA Gado de Corte, pela infra-estrutura laboratorial e co-financiamento do projeto de pesquisa.

Ao Dr. Gelson Luís Dias Feijó, à Dr<sup>ª</sup>. Roberta Gomes Coelho e à Dr<sup>ª</sup>. Fabiana Villa Alves, pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos colegas de mestrado e doutorado, pelos laços de amizade firmados durante o período do curso. Em especial, ao colega Marco Aurélio Scarton Comparin, colaborador na realização deste trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para o êxito do trabalho.

## Resumo

Walker, C. C. **Genotipagem dos genes estearoil-coa dessaturase (*SCDI*) e ácido graxo sintase (*FASN*) em raças bovinas e sua associação com a composição de ácidos graxos na raça Brangus.** 2013. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

Objetivou-se analisar a frequência gênica de polimorfismos dos genes estearoil-CoA dessaturase (*SCDI*) e ácido graxo sintase (*FASN*) em diferentes raças bovinas e analisar sua relação com o perfil lipídico da carne de 142 animais da raça Brangus. Foram genotipados animais das raças: Curraleiro, Crioulo Lageano, Caracu e Pantaneiro, representando as raças taurinas localmente adaptadas; Holandês e Wagyu, raças taurinas especializadas; Nelore, Guzerá e Gir, raças zebuínas e a F1 Nelore x Wagyu. Os animais foram genotipados para os polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* pela técnica de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*) e os polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCDI* por sequenciamento. Em relação ao gene *FASN*, o haplótipo TW, associado com o aumento da relação de monoinsaturados na carne, foi mais frequente na raça Wagyu do que nas outras raças avaliadas. Entre as raças localmente adaptadas, as raças Crioula Lageana e Caracu apresentaram maiores frequências do haplótipo favorável. No gene *SCDI* foram detectados novos haplótipos nas raças localmente adaptadas, exceto na Caracu, e nas raças zebuínas. O alelo A do polimorfismo g.10153G>A foi associado à redução de C18:0 e aumento no índice de dessaturação de C14:0. O alelo T do polimorfismo g.10213C>T foi associado à redução nas proporções de C14:0, C16:1, CLA e no índice de dessaturação do C16:0. Este estudo demonstra que existe uma alta variabilidade genética nas raças criadas no Brasil para os locos estudados e que os polimorfismos do gene *SCDI* estão envolvidos na variação do perfil de ácidos graxos de animais da raça Brangus.

**Palavras-chave:** perfil lipídico, qualidade de carne, raças localmente adaptadas, SNP

## Abstract

WALKER, C. C. 2013. **Genotyping of genes Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD1*) and Fatty Acid Synthase (*FASN*) in cattle breeds and its association with the fatty acid composition in Brangus breed.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

The objective was to analyze polymorphisms frequencies of stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*) and fatty acid synthase (*FASN*) genes in different bovine breeds and analyze its relationship with lipid profile of meat from 142 Brangus breed. We genotyped animals of the breeds Curraleiro, Crioulo Lageano, Caracu and Pantaneiro, representing taurine locally adapted; Holandês and Wagyu, specialized taurine breeds; Nelore, Guzerá and Gir, zebu breeds; and F1 Nelore x Wagyu. The animals were genotyped for *FASN* gene polymorphisms g.16024A>G and g.16039T>C by PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism) and *SCD1* gene polymorphisms g.10153G>A and g.10213C>T by sequencing. In relation to the *FASN* gene, TW haplotype associated with an increase in the ratio of monounsaturated meat was more frequent in Wagyu breed than in the others evaluated. Between locally adapted breeds Creole Lagena and Caracu showed higher frequency of the favorable haplotype. New haplotypes *SCD1* gene were detected in the locally adapted breeds, except Caracu, and the zebu breeds. The A allele of g.10153G>A polymorphism was associated with the reduction of C18:0 and an increase in the rate of desaturation of C14:0. The T allele of g.10213C>T polymorphism was associated with a reduction in the proportions of C14:0, C16:1 and CLA desaturation index of C16:0. This study demonstrates that there is a high genetic variability in the breeds raised in Brazil for studied loci and that the *SCD1* gene polymorphisms are involved in the variation of the fatty acid profile in Brangus cattle breed.

**Keywords:** lipid profile, locally adapted breeds, meat quality, SNP

## Lista de Ilustrações

Página

### 1. INTRODUÇÃO

**Figura 1.** Sequência de reações para a biossíntese de ácidos graxos *de novo* pela enzima ácido graxo sintase animal. 23

**Figura 2.** A via de transferência de elétrons na dessaturação de ácidos graxos por esteroil-CoA dessaturase (SCD). Adaptado de Paton e Ntambi (2009). 26

**Figura 3.** Ilustração esquemática da sequência do cDNA do gene *SCD1* bovino. Os triângulos mostram as posições dos oito SNPs, e as caixas indicam os locais de mutação dos SNPs. O triângulo grande mostra o local da substituição dos aminoácidos. Fonte Taniguchi et al. (2004). 27

### 2. POLIMORFISMOS DO GENE ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE EM RAÇAS BOVINAS CRIADAS NO BRASIL

**Figura 1.** Genotipagem dos polimorfismos do g.16024A>G (direita) e g.16039T>C (esquerda) do gene *FASN* pela digestão enzimática do fragmento de DNA, separados em gel de agarose 2%. 43

**Figura 2.** Eletroferogramas observados na genotipagem dos polimorfismos g.16024A>G (direita) e g.16039T>C (esquerda) do gene *FASN* (a: homozigoto; b: heterozigoto). 43

**Figura 3.** Eletroferogramas observados na genotipagem dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T(a: homozigoto; b: heterozigoto). 46

**Figura 4.** Gráfico Neighbor-Net baseados nas distâncias genéticas de 10 grupamentos genéticos analisados (Nel = Nelore; Guz = Guzerá; Car = Caracu; Cur Curraleira; Crl = Crioula Lageana; Pan = Pantaneira; Hol = Holandês; Wag = Wagyu; NxW = F1 Nelore x Wagyu). 51

## Lista de Tabelas

Página

### 1. INTRODUÇÃO

**Tabela 1.** Ácidos graxos mais frequentes em carnes 14

### 2. POLIMORFISMOS DO GENE ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE EM RAÇAS BOVINAS CRIADAS NO BRASIL

**Tabela 1.** Haplótipos do gene *FASN*. 41

**Tabela 2.** Frequências haplotípicas e alélicas dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* em raças criadas no Brasil. 44

**Tabela 3.** Comparação estatística, realizada pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), das frequências genotípicas (diagonal superior) e frequências alélicas (diagonal inferior) do polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C entre as raças estudadas. 45

**Tabela 4.** Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* em raças criadas no Brasil. 47

**Tabela 5.** Comparação estatística, realizada pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), das frequências genotípicas (diagonal superior) e frequências alélicas (diagonal inferior) dos polimorfismo g.10153G>A entre as raças estudadas. 48

**Tabela 6.** Comparação estatística, realizada pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), das frequências genotípicas (diagonal superior) e frequências alélicas (diagonal inferior) do polimorfismo g.10213C>T entre as raças estudadas. 49

**Tabela 7.** Frequências dos haplótipos dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T nas raças estudadas. 50

**Tabela 8.** Matriz de distância genética aos pares baseada no índice de Reynolds ( $F_{ST}$ ). 51

### 3. ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE COM O PERFIL LIPÍDICO DE BOVINOS DA RAÇA BRANGUS

**Tabela 1.** Frequência alélica e haplotípica dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* em bovinos da raça Brangus. 63

**Tabela 2.** Frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T em bovinos da raça Brangus. 63

**Tabela 3.** Dados fenotípicos relacionados a perfil ácidos graxos, colorimetria ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) e força de cisalhamento (FC) do músculo *Longissimus dorsi* de Brangus. 65

**Tabela 4.** Efeito de substituição dos alelos dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCDI* na composição de ácidos graxos e qualidade de carne do músculo *Longissimus dorsi* de Brangus. 66

**Tabela 5.** Efeito dos genótipos dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCDI* na composição de ácidos graxos e qualidade de carne do músculo *Longissimus dorsi* de Brangus. 67

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Considerações Gerais	12
1.2. Ácidos graxos na carne bovina	13
1.2.1 Ácidos graxos e a saúde humana	14
1.2.2 Ácidos graxos e a qualidade de carnes	16
1.2.3 Oportunidades na predição e manipulação de ácidos graxos na carne bovina	18
1.3. Marcadores moleculares na produção animal	19
1.3.1 O gene da enzima ácido graxo sintase ( <i>FASN</i> )	21
1.3.2 O gene da enzima estearoil-CoA dessaturase ( <i>SCD</i> )	25
REFERÊNCIAS	30
2. POLIMORFISMOS DOS GENES ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE EM RAÇAS BOVINAS CRIADAS NO BRASIL	37
2.1. Introdução	39
2.2. Material e Métodos	40
2.3. Resultados e Discussão	42
2.4. Conclusões	52
2.5 Referências	53
3. ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE COM O PERFIL LIPÍDICO DE BOVINOS DA RAÇA BRANGUS	56
3.1. Introdução	58
3.2. Material e Métodos	59
3.3. Resultados e Discussão	62
3.4. Conclusões	69
3.5. Referências	71
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	75

5. ANEXOS	76
5.1. Anexo I - Protocolo para extração de DNA de músculo adaptado de Regitano e Coutinho (2001)	76

## INTRODUÇÃO

### 1.1. Considerações Gerais

A qualidade da carne é um conceito complexo e pode ser definido como as características relacionadas ao produto que imprimam satisfação ao consumidor (Hocquette et al., 2012). Segundo Felício (1993) os atributos da qualidade da carne podem ser classificados em qualidade visual (aspectos que atraem ou repelem o consumidor), qualidade gustativa (faz com que o consumidor volte ou não a adquirir o produto), qualidade nutricional (faz com que o consumidor crie uma imagem favorável ou não ao produto como alimento adequado às suas exigências para uma vida saudável) e segurança (aspectos higiênico-sanitários e relacionados aos contaminantes químicos).

O conceito de qualidade pode ainda ser dividido em características intrínsecas de qualidade (que são as características do produto em si, como as citadas acima) e características de qualidade extrínsecas (preço, um dos principais determinantes da compra, ou marca) (Hocquette et al., 2012).

Nos últimos anos o setor pecuário tem se deparado com uma crescente demanda do mercado, principalmente, por produtos de alta qualidade gustativa e visual, com preço conveniente, que ofereçam segurança e tenham sido produzidos com salubridade (Felício, 1997). Entre os aspectos intrínsecos à qualidade de carne, a composição de ácidos graxos tem grande importância, pois influencia as propriedades nutricionais e os aspectos organolépticos.

Como a maioria das características de produção animal, o perfil lipídico é influenciado por fatores genéticos e ambientais, sendo que este último inclui principalmente a alimentação. Isto explica porque muitos estudos que tentam alcançar um perfil de ácidos graxos na carne que corresponda melhor às diretrizes atuais de nutrição humana, têm lidado com a nutrição animal (De Smet et al., 2004). Com a evolução da genética molecular e do uso de marcadores moleculares nas últimas décadas, e sua associação às características de interesse zootécnico e econômico observou-se a difusão de estudos visando a busca de genes candidatos relacionados à composição de ácidos graxos no sentido de se obter uma melhor compreensão a respeito do efeito desses genes na variação de ácidos graxos e as redes genéticas e metabólicas nas quais estes estão envolvidos.

## 1.2. Ácidos graxos na carne bovina

As gorduras, que são usadas como formas de armazenamento energético nos animais e, os fosfolipídios, que são os principais elementos das membranas biológicas, são derivados dos ácidos graxos (Lehninger, 2002). Os ácidos graxos consistem em uma longa cadeia de átomos de carbono e hidrogênio e um grupo terminal carboxil, sendo classificados em saturados, quando constituídos apenas por ligações simples, ou insaturados com uma ou mais duplas ligações. O grupo de ácidos graxos insaturados pode ainda ser dividido em monoinsaturados, quando possuem uma dupla ligação e poliinsaturados, quando possuem duas ou mais duplas ligações.

De acordo com Vianni & Braz-Filho (1996) o sistema de nomenclatura oficial dos ácidos graxos descreve o número de átomos de carbono por um prefixo grego, sendo que o ácido láurico (12 C), mirístico (14 C), araquídico (20 C) e behênico (22 C), são designados pelos prefixos dodeca-, tetradeca-, eicosa- e docosa-. Os ácidos graxos saturados têm sufixo anóico, e os insaturados tem sufixo enóico para os mono-, dienóico para os di-, e trienóico para os tri-insaturados.

A estrutura de um ácido graxo também pode ser indicada mediante uma notação simplificada, na qual se escreve o número de átomos de carbono seguido de dois pontos e um número que designa a presença ou ausência de ligações duplas na molécula (Vianni & Braz-Filho, 1996). O linoléico, por exemplo, pode ser representado por 18:2 ou C18:2. Para indicar a posição das duplas ligações, uma prática admitida é descrever a estrutura química das moléculas dos ácidos graxos iniciando pela numeração dos carbonos no grupo metil, utilizando o símbolo  $\omega$ - ou n- (Moreira et al., 2002; Rose & Connolly, 1999). O araquidônico, por exemplo, pode ser representado por C20:4  $\omega$ -6 ou C20:4 n-6. Na tabela 1 está apresentada a nomenclatura dos principais ácidos graxos encontrados nas carnes.

As reservas de energia corporais são armazenadas no tecido adiposo na forma de lipídios simples, contendo três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, sendo que essa estrutura é conhecida como triacilglicerol (Lehninger, 2002). Nos vertebrados, as células especializadas do tecido adiposo, denominadas adipócitos, armazenam grandes quantidades de triacilgliceróis como gotículas de gordura, servindo de depósitos de combustível metabólico (Lehninger, 2002).

As gorduras animais são formadas por misturas de triacilgliceróis contendo mais grupos acilas saturados do que insaturados (Vianni & Braz-Filho, 1996). Os triacilgliceróis de ruminantes são compostos em grande parte de ácido palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0)

(Rodrigues et al., 2004). Dessa forma as propriedades físicas, químicas e nutricionais das gorduras dependem, fundamentalmente, da natureza, do número de átomos de carbono e posição dos grupos acila presentes nas moléculas dos triacilgliceróis (Vianni & Braz-Filho, 1996).

**Tabela 1.** Ácidos graxos mais frequentes em carnes.

Abreviatura	Nome Sistemático	Nome Comum
Saturados		
C4:0	Butanóico	Butírico
C6:0	Hexanóico	Capróico
C8:0	Octanóico	Caprílico
C10:0	Decanóico	Cáprico
C12:0	Dodecanóico	Láurico
C14:0	Tetradecanóico	Mirístico
C16:0	Hexadecanóico	Palmítico
C18:0	Octadecanóico	Esteárico
C20:0	Eicosanóico	Araquídico
Insaturados		
C14:1	9-tetradecenóico	Miristoléico
C16:1	9-Hexadecenóico	Palmitoléico
C18:1	9-Octadecenóico	Oléico
C18:2	9,12-Octadecadienóico	Linoléico
C18:3	9,12,15-Octadecatrienóico	Linolênico
C20:4	5,8,11,14-Eicosatetraenóico	Araquidônico

Adaptado de Fennema (1990).

### 1.2.1 Ácidos graxos e a saúde humana

O interesse pela composição dos ácidos graxos na carne vermelha resulta principalmente da necessidade de encontrar formas de se obter um produto mais saudável (Wood et al., 2003). Isto porque, a carne de ruminantes é atribuída à maior fonte de gorduras saturadas na dieta humana e, o consumo excessivo deste tipo de gordura representa um

agravante no desenvolvimento das “doenças da vida moderna”, que incluem vários tipos de câncer e doenças do coração (Wood et al., 2003; Givens et al., 2006).

Em geral, os ácidos graxos saturados são considerados hipercolesterolêmicos, e assim, aumentam o fator de risco a doenças cardiovasculares (Decker e Park, 2010). Os ácidos graxos que elevam os níveis de LDL - colesterol no plasma são o láurico (C12:0), o mirístico (C14:0) e o palmítico (C16:0), sendo que estes ácidos graxos representam cerca de 30% da gordura bovina (Palmquist e Mattos, 2011; Siri-Tarino et al., 2010). Particularmente, o ácido esteárico (C18:0), apesar de ser saturado, parece não ter efeito algum sobre a taxa de colesterol, por ser rapidamente convertido em ácido oléico C18:1 pela ação de dessaturases nos tecidos (Baggio & Bragagnolo, 2007; Siri-Tarino et al., 2010).

Entretanto, é importante destacar que a carne vermelha magra constitui umas das principais fontes de ferro, zinco e vitamina B12 e contribui significativamente para aumentar o teor de ácidos graxos poliinsaturados n-3 e C18:1, que estão relacionados à redução da incidência de doenças cardiovasculares e diminuição da colesterolemia, além do ácido linoléico conjugado (CLA), associado à prevenção e tratamento de tumores (Mann, 2000; Tapiero et al., 2002; Degirolamo et al., 2009).

A ingestão de ácidos graxos poliinsaturados da série n-3, em particular ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e ácido docosahexanóico (DHA, C22:6), está associada a diminuição do risco de doenças coronárias, além de efeitos anti-trombóticos e anti-inflamatórios (Givens et al., 2006; Connor, 2013). Os poliinsaturados n-3 contidos na dieta podem reduzir o nível de colesterol e de lipoproteínas de baixa densidade no sangue, mas em contrapartida, o consumo de grandes quantidades de n-6 pode resultar em uma produção excessiva de eicosanóides e peróxidos, que tem propriedades pró-inflamatórias (Lima Jr. et al., 2011). Por isso, especialistas em nutrição humana salientam que a relação de consumo dos poliinsaturados n-6 e n-3 deve ser sempre balanceada.

A carne de ruminantes, principalmente aqueles alimentados a pasto, é uma fonte interessante de poliinsaturados n-3, devido à presença de ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3) (Wood et al., 2003). O  $\alpha$ -linolênico é precursor de poliinsaturados de cadeia longa (DHA), por meio da ação de elongases e dessaturases e, apesar da eficiência desta conversão em humanos ainda ser muito contraditória, o aumento da ingestão de  $\alpha$ -linolênico na dieta através da carne bovina pode representar uma vantagem (Givens et al., 2006; Barceló-Coblijn & Murphy, 2009).

O ácido linoléico conjugado (CLA), refere-se a um conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (C18:2), sendo que a principal forma presente em produtos de

ruminantes é o C18:2 cis-9 trans-11, que recebe o nome trivial de ácido rumênico (McGuire & McGuire, 2000). Existem evidências que o isômero cis-9, trans-11 do CLA possui uma variedade de efeitos fisiológicos que podem trazer benefícios à saúde humana, como a redução de doenças cardiovasculares, prevenção de diabetes, ativação do sistema imune e, principalmente, prevenção ao câncer (Bauman et al, 1999; McGuire & McGuire, 2000; Pariza et al., 2001). O CLA acumulado nas células parece ter um efeito regulador nas células vizinhas podendo interferir precocemente no crescimento e transformação de células (Ip et al., 1991).

A carne e o leite de ruminantes são fontes naturais de CLA, uma vez que, este pode ser formado no rúmen pela biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados da dieta (Bauman et al., 1999). Além disso, há biossíntese de CLA (C18:2 cis-9 trans-11) nos tecidos adiposos e glândula mamária de ruminantes, por meio da reação de dessaturação do ácido vaccênico (C18:1 trans-11), intermediário da biohidrogenação ruminal, realizada pela enzima esteroil-CoA dessaturase (Grinari et al., 2000).

### **1.2.2 Ácidos graxos e a qualidade de carnes**

Os ácidos graxos influenciam no sabor e no aroma das carnes, pois são responsáveis pela liberação de compostos voláteis durante o cozimento. São cerca de cinquenta compostos voláteis produzidos a partir da oxidação/degradação dos ácidos graxos que, em interação com produtos gerados pela reação de Maillard, constituem importantes elementos de formação e desenvolvimento de sabor no processo de cocção (Van Ba et al., 2013). Os ácidos graxos insaturados são a fonte principal dos compostos voláteis da carne bovina. O ácido oléico (C18:1), por exemplo, está presente em maior percentual nos tecidos adiposos de bovinos, e está associado positivamente com o sabor desejável da carne (Hoashi et al., 2007; Van Ba et al., 2013).

Os pontos de fusão dos ácidos graxos são fortemente ligados ao grau de insaturação, de forma que, à medida que aumentam as duplas ligações, o ponto de fusão declina. Sendo assim, os saturados apresentam ponto de fusão mais elevado do que poliinsaturados, por exemplo, o ácido esteárico (C18:0) funde a 69 °C, o oléico (C18:1) a 13,4 °C, linoléico (C18:2) a -5 °C e o linolênico (C18:3) a -11 °C (Wood, 2003; Wood et al., 2008). Esta variação tem um efeito importante sobre a firmeza ou suavidade da gordura na carne, especialmente na subcutânea e intermuscular, mas também a gordura intramuscular (marmoreio) (Wood et al., 2003).

O efeito dos ácidos graxos na vida de prateleira é explicado pela tendência dos ácidos graxos insaturados de oxidar, levando a rancidez e paralelamente a mudança de cor, à medida que aumenta o tempo de exposição ao oxigênio, luz, calor entre outros fatores (Wood et al, 2003). A oxidação de pigmentos promove a modificação da cor de carnes, pela transformação do pigmento oximioglobina, de coloração vermelho brilhante, em metamioglobina, tornando a carne marrom-acinzentada, aspecto que o consumidor rejeita (Ferrari, 1998).

A propensão dos ácidos graxos insaturados oxidarem, se dá ao fato de que a disposição dos átomos de hidrogênio na estrutura insaturada torna-os menos estáveis às condições de oxidação, e quanto maior o número de duplas ligações mais instável será a cadeia (Van Ba et al., 2013). A oxidação em sistemas musculares inicia-se pela interação do oxigênio com os fosfolipídios de membrana (compostos por alta quantidade de ácido araquidônico, C20:4 n-6), produzindo radicais livres, que por sua vez, iniciam uma reação em cadeia que somente será finalizada quando as reservas de ácidos graxos insaturados e oxigênio estiverem esgotadas (Ferrari, 1998; Campo et al., 2006). Os principais produtos finais da oxidação lipídica compreendem os derivados da decomposição de hidroperóxidos, como alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres e outros hidrocarbonetos, sendo que os aldeídos são os principais responsáveis por um sabor e aroma indesejáveis na carne (Ferrari, 1998).

A manipulação da composição lipídica das carnes tem como objetivo primário a obtenção de um alimento com perfil nutricional mais saudável, melhorando a proporção de ácidos graxos poliinsaturados:saturados. Entretanto, oxidação lipídica é responsável por perdas econômicas na venda de carnes exibidas no varejo e a alteração de seu sabor, são fatores intrínsecos a esta mudança de composição. Dessa forma, as estratégias de manipulação de ácidos graxos no sentido de aumentar os insaturados na carne devem ser acompanhadas de métodos para retardar sua suscetibilidade oxidativa, como o uso de antioxidantes, incluindo sequestrantes e supressores de radicais livres para manter a estabilidade dos lipídios (Lee et al., 2005). A suplementação de bovinos com vitamina E, por exemplo, causa acúmulo do antioxidante  $\alpha$ -tocoferol nos músculos retardando processos oxidativos (Arnold et al., 1992). Além disso, outros cuidados podem ser empregados, como diminuição da temperatura de armazenamento e/ou a exclusão do oxigênio com a utilização embalagens a vácuo (Decker e Park, 2010).

### 1.2.3 Oportunidades na predição e manipulação de ácidos graxos na carne bovina

Considerando os efeitos diretos dos ácidos graxos nos aspectos sensoriais, na redução vida de prateleira (oxidação de lipídios e de pigmentos) e nas propriedades nutricionais da carne de bovinos, estratégias foram desenvolvidas por pesquisadores no sentido de se obter um perfil lipídico mais adequado, como por exemplo, suplementação na dieta com diferentes fontes de CLA e poliinsaturados n-3 (French et al., 2000; Scollan et al., 2001; Nuernberg et al., 2005) .

Entretanto, a manipulação dietética de ácidos graxos em bovinos não é simples, pois devido à biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados, realizada por microorganismos do rúmen, a maioria dos ácidos graxos provenientes da alimentação é absorvida na forma saturada. O processo de biohidrogenação é um mecanismo de autodefesa, pois certos ácidos graxos, especialmente os poliinsaturados, são tóxicos aos microrganismos ruminais. A toxicidade parece estar associada com a alta solubilidade desses ácidos graxos nas membranas celulares, podendo acarretar no rompimento da estrutura das membranas (Palmiquist & Mattos, 2011). Além disso, quando comparada ao leite, a modificação da composição da gordura tecidual de bovinos é mais difícil, em virtude das taxas mais lentas de síntese de triglicerídeos e de renovação do tecido adiposo (Palmiquist & Mattos, 2011).

A suplementação de bovinos com óleos e gorduras para manipulação do perfil ácido apresenta algumas implicações, pois com a elevação dos níveis dessas fontes na dieta observam-se efeitos prejudiciais no consumo dos animais, na fermentação de fibras no rúmen e na digestibilidade (Jenkins, 1993). Dessa forma, uma abordagem desenvolvida foi a proteção dos ácidos graxos da biohidrogenação ruminal com o uso, por exemplo, do encapsulamento de uma matriz protéica com aldeído fórmico promovendo a proteção dos lipídios oriundos da fonte protéica (De Veth et al., 2005). Entretanto, essa técnica não obteve sucesso por uma série de motivos, entre eles, o alto custo de produção e a falta de aceitação do aldeído fórmico como aditivo em muitos países (Palmiquist & Mattos, 2011).

Outras técnicas foram desenvolvidas e continuam sendo testadas, como o tratamento dos compostos protéico-lipídicos com produtos não-aldeídos, tratamento de compostos lipídicos liofilizados com proteínas do soro do leite, tratamento dos ácidos graxos com amônia ou aminas. A técnica dos sais de cálcio, comumente conhecidos como gordura protegida, tem sido bastante utilizada para aumentar a densidade energética da dieta, mas oferece resistência parcial à ação dos microorganismos ruminais (De Veth et al., 2005; Palmiquist & Mattos, 2011).

Estes fatos despertaram o interesse da pesquisa científica pela compreensão da participação de fatores genéticos na variação na composição de ácidos graxos no tecido adiposo de bovinos, no caso, genes que regulam a síntese de lipídios e o metabolismo de ácidos graxos (Mannen, 2011). Por meio da genética molecular, novas linhas de pesquisa foram criadas para o conhecimento e manipulação do perfil lipídico da carne, principalmente porque as informações geradas pelo estudo do DNA podem ser vislumbradas como possíveis ferramentas de predição da composição de ácidos graxos dos animais antes mesmo do abate.

O sequenciamento do genoma de bovinos possibilitou aumento na identificação de polimorfismos disponíveis em genes que estão relacionados à variação na qualidade de carnes e composição lipídica (Hocquette et al., 2007), viabilizando mais estudos de associação, na tentativa de entender a contribuição dos genes na variação dessas características.

Alguns genes têm sido estudados e apontados como responsáveis pela variação na composição de ácidos graxos em bovinos são eles: *SCD1*, que codifica a enzima esteroil-CoA dessaturase (Taniguchi et al., 2004); *FASN*, que codifica a enzima ácido graxo sintase (Zhang et al., 2008; Abe et al., 2009); *SREBP-1c*, que codifica a proteína 1c ligadora do elemento regulado por esteróis (Hoashi et al., 2007); *FABP4*, que codifica a proteína de ligação de ácidos graxos 4 (Hoashi et al., 2008) e *LXR $\alpha$*  que codifica o receptor hepático X (Hoashi et al., 2008). As informações fenotípicas relacionadas a polimorfismos identificados nestes genes podem ser valiosas para oferecer pistas de que tipos de redes genéticas estão envolvidos em mecanismos de síntese e metabolismo de ácidos graxos correlacionados com a qualidade da carne em bovinos (Yeon et al., 2013). Nesta revisão serão abordadas apenas as informações relativas aos genes *FASN* e *SCD1*, os quais fazem parte do escopo deste trabalho, e a associação de seus polimorfismos à composição de ácidos graxos.

Os novos desafios a produção concentram-se em aliar a genética (incluindo as novas abordagens genômicas) e os conhecimentos em predição e manipulação de ácidos graxos já existentes, para melhorar o perfil lipídico das carnes e satisfazer as necessidades e o desejo do consumidor final.

### **1.3. Marcadores moleculares na produção animal**

O conceito de marcador molecular refere-se a toda e qualquer característica herdável presente no DNA e que diferencia dois ou mais indivíduos (Regitano & Coutinho, 2001). Com o desenvolvimento de tecnologias como o DNA recombinante e os marcadores moleculares, propostos na década de 1970, vislumbrou-se a possibilidade de incrementar a

informação oriunda do fenótipo com aquela gerada diretamente do DNA, de forma que os processos de identificação e seleção dos animais com genótipos superiores pudessem mais eficientes (Coutinho & Rosário, 2010).

O melhoramento genético pelo uso da genética quantitativa é um recurso largamente utilizado, sendo baseado no conhecimento dos parâmetros genéticos da população, tais como herdabilidade, variância genética e correlações genéticas para as características de interesse. (Dekkers & Hospital, 2002). Apesar da obtenção de resultados positivos, a eficiência da seleção é diminuída em características de baixa herdabilidade, de difícil mensuração ou que não podem ser diretamente mensuradas ou ainda, que apresentam correlações genéticas negativas (Rosa & Fragoso, 2011). A eficiência alimentar, o desenvolvimento ponderal, a resistência a doenças, as características reprodutivas, adaptação e longevidade, o rendimento e qualidade de carcaça e a composição de lipídios na carne, podem ser citadas como características que apresenta estas propriedades. A associação da genética molecular com a seleção quantitativa pode contribuir para eliminar algumas destas limitações (Beuzen et al., 2000).

A maioria das características ligadas à produção é poligênica, ou seja, depende da variação alélica em um grande número de locos e sofrem grande influência de fatores ambientais (Martinez & Machado, 2002). A genética molecular pode ser uma poderosa ferramenta para identificar e mapear os genes que interferem na expressão de características quantitativas de importância econômica, visando melhorar a compreensão do controle genético de características complexas (Rosa & Fragoso, 2011). Além disso, permite alta eficiência seletiva, rapidez na obtenção de ganhos genéticos e contribui para redução de custos com os testes de progênie, pois permite que o potencial genético de um animal seja determinado antes mesmo da expressão do seu fenótipo (Regitano & Coutinho, 2001)

Uma estratégia muito utilizada para investigar a relação de genes com características de interesse é o estudo de genes candidatos. O procedimento de genes candidatos estuda a associação entre genes possam estar envolvidos em vias metabólicas e processos bioquímicos e os fenótipos de interesse, podendo detectar locos mesmo com pequenos efeitos, desde que seja um gene determinante na variação fenotípica (Andersson, 2001; Dekkers & Hospital, 2002).

A identificação dos alelos associados às características complexas nas populações foi possível a partir do desenvolvimento e da localização de marcadores moleculares polimórficos no genoma (Coutinho et al., 2007). A utilização dos microssatélites e polimorfismos de base única (SNP) permitiram o desenvolvimento de mapas genéticos

saturados e, assim, o mapeamento de QTL (*Quantitative Trait Loci*), que se baseia na definição de regiões cromossômicas associadas à variação genética de características de interesse econômico (Coutinho et al., 2007).

Os marcadores SNPs consistem em variações individuais resultantes de mutações, que podem ser a substituição de um nucleotídeo por outro, a adição ou supressão de um ou alguns nucleotídeos (Beuzen et al., 2000; Regitano & Coutinho, 2001). As mutações mais corriqueiras são as transições de uma purina por outra purina ( $A \leftrightarrow G$ ) ou de uma pirimidina por outra pirimidina ( $C \leftrightarrow T$ ), em contrapartida as transversões caracterizadas pela troca de uma purina por uma pirimidina ou pirimidina por uma purina ( $C$  ou  $T \leftrightarrow A$  ou  $G$ ) são menos comuns, apesar do maior número de combinações possíveis (Vignal, 2002; Caetano, 2009). Os marcadores SNP são geralmente sistemas bialélicos, o que significa que há apenas dois alelos em uma população (Beuzen, 2000). Os SNPs podem ocorrer em regiões codificadoras ou com função regulatória podendo ser diretamente responsáveis por algumas das variações entre os indivíduos de características importantes, porém, na maior parte das vezes são encontrados em espaços intergênicos, sem função determinada (Beuzen, 2000; Caetano, 2009).

Os marcadores SNPs trouxeram novas soluções para aplicações já solidificadas e também estão permitindo o desenvolvimento de novos produtos e processos, com uso direto nas cadeias produtivas da pecuária mundial (Caetano 2009). Avanços significativos têm sido alcançados na genotipagem de animais com o uso de *chips* de SNPs, com plataformas já disponíveis para a detecção de milhares de SNPs simultaneamente (Coutinho et al., 2007). *Chips* de genotipagem de alta densidade já foram gerados e validados para humanos, bovinos, ovinos, equinos, suínos e caninos, contendo em média mais de 50 mil SNPs (Caetano 2009).

O uso integrado do conhecimento que já existe sobre alguns genes, com informações geradas pelo sequenciamento do genoma e as novas tecnologias obtidas a partir da bioinformática poderão permitir avanços maiores nessa área, desde que estejam associados a um banco de dados fenotípicos robusto acerca da característica de interesse.

### **1.3.1 O gene da enzima ácido graxo sintase (*FASN*)**

A ácido graxo sintase refere-se a um complexo enzimático, codificado por um único gene localizado no cromossomo 19 de bovinos, que regula a síntese *de novo* de ácidos graxos de cadeia longa no citosol (Smith, 1994; Mannen, 2011). Estas enzimas catalisam a formação de palmitato a partir da condensação sequencial de uma molécula acetil-CoA e sete malonil-

CoA, na presença de NADPH (Roy et al., 2006). O gene *FASN* possui uma sequência de 18 kb, sendo dividido em 42 éxons e 41 íntrons (Roy et al., 2005).

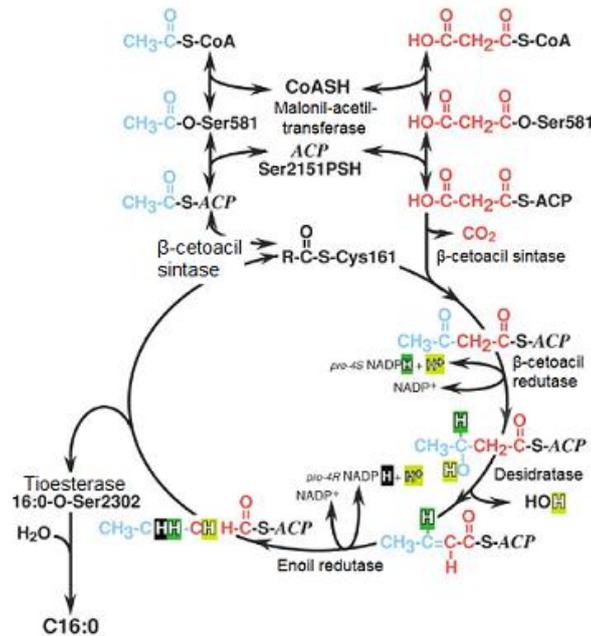
Os maiores sítios de expressão do gene *FASN* estão no tecido testicular, cérebro e tecido adiposo (Roy et al., 2005). Dentre diferentes músculos esqueléticos, o músculo *Longissimus dorsi* possui a maior expressão de *FASN* (Bhuiyan et al., 2009).

O complexo ácido graxo sintase foi identificado primeiramente em bactérias *E. coli*, consistindo em sete polipeptídios individuais que trabalham em conjunto, mas não acoplados. No entanto, em vertebrados a ácido graxo sintase possui sete domínios catalíticos em um único polipeptídio grande (Lehninger, 2002). São eles: proteína transportadora do grupo acila (ACP), malonil-acetil-transferase (MAT),  $\beta$ -cetoacil sintase (KS),  $\beta$ -cetoacil redutase (KR),  $\beta$ -hidroxiacil desidratase (HD), enoil redutase (ER) e tioesterase (TE) (Maier et al., 2011)

Conforme relatado por Smith et al. (2003) o processo de biossíntese de ácidos graxos (Figura 1) é iniciado com a transferência de um acetil-coA e de um malonil-coA pela malonil-acetil-transferase (MAT) para o domínio da ACP, que por sua vez, transporta o acetil até o domínio da  $\beta$ -cetoacil sintase (KS). Sequencialmente, a  $\beta$ -cetoacil sintase condensa acetil e malonil para formar acetoacetil, acompanhado de uma descarboxilação do grupo malonil, de forma que, no produto da condensação restem quatro carbonos. O acetoacetil é desidratado e reduzido (saturado) resultando em butiril, pela ação sequencial da  $\beta$ -cetoacil redutase (KR),  $\beta$ -hidroxiacil desidratase (HD) e enoil redutase (ER). A segunda fase da biossíntese ocorre quando butiril recém formado é transferido para o domínio da KS e condensa-se a um novo malonil e com a concomitante perda de CO<sub>2</sub>. Assim as reações são repetidas, até a conclusão de sete ciclos de extensão e formação de um ácido graxo saturado de 16 carbonos que é liberado por meio da ação da enzima tioesterase (TE). Além da produção de ácido palmítico (C16:0), pode haver uma formação mínima de ácido mirístico (C14:0).

O domínio catalítico da TE possui um sulco perto da estrutura do centro catalítico que acomoda a cadeia de ácidos graxos em formação, sendo responsável pela liberação dos ácidos graxos ao atingirem o comprimento de cadeia ideal, portanto, possui papel fundamental no perfil dos ácidos graxos sintetizados (Abe et al., 2009). Zhang et al. (2008) identificaram um polimorfismo no domínio da TE (g.17924A>G) em animais da raça Angus que pode ter resultado em mudanças em sua função, de modo que a liberação da cadeia passou a ser quando atingiam 18 carbonos reduzindo as proporções de C14:0 e C16:0 no tecido adiposo. A hipótese é que o ácido esteárico liberado no citosol é logo convertido em C18:1, aumentando sua proporção nos tecidos de animais que possuíam o alelo G. Diante dos resultados observados, Zhang et al. (2008) sugeriam então, que as variações no domínio da TE do gene

*FASN* poderiam explicar parte das diferenças hereditárias na composição de ácidos graxos entre indivíduos.



**Figura 1.** Sequência de reações para a biossíntese de ácidos graxos *de novo* pela enzima ácido graxo sintase animal. Adaptado de Smith et al. (2003).

Bhuiyan et al. (2009) observaram que os animais da raça coreana Hanwoo que possuíam o genótipo GG do polimorfismo g.17924A>G apresentaram proporções de C18:1, cerca de 3,18% e 2,79% superiores aos genótipos AA e AG, respectivamente. As proporções de C16:0 foram 3,81% e 4,01% inferiores a AA e GG, respectivamente.

Resultados semelhantes foram encontrados por Abe et al. (2009), que identificaram duas mutações no gene *FASN* (g.16024A>G e g.16039T>C) em bovinos Wagyu x Limousin, encontradas no éxon 34, que determinam as substituições de aminoácidos treonina (T) para alanina (A) e triptofano (W) para arginina (R). Os polimorfismos identificados apresentaram associação com a composição lipídica nos depósitos adiposos, de modo que ao genótipo TW foi atribuído o efeito de diminuição de ácidos graxos saturados e aumento do teor de ácido oléico. Os autores sugeriram que as substituições dos aminoácidos causaram alterações no domínio da β-cetoacil redutase (KR), induzindo a mudança de conformação e especificidade do substrato do domínio da TE, e com base no que foi descrito por Zhang et al. (2008), concluíram que esta mudança na enzima resultou em diminuição da proporção de C14:0,

C14:1, C16:0 e C16:1 e, uma maior quantidade de C16:0 alongado para C18:0, sendo posteriormente convertido em C18:1 por dessaturases.

Matsushashi et al. (2011) avaliaram os SNPs g.16024A>G e g.16039T>C em bovinos Wagyu e alcançaram os mesmos resultados descritos para TW na literatura anteriormente. Na presença genótipo TW as proporções de C14:0, C14:1, C16:0, C16:1 foram reduzidas e houve aumento no conteúdo de C18:1 na gordura intramuscular de bovinos Wagyu, reforçando a hipótese de que a preferência por substratos da enzima TE é alterada.

Yokota et al. (2012) avaliaram apenas o polimorfismo g.16039T>C em populações de bovinos da raça Wagyu de diferentes cidades do Japão. Estes autores observaram associação de g.16039T>C com o aumento de C18:1 na gordura intramuscular, sendo que, o SNP explica 13,46% e 16,29% da variação dessa característica nas populações das cidades de Miyagi e Yamagata, respectivamente.

Matsumoto et al (2012) encontraram associação do haplótipo de TW/TW com redução do ácido mirístico (C14:0) no leite de vacas Holandesas, e sugeriam mais estudos com os polimorfismos descritos por Abe et al. (2009) para que possam ser aplicados como marcadores moleculares para a melhoria da qualidade do leite de bovinos da raça Holandesa.

Este resultado encontrado em animais da raça Holandesa é condizente com os de Morris et al. (2007), que identificaram a presença de uma região QLT no cromossomo 19 de bovinos cruzados Jersey x Limousin, que afetou significativamente os valores de C14:0 na gordura do leite, sendo sugerido o gene *FASN* como um gene candidato para esse QLT.

As diferenças observadas para os efeitos de associação dos polimorfismos de *FASN* com a variação lipídica do tecido adiposo e da glândula mamária são explicados pela diferença na ação da enzima nesses sítios de expressão. A ácido graxo sintase no tecido adiposo sintetiza principalmente palmítico C16:0 e quantidades mínimas de C14:0, enquanto que no tecido mamário são sintetizados ácidos graxos de comprimento variando de C4:0 a C16:0. De acordo com Morris et al. (2007), isto pode estar ligado ao fato de que a atividade da enzima é negativamente regulada por ácido oléico (C18:1) e outros ácidos graxos de cadeia longa, que estão presentes em porcentagens muito maiores no tecido adiposo do que na gordura do leite, limitando sua ação.

Os efeitos de associação de diferentes polimorfismos do gene *FASN* com a variação dos ácidos graxos também foram estudados em animais da raça coreana Hanwoo (Yeon et al., 2013), cruzados Angus x Charolês (Li et al., 2011) e na Holandesa (Roy et al., 2006; Ordovás et al., 2009; Schennink et al., 2009).

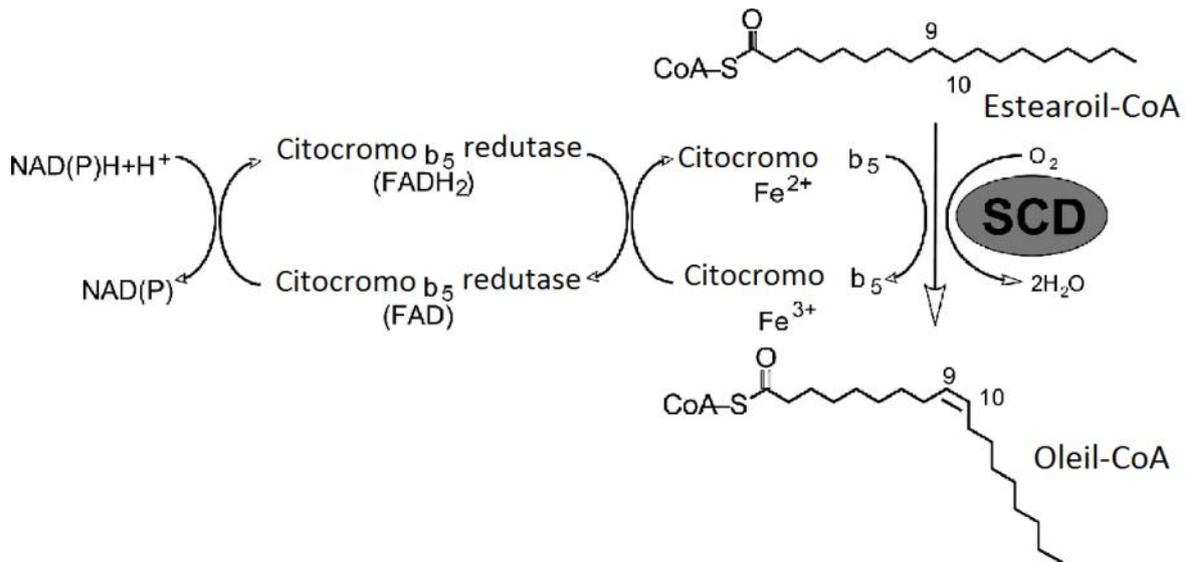
Rempel et al. (2012) encontraram associação do polimorfismo g.52183794A>G do gene *FASN* com características de crescimento e de carcaça (peso final, ganho de peso diário, peso de carcaça quente) em touros das raças Beefmaster, Brangus, Bonsmara, Romosinuano, Hereford e Angus. De acordo com os autores estes resultados podem estar ligados a observações relatadas anteriormente na literatura, em que a expressão de *FASN* é elevada no tecido adiposo de humanos e suínos obesos.

Souza et al. (2012) verificaram ainda, associação do polimorfismo g.15603A>G do gene *FASN* com a espessura da gordura da garupa e altura ao sobreano de macho, e a associação do polimorfismo g.17860C>T com a altura ao sobreano de macho em animais da raça Nelore. Estes autores relataram também que alelo G do polimorfismo g.17924A>G, descrito por Zhang et al. (2008), estava fixado na população de bovinos Nelore estudada.

### **1.3.2 O gene da enzima estearoil-CoA dessaturase (*SCD1*)**

O gene *SCD* codifica a enzima estearoil-CoA dessaturase, localizada no retículo endoplasmático liso. Esta enzima catalisa a biossíntese de ácidos graxos monoinsaturados, essenciais na manutenção propriedades físicas e características de fluidez das membranas celulares, pois são os principais componentes de triglicerídeos, ésteres de cera, ésteres de colesterol e fosfolipídios de membrana (Miyazaki & Ntambi, 2003).

A reação de dessaturação catalisada pela enzima SCD envolve a introdução da ligação dupla (cis) entre os carbonos nas posições 9 e 10 (Ntambi & Miyazaki, 2003). A hipótese proposta é que a enzima utiliza dois substratos diferentes o NADH e um ácido graxo de cadeia longa oriundos de síntese de novo ou a partir da dieta, que sofrem, simultaneamente, a oxidação de dois elétrons (Lehninger, 2002). A via de fluxo de elétrons inclui o NADH, que fornece equivalentes de redução, o citocromo b5 e a flavoproteína citocromo b5 redutase, que funcionam como carreadores de elétrons (Ntambi, 1999) (Figura 2). A remoção do átomo de hidrogênio na posição C-9 seguido pela remoção do átomo de hidrogênio posição C-10, permite a formação da dupla ligação entre os carbonos (Paton e Ntambi, 2009). Em mamíferos a reação é aeróbica, portanto, requer oxigênio molecular, porém, o oxigênio não é incorporado à cadeia de ácidos graxos sendo liberado na forma de água.



**Figura 2.** A via de transferência de elétrons na dessaturação de ácidos graxos por esteroil-CoA dessaturase (SCD). Adaptado de Paton e Ntambi (2009).

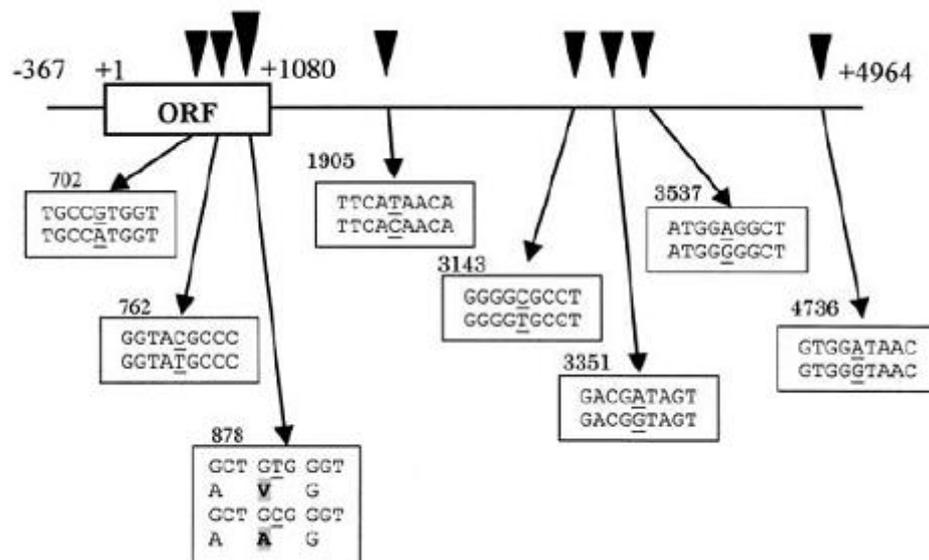
Em bovinos, duas isoformas do gene que codifica a enzima SCD foram caracterizadas, os genes *SCD1* e *SCD5*, localizados no cromossomo 26 e 6, respectivamente (Lengi e Corl, 2007). Os maiores sítios de expressão do gene *SCD1* são o tecido adiposo e a glândula mamária; por sua vez, o gene *SCD5* em bovinos é altamente expresso no cérebro (Lengi e Corl, 2007). Os substratos preferenciais dessa enzima são os ácidos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0), mas também há dessaturação do mirístico (C14:0) e vaccênico (C18:1 trans-11) que são convertidos, respectivamente, palmitoléico (C16:1), ácido oléico (C18:1), miristoléico (C14:1) e CLA (C18:2 cis-9 trans-11) (Lock & Garnsworthy, 2003).

Em bovinos, o gene *SCD1* possui 17 Kb de comprimento, com seis éxons e cinco íntrons (Mele et al., 2007). Taniguchi et al. (2004) identificaram oito SNPs no quinto éxon, sendo três deles na ORF (*Open Read Frame*) do gene *SCD1* de bovinos Wagyu nas posições 702 pb (g.10153G>A), 762 pb (g.10213C>T), 878 pb (g.10329T>C) (Figura 3). Destes três, o polimorfismo na posição g.10329T>C é responsável pela substituição de aminoácidos de valina para alanina. Esta mutação pode ter alterado a função da enzima, de forma que, os animais com alelo C apresentaram aumento nas médias da proporção de ácidos graxos monoinsaturados (C14:1, C16:1 e C18:1) e diminuição ponto de fusão da gordura intramuscular, sendo que os genótipos explicaram apenas 4% de variação total de monoinsaturados e 3% da variação do ponto de fusão.

Estudos de associação do polimorfismo g.10329T>C com perfil lipídico do tecido adiposo de bovinos demonstraram sua relação não só com a proporção total de

monoinsaturados, mas com a variação dos ácidos graxos individualmente. Li et al. (2011) encontraram associação de g.10329T>C com a redução dos ácidos graxos C10:0, C14:0, C20:0 e C20:2 n-6 e aumento das proporções de cinco isômeros do CLA no tecido adiposo de bovinos de rebanhos comerciais canadenses. Sevane et al. (2013) observaram ainda, relação do alelo T do polimorfismo g.10329T>C com o aumento da quantidade de ácido linoléico (C18:2 n-6) no músculo de bovinos devido a fosfolipídios e lipídios neutros, e o alelo C foi associado com aumento de C18:1.

Além de bovinos da raça Wagyu, associações do polimorfismo g.10329T>C com a variação do conteúdo de ácidos graxos no tecido adiposo também foram descritas em bovinos coreanos da raça Hanwoo (Marahani et al., 2012), Simental (Barton et al., 2010; Orrú et al., 2011), Holandesa (Narukami et al., 2011), cruzados Angus x Charolês (Li et al., 2011), e no leite de bovinos da raça Jersey (Moioli et al., 2007) e Holandesa (Macciotta, 2008; Schennink et al., 2008; Komisarek & Dorynek, 2009).



**Figura 3.** Ilustração esquemática da sequência do cDNA do gene *SCD1* bovino. Os triângulos mostram as posições dos oito SNPs, e as caixas indicam os locais de mutação dos SNPs. O triângulo grande mostra o local da substituição dos aminoácidos. Fonte: Taniguchi et al. (2004).

Estudos avaliando polimorfismos do gene *SCD1* no tecido adiposo de bovinos encontraram resultados divergentes em relação ao efeito sobre a proporção de C16:1 e C18:1, mas apresentaram em comum, associações positivas particularmente com C14:1 (Ohsaki et al., 2009; Barton et al., 2010; Li et al., 2011). Mele et al. (2007) alcançaram resultados correlatos em bovinos da raça Holandesa, sendo que o polimorfismo do gene *SCD1* foi

relacionado com o aumento da razão C14:1/C14:0. Esta razão produto:precursor é eficiente em avaliar a atividade de dessaturação da enzima, principalmente no leite, pois todo C14:1 originado da insaturação do C14:0 na glândula mamária (Corl et al., 2000; Lock & Garnsworthy, 2003). Nestes trabalhos, observaram-se efeitos dos polimorfismos nos ácidos graxos individualmente, mas não no índice total de monoinsaturados. A consistência notável da associação dos polimorfismos com o conteúdo de C14:1 relatados indica um efeito predominante da enzima SCD1 na dessaturação de C14:0 em bovinos de corte (Li et al., 2011).

A enzima SCD é responsável pela inserção de dupla ligação em diferentes tipos de ácidos graxos, mas em especial é interessante destacar que, até 90% do CLA no leite bovino é formado devido à ação desta enzima na glândula mamária, pela insaturação do ácido vaccênico (Keating et al., 2006). Este fato denota a relevância da enzima na proporção final de CLA no leite. Schennink et al. (2008) concluíram que o polimorfismo g.10329T>C contribuiu consideravelmente para a variância genética dos ácidos graxos no leite de vacas Holandesas, elucidando 18% da variação do CLA.

Matsushashi et al. (2011) estudaram outro polimorfismo da ORF do gene *SCD1*, o g.10153G>A, e encontraram associação do alelo A com a redução das proporções de C14:0 e C18:0 e com o aumento de C14:1, C18:1 e a proporção total de monoinsaturados no músculo de bovinos Wagyu. Estes resultados estavam em conformidade com os encontrados anteriormente com Tanhiguchi et al. (2004) quando avaliaram o polimorfismo g.10329T>C. Baeza et al. (2012) observaram associação de g.10153G>A com os índices C14:1/C14:0 e C18:1/C18:0 em na raça Brangus, sendo que os animais que possuíam o genótipo AA e AG foram 40,8% e 18,7% maiores do que GG, respectivamente.

Yokota et al. (2012) relataram associação do polimorfismo g.10153G>A com o aumento de C18:1 na gordura intramuscular em populações da raça Wagyu das cidades Miyagi e Yamagata no Japão, sendo que, o SNP explicam 16,29% e 11,72% da variação dessa característica nas populações de Miyagi e Yamagata, respectivamente.

Outros estudos com o polimorfismo g.10153G>A relataram associação significativa com a produção de carnes mais claras (maiores valores L\*) (Reardon et al., 2010), e menos vermelha e mais verde (valores inferiores de a\*) (Reardon et al., 2010, Li et al. 2013) no tecido adiposo intramuscular de bovinos. Reardon et al. (2010) sugeriram que os resultados observados podem estar ligados ao maior marmoreio destas carnes.

Em relação à isoforma SCD5 bovina, pesquisadores sugerem que a atividade da enzima no cérebro tem a função de manter os níveis ótimos de ácido oléico, pois este ácido graxo é

produzido exclusivamente por síntese *de novo* no próprio cérebro (Lengi & Corl, 2007). Estudos recentes sugerem que a enzima SCD5 pode influenciar a composição lipídica da carne e leite, agindo também no tecido adiposo e glândula mamária de bovinos. Baeza et al. (2012) encontraram associação entre um SNP do gene *SCD5* (g.179412 T>G) com aumento conteúdo de C16:1 no músculo *Longissimus lumborum* (contra-filé) de Brangus. Ricon et al. (2011) relataram que este mesmo polimorfismo tem uma correlação negativa com ácidos graxos saturados na gordura do leite de vacas Holandesas.

Matsushashi et al. (2011) investigaram o efeito de substituição dos genótipos de marcadores dos genes *FASN*, *SCD1* e *GH*, e concluíram na presença dos alelos favoráveis há aumento de 4,46% na proporção de C18:1. Os autores inferiram também que mais do que 20% da variância genética no nível de C18:1 poderia ser explicado por esses três marcadores genéticos.

Diante do exposto, pode-se verificar que estas pesquisas, realizadas nas últimas décadas, demonstram que principalmente os polimorfismos dos genes *FASN* e *SCD1* são marcadores moleculares úteis e devem ser validados e correlacionados com dados fenotípicos, para investigação da sua contribuição na variação lipídica nos produtos de bovinos em diferentes raças.

## REFERÊNCIAS

- ARNOLD, R.N.; SCHELLER, K.K.; ARP, S.C.; WILLIAMS, S.N.; BUEGE, D.R.; SCHAEFER, D.M. Effect of long- or short-term feeding of alpha-tocopheryl acetate to Holstein and crossbred beef steers on performance, carcass characteristics, and beef color stability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3055-3065, 1992.
- ANDERSSON, L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. **Nature Reviews Genetics**, v.2, p.130-138, 2001.
- 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.
- BAEZA, M.C.; CORVA, P.M.; SORIA, L. A.; PAVAN, E.; RINCON, G.; MEDRANO, J.F. Genetic variants in a lipid regulatory pathway as potential tools for improving the nutritional quality of grass-fed beef. **Animal Genetics**, v.44, p.121-129, 2012.
- BAGGIO S.R.; BRAGAGNOLO N. Formação de Óxidos de Colesterol e Alteração dos Ácidos Graxos em Produtos Cárneos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, p.10-17, 2007.
- BARCELÓ-COBLIJN, G; MURPHY, E.J. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. **Progress in Lipid Research**, v.48, p. 355-374, 2009.
- BARTON, L.; KOTT, T.; BURES, D.; REHAK, D.; ZAHRADKOVA, R.; KOTTOVA, B. The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*) and sterol regulatory element binding protein-1 (*SREBP-1*) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. **Meat Science**, v.85, p.15-20, 2010.
- BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRIINARI, J.M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In: American Society of Animal Science, 1999. **Proceedings...** Disponível em: <<http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings>>. Acesso em: 06/05/2013.
- BEUZEN, N.D.; STEAR, M.J.; CHANGM, K.C. Molecular markers and their use in animal breeding. **The Veterinary Journal**, v.160, p.42-52, 2000.
- BHUIYAN, M.S.A.; YU, S. L.; JEON, J.T.; YOON, D.; CHO, Y.M.; PARK E. W.; KIM, N. K.; KIM, K. S.; LEE J. H. DNA Polymorphisms in *SREBF1* and *FASN* genes affect fatty acid composition in Korean Cattle (Hanwoo). **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.22, p.765-773, 2009.
- CAETANO, A.R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.64-71, 2009 (suplemento especial).
- CAMPO, M.M.; NUTE, G.R.; HUGHES, S.I.; ENSER, M.; WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v.72, p.303–311, 2006.

CONNOR, W.E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.17, p.1-5, 2000.

CORL, B.A., BAUMGARD, L.H., BAUMAN, D.E., GRIINARI, J.M., Role of D9-desaturase in the synthesis of the anticarcinogenic isomer of conjugated linoleic acid and other milk fatty acids. In: Cornell Nutrition Conference. **Proceedings...** p.203-212, 2000.

COUTINHO, L.L.; JORGE, E.K.; ROSARIO, M.F.; MOURA, A.S.A.M.T.; LEDUR, M.C. 2007. Genômica Animal. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/genomafrango/publica/20062007Zootec\\_Luiz%Coutinho\\_final2007.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/genomafrango/publica/20062007Zootec_Luiz%Coutinho_final2007.pdf)> Acesso em: 02/04/2013.

COUTINHO, L. L.; ROSÁRIO, M.F. Biotecnologia animal. **Estudos avançados**, v.24, n.70, p. 123-147, 2010.

DECKER, E.A.; PARK, Y. Healthier meat products as functional foods. **Meat Science**, v.86, p. 49-5, 2010.

DEGIROLAMO, C; SHELNESS, G.S.; RUDEL, L.L. LDL cholesteryl oleate as a predictor for atherosclerosis: evidence from human and animal studies on dietary fat. **Journal of Lipid Research**, 2009, v.50, p.434-439.

DEKKERS, J. C. M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, v.3, p.22-32, 2002.

DE SMET, S.; RAES, K.; DEMEYER, D. Meat fatty acid composition as affected by genetics. **Animal Research**, v.53, p.81-98, 2004.

FELÍCIO, P.E. Fatores *ante e post mortem* que influenciam na qualidade da carne bovina. **Produção do Novilho de Corte**. 1ª ed. Piracicaba: FEALQ-USP, 1997. p.79-97.

FELÍCIO, P.E. Fatores ante e post-mortem que influenciam na qualidade da carne vermelha. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.43-52.

FENNEMA, O. R. Comparative water holding properties of various muscle foods. **Journal of Muscle Foods**, v.1, p.363-381, 1990.

FERRARI, C.K.B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista de Nutrição**, v.11, p.3-14, 1998.

FRENCH, P.; STANTON, C.; LAWLESS, F.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J.; CAFFREY, P.J.; MOLONEY, A.P. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. **Journal of Animal Science**, n.78, p.2849-2855, 2000.

GIVENS, D.I.; KLIEM, K.E.; GIBBS, R.A. The role of meat as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. **Meat Science**, v.74, p.209-218, 2006.

GRIINARI, J.M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta^9$ -desaturase. **Journal of Nutrition**, p.2285-2291, 2000.

HOASHI, S.; ASHIDA, N.; OHSAKI, H.; UTSUGI T.; SASAZAKI S.; TANIGUCHI M.; OYAMA K.; MUKAI F.; MANNEN H. Genotype of bovine sterol regulatory element binding protein-1 (*SREBP-1*) is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. **Mammalian Genome**, v.18, p.880-886, 2007.

HOASHI, S.; HINENOYA, T.; TANAKA, A.; OHSAKI, H.; SASAZAKI, S.; TANIGUCHI, M.; OYAMA, K.; MUKAI, F.; MANNEN, H. Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXRA in Japanese Black cattle. **BMC Genetics**, v.9, p.84, 2008.

HOCQUETTE, J.F.; BOTREAU, R.; PICARD, B.; JACQUET, A.; PETHICK, D.W.; SCOLLAN, N.D. Opportunities for predicting and manipulating beef quality. **Meat Science**, v.92, p.197-209, 2012.

HOCQUETTE, J.F.; LEHNERT, S.; BARENDSE, W.; CASSAR-MALEK, I.; PICARD, B. Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality. **Animal**, v.1, p.159-173, 2007.

IP, C., CHIN, S.F., SCIMECA, J.A., PARIZA, M.W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. **Cancer Research**, v. 51, p.6118-6124, 1991.

LEE, S.; FAUSTMAN, C.; DJORDJEVIC, D.; FARAJI, H.; DECKER, E.A. Effect of antioxidants on stabilization of meat products fortified with n - 3 fatty acids. **Meat Science**, v.72, p.18-24, 2006.

LENGI, A.J., AND B.A. CORL. Identification and characterization of a novel bovine stearoyl-CoA desaturase isoform with homology to human SCD5. **Lipids**, v.42, p.499-508, 2007.

LI, C.; ALDAI, N., VINSKY, M.; DUGAN, M. E. R.; MCALLISTER, T. A. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearoyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers. **Animal Genetics**, v.43, p.93-97, 2011.

LIMA JÚNIOR, D.M.; RANGEL, A.H.N.; URBANO, S.A.; MACIEL, M. V.; AMARO, L.P.A. Alguns aspectos qualitativos da carne bovina: uma revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, p.351-358, 2011

LOCK, A.L.; GARNSWORTHY, P.C. Seasonal variation in conjugated linoleic acid and  $\Delta^9$ -desaturase activity in dairy cows. **Livestock Science**, v.79, p.47-59, 2003.

JENKINS, T. C. Symposium: advances in ruminant lipid metabolism. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1993.

KEATING, A. F.; KENNELLY, J. J.; ZHAO F. Characterization and regulation of the bovine stearoyl-CoA desaturase gene promoter. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 344, p. 233-240, 2006.

KOMISAREK, J.; DORYNEK, Z. Effect of *ABCG2*, *PPARGC1A*, *OLRI* and *SCD1* gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls. **Journal of Applied Genetics**, v.50, p.125–132,2009.

MACCIOTTA, N.P.P.; MELE, M.; CONTE, G.; SERRA, A.; CASSANDRO, M.; DAL ZOTTO, R.; CAPPIO, BORLINO, A.; PAGNACCO, G.; SECCHIARI, P. Association between a polymorphism at the stearoyl-CoA desaturase locus and milk production traits in Italian Holsteins. **Journal of Dairy Science**,v.91, p.3184-3189, 2008.

MAHARANI, D.; JUNG, Y.; JUNG, W.Y.; JO, C.; RYOO, S. H.; LEE, S. H.; YEON, S. H.; LEE, J.H. Association of five candidate genes with fatty acid composition in Korean cattle. **Molecular Biology Reports**, v.39, p.6113–6121, 2012.

MANN, N. Dietary lean red meat and human evolution. **European Journal of Nutrition**, v.39, p.71-79, 2000.

MANNEN, C. Identification and utilization of genes associated with beef qualities. **Animal Science Journal**, v.82, p.1-7, 2011.

MARTINEZ, L.M.; MACHADO, M.A. Programa genoma brasileiro de bovinos e suas perspectivas de aplicações práticas. IV Simpósio Nacional de Melhoramento Animal. **Anais...** Juiz de Fora, MG, 2002.

MATSUHASHI T.; MARUYAMA, S.; UEMOTO, Y.; KOBAYASHI, N.; MANNEN, H.; ABE T.; SAKAGUCHI S.; KOBAYASHI, E. Effects of bovine fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.12-22, 2011.

MATSUMOTO, H.; INADA, S; KOBAYASHI, E.; ABE , T.; HASEBE, H.; SASAZAKI, S.; OYAMA, K.; MANNEN, H. Identification of SNPs in the *FASN* gene and their effect on fatty acid milk composition in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.144, p.281-284, 2012.

MCGUIRE, M.A.; MCGUIRE, M.K. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. **Journal of Animal Science**,v. 77, p.1-8. 2000.

MELE, M.; CONTE, G.; CASTIGLIONI, B.; CHESSA, S.; MACCIOTTA, N.P.P.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; PAGNACCO, G.; SECCHIARI, P. Stearoyl-CoA desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 4458-4465, 2007.

MIYAZAKI, M.; NTAMBI, J.M. Role of stearoyl-coenzyme A desaturase in lipid metabolism. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids** ,v.68, p.113-121, 2003.

MOIOLI, B.; CONTARINI, G.; AVALLI A.; CATILLO, G.; ORRU, L.; DEMATTEIS, G.; MASOERO, G.; NAPOLITANO, F. Short communication: Effect of stearoyl-coenzyme A desaturase polymorphism on fatty acid composition of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p.3553-3558, 2007.

- MOREIRA, N.X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v.24, p.105-123, 2002.
- 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.
- NARUKAMI, T. SASAZAKI, S.; OYAMA, K.; NOGI, T.; TANIGUCHI, M.; MANNEN, H. Effect of DNA polymorphisms related to fatty acid composition in adipose tissue of Holstein cattle. **Animal Science Journal**, v.82, p.406-411, 2011.
- NELSON, D.L.; COX, M. **Lehninger – Princípios de Bioquímica**. 3ed. São Paulo: Sarvier, 2002, 1304 p.
- NTAMBI, J.M. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. **Journal of Lipid Research**, v.40, p.1549-1558, 1999.
- NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; NUERNBERG, G.; ENDER, K.; VOIGT, J.; SCOLLAN, N.D.; WOOD, J.D.; NUTE, G.R.; RICHARDSON, R.I. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. **Livestock Production Science**, v.94, p.137-147, 2005.
- OHSAKI, H.; TANAKA, A.; HOASHI, S.; SASAZAKI, S.; OYAMA, K.; TANIGUCHI, M.; MUKAI, F.; MANNEN, H. Effect of *SCD* and *SREBP* genotypes on fatty acid composition in adipose tissue of Japanese Black cattle herds. **Animal Science Journal**, v.80, p.225-232, 2009.
- ORRÙ, L.; CIFUNI, G.F.; PIASENTIER, E.; CORAZZIN, M.; BOVOLENTA, S.; MOIOLI, B. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the *LEP* and *SCD1* genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls. **Meat Science**, v.87, p.344-348, 2011.
- PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v.40, p. 283-298, 2001.
- PATON, C. M.; NTAMBI, J.M. Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v.297, p. 28-37, 2009.
- REARDON, W.; MULLEN, A. M.; SWEENEY, T.; HAMILL, R.M. Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine *M. longissimus* and *M. semimembranosus*. **Meat Science**, v.86, p.270-275, 2010.
- REGITANO, L.C.A.; COUTINHO, L.L. **Biologia molecular aplicada à produção animal**. EMBRAPA - Informação tecnológica, 2001, 215 p.
- REMPEL, L.A.; CASAS, E.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L. Relationship of polymorphisms within metabolic genes and carcass traits in crossbred beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.90, p.1311-1316, 2012.

RODRIGUES, V.C.; BRESSAN, M.C.; CARDOSO, M.G.; FREITAS R.T.F. Ácidos graxos na carne de búfalos e bovinos castrados e inteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.434-443, 2004.

ROSA, A.J.M.; FRAGOSO, R.R. 2011. Análise genômica aplicada a produção animal. Disponível em: <<http://www.cigeneticabovina.com.br>> Acesso em: 06/04/2013.

ROSE, D.P.; CONNOLLY, J.M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology e Therapeutics**, v.83, p.217-244, 1999.

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.

ROY, R.; ORDOVÁS, L.; ROMERO, A.; MORENO, C.; ZARAGOZA, P.; ALTARRIBA, J.; RODELLAR, C. 2005. Asociación de nuevos polimorfismos del gen ácido graso sintasa (*FASN*) con la cantidad de grasa por lactación en la especie vacuna. Disponível em: <<http://www.dcam.upv.es/acteon/CONGRESOS/AIDA2005/Itea2005.pdf>> Acesso em: 22/04/2013.

SCHENNINK, A.; BOVENHUIS, H.; LEON-KLOOSTERZIEL, K. M.; VAN ARENDONK, J. A. M.; VISKER M. H. P. W. Effect of polymorphisms in the *FASN*, *OLR1*, *PPARGC1A*, *PRL* and *STAT5A* genes on bovine milk-fat composition. **Animal Genetics**, v.40, p.909–916, 2009.

SCHENNINK, A.; HECK, J.M.L.; BOVENHUIS, H.; VISKER, M.H.P. W.; VAN VALENBERG, H.J.F.; VAN ARENDONK, J.A.M. Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-coa desaturase (*SCD1*) and acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*). **Journal of Dairy Science**, v.91, p.2135–2143, 2008.

SCOLLAN, N.D.; CHOI, N.; KURT, E.; FISHER, A.V.; ENSER, M.; WOOD, J.D. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. **British Journal of Nutrition**, v.85, p.115-124, 2001.

SEVANE, N.; ARMSTRONG, E.; CORTÉS, O.; WIENER, P.; PONG WONG R.; DUNNER, S.; Association of bovine meat quality traits with genes included in the *PPARG* and *PPARGC1A* networks. **Meat Science**, V.94, p. 328-335, 2013.

SMITH, S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. **The FASEB Journal**, v.8, p.1248-1259, 1994.

SMITH, S.; WITKOWSKI, A.; JOSHI, A.K. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. **Progress in Lipid Research**, v.42, p.289-317, 2003.

SIRI-TARINO, P.W; SUN, Q.; HU, F.B.; KRAUSS, R. M. Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease: modulation by replacement nutrients. **Current Atherosclerosis Reports**, v.12, p.384-390, 2010.

SOUZA , F.R.P. ; . CHIQUITELLI, M.G; FONSECA , L.F.S.; CARDOSO, D. F.; FONSECA P.D.S.; CAMARGO, G.M.F.; GIL, F.M. M., BOLIGON, A.A.; TONHATI,

H.; MERCADANTE, M.E.Z.; ALBUQUERQUE, L.G. Associations of *FASN* gene polymorphisms with economical traits in Nellore cattle (*Bos primigenius indicus*). **Molecular Biology Reports**, v.39, p.10097–10104, 2012.

TAPIERO, H.; BA, G.N.; COUVREUR, P.; TEW, K.D. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.56, n.5, p.215-222, 2002.

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.

VAN BA, H.; AMNA, T.; HWANG, I. Significant influence of particular unsaturated fatty acids and pH on the volatile compounds in meat-like model systems. **Meat Science**, v. 94, p.480-488, 2013.

VETH, M.J.; GULATI, S.K.; LUCHINI, N.D.; BAUMAN, D.E. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1685–1693, 2005.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**, v.19, p.400-407, 1996.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBALA, M.; EGGENB, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v.34, p.275-305, 2002.

WOOD, J.D.; ENSER, M.; FISHER, A.V.; NUTE, G.R.; SHEARD, P.R.; RICHARDSON, R.I.; HUGHES, S.I.; WHITTINGTON, F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. **Meat Science**, v.78, p.343–358, 2008.

WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I.; NUTE, G.R.; FISHER, A.V.; CAMPO, M.M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v.66, p. 21-32, 2003.

YEON, S.H.; LEE, S.H.; CHOI, B.H.; LEE, H.J.; JANG, G.W.; LEE, K.T.; KIM, K.H.; J.H., LEE; CHUNG, H.Y. Genetic variation of *FASN* is associated with fatty acid composition of Hanwoo. **Meat Science**, v.94, p. 133-138, 2013.

YOKOTA, S.; SUGITA, H.; ARDIYANTI, A.; SHOJI, N.; NAKAJIMA, H.; HOSONO, M.; OTOMO, Y.; SUDA, KATOH, Y. K.; SUZUKI, K. Contributions of *FASN* and *SCD* gene polymorphisms on fatty acid composition in muscle from Japanese Black cattle. **Animal Genetics**, v.43, p.790–792, 2012.

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.

## POLIMORFISMOS DOS GENES ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE EM RAÇAS BOVINAS CRIADAS NO BRASIL

**Resumo** - Objetivou-se verificar a variabilidade genética de polimorfismos do gene *FASN* e *SCD1* em diferentes raças bovinas. Os animais foram genotipados para os polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* pela técnica de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*) e os polimorfismos g.10153G>A, g.10213C>T do gene *SCD1* por sequenciamento. No gene *FASN*, o haplótipo TW, associado com aumento da relação de C18:1 na carne, foi mais frequente nos animais da raça Wagyu do que nas outras raças avaliadas. Dentre as raças localmente adaptadas, a Crioula Lageana e Caracu apresentaram as maiores frequências do haplótipo TW. No gene *SCD1*, houve grande variabilidade alélica nas diferentes raças analisadas nos locos g.10153G>A, g.10213C>T, sendo que foram detectados novos haplótipos nas raças localmente adaptadas, exceto na Caracu, e nas raças zebuínas. Considerando a alta variabilidade observada nas frequências gênicas de *SCD1* e *FASN* e os novos haplótipos detectados no gene *SCD1*, estudos envolvendo a associação de dados fenotípicos e genéticos são necessários para avaliar o efeito destes genes na variação da composição lipídica nas raças analisadas.

**Palavras-chave:** bovinos, composição lipídica, raças taurinas localmente adaptadas, *SCD1*, SNP

## FATTY ACID SYNTHASE AND STEAROYL-CoA DESATURASE GENES POLYMORPHISMS IN CATTLE BREEDS RAISED IN BRASIL

**Abstract** - The objective was to analyze the genetic variability of *FASN* gene and *SCD1* gene polymorphisms in different bovine breeds. The animals were genotyped for *FASN* gene polymorphisms g.16024A> G and g.16039T> C by PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism) and *SCD1* gene polymorphisms g.10153 G> A, g.10213 C> T by sequencing. In the *FASN* gene, TW haplotype associated with increased ratio of C18: 1 in meat, was more frequent in animals Wagyu breed than in other breeds evaluated. Among the locally adapted breeds, the Crioulo Lageana and Caracu had the highest frequency of haplotype TW. In the *SCD1* gene, there was great variability in different races allelic loci analyzed g.10153 G> A, g.10213 C> T, and new haplotypes were detected in locally adapted breeds, except Caracu, and the zebu. Considering the variability observed in the frequency of *FASN* and *SCD1* genes and the news haplotypes in *SCD1* gene, are needed to evaluate the effect of these genes on the variation of lipid composition in the analyzed breeds.

**Keywords:** cattle, lipid composition, *FASN*, Nellore, *SCD1*, SNP

## INTRODUÇÃO

Observa-se um crescente interesse pelo conhecimento e manipulação dos ácidos graxos da carne bovina devido à influência que os lipídios exercem sobre as características nutricionais e organolépticas desta carne (Wood et al., 2003).

Durante as últimas décadas, os avanços na genética molecular levaram à identificação de polimorfismos em genes que afetam a qualidade da carne e a composição de ácidos graxos (Bhuiyan et al., 2009). Neste sentido, estudos foram publicados relatando associação dos polimorfismos do gene *FASN*, que codifica a enzima ácido graxo sintase e do gene *SCD1*, que codifica a enzima esteroil-CoA dessaturase, com variações no perfil lipídico de carnes e leite (Taniguchi et al., 2004; Roy et al., 2006; Mele et al., 2007; Zhang et al., 2008; Abe et al., 2009).

Ácido graxo sintase é a denominação dada para um complexo de sete enzimas, codificadas por um único gene localizado no cromossomo 19, que catalisam a formação de ácido palmítico (C16:0) a partir da condensação sequencial de uma molécula acetil-coA e sete malonil-coA, na presença de NADPH (Smith, 1994; Roy et al., 2006).

Abe et al. (2009) identificaram dois SNPs (polimorfismos de base única) no gene *FASN* (g.16024A>G e g.16039T>C) em bovinos Wagyu x Limousin, encontradas no éxon 34, que determinam as substituições de aminoácidos treonina (T) para alanina (A) e triptofano (W) para arginina (R). Estes polimorfismos apresentaram associação com a composição lipídica nos depósitos adiposos, de modo que ao genótipo TW foi atribuído o aumento de C18:1 e na proporção de monoinsaturados em relação aos saturados na gordura intramuscular.

A esteroil-CoA dessaturase é uma enzima que catalisa a biossíntese de monoinsaturados, introduzindo uma dupla ligação na posição  $\Delta^9$  de alguns ácidos graxos (Ntambi, 1999), sendo seu gene localizado no cromossomo 26 de bovinos (Mele et al., 2007).

Taniguchi et al. (2004) identificaram três SNPs (g.10153G>A, g.10213C>T e g.10329T>C) no quinto éxon do gene *SCD1* que, por estarem muito próximos estão em desequilíbrio de ligação em Wagyu, sendo assim, possível a análise indireta do g.10329T>C pelos outros dois polimorfismos. O alelo A do SNP g.10153G>A e alelo T do g.10213C>T foram descritos na literatura como favoráveis, pois estão ligados ao alelo C do g.10329T>C que está associado ao aumento de monoinsaturados no tecido adiposo de Wagyu.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi analisar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* e os polimorfismos

g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* visando avaliar a existência de alelos favoráveis relacionados à composição de ácidos graxos monoinsaturados na carne em diferentes raças bovinas criadas no Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Genômica e Melhoramento Animal da Embrapa Gado de Corte. Foram genotipados 318 animais de diferentes raças criadas no Brasil, sendo três raças zebuínas: Nelore (40), Guzerá (40) e Gir (20); quatro raças taurinas localmente adaptadas: Curraleiro (40), Crioulo Lageano (40), Caracu (40) e Pantaneiro (40); duas raças taurinas especializadas: Holandês (21) e Wagyu (16) e a F1 Nelore x Wagyu (21).

A extração de DNA de músculo da F1 Wagyu x Nelore foi realizada utilizando protocolo adaptado de Regitano e Coutinho (2001) (Anexo I). O DNA da raça Wagyu foi obtido por extração a partir de leucócitos, utilizando o método descrito por Regitano e Coutinho (2001). As demais amostras foram obtidas no Banco de DNA do Laboratório de Genética Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

A genotipagem dos polimorfismos do gene *FASN* foi realizada pela técnica de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*). A amplificação do gene *FASN* foi realizada com os *primers* descritos por Abe et al. (2009), dando origem a um fragmento de 336 pb. As reações de PCR foram feitas com um volume final de 20 µL, utilizando-se 10 ng de DNA genômico; tampão 1X; 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 200 µM de cada dNTP; 0,4 µM de primer; 1,0 UI de Taq DNA polimerase. O protocolo da PCR foi de 94 °C/5', seguido por 30 ciclos de 94 °C/1'; temperatura de anelamento de 60 °C /1' e 72 °C/1', e com extensão final de 72 °C/7'.

O fragmento amplificado foi digerido com a enzima de restrição *HhaI* para a detecção do polimorfismo g.16024A>G e, com a enzima *NciI* para o polimorfismo g.16039T>C. As digestões foram realizadas utilizando 7µL do produto amplificado e 5 UI da enzima de restrição apropriada, seguido de incubação por 4 horas para *HhaI* e *NciI*, à 37 °C.

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 tamanho dos fragmentos de restrição foi determinado pela comparação com um marcador, padrão de peso molecular de 1kb. A imagem de cada gel foi fotografada por um sistema digital de foto-

documentação para posterior análise. Amostras representando os genótipos observados foram ainda sequenciadas para confirmação dos padrões de digestão observados nos géis de agarose.

Seguindo o observado por Abe et al. (2009), após a clivagem e a separação dos produtos digeridos por eletroforese observou-se, com a enzima *HhaI*, os alelos A (sem digestão do fragmento inicial de 336 pb) e G (fragmento de 262 pb e 74 pb) e, com a enzima *NciI*, os alelos T (sem digestão do fragmento inicial de 336 pb) e C (fragmento de 247 pb e 89 pb). A combinação dos alelos observados deu origem aos haplótipos TW e AR (Tabela 1).

Visando assegurar o padrão de digestão observado, amostras previamente genotipadas por PCR-RFLP do gene *FASN*, três amostras de cada genótipo observado para os polimorfismos estudados foram sequenciadas seguindo a mesma metodologia empregada para o gene *SCD1*, utilizando sequência referência obtida no Genebank (nº de acesso AF285607).

**Tabela 1.** Haplótipos do gene *FASN*.

Genótipos		Haplótipos
g.16024A>G ( <i>HhaI</i> )	g.16039T>C ( <i>NciI</i> )	
AA	TT	TW/TW
AG	TC	TW/AR
GG	CC	AR/AR

A região do gene *SCD1*, que flanqueia os polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T, foi amplificada com um *primer* descrito por Taniguchi et al. (2004). Os alelos dos polimorfismos estudados no gene *SCD1* foram observados mediante sequenciamento do fragmento amplificado de 196 pb, pelo método de terminação de cadeia utilizando dideoxynucleotídeos marcados com fluorocromos (Sanger, 1988).

As reações de PCR foram feitas com um volume final de 20 µL, utilizando-se 10 ng de DNA genômico; tampão 1X; 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 200 µM de cada dNTP; 0,4 µM de *primer*; 1,0 UI de Taq DNA polimerase. O protocolo da PCR foi de 94 °C/2', seguido por 35 ciclos de 94 °C/30''; temperatura de anelamento de 65 °C/30'' e 72 °C/1', e com extensão final de 72 °C/7'.

O produto da PCR foi purificado com 0,5 UI das enzimas EXO-SAP (Exonuclease I, *Shrimp Alkaline Phosphatase*) de acordo com Werle et al. (1994) e incubado a 37 °C por 30 minutos seguido de 20 minutos a 80 °C. Para a reação de sequenciamento foi utilizado o kit *Big Dye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing* sendo a mesma preparada em um volume final de 10 µL com 1,6 µM de *primer* e aproximadamente 10 ng do DNA purificado com EXO-

SAP. A amplificação foi realizada em termociclador Veriti<sup>®</sup> Thermal Cycler da Applied Biosystems, utilizando o seguinte programa: 96 °C /1', 25 ciclos a 96 °C/10'', 50 °C/5'' e 60 °C/4'. Por fim, uma nova etapa de purificação foi realizada utilizando-se EDTA (125 mM, pH 8), etanol 70% e etanol absoluto. As reações foram injetadas em sequenciador automático ABI-3130<sup>®</sup>, da Applied Biosystems.

Os eletroferogramas gerados foram analisados por meio do programa *SeqScape*<sup>®</sup> *Software v 2.1* (AppliedBiosystems) onde foi possível observar os alelos dos SNPs nas posições 702 pb e 762 pb na sequência referência da *Open Read Frame* (Patente nº US 7,723,025 B2).

As frequências alélicas e genóticas foram obtidas por contagem direta e foram comparadas pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), a 5% de probabilidade. Para este procedimento estatístico utilizou-se o PROC GLM do software SAS v.9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC). O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi determinado pelo teste exato de Fisher usando o programa GENEPOP (<http://genepop.curtin.edu.au/>).

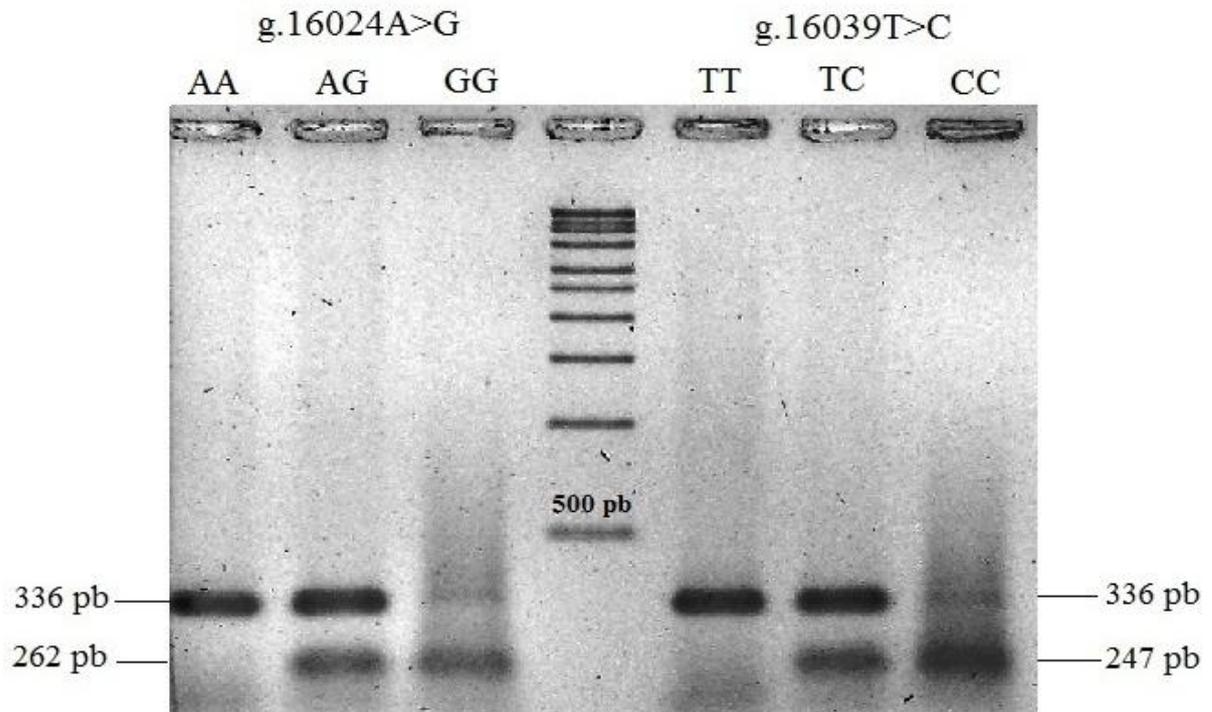
Com o uso pacote estatístico ARLEQUIN, a partir das frequências alélicas observadas construiu-se uma matriz de distância genética aos pares utilizando-se o índice de Reynolds ( $F_{ST}$ ). A partir desta matriz foi construído um gráfico baseado no método de aglomeração *Neighbor-Net* (Bryant & Moulton, 2004) com o programa SplitsTree4 (<http://www-ab.informatik.unituebingen.de/software/splitstree4/welcome.html>) visando observar a diferenciação dos grupos raciais estudados em função dos genes analisados..

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

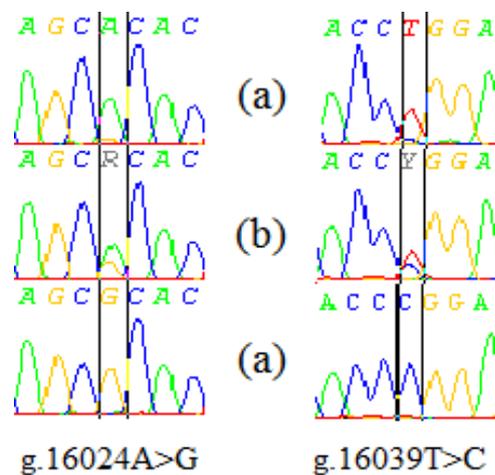
### GENE *FASN*

Abe et al. (2009), não encontraram evidências de recombinação entre as duas mutações dada sua proximidade, portanto, os alelos identificados pela digestão enzimática do fragmento dos dois polimorfismos (Figura 1) foram representados pelo caractere que simboliza os possíveis aminoácidos codificados, ou seja TW e AR. O haplótipo TW é apontado como favorável, pois está associado à redução no conteúdo de mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) e aumento de C18:1 nos tecidos adiposos (Abe et al., 2009; Matsuhashi et al., 2011).

Neste trabalho também não foram observados eventos de recombinação dos alelos nas populações analisadas das raças taurinas e zebuínas. A genotipagem das amostras por sequenciamento comprovou o padrão de clivagem observado nos géis de agarose (Figura 2).



**Figura 1.** Genotipagem dos polimorfismos do g.16024A>G (esquerda) e g.16039T>C (direita) do gene *FASN* pela digestão enzimática do fragmento de DNA, separados em gel de agarose 2%.



**Figura 2.** Eletroferogramas observados na genotipagem dos polimorfismos g.16024A>G (esquerda) e g.16039T>C (direita) do gene *FASN* (a: homocigoto; b: heterocigoto).

As frequências alélicas observadas na raça Wagyu foram significativamente diferentes a todas as raças estudadas ( $P < 0,01$ ) (Tabela 2 e 3). A disparidade da frequência de TW de bovinos Wagyu em relação a outras raças foi também foi relatada anteriormente, e pode estar ligada ao histórico de seleção destes animais, que visava o aumento da marmoreio da carne

(Abe et al., 2009). Zembayashi et al. (1995) demonstraram ainda, que bovinos Wagyu possuem uma proporção mais elevada de monoinsaturados nos depósitos adiposos, quando comparado a animais de outras raças como Holandesa, Japanese Brown e Charolês.

Kanzala et al. (1999) observaram que os índices de estimativa da atividade de enzimas alongases, como a ácido graxo sintase, aumentam concomitantemente ao grau de marmoreio em bovinos cruzados Wagyu. Além disso, à medida que aumenta a deposição da gordura de marmoreio, há mudanças na composição lipídica nesta gordura devido diluição de fosfolipídios com o acréscimo dos triacilgliceróis, provocando a elevação de monoinsaturados e saturados em detrimento às proporções de poliinsaturados (Kanzala et al. 1999).

**Tabela 2.** Frequências haplotípicas e alélicas dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* em raças criadas no Brasil.

Raças (n)	Frequências Haplotípicas			Frequências Alélicas	
	TW/TW	TW/AR	AR/AR	TW	AR
Nelore (39)	0	0,03	0,97	0,01	0,99
Gir (36)	0,03	0,05	0,92	0,06	0,94
Guzerá (40)	0,03	0,1	0,87	0,07	0,93
Caracu (40)	0,05	0,45	0,5	0,27	0,73
Curraleira (40)	0,02	0,13	0,85	0,09	0,91
C. Lageana (40)	0,05	0,55	0,4	0,32	0,68
Pantaneira (40)	0	0,12	0,88	0,06	0,94
Holandesa (39)	0,03	0,1	0,87	0,08	0,92
Wagyu (16)	0,5	0,4	0,1	0,72	0,28
½ Nel x ½ Wag (21)	0	0,38	0,62	0,19	0,81

As populações estudadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A frequência de TW nas raças zebuínas foi pequena, sendo de 0,01 em Nelore, 0,06 em Gir e 0,07 em Guzerá. Assim como no presente trabalho, frequências baixas (0,017) do alelo favorável do polimorfismo g.16024A>G do gene *FASN* foram relatadas por Kaneda et al. (2011) em animais zebuínos (gado nativo dos países Camboja, Mianmar e Laos).

Observou-se que a frequência de TW na F1 Nelore x Wagyu (0,19) decresceu em relação à raça Wagyu (0,72). A baixa frequência do alelo TW na F1 pode ser explicada pelo histórico dos animais analisados, pois sua formação foi realizada pela utilização de touros Nelore em vacas Wagyu. Probabilisticamente, dada a relação macho:fêmea empregada nos sistemas de acasalamento, a utilização de machos de uma raça onde originalmente existe uma baixa frequência do alelo favorável pode ter causado a redução deste haplótipo nos animais

meio-sangue. Estes resultados evidenciam que a utilização de touros Wagyu em vacas Nelore teria sido mais vantajosa, uma vez que na raça Wagyu observa-se uma maior proporção do haplótipo favorável, aumentando a probabilidade de animais F1 com frequência de TW mais alta.

**Tabela 3.** Comparação estatística realizada pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), das frequências genotípicas (diagonal superior) e frequências alélicas (diagonal inferior) dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C entre as raças estudadas.

	Nel	Gir	Guz	Car	Cur	CrI	Pan	Hol	Wag	NxW
Nel		0,4566	0,2333	<,0001	0,1050	<,0001	0,0956	0,2207	<,0001	0,0002
Gir	0,1452		0,7724	0,0003	0,5789	<,0001	0,3430	0,7548	<,0001	0,0066
Guz	0,0576	0,1154		0,0013	0,9391	<,0001	0,5738	0,9991	<,0001	0,0274
Car	<,0001	0,0003	0,0009		0,0035	0,6556	0,0012	0,0011	<,0001	0,4573
Cur	0,0323	0,4479	0,7723	0,0021		<,0001	0,6022	0,9520	<,0001	0,0575
CrI	<,0001	<,0001	<,0001	0,4902	0,0002		<,0001	<,0001	0,0002	0,1979
Pan	0,1024	0,8563	0,7547	0,0003	0,5483	<,0001		0,5732	<,0001	0,0204
Hol	0,0531	0,6002	0,9636	0,0011	0,8089	<,0001	0,7217		<,0001	0,0311
Wag	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0001	<,0001	<,0001		0,0001
NxW	0,0004	0,0236	0,0573	0,3030	0,0998	0,1154	0,0295	0,0646	<,0001	

(Nel = Nelore; Guz = Guzerá; Car = Caracu; Cur = Curraleira; CrI = Crioulo Lageana; Pan = Pantaneira; Hol = Holandêsa; Wag = Wagyu; NxW = F1 Nelore x Wagyu)

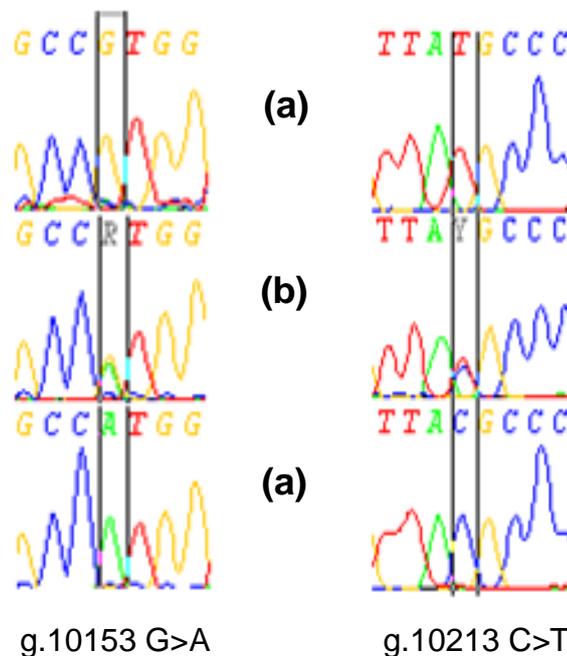
Em bovinos Crioulo Lageano e Caracu a frequência do haplótipo favorável (0,32 e 0,27, respectivamente) foi maior que demais raças taurinas localmente adaptadas e, pode ser considerada expressiva quando comparada às raças Pantaneira e Curraleira, as quais as frequências não passaram de 0,1. A frequência de TW na raça Caracu pode estar atribuída ao fato de que entre as raças localmente adaptadas a Caracu foi que provavelmente sofreu uma menor introgressão de genes zebuínos, e, até o momento, foi a única que esteve vinculada a programas de melhoramento animal, sendo a criação dessa raça praticamente voltada para corte (Egito et al., 2007).

Dentre as raças localmente adaptadas, a Pantaneira e Curraleira apresentaram as menores frequências de TW (0,09 e 0,06, respectivamente). Este resultado observado em Pantaneiros pode estar relacionado aos dados históricos da raça onde, no passado, houve a introgressão de genes zebuínos pela introdução de animais oriundos de populações onde existiam animais anelados (Serrano et al., 2004). Esta introgressão de genes zebuínos na raça Pantaneira foi observada e monitorada por diferentes tipos de marcadores moleculares (Lara et al. 2002; Serrano et al., 2004; Egito et al., 2007).

### Gene *SCD1*

A enzima *SCD1* possui um papel determinante na biossíntese de monoinsaturados no tecido adiposo, por isso despertou grande interesse como gene candidato para a variação lipídica da carne bovina. Taniguchi et al. (2004) encontraram associação dos alelos A,T e C dos SNPs g.10153G>A, g.10213C>T g.10329T>C do gene *SCD1* com aumento dos ácido graxos monoinsaturados C14:1, C16:1 e C18:1 na gordura intramuscular de bovinos Wagyu.

Na Figura 3 podem ser visualizados exemplos dos eletroferogramas gerados pelo sequenciamento do fragmento que flanqueia os dois polimorfismos do gene *SCD1*.



**Figura 3.** Eletroferogramas observados na genotipagem dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T(a: homocigoto; b: heterocigoto).

No loco g.10153G>A as frequências observadas do alelo A na raça Wagyu (0,72) foram significativamente diferentes das demais raças ( $P < 0,01$ ) exceto da raça Holandesa (0,79) (Tabela 4 e 5). Matsushashi et al. (2011) relataram uma alta frequência do alelo A em bovinos Wagyu (0,71) muito próxima da encontrada neste trabalho.

Frequências altas dos alelos favoráveis na raça Holandesa, assim como neste estudo, foram reportadas por Milanesi et al., 2008 (0,71). A relação de SNPs do gene *SCD1* com a

alteração dos lipídios no leite foi relatada na literatura, sugerindo a participação deste gene na variação genética dessa característica (Mele et al., 2007; Schennink et al., 2008).

**Tabela 4.** Frequências genóticas e alélicas dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* em raças bovinas criadas no Brasil.

Raças (n)	Frequências gênicas do g.10153G>A					Frequências gênicas do g.10213C>T				
	Genótipos			Alelos		Genótipos			Alelos	
	GG	AG	AA	G	A	CC	TC	TT	C	T
Nelore (40)	0,98	0,02	-	0,99	0,01	-	0,02	0,98	0,01	0,99
Gir (20)	0,95	0,05	-	0,98	0,02	-	-	1	-	1
Guzerá (40)	0,92	0,08	-	0,96	0,04	-	0,05	0,95	0,02	0,98
Caracu (40)	0,68	0,3	0,02	0,82	0,18	0,68	0,3	0,02	0,82	0,18
Curraleira (40) **	0,9	0,1	-	0,95	0,05	0,5	0,22	0,28	0,61	0,39
C. Lageana (40)	0,8	0,2	-	0,9	0,1	0,23	0,65	0,12	0,55	0,45
Pantaneira (40)	0,8	0,18	0,02	0,89	0,11	0,07	0,5	0,43	0,32	0,68
Holandesa (21)	0,1	0,24	0,66	0,21	0,79	0,1	0,24	0,66	0,21	0,79
Wagyu (16)	0,06	0,5	0,44	0,28	0,72	0,06	0,5	0,44	0,28	0,72
½Nel x ½Wag (21)	1	-	-	1	-	-	0,9	0,1	0,45	0,55

\*\*População não está em equilíbrio de Hardy-Weinberg

Não houve diferença significativa entre as frequências alelo A entre raças taurinas localmente adaptadas ( $P > 0,05$ ) (Tabela 5) sendo de 0,18 em Caracu, 0,1 e 0,11 em Crioula Lageana. Da mesma forma, não foi detectada diferença significativa entre as raças zebuínas ( $P > 0,05$ ) que apresentaram frequências muito baixas do alelo A (Gir: 0,02; Guzerá: 0,04 e Nelore: 0,01). Vale ressaltar que não foi observado nas amostras destas três raças zebuínas utilizadas neste trabalho, bem como nas raças Curraleira e Crioulo Lageana, o homozigoto AA. Na F1 Nelore x Wagyu o genótipo GG estava fixado.

No loco g.10213C>T as frequências alélicas das raças Holandesa e Pantaneiro não foram diferentes da raça Wagyu ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6). A frequência do alelo T nestas raças foi de 0,72; 0,89; 0,79 e 0,68, respectivamente. Também não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as frequências alélicas das raças zebuínas Gir, Guzerá e Nelore, sendo que, o alelo T foi observado em alta proporção (1; 0,98 e 0,99, respectivamente) estando praticamente fixado nos animais analisados.

O genótipo CC não foi identificado nos animais das raças Guzerá, Nelore e na F1 Nelore x Wagyu. Na raça Gir não foi observado o genótipo homozigoto CC e heterozigoto TC. Esta fixação, tanto do alelo T observada para os animais Gir no loco g.10213C>T, quanto do alelo G para F1 Nelore x Wagyu no g.10153G>A, pode estar relacionado à baixa

frequência do outro alelo nessas raças, sendo que não foi possível encontrá-los na amostra estudada.

**Tabela 5.** Comparação estatística realizada pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), das frequências genotípicas (diagonal superior) e frequências alélicas (diagonal inferior) do polimorfismo g.10153G>A entre as raças estudadas.

	Nel	Gir	Guz	Car	Cur	Crl	Pan	Hol	Wag	NxW
Nel		0,6111	0,3049	0,0019	0,1659	0,0133	0,0453	<,0001	<,0001	0,4650
Gir	0,4777		0,7144	0,0590	0,5089	0,1250	0,2989	<,0001	<,0001	0,2995
Guz	0,3112	0,3132		0,0187	0,6923	0,1045	0,2274	<,0001	<,0001	<,0001
Car	0,0004	0,0192	0,0048		0,0432	0,3289	0,4191	<,0001	<,0001	0,0131
Cur	0,1728	0,5182	0,6991	0,0124		0,2104	0,3582	<,0001	<,0001	0,1338
Crl	0,0163	0,1414	0,1182	0,1684	0,0040		0,5866	<,0001	<,0001	0,0279
Pan	0,0090	<,0001	0,0717	0,2599	0,1480	0,7975		<,0001	<,0001	0,0892
Hol	<,0001	0,0019	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001		0,4366	<,0001
Wag	<,0001	0,0003	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,5059		<,0001
NxW	0,4669	<,0001	0,2038	0,0040	0,1406	0,0340	0,0239	<,0001	<,0001	

(Nel = Nelore; Guz = Guzerá; Car = Caracu; Cur = Curraleiro; Crl = Crioula Lageana; Pan = Pantaneira; Hol = Holandesa; Wag = Wagyu; NxW = F1 Nelore x Wagyu)

Em algumas raças, a frequência alélica observada no loco g.10213C>T difere da frequência observada para o loco g.10153G>A, indicando que nessas raças os SNPs estudados não estão em equilíbrio de ligação, contrariando o que foi observado por Taniguchi et al. (2004) na raça Wagyu. Este achado é condizente com o observado por Milanesi et al. (2008) que, avaliando a frequências dos SNPs g.10153G>A, g.10213C>T e g.10329T>C raças leiteiras e de corte italianas encontraram novos haplótipos. Oh et al. (2011) também avaliaram os polimorfismos do quinto éxon em bovinos coreanos da raça Hanwoo e observaram que cerca de 20% das frequências encontradas eram de haplótipos recombinantes.

Entre as raças estudadas, oito possuem haplótipos diferentes dos descritos por Taniguchi et al. (2004), que seriam GG/CC, AG/TC e AA/TT (Tabela 7). Foram identificados cinco haplótipos recombinantes, sendo que três deles foram observados em maior frequência: GG/TT com frequências variando de 0,1 a 0,95; GG/TC variando de 0,1 a 0,9 e AG/TT variando de 0,1 a 0,95. Apenas os animais da raça Wagyu, onde estes polimorfismos foram relatados pela primeira vez por Taniguchi et al. (2004), e nas raças Caracu e Holandesa não foram observados haplótipos recombinantes. Milanesi et al. (2008) também não observaram haplótipos recombinantes em animais da raça Holandesa.

**Tabela 6.** Comparação estatística realizada pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), das frequências genotípicas (diagonal superior) e frequências alélicas (diagonal inferior) do polimorfismo g.10213C>T entre as raças estudadas.

	Nel	Gir	Guz	Car	Cur	CrI	Pan	Hol	Wag	NxW
Nel		0,4758	0,5562	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0029	<,0001	<,0001
Gir	0,4777		0,3091	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0180	0,0016	<,0001
Guz	0,5600	0,3132		<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0093	0,0003	<,0001
Car	<,0001	<,0001	<,0001		0,0074	0,0002	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
Cur	<,0001	<,0001	<,0001	0,0028		0,0006	0,0001	0,0033	0,0093	<,0001
CrI	<,0001	<,0001	<,0001	0,0002	0,4230		0,0057	<,0001	0,0087	0,0487
Pan	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0003	0,0041		0,1383	0,8774	0,0070
Hol	0,0001	0,0019	0,0005	<,0001	<,0001	0,0004	0,1989		0,4366	0,4366
Wag	<,0001	0,0003	<,0001	<,0001	0,0015	0,0101	0,6518	0,5059		<,0001
NxW	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0907	0,3053	0,1659	0,0206	0,1326	

(Nel = Nelore; Guz = Guzerá; Car = Caracu; Cur = Curraleira; CrI = Crioula Lageana; Pan = Pantaneira; Hol = Holandês; Wag = Wagyu; NxW = F1 Nelore x Wagyu)

Milanesi et al. (2008) analisaram a correlação entre g.10213C>T e g.10329T>C e entre g.10153G>A e g.10213C>T, e relataram valores de 0,98 e 0,65, respectivamente, indicando que existe uma maior possibilidade de recombinação entre estes últimos SNPs. Estes haplótipos divergentes dos descritos para a raça Wagyu, segundo estes autores, podem refletir uma história evolutiva diferente ou ser resultado de uma pressão de seleção diferencial nestas raças.

É interessante destacar que, nas raças zebuínas Gir, Guzerá, Nelore e na F1 Nelore x Wagyu os haplótipos relatados na literatura por Taniguchi et al. (2004) na raça Wagyu, não foram observados. Este fato pode estar refletindo um processo evolutivo diferencial nas raças zebuínas evidenciado por um sítio distinto de recombinação.

Nas raças taurinas localmente adaptadas foi possível identificar tanto aqueles haplótipos observados na raça Wagyu quanto recombinantes. Cerca de 48%, 68% e 86% dos haplótipos observados eram recombinantes nas raças Curraleira, Crioula Lageana e Pantaneira, respectivamente, demonstrando a alta variabilidade genética destas populações, reflexo provável da inexistência de trabalhos de melhoramento genético e seleção nas mesmas. A raça Caracu não apresentou haplótipos recombinantes, o que pode estar ligado ao fato que, entre as raças localmente adaptadas, foi a única que passou por processo de melhoramento genético, resultando provavelmente em redução da variabilidade genética em relação às demais raças naturalizadas.

**Tabela 7.** Frequências dos haplótipos dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T nas raças estudadas.

Raças (n)	GG/CC	AG/TC	AA/TT	GG/TT	GG/TC	AG/TT	AA/TC	AG/CC
Nelore (40)	-	-	-	0,95	0,025	0,025	-	-
Gir (20)	-	-	-	-	-	0,95	0,05	-
Guzerá (40)	-	-	-	0,88	0,04	0,08	-	-
Caracu (40)	0,68	0,3	0,02	-	-	-	-	-
Curradeira (40)	0,48	0,02	-	0,23	0,2	0,05	-	0,02
C. Lageana (40)	0,23	0,15	-	0,08	0,5	0,04	-	-
Pantaneira (40)	0,03	0,05	0,03	0,23	0,53	0,1	-	0,03
Holandesa (21)	0,1	0,24	0,66	-	-	-	-	-
Wagyu (16)	0,06	0,5	0,44	-	-	-	-	-
Nel x Wag (21)	-	-	-	0,1	0,9	-	-	-

A existência de possíveis alelos e haplótipos favoráveis dos genes *FASN* e *SCD1* nas raças localmente adaptadas indicam seu potencial de utilização em programas de melhoramento animal que vissem a introgressão destes alelos e haplótipos favoráveis em raças menos adaptadas ou que possuam uma menor proporção dos mesmos. Também pode indicar a possibilidade de uso destas populações em programas de melhoramento/conservação que vissem inserir estas raças e seus produtos em nichos de mercado diferenciados – carne de qualidade com potencial nutracêutico, por exemplo.

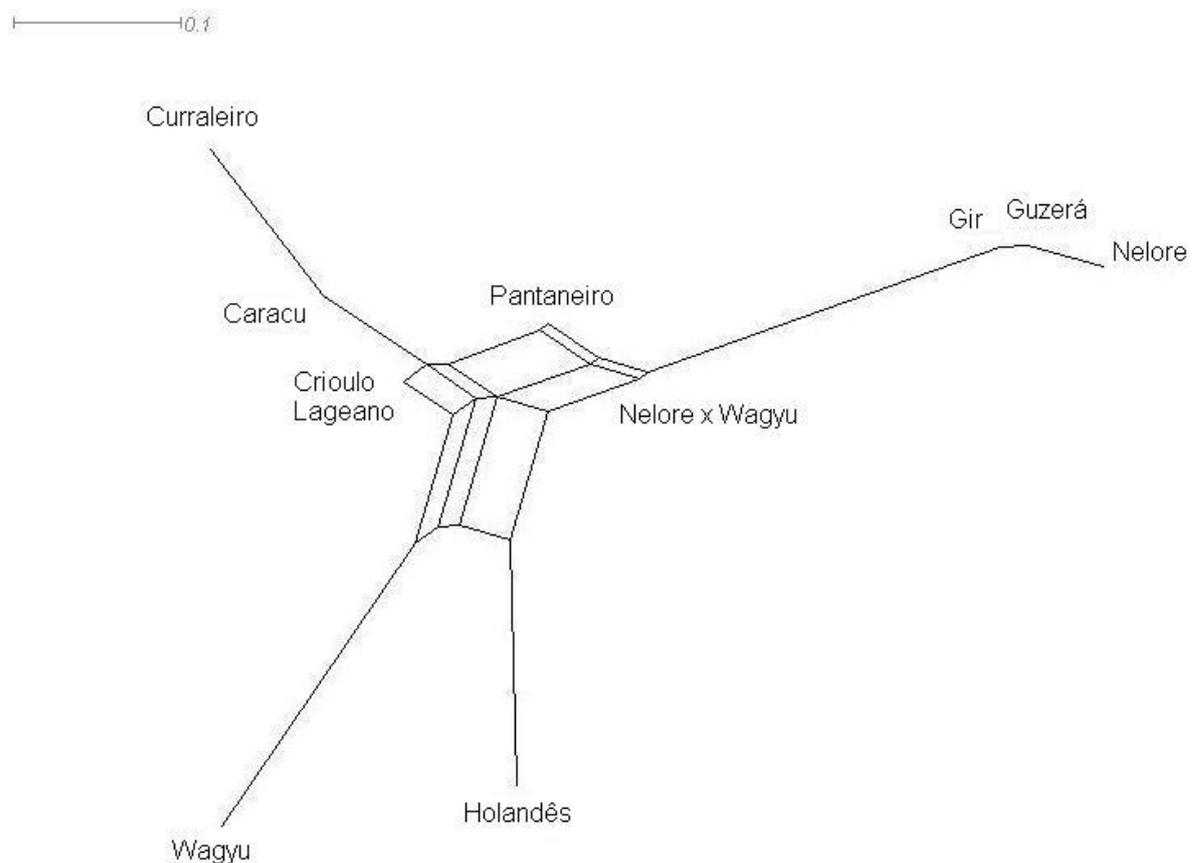
Para uma investigação mais assertiva, estudos de associação são necessários para avaliar a relação dos polimorfismos do gene *FASN* e do gene *SCD1*, incluindo o g.10329T>C, com a variação composição de ácidos graxos monoinsaturados nas raças zebuínas e nas raças taurinas localmente adaptadas criadas no Brasil.

### Relação genética entre as populações analisadas

Com base na frequência alélica dos quatro polimorfismos analisados neste estudo foi possível gerar uma matriz de distância genética (Tabela 8) em função do índice de Reynold's ( $F_{ST}$ ) a partir da qual se construiu uma *Neighbor Net* que demonstra claramente a relação das populações analisadas em função dos genes estudados (Figura 4).

**Tabela 8.** Matriz de distância genética aos pares baseada no índice de Reynolds ( $F_{ST}$ ).

	CAR	CUR	CRL	GIR	GUZ	HOL	NEL	PAN	NXW	WAG
CAR	0,0000									
CUR	0,0202	0,0000								
CRL	0,0624	0,1830	0,0000							
GIR	0,4425	0,6351	0,3743	0,0000						
GUZ	0,4679	0,6536	0,4006	-0,0122	0,0000					
HOL	0,3709	0,4648	0,3539	0,5103	0,5554	0,0000				
NEL	0,4982	0,7351	0,4633	0,0310	0,0304	0,6073	0,0000			
PAN	0,1019	0,1649	0,0415	0,2308	0,2408	0,3739	0,2941	0,0000		
NXW	0,1723	0,2188	0,1424	0,1615	0,1935	0,2102	0,2339	0,0553	0,0000	
WAG	0,4286	0,5501	0,2604	0,6134	0,6442	0,4140	0,6851	0,4370	0,4415	0,0000

**Figura 4.** Gráfico Neighbor-Net baseados nas distâncias genéticas de 10 grupamentos genéticos analisados (Nel = Nelore; Guz = Guzerá; Car = Caracu; Cur = Curraleira; Crl = Crioula Lageana; Pan = Pantaneira; Hol = Holandês; Wag = Wagyu; NxW = F1 Nelore x Wagyu).

Embora as análises tenham se baseado em dados de dois genes apenas, verifica-se a importância dos mesmos pelo agrupamento correto das populações de acordo com suas origens (taurina x zebuína). Pela matriz de distância genética verifica-se a relação existente

entre as populações analisadas aos pares, as raças zebuínas possuem uma menor distância entre si enquanto que o cruzado Nelore x Wagyu parece mais próximo da raça Nelore que da raça Wagyu, refletindo o modo de cruzamento realizado, onde os machos eram de origem zebuína, com uma maior possibilidade de transmissão de alelos desta subespécie para a geração seguinte.

No gráfico observa-se de maneira clara o agrupamento das raças. As raças zebuínas ficaram distantes das demais em um cluster distinto (não houve diferença significativa entre elas para os valores de  $F_{ST}$  aos pares,  $P > 0,01$ ) demonstrando sua maior similaridade. Da mesma forma, as raças localmente adaptadas Curraleiro, Caracu e Crioulo Lageano ficaram agrupadas enquanto que a raça Pantaneira e os animais cruzados posicionaram-se mais próximos do grupamento zebuíno. A raça Wagyu ficou em um cluster distinto demonstrando sua diferenciação em relação às demais. Este fato pode estar evidenciando a grande seleção realizada na raça Wagyu para a característica marmoreio. Isto também pode explicar a separação do grupo das raças taurinas das zebuínas, já que animais *Bos taurus* possuem maior potencial de marmoreio do que *Bos indicus* (Marshall, 1999).

## CONCLUSÕES

Existe uma alta variabilidade genética nos genes *SCD1* e *FASN* nas raças bovinas criadas no Brasil. A presença do haplótipo favorável TW do gene *FASN* é mais acentuada em bovinos da raça Wagyu em relação às outras populações estudadas. Entre as raças localmente adaptadas, a Crioula Lageana e a Caracu apresentaram as maiores porcentagens do haplótipo TW. São necessárias mais pesquisas para verificar se o haplótipo está realmente associado com as variações no perfil lipídico, tanto nas raças taurinas localmente adaptadas quanto nas raças zebuínas.

Nas raças taurinas localmente adaptadas e nas raças zebuínas os polimorfismos g.10153 G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* não estão em desequilíbrio de ligação. Nas raças Caracu, Holandês e Wagyu estes dois polimorfismos estão ligados completamente. Sugerem-se estudos de associação entre as características fenotípicas e os polimorfismos observados no gene *SCD1*, inclusive com o polimorfismo g.10329 T>C, para avaliar o efeito deste gene na variação da composição lipídica nas raças analisadas.

## REFERÊNCIAS

- 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.
- BRYANT, D.; MOULTON, V. Neighbor-net: an agglomerative method for the construction of phylogenetic networks; **Molecular Biology and Evolution**, v.21, p.255-265, 2004.
- BHUIYAN, M.S.A.; YU, J.S.L.; JEON, T. YOON, D.; CHO, Y. M.; PARK, E.W.; KIM, N.K.; KIM, K.S.; LEE, J.H. DNA Polymorphisms in *SREBF1* and *FASN* genes affect fatty acid composition in korean cattle (Hanwoo). **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, v.22, p.765-773, 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.
- KAZALA, E.C.; LOZEMAN, F.J.; MIR, P.S.; LAROCHE, A; BAILEY D.R.; WESELAKE R.J. Relationship of fatty acid composition to intramuscular fat content in beef from crossbred Wagyu cattle. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1717-1725, 1999.
- LARA, M.A.C.; GAMA, L.L.T.; BUFARAH, G.; SERENO, J. R. B.; CELEGATO, É. M.; ABREU, U.P. Genetic polymorphisms at the k-caseína locus in Pantaneiro cattle. **Archivos de Zootecnia**, v.51, p.99-105, 2002.
- MARSHALL, D.M. Genetics of meat quality. In: Fries R.; Ruvinsky A. (Ed.) **The genetics of cattle**. 1.ed. New York:CAB International, 1999. p.605-628.
- MATSUHASHI T.; MARUYAMA, S.; UEMOTO, Y.; KOBAYASHI, N.; MANNEN, H.; ABE T.; SAKAGUCHI S.; KOBAYASHI, E. Effects of bovine fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.12-22, 2011.
- MELE, M.; CONTE, G.; CASTIGLIONI, B.; CHESSA, S.; MACCIOTTA, N.P.P.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; PAGNACCO, G.; SECCHIARI, P. Stearoyl-CoA desaturase gene

polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 4458-4465, 2007.

MILANESI, E.; NICOLOSO, L.; CREPALDI, P. Stearoyl CoA desaturase (*SCD*) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.125, p. 63-67, 2008.

OH, D.; LEE, Y.; YEO, J. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism) of the stearoyl-coa desaturase (*SCD*) associated with unsaturated fatty acid in Hanwoo (Korean cattle). **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, p.757-765, 2011.

REGITANO, L.C.A.; COUTINHO, L.L. **Biologia molecular aplicada à produção animal**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.205.

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.

SANGER, F. Early nucleic acid chemistry. **Trends in Biochemical Sciences**, v.13, p.67-69, 1988.

SERRANO, G.M.S.; EGITO, A.A.; MCMANUS, C.; MARIANTE, A.S. Genetic diversity and population structure of Brazilian native bovine breeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, p.543-549. 2004.

SMITH, S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. **The FASEB Journal**, v.8, p.1248-1259, 1994.

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.

WERLE, E.; SCHNEIDER, C.; RENNER, M.; VÖLKER, M.; FIEHN, W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. **Nucleic Acids Research**, 20, p.4354-4355, 1994.

WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I.; NUTE, G.R.; FISHER, A.V.; CAMPO, M.M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v.66, p. 21-32, 2003.

ZEMBAYASHI, M.; NISHIMURA, K.; LUNT D.K.; SMITH S.B. Effect of breed type and sex on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of finishing steers and heifers. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3325-3332, 1995.

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.

## ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES ÁCIDO GRAXO SINTASE E ESTEAROIL-CoA DESSATURASE COM O PERFIL LIPÍDICO DE BOVINOS DA RAÇA BRANGUS

**Resumo** - Os recentes estudos do gene estaroil-CoA dessaturase (*SCD1*) revelaram associações com a variação no perfil de ácidos graxos na carne e no leite de bovinos. Objetivou-se analisar a associação dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* com a composição dos ácidos graxos e qualidade de carne do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos da raça Brangus. A genotipagem das 139 novilhas Brangus foi realizada por sequenciamento. Os alelos observados em maiores proporções foram o “G” do polimorfismo g.10153G>A (0,57) e o “T” do polimorfismo g.10213C>T (0,89). Os dois SNPs g.10153G>A e g.10213C>T não estão em equilíbrio de ligação em bovinos Brangus. O alelo A do polimorfismo g.10153G>A foi associado à redução de C18:0 e aumento no índice de dessaturação de C14:0. O alelo T do polimorfismo g.10213C>T foi associado à redução nas proporções de C14:0, C16:1, CLA e no índice de dessaturação do C16:0. Este estudo demonstra que os polimorfismos do gene *SCD1* estão envolvidos na variação do perfil de ácidos graxos de animais da raça Brangus.

**Palavras-Chave:** composição de ácidos graxos, SNP, *SCD1*, qualidade de carne

**POLYMORPHISMS ASSOCIATION OF FATTY ACID SYNTHASE GENES AND  
STEAROYL-CoA DESATURASE WITH LIPID PROFILE OF CATTLE BREED  
BRANGUS**

**Abstract** - Recent studies of gene staroyl-CoA desaturase (*SCD1*) revealed associations with variation in the fatty acid profile of the meat and milk of cattle. The objective of this study was to analyze the association of g.10153 G> A and g.10213 C> T *SCD1* gene polymorphisms with the fatty acid composition and meat quality of *Longissimus dorsi* muscle of Brangus cattle breed. Genotyping of 139 Brangus heifers was performed by sequencing. Alleles observed in higher proportions were the "G" from g.10153G> A (0.57) polymorphism and "T" from g.10213C> T (0.89) polymorphism. The two SNPs g.10153 G>A and g.10213 C>T are not in linkage disequilibrium in Brangus cattle. The "A" allele in the polymorphism g.10153 G>A was associated with the reduction of C18:0 and an increase in the rate of desaturation of C14: 0. The T allele in the g.10213 C>T polymorphism was associated with a reduction in the proportions of C14:0, C16:1 and CLA desaturation index of C16:0. This study demonstrates that *SCD1* gene polymorphisms are involved in the variation of the fatty acid profile of Brangus breed.

**Keywords:** fatty acid composition, meat quality, SNP, *SCD1*

## INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos têm uma contribuição importante na qualidade da carne, pois estão relacionados, principalmente, com seu sabor e aroma desejável, suas propriedades nutricionais e sua estabilidade oxidativa. O interesse pelo perfil dos ácidos graxos na carne vermelha resulta, especialmente, da necessidade de encontrar formas de se obter um produto mais saudável, uma vez que se atribui à carne de ruminantes a maior fonte de gorduras saturadas da dieta humana (Wood et al., 2003). Considerando este fato, pesquisas recentes com genes envolvidos na síntese e no metabolismo de lipídios apontam os genes das enzimas ácido graxo sintase (FASN) e estearoil-CoA dessaturase (*SCD1*) como candidatos para explicar parte da variação genética do perfil lipídico da carne de bovinos.

Ácido graxo sintase é um complexo de sete enzimas, codificadas por um único gene localizado no cromossomo 19, que regulam a síntese *de novo* de ácidos graxos de cadeia longa (Smith, 1994). Estas enzimas catalisam a formação de palmitato a partir da condensação sequencial de uma molécula acetil-coA e sete malonil-coA, na presença de NADPH (Roy et al., 2006).

Abe et al. (2009) identificaram duas mutações no gene FASN (g.16024A>G e g.16039T>C) em bovinos Wagyu x Limousin, encontradas no éxon 34, que determinam as substituições de aminoácidos treonina (T) para alanina (A) e triptofano (W) para arginina (R). Os polimorfismos identificados apresentaram associação com a composição lipídica nos depósitos adiposos, de modo que ao genótipo TW foi atribuído o efeito de diminuição de ácidos graxos saturados e aumento do teor de ácido oléico.

A estearoil-CoA dessaturase é uma enzima que catalisa a biossíntese de monoinsaturados, introduzindo uma dupla ligação na posição  $\Delta^9$  de alguns ácidos graxos (Ntambi, 1999). Os substratos preferenciais da enzima são os ácidos esteárico (C18:0) e palmítico (16:0), que são convertidos em oléico (C18:1) e palmitoléico (C16:1), respectivamente (Miyazaki & Ntambi, 2003). Em bovinos a enzima também é responsável pela síntese endógena de ácido linoléico conjugado (CLA) a partir da dessaturação do ácido vaccênico (C18:1 t-11), um dos produtos da biohidrogenação ruminal (Griinari et al., 2000).

O gene *SCD1* está localizado no cromossomo 26 de bovinos, possui 17.088 pb de comprimento com seis éxons e cinco íntrons, e codifica uma proteína de 359 aminoácidos (Mele et al., 2007). Taniguchi et al. (2004) identificaram três polimorfismos de base única (SNP) que, por estarem muito próximos encontravam-se em desequilíbrio de ligação no quinto éxon do gene *SCD1* de bovinos da raça Wagyu. Entre eles, os polimorfismos

g.10153G>A e g.10213C>T não causaram alteração no aminoácido, no entanto, g.10329T>C é uma mutação não-sinônima que gera a substituição de aminoácidos valina por alanina. Devido ao desequilíbrio de ligação, os polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T, podem ser estudados para análise indireta do g.10329T>C, que está associado ao aumento de monoinsaturados no tecido adiposo (Taniguchi et al., 2004). De forma semelhante, estudos têm demonstrado que estes polimorfismos podem estar associados com a cor e marmoreio das carnes (Reardon et al., 2010; Oh et al., 2011; Li et al. 2013).

Os ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o oléico (C18:1), estão relacionados positivamente com o *flavor* e com a suavidade da gordura da carne, além de possuir propriedades hipocolesterolêmicas (Wood, et al. 2003; Degirolamo et al., 2009).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a associação dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* e os polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* com o perfil lipídico, colorimetria e força de cisalhamento do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos Brangus.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas informações de 139 novilhas da raça Brangus e suas frequências genotípicas para investigar a associação dos polimorfismos com perfil de ácidos graxos e qualidade de carne em amostras do músculo *Longissimus dorsi*. Os animais de descarte oriundos da propriedade São Geraldo, localizada no município de Terenos, Mato Grosso do Sul, possuíam cerca de dois anos de idade, com aproximadamente 278,93±16,09 kg de peso vivo. Os animais foram alojados em piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú e receberam suplementação diária de concentrado e aditivos.

Os abates ocorreram em frigorífico comercial conforme as novilhas atingiam aproximadamente 330 kg, sendo abatidas por concussão cerebral por meio do uso de dardo cativo, segundo procedimentos de abate humanitário. Foram retiradas amostras do músculo *Longissimus dorsi* com 2,5 cm de espessura à altura da 9<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> costelas, embaladas a vácuo e congeladas a – 20 °C para posteriores análises.

As análises referentes à qualidade da carne foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Carne da Embrapa Gado de Corte e a avaliação do perfil lipídico foi realizada no Laboratório de Avaliação de Alimentos (FAMEZ/UFMS). Estas análises foram realizadas por Comparin (2013) seguindo as metodologias descritas a seguir.

A avaliação de cor foi realizada por colorímetro portátil, baseado nos sistemas de cor Hunter Lab. O colorímetro avalia a cor pela reflectância da luz em três dimensões: L\*, que representa a luminosidade; e a\* e b\* que representam a saturação e intensidade da cor. O valor de L\* igual a zero corresponde ao preto e 100 ao branco. Os valores de a\* variam de -a\* (verde) até +a\* (vermelho). Os valores de b\* variam de -b\* (azul) à +b\* (amarelo).

A maciez foi analisada de forma indireta pela força de cisalhamento (FC), conforme metodologia descrita por Wheller (1997). Para a avaliação da FC as amostras de *Longissimus dorsi* foram assadas em forno elétrico pré-aquecido a 300 °C até atingirem a temperatura interna de 71° C. Após este procedimento, utilizou-se um vazador, medindo 1,27 cm de diâmetro, para a retirada de seis amostras cilíndricas. O cisalhamento das amostras foi realizado em um texturômetro de marca TA XT Plus. A média de força utilizada para cortar os cilindros representou a força de cisalhamento de cada bife medida em kgf/cm<sup>2</sup>.

A extração dos lipídios e metilação dos ácidos graxos do músculo *Longissimus dorsi* dos Brangus foram efetuadas utilizando-se a técnica de Hara & Radin (1978). A separação e a detecção dos ácidos graxos foram feitas por meio de cromatografia gasosa usando cromatógrafo Thermo, modelo Trace CG Ultra com detector de ionização de chama (FID), em coluna capilar de sílica fundida de 100 m de comprimento, 0,25 mm diâmetro e 0,2 µm de espessura (Restek RTX® - 2330, Bellefonte, PA, USA). Os parâmetros de operação foram fixados em temperatura do detector de 270 °C e temperatura do injetor de 250 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 120 °C (5 min), subindo gradativamente até 240 °C (15 min) a 3 °C/min. Para o gás de arraste foi utilizado hélio com fluxo na coluna de 1,5 mL/min. Para injeção foi utilizado 1 µL.

Os dados sobre os tempos de retenção e as porcentagens dos componentes foram obtidos utilizando o software *Chrom Quest*, versão 4.2. A identificação e quantificação dos ácidos graxos foram realizadas por meio do tempo de retenção e pela comparação do tempo de retenção com a co-injeção de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras e padrões. As quantificações foram realizadas utilizando-se padrões externos da marca SIGMA.

Para se obter uma estimativa indireta da atividade da enzima SCD1, índices de saturação foram calculados de acordo com descrito por Mele et al. (2007), sendo: [produto insaturado/(substrato saturado + produto insaturado)].

A genotipagem dos polimorfismos do gene *FASN* foi realizada pela técnica de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*). A amplificação do gene *FASN* foi realizada com os *primers* descritos por Abe et al. (2009), dando origem a um fragmento de 336 pb. As reações de PCR foram feitas com um volume

final de 20 µL, utilizando-se 10 ng de DNA genômico; tampão 1X; 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 200 µM de cada dNTP; 0,4 µM de primer; 1,0 UI de Taq DNA polimerase. O protocolo da PCR foi de 94 °C/5', seguido por 30 ciclos de 94 °C/1'; temperatura de anelamento de 60 °C /1' e 72 °C/1', e com extensão final de 72 °C/7'.

O fragmento amplificado foi digerido com a enzima de restrição *HhaI* para a detecção do polimorfismo g.16024A>G e, com a enzima *NciI* para o polimorfismo g.16039T>C. As digestões foram realizadas utilizando 7µL do produto amplificado e 5 UI da enzima de restrição apropriada, seguido de incubação por 4 horas para *HhaI* e *NciI*, à 37 °C.

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 tamanho dos fragmentos de restrição foi determinado pela comparação com um marcador, padrão de peso molecular de 1kb. A imagem de cada gel foi fotografada por um sistema digital de fotodocumentação para posterior análise. Amostras representando os genótipos observados foram ainda sequenciadas para confirmação dos padrões de digestão observados nos géis de agarose.

Seguindo o observado por Abe et al. (2009), após a clivagem e a separação dos produtos digeridos por eletroforese observou-se, com a enzima *HhaI*, os alelos A (sem digestão do fragmento inicial de 336 pb) e G (fragmento de 262 pb e 74 pb) e, com a enzima *NciI*, os alelos T (sem digestão do fragmento inicial de 336 pb) e C (fragmento de 247 bp e 89 pb). A combinação dos alelos observados deu origem aos haplótipos TW e AR.

A genotipagem dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* foram realizadas no Laboratório de Genômica e Melhoramento Animal da Embrapa Gado de Corte. A extração de DNA de músculo da raça Brangus foi realizada utilizando protocolo adaptado de Regitano e Coutinho (2001) (Anexo I). A região do gene *SCD1*, que flanqueia os dois polimorfismos, foi amplificada com *primer* descrito por Taniguchi et al. (2004). A frequência gênica dos polimorfismos estudados no gene *SCD1* foi obtida mediante o sequenciamento do fragmento amplificado de 196 pb, baseado na metodologia de Sanger (1988).

As reações de PCR foram feitas com um volume final de 20 µL, utilizando-se 10 ng de DNA genômico; tampão 1X; 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 200 µM de cada dNTP; 0,4 µM de primer; 1,0 UI de Taq DNA polimerase. O protocolo da PCR foi de 94 °C/2', seguido por 35 ciclos de 94 °C/30''; temperatura de anelamento de 65 °C/30'' e 72 °C/1', e com extensão final de 72 °C/7'.

O produto da PCR foi purificado com 0,5 UI das enzimas EXO-SAP (Exonuclease I, Shrimp Alkaline Phosphatase) de acordo com Werle et al. (1994) e incubado a 37 °C por 30 minutos seguido de 20 minutos a 80 °C. A reação de sequenciamento foi realizada pelo

método de terminação de cadeia utilizando dideoxinucleotídeos marcados com fluorocromos (Sanger, 1988). Foi utilizado o kit *Big Dye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing* sendo a reação preparada em um volume final de 10 µL com 1,6 µM de primer e aproximadamente 10 ng do DNA purificado com EXO-SAP. A amplificação foi realizada em termociclador Veriti Thermal Cycler da Applied Biosystems, utilizando com o seguinte programa: 96 °C /1', 25 ciclos a 96 °C/10", 50 °C/5" e 60 °C/4'. Por fim, uma nova etapa de purificação foi realizada, utilizando EDTA (125 mM, pH 8), etanol 70% e etanol absoluto. As reações foram injetadas em sequenciador automático *ABI-3130*, da Applied Biosystems.

Os eletroferogramas gerados foram analisados por meio do programa *SeqScape® Software v 2.1* (Applied Biosystems), onde foi possível observar os alelos dos SNPs nas posições 702 pb e 762 pb na sequência referência da *Open Read Frame* do gene *SCD1* descrita na Patente nº US 7,723,025 B2.

As frequências alélicas e genótípicas foram obtidas por contagem direta. Para verificar a associação dos fenótipos com os genótipos observados dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T foi utilizada análise de variância, a 5% de probabilidade. Para este procedimento estatístico utilizou-se o PROC GLM do software SAS v.9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Gene *FASN*

Abe et al. (2009) não foram capazes de detectar recombinação entre as mutações g.16024A>G e g.16039T>C, e dessa sua frequências foram definidas por um haplótipo caracterizado pelo caractere que representa os aminoácidos substituídos. O haplótipo TW dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C determina aumento da proporção monoinsaturado:saturado na gordura subcutânea e gordura intermuscular, devido a modificações na enzima ácido graxo sintase (Abe et al., 2009).

Nos bovinos Brangus analisados observou-se apenas o haplótipo AR para os locos g.16024A>G e g.16039T>C. Provavelmente a frequência de TW é tão baixa nesta raça sintética, que não foi possível observá-lo neste estudo. Abe et al. (2009) já haviam relatado anteriormente uma frequência muito pequena (0,02) do haplótipo TW em animais da raça Brangus.

**Tabela 1.** Frequência alélica e haplotípica dos polimorfismos g.16024A>G e g.16039T>C do gene *FASN* em bovinos da raça Brangus.

Frequências (n=139)	g.16024A>G e g.16039T>C	
Haplótipos	TW/TW	-
	TW/AR	-
	AR/AR	1
Alelos	TW	-
	AR	1

### Gene *SCD1*

As novilhas Brangus foram genotipadas utilizando os polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1*. Os alelos G do polimorfismo g.10153G>A e T do polimorfismo g.10213C>T foram observados em maior frequência (0,57 e 0,89, respectivamente) (Tabela 2). Além disso, na população de Brangus analisada neste trabalho, não foi observado o genótipo CC do loco g.10213C>T.

As frequências observadas entre os dois locos diferem, indicando que na raça Brangus os SNPs estudados não estão em equilíbrio de ligação. Em contraste, Taniguchi et al. (2004) relataram que estes polimorfismos estão completamente ligados na raça Wagyu. Entretanto, a evidência de recombinação entre estes dois locos já havia sido relatada anteriormente por Milanesi et al. (2008) em raças italianas de corte e leite e em bovinos coreanos da raça Hanwoo (Oh et al., 2011).

**Tabela 2.** Frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T em bovinos da raça Brangus.

Frequências (n=139)	g.10153G>A		g.10213C>T	
Genótipos	GG	0,23	CC	-
	AG	0,70	TC	0,22
	AA	0,07	TT	0,78
Alelos	G	0,57	C	0,11
	A	0,43	T	0,89

As variáveis geradas por Comparin (2013) e utilizadas neste trabalho estão resumidas na tabela 2, bem como, o número total de observações, a média geral, o desvio padrão, os valores máximos e mínimos e o coeficiente de variação.

O polimorfismo g.10153G>A foi associado com a redução de esteárico (C18:0) no *Longissimus dorsi* de Brangus ( $P<0,05$ ) (Tabela 4). Esta redução pode ser resultado da dessaturação do C18:0, pois este ácido graxo é substrato preferencial da enzima *SCD1* na formação de C18:1 (Ntambi, 1999). Cerca de 27% do C18:0 é dessaturado em C18:1 no tecido adiposo subcutâneo e 6,8% no intramuscular (Gruffat et al., 2008). Este resultado é condizente ao encontrado por Oh et al. (2011), que observaram associação do g.10153G>A com a redução de C18:0 no tecido adiposo de bovinos coreanos Hanwoo.

A relação entre os polimorfismos do quinto éxon do gene *SCD1* e o decréscimo do conteúdo de C18:0 também foi observado no tecido adiposo de bovinos das raças Simental e Holandesa (Barton et al., 2010; Narukami et al., 2011). Apesar de ser um ácido graxo saturado, em razão da alta taxa de dessaturação, o C18:0 tem efeito neutro na alteração do nível de colesterol sanguíneo, uma vez que é rapidamente convertido C18:1, considerado hipocolesterolêmico (Baggio & Bragagnolo, 2007).

Foram observadas diferenças significativas para o índice de dessaturação do C14:0 entre os genótipos do polimorfismo g.10153G>A, sendo que o genótipo AA apresentou as maiores médias do índice quando comparado ao genótipo GG e AG médias intermediárias ( $P<0,05$ ) (Tabela 5). A estimativa do efeito aditivo do alelo A para esta característica foi de 0,904%. Este resultado está de acordo com o encontrado por Baeza et al. (2012) que, encontraram associação positiva entre o polimorfismo g.10153G>A e o índice de dessaturação do C14:0 também em animais Brangus, sendo relatado efeito de dominância do alelo A.

Efeitos de associação de polimorfismos do quinto éxon do gene *SCD1* com o aumento do índice de dessaturação de C14:0, também foram relatados no tecido adiposo de bovinos Simental, Hanwoo e Wagyu (Ohsaki et al., 2009; Barton et al., 2010; Oh et al., 2011; Baeza et al., 2012) e no leite de vacas Holandesas (Mele et al., 2007).

Não foi encontrada associação significativa entre os indicadores de cor na carne com os dois SNPs investigados ( $P>0,05$ ). No entanto, foram reportados pela literatura efeitos significativos do genótipo AA do polimorfismo g.10153G>A com a produção de carnes mais claras, ou seja, maiores valores  $L^*$  (Reardon et al., 2010), e com vermelho menos intenso (valores inferiores de  $a^*$ ) (Reardon et al., 2010, Li et al. 2013).

**Tabela 3.** Dados fenotípicos relacionados a perfil ácidos graxos, colorimetria (L\*, a\*, b\*) e força de cisalhamento (FC) do músculo Longissimus dorsi de Brangus.

Variáveis	Observações	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	CV (%)
C14:0 (mirístico) (%)	139	2,8382	0,7310	1,45	4,72	25,9063
C14:1 (miristoléico) (%)	139	0,2867	0,1012	0	0,56	35,1284
C15:0 (pentadenóico) (%)	139	0,2284	0,1911	0	2,02	83,2738
C16:0 (palmítico) (%)	139	26,2291	2,6186	21,07	34,04	9,9182
C16:1 (palmitoléico) (%)	139	1,3626	0,3589	0	2,80	25,9261
C17:0 (heptadecanóico) (%)	139	6,1836	1,0907	3,46	8,89	16,1287
C17:1 (cis-heptadecanóico) (%)	139	0,2008	0,0542	0,09	0,34	25,1429
C18:0 (esteárico) (%)	139	19,9567	2,6449	14,77	30,44	13,2004
C18:1 (oléico) (%)	139	38,8226	3,9692	24,75	46,41	10,3288
C18:2 <i>c</i> -9 <i>t</i> -11 (CLA) (%)	139	0,1888	0,1233	0	0,91	65,8029
C18:2 <i>c</i> -9,12 (linoléico) (%)	139	2,1479	1,0881	0,54	7,52	48,9422
C18:3 n-3 (linolênico) (%)	139	0,2657	0,1314	0	0,61	48,4278
C 20:4 n-6 (araquidônico) (%)	139	1,2889	0,7251	0	4,43	48,4277
Saturados (%)	139	55,4353	4,4824	46,75	66,62	8,0884
Insaturados (%)	139	44,5646	4,4824	33,38	53,25	10,0614
Monoinsaturados (%)	139	40,6732	3,9528	27,98	48,67	9,8327
Poliinsaturados (%)	139	3,8914	1,8558	1,20	12,64	47,1541
Insaturados:Saturados	139	0,8154	0,1442	0,50	1,14	17,6560
Monoinsaturados:Saturados	139	0,7434	0,1245	0,42	1,03	16,8376
Poliinsaturados:Saturados	139	0,0719	0,0382	0,02	0,26	52,6246
Índice C14:0 <sup>1</sup>	139	0,0908	0,0199	0	0,14	21,6334
Índice C16:0 <sup>2</sup>	139	0,0491	0,0098	0	0,82	19,8864
Índice C18:0 <sup>3</sup>	139	0,6596	0,0485	0,51	0,75	7,4165
L*	139	41,8107	3,2661	33,04	50,72	7,9290
b*	139	15,3030	2,1735	9,76	18,58	11,8832
a*	139	18,6257	1,7909	12,8	25,37	11,8057
FC (kgf/cm <sup>2</sup> )	139	8,2969	2,2155	2,95	15,71	26,8468

<sup>1</sup> Índice C14:0 (Índice de dessaturação do C14:0) = [C14:1/(C14:1 + C14:0)]; <sup>2</sup> Índice C16:0 (Índice de dessaturação do C16:0) = [C16:1/(C16:1 + C16:0)]; <sup>3</sup> Índice C18:0 (Índice de dessaturação do C18:0) = [C18:1/(C18:1 + C18:0)].

**Tabela 4.** Efeito de substituição dos alelos dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* na composição de ácidos graxos e qualidade de carne do músculo *Longissimus dorsi* de Brangus.

Variáveis	g.10153G>A		g.10213C>T		CV (%)
	Efeito do alelo	<i>p-value</i>	Efeito do alelo	<i>p-value</i>	
C14:0	-0,05306	0,6695	-0,36593	0,0198*	25,9063
C14:1	0,02754	0,1074	-0,01586	0,4693	35,1284
C15:0	0,03921	0,2237	-0,01199	0,7712	83,2738
C16:0	0,42972	0,3292	-0,47884	0,3946	9,9182
C16:1	0,08950	0,3274	-0,23025	0,0023**	25,9261
C17:0	-0,16689	0,1354	-0,01896	0,9300	16,1287
C17:1	0,01256	0,1427	-0,01071	0,3281	25,1429
C18:0	-0,92477	0,0393*	-0,00763	0,9895	13,2004
C18:1	0,60223	0,3748	0,94858	0,2731	10,3288
C18:2 c-9 t-11	0,01044	0,6191	-0,07219	0,0063**	65,8029
C18:2 c-9,12	-0,05128	0,7729	0,15850	0,4843	48,9422
C18:3 n-3	-0,00773	0,7222	-0,00389	0,8884	48,4278
C 20:4 n-6	-0,01087	0,9293	0,11009	0,4808	48,4277
Saturados	-0,67441	0,3741	-0,88411	0,3613	8,0884
Insaturados	0,67440	0,3741	0,88412	0,3613	10,0614
Monoinsaturados	0,73257	0,2794	0,69128	0,4244	9,8327
Poliinsaturados	-0,05817	0,8512	0,19283	0,6260	47,1541
Ins:Sat <sup>1</sup>	0,02267	0,3523	0,02866	0,3568	17,6560
Mono:Sat <sup>2</sup>	0,02339	0,2700	0,02432	0,3692	16,8376
Poli:Sat <sup>3</sup>	-0,00072	0,9102	0,00434	0,5947	52,6246
Índice C14:0 <sup>4</sup>	0,00904	0,0072**	0,00460	0,2894	21,6334
Índice C16:0 <sup>5</sup>	0,00232	0,1606	-0,00642	0,0021**	19,8864
Índice C18:0 <sup>6</sup>	-0,01264	0,1280	0,00518	0,6267	7,4165
L* <sup>7</sup>	-0,22650	0,6861	1,34192	0,0590	7,9290
b* <sup>7</sup>	0,11660	0,2419	0,43730	0,4076	11,8832
a* <sup>7</sup>	0,43596	0,7044	-0,39433	0,3704	11,8057
FC <sup>8</sup>	-0,14381	0,7025	0,43237	0,3677	26,8468

\**p*<0,05; \*\**p*<0,01; <sup>1</sup>Relação Insaturados:Saturados; <sup>2</sup>Relação Monoinsaturados:Saturados; <sup>3</sup>Relação Poliinsaturados:Saturados; <sup>4</sup>Índice C14:0 (Índice de dessaturação do C14:0) = [C14:1/(C14:1 + C14:0)]; <sup>5</sup>Índice C16:0 (Índice de dessaturação do C16:0) = [C16:1/(C16:1 + C16:0)]; <sup>6</sup>Índice C18:0 (Índice de dessaturação do C18:0) = [C18:1/(C18:1 + C18:0)]; <sup>7</sup>Colorimetria (L\*, a\*, b\*); <sup>8</sup>Força de Cisalhamento.

**Tabela 5.** Efeito dos genótipos dos polimorfismos g.10153G>A e g.10213C>T do gene *SCD1* na composição de ácidos graxos e qualidade de carne do músculo *Longissimus dorsi* de Brangus.

Variáveis	g.10153G>A				g.10213C>T			CV (%)
	Médias			<i>p</i> -value	Médias		<i>p</i> -value	
	GG	AG	AA		TC	TT		
C14:0 (%)	2,944	2,792	2,922	0,5859	3,126	2,760	0,0198*	25,9063
C14:1 (%)	0,270	0,285	0,336	0,1814	0,299	0,283	0,4693	35,1284
C15:0 (%)	0,222	0,217	0,337	0,1314	0,238	0,226	0,7712	83,2738
C16:0 (%)	25,874	26,237	26,790	0,6123	26,594	26,115	0,3946	9,9182
C16:1 (%)	1,336	1,339	1,588	0,0739	1,543	1,313	0,0023**	25,9261
C17:0 (%)	6,253	6,206	5,818	0,4310	6,197	6,178	0,9300	16,1287
C17:1 (%)	0,194	0,199	0,226	0,1961	0,209	0,198	0,3281	25,1429
C18:0 (%)	20,584	19,959	18,481	0,0878	19,963	19,956	0,9895	13,2004
C18:1 (%)	38,485	38,805	39,928	0,5985	38,081	39,029	0,2731	10,3288
C18:2 c-9 t-11 (%)	0,205	0,174	0,261	0,0546	0,246	0,173	0,0063**	65,8029
C18:2 c-9,12 (%)	2,139	2,184	1,957	0,7837	2,029	2,188	0,4843	48,9422
C18:3 n-3 (%)	0,259	0,274	0,224	0,4235	0,270	0,266	0,8884	48,4278
C20:4 n-6 (%)	1,237	1,325	1,132	0,6314	1,203	1,313	0,4808	48,4277
Saturados (%)	55,875	55,412	54,348	0,6389	56,119	55,235	0,3613	8,0884
Insaturados (%)	44,124	44,588	45,652	0,6389	43,880	44,764	0,3613	10,0614
Monoinsaturados (%)	40,285	40,629	42,078	0,4432	40,133	40,824	0,4244	9,8327
Poliinsaturados (%)	3,839	3,958	3,575	0,7830	3,747	3,940	0,6260	47,1541
INS:SAT <sup>1</sup>	0,802	0,815	0,854	0,5927	0,793	0,821	0,3568	17,6560
MONO:SAT <sup>2</sup>	0,731	0,742	0,788	0,4301	0,724	0,749	0,3692	16,8376
POLI:SAT <sup>3</sup>	0,071	0,073	0,066	0,8072	0,069	0,073	0,5947	52,6246
Índice C14:0 <sup>4</sup>	0,083 <sup>b</sup>	0,091 <sup>ab</sup>	0,102 <sup>a</sup>	0,0256*	0,087	0,091	0,2894	21,6334
Índice C16:0 <sup>5</sup>	0,049	0,048	0,056	0,0542	0,054	0,048	0,0021**	19,8864
Índice C18:0 <sup>6</sup>	0,651	0,659	0,680	0,2614	0,656	0,660	0,6267	7,4165
L* <sup>7</sup>	41,902	41,838	41,311	0,8690	40,733	42,075	0,0590	7,9290
b* <sup>7</sup>	15,077	15,381	15,152	0,4423	14,951	15,388	0,2640	11,8832
a* <sup>7</sup>	18,139	18,738	18,874	0,7172	18,945	18,550	0,4076	11,8057
FC (kgf/cm <sup>2</sup> ) <sup>8</sup>	8,364	8,314	7,998	0,8908	7,951	8,383	0,3677	26,8468

\**p*<0,05; \*\**p*<0,01; <sup>1</sup>Relação Insaturados:Saturados; <sup>2</sup>Relação Monoinsaturados:Saturados; <sup>3</sup>Relação Poliinsaturados:Saturados; <sup>4</sup>Índice C14:0 (Índice de dessaturação do C14:0) = [C14:1/(C14:1 + C14:0)]; <sup>5</sup>Índice C16:0 (Índice de dessaturação do C16:0) = [C16:1/(C16:1 + C16:0)]; <sup>6</sup>Índice C18:0 (Índice de dessaturação do C18:0) = [C18:1/(C18:1 + C18:0)]; <sup>7</sup>Colorimetria (L\*, a\*, b\*); <sup>8</sup>Força de Cisalhamento.

O genótipo TT do polimorfismo g.10213C>T foi associado com redução do conteúdo de C14:0 no músculo *Longissimus dorsi* de Brangus ( $P<0,05$ ), sendo que, com uma cópia do alelo T há redução de -36,593% na proporção de C14:0. A associação do genótipo TT do SNP g.10213C>T com o decréscimo do conteúdo C14:0 na gordura intramuscular também foi relatada por Oh et al. (2011) em bovinos Hanwoo. O efeito de redução desse ácido graxo saturado na carne é um resultado desejável, pois o ácido mirístico é um dos responsáveis pela elevação LDL - colesterol no plasma sanguíneo do homem (Siri-Tarino et al., 2010).

O genótipo TT apresentou associação altamente significativa com o decréscimo na proporção de C16:1 ( $P<0,01$ ), sendo que o efeito de substituição para o alelo T foi de -23,025%. Certamente em consequência desse resultado, observa-se associação altamente significativa do genótipo TT com a redução no índice de dessaturação C16:0 ( $P<0,01$ ). De forma que, quando o alelo C é substituído pelo alelo T, há efeito de redução de -0,642% no índice. Taniguchi et al. (2004) relataram em seu trabalho resultados divergentes, em que o alelo T por estar em desequilíbrio de ligação com o alelo C da mutação não-sinônima g.10329T>C estava relacionado com aumento de monoinsaturados como o C16:1, em animais da raça Wagyu.

Li et al. (2010) investigaram o polimorfismo g.10329T>C do gene *SCD1* e encontraram resultados semelhantes ao deste trabalho, em que o genótipo CC do estava relacionado com uma menor concentração de C16:1, tanto na gordura subcutânea e intramuscular de tourinhos das raças Asturiana de los Valles e Asturiana de la Montaña. Estes autores postularam que o resultado divergente indica que outros SNPs do *SCD1* ou genes podem estar envolvidos na dessaturação desse ácido graxo. Além disso, este fato evidencia que, quando o efeito de associação de um polimorfismo é encontrado para uma determinada raça deve ser validado na população de interesse antes do seu uso comercial.

O isômero C18:2 *c-9 t-11* do ácido linoléico conjugado (CLA) têm despertado grande interesse nos últimos anos, devido ao seu potencial anticarcinogênico e antiaterogênico (Ip et al., 1991; McGuire & McGuire, 2000). Neste trabalho, o genótipo TT apresentou associação altamente significativa com a redução de CLA ( $P<0,01$ ), sendo que, o efeito de substituição para o alelo T foi de -7,219%. Li et al. (2011) relataram a associação do genótipo CC do SNP g.10329T>C com aumento na concentração de alguns isômeros do CLA na gordura de bovinos de rebanhos comerciais canadenses. No entanto, outros estudos que analisaram a relação dos polimorfismos *SCD1* sobre o índice de CLA não encontraram efeitos na variação de sua proporção no tecido adiposo (Barton et al., 2010; Orru et al 2011; Baeza et al., 2012).

O papel da enzima na síntese endógena de CLA no leite de bovinos já foi bem elucidado (Griinari et al., 2000) e relações positivas entre polimorfismos do gene *SCDI* e alterações conteúdo de CLA foram relatadas (Schennink, 2008; Kgwatalala, 2008). Entretanto, são poucos os estudos que determinam a medida da biossíntese de CLA do tecido adiposo de ruminantes. Entre eles, Gruffat et al. (2008) relataram baixas taxas de dessaturação do ácido vaccênico (C18:1 t-11) em CLA, de cerca de 2,5% na gordura intramuscular, e 4,4% na subcutânea, provavelmente devido a uma afinidade limitada de enzima para o ácido vaccênico nos tecidos adiposos. Ainda de acordo com esses autores, aproximadamente 10,8% e 14,5% do CLA presente nos tecidos adiposos subcutâneos e intramusculares, respectivamente, pode ser dessaturado a C18:3 n-3. Dessa forma, com os resultados divergentes reportados até o momento devem ser considerados com cuidado, pois o papel da enzima e do gene *SCDI* na variação de CLA em tecidos adiposos de bovinos ainda não é totalmente compreendido.

Os polimorfismos do gene *SCDI* foram inicialmente associados à variação da quantidade de monoinsaturados nos tecidos adiposos de bovinos Wagyu (Taniguchi et al., 2004). Entretanto neste estudo, não foi encontrado efeito dos SNPs na proporção total de monoinsaturados, assim como Li et al. (2010), que não identificaram associação do g.10329T>C com o conteúdo total de monoinsaturados nas raças Asturiana de los Valles e Asturiana de la Montaña. Estas evidências sugerem que, nos tecidos adiposos bovinos, a enzima tem preferência por alguns substratos individualmente. Em especial, a associação encontrada entre o polimorfismo g.10153G>A e o aumento do índice de dessaturação e do polimorfismo g.10213C>T com a redução no conteúdo C14:0, reforça a hipótese levantada anteriormente pela literatura, de que existe uma grande afinidade da enzima com C14:0 para formação de C14:1 no tecido adiposo de bovinos (Barton et al., 2010; Baeza et al., 2012; Ohsaki et al., 2009; Li et al., 2011; Ishii et al., 2013).

## CONCLUSÕES

Os polimorfismos do gene *SCDI* estudados estão envolvidos na variação do perfil de ácidos graxos no *Longissimus dorsi* de animais da raça Brangus. O alelo A do loco g.10153G>A está envolvido com a redução do ácido graxo saturado C18:0 e aumento na proporção do índice de dessaturação do C14:0. O alelo T do loco g.10213C>T com a redução de C14:0, C16:1 e CLA e no índice de dessaturação de C16:1. Este trabalho evidencia que é possível utilizar ferramentas moleculares na produção animal vislumbrando oferecer ao

mercado consumidor um produto de qualidade, perfil lipídico adequado e com valor agregado.

## REFERÊNCIAS

- 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.
- BAEZA, M.C.; CORVA, P.M.; SORIA, L.A.; PAVAN, E.; RINCON, G.; MEDRANO, J. F. Genetic variants in a lipid regulatory pathway as potential tools for improving the nutritional quality of grass-fed beef. **Animal Genetics**, v.44, p.121-129, 2012.
- BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Formação de óxidos de colesterol e alteração dos ácidos graxos em produtos cárneos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, p.10-17, 2007.
- BARTON, L.; KOTT, T.; BURES, D.; REHAK, D.; ZHRADKOVA, R.; KOTTOVA, B. The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*) and sterol regulatory element binding protein-1 (*SREBP-1*) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. **Meat Science**, v.85, p.15-20, 2010.
- COMPARIN, M.A.S. **Aditivos alimentares na terminação de novilhas Brangus a pasto**. 2013. 5 f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.
- DEGIROLAMO, C; SHELNESS, G.S.; RUDEL, L.L. LDL cholesteryl oleate as a predictor for atherosclerosis: evidence from human and animal studies on dietary fat. **Journal of Lipid Research**, 2009, v.50, p.434-439.
- GRIINARI, J.M.; CORL, B. A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by D9-desaturase. **Nutrient Metabolism**, p.2285-2291, 2000.
- GRUFFAT, D., REMOND, C., DURAND, D., LOREAU, O., & BAUCHART, D. 9cis, 11trans conjugated linoleic acid (CLA) is synthesised and desaturated into conjugated 18:3 in bovine adipose tissues. **Animal**, v.2, p.645-652, 2008.
- HARA, A.; HADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, v.90, p.420-426, 1978.
- IP, C., CHIN, S.F., SCIMECA, J.A., PARIZA, M.W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. **Cancer Research**, v. 51, p.6118-6124, 1991.
- ISHII, A.; YAMAJI, K.; UEMOTO, Y.; SASAGO, N.; KOBAYASHI, E.; KOBAYASHI, N.; MATSUHASHI, T.; MARUYAMA, S.; MATSUMOTO, H.; SASAZAKI, S.; MANNEN, H. Genome-wide association study for fatty acid composition in Japanese Black cattle. **Animal Science Journal**, 2013.

KGWATALALA, P.M.; IBEAGHA-AWEMU, E.M.; HAYES, J.F.; ZHAO, X. Stearoyl-CoA desaturase1 3'UTR SNPs and their influence on milk fatty acid composition of Canadian Holstein cows. **J. Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.126, p.394-403, 2009.

LI C., VINSKY M., ALDAI N., OSORO K.; DUGAN M.E.R.; MCALLISTER, T. A. Associations of a bovine SCD SNP with fatty acid composition in concentrate-finished yearling bulls of different muscular hypertrophy genotypes. **Proceedings...** Leipzig: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 2010.

LI, C.; ALDAI, N., VINSKY, M. et al. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearoyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers. **Animal Genetics**, v.43, p.93-97, 2011.

LI, X.; EKERLJUNG, M.; LUNDSTRÖM, K.; LUNDÉN A. Association of polymorphisms at *DGAT1*, leptin, *SCD1*, *CAPN1* and *CAST* genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. **Meat Science**, v.94 p.153-158, 2013.

MATSUHASHI T.; MARUYAMA, S.; UEMOTO, Y. Effects of bovine fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.12-22, 2011.

MCGUIRE, M.A.; MCGUIRE, M.K. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. **Journal of Animal Science**, v. 77, p.1-8. 2000.

MELE, M.; CONTE, G.; CASTIGLIONI, B.; CHESSA, S.; MACCIOTTA, N.P.P.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; PAGNACCO, G.; SECCHIARI, P. Stearoyl-CoA desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 4458-4465, 2007.

MIYAZAKI, M.; NTAMBI, J.M. Role of stearoyl-coenzyme A desaturase in lipid metabolism. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids** ,v.68, p.113-121, 2003.

NARUKAMI, T. SASAZAKI, S.; OYAMA, K.; NOGI, T.; TANIGUCHI, M.; MANNEN, H. Effect of DNA polymorphisms related to fatty acid composition in adipose tissue of Holstein cattle. **Animal Science Journal**, v.82, p.406-411, 2011.

NTAMBI, J.M. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. **Journal of Lipid Research**, v.40, p.1549-1558, 1999.

OH, D.; LEE, Y.; YEO, J. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism) of the stearoyl-coa desaturase (*SCD*) associated with unsaturated fatty acid in Hanwoo (Korean cattle). **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, p.757-765, 2011.

OHSAKI, H.; TANAKA, A.; HOASHI, S.; SASAZAKI, S.; OYAMA, K.; TANIGUCHI, M.; MUKAI, F.; MANNEN, H. Effect of *SCD* and *SREBP* genotypes on fatty acid composition in

adipose tissue of Japanese Black cattle herds. **Animal Science Journal**, v.80, p.225-232, 2009.

ORRÙ, L.; CIFUNI, G.F.; PIASENTIER, E.; CORAZZIN, M.; BOVOLENTA, S.; MOIOLI, B. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the LEP and *SCD1* genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls. **Meat Science**, v.87, p.344-348, 2011.

REARDON, W.; MULLEN, A.M.; SWEENEY, T.; HAMILL, R.M. Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine *M. longissimus* and *M. semimembranosus*. **Meat Science**, v.86, p.270-275, 2010.

REGITANO, L.C.A.; COUTINHO, L.L. **Biologia molecular aplicada à produção animal**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.205.

SANGER, F. Early nucleic acid chemistry. **Trends in Biochemical Sciences**, v.13, p.67-69, 1988.

SCHENNINK, A.; HECK, J. M. L.; BOVENHUIS, H.; VISKER, M. H. P. W.; VAN VALENBERG, H. J. F.; VAN ARENDONK, J. A. M. Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-coa desaturase (*SCD1*) and acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*). **Journal of Dairy Science**, v.91, p.2135–2143, 2008.

SIRI-TARINO, P.W.; SUN, Q. HU, F.B.; KRAUSS, R.M. Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease: modulation by replacement nutrients. **Current Atherosclerosis Reports**, v.12, p.384-390, 2010.

SMITH, S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. **The FASEB Journal**, v.8, p.1248-1259, 1994.

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.

WERLE, E.; SCHNEIDER, C.; RENNER, M.; VÖLKER, M.; FIEHN, W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. **Nucleic Acids Research**. 22. n.20, p.4354-4355, 1994.

WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; JOHNSON, L.P.; MILLER, M.F.; MILLER, R.K.; KOOHMARAIE, M.A. comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2423-2432, 1997.

WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I.; NUTE, G.R.; FISHER, A.V.; CAMPO, M.M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v.66, p. 21-32, 2003.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo de genes envolvidos no metabolismo lipídico pode auxiliar no entendimento na variação da composição de ácidos graxos nos tecidos adiposos de bovinos. O presente trabalho buscou verificar a variabilidade genética de polimorfismos dos genes esteroil-CoA (*SCD1*) e ácido graxo sintase (*FASN*) em raças criadas no Brasil e associações entre as frequências genotípicas com dados de composição de ácidos graxos e qualidade de carnes de Brangus. Com base nos resultados é possível verificar que:

- A frequência do haplótipo favorável dos polimorfismos do gene *FASN* é mais pronunciada em animais da raça Wagyu em relação às outras populações estudadas. Dessa forma, sugere-se que estudos relacionando estes polimorfismos com dados fenotípicos nessas raças sejam feitos para avaliar se o haplótipo TW está realmente associado com o perfil lipídico e o seu potencial como um marcador para melhoria da carne.
- Os polimorfismos do gene *SCD1* estão relacionados com mudanças na composição de lipídios na gordura da carne de Brangus, podendo-se vislumbrar a utilização desses marcadores como uma ferramenta para seleção de animais dessa raça, com a composição de ácidos graxos desejável.
- O trabalho realizado demonstra a existência de uma alta variabilidade genética nas raças criadas no Brasil, em especial as raças taurinas localmente adaptadas, demonstrando o potencial de uso destas em futuros programas de melhoramento. Para tanto, sugere-se que sejam realizados estudos visando a validação dos polimorfismos observados nas raças envolvidas no presente trabalho.

## ANEXOS

### Anexo I - Protocolo para extração de DNA de músculo adaptado de Regitano e Coutinho (2001)

- 1) Pesar 300 mg da amostra de músculo;
- 2) Macerar a amostra utilizando nitrogênio líquido e transferi-las para tubos de 2 mL;
- 3) Adicionar 800  $\mu$ L de tampão de lise\*;
- 4) Homogeneizar a solução por inversão (10 a 15 vezes);
- 5) Adicionar 160  $\mu$ L de SDS (Dodecil Sulfato de Sódio) 10% previamente aquecido;
- 6) Homogeneizar a solução por inversão (10 a 15 vezes);
- 7) Adicionar 20  $\mu$ L de Proteinase K (20  $\mu$ g/  $\mu$ L);
- 8) Incubar as amostras em banho-maria a 55° C por 120’;
- 9) Centrifugar a 6000 g por 5’ para sedimentar os *debris* celulares;
- 10) Transferir 800  $\mu$ L do sobrenadante para um novo tubo de 2 mL;
- 11) Adicionar 300  $\mu$ L de Na Cl 6M saturado;
- 12) Homogeneizar a solução, em seguida vortexar por 10’’;
- 13) Centrifugar a máxima velocidade por 30’ a 4° C;
- 14) Transferir o sobrenadante aproximadamente 900  $\mu$ L novamente para outro tubo de 2 mL;
- 15) Adicionar igual volume de isopropanol gelado (900  $\mu$ L);
- 16) Incubar a -20° C de 60’ a 120’ (este passo pode ser pulado se obtiver uma medusa de DNA grande);
- 17) Centrifugar a 10000g por 10’;
- 18) Descartar o sobrenadante e adicionar 1000  $\mu$ L de etanol 70% gelado;
- 19) Lavar o precipitado (*pellet*) invertendo o tubo 10 vezes;
- 20) Centrifugar a 10000g por 5’ a 4° C;
- 21) Descartar o sobrenadante;
- 22) Secar o *pellet* na bancada por 40’ a 60’ ou a vácuo por 5’;
- 23) Ressuspender o *pellet* em 100 a 300  $\mu$ L de Tris-EDTA (TE- 10:1) ou água Mili-Q estéril;
- 24) Incubar em banho-maria a 55° C de 40’ a 120’;
- 25) Quantificar as amostras;
- 26) Armazenar o DNA extraído a -20°C.

\*Tampão de lise:

Solução estoque	Concentração Final
Tris-HCl pH 7,6 – 8,0	100 mM
EDTA pH 7,6 – 8,0	10 mM
NaCl	300 mM