

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES COM
CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DA CARNE E
CARCAÇA EM BOVINOS PRECOCES

Acadêmico: Brayan Dias Dauria

Aquidauana-MS
Julho/2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES COM
CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DA CARNE E
CARCAÇA EM BOVINOS PRECOCES

Acadêmico: Brayan Dias Dauria
Orientador: Prof. Dr. André Luiz Julien Ferraz
Co-orientador: Dr. Gelson Luis Dias Feijó

“Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte de exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”

Aquidauana-MS
Julho/2017

D264a Dauria, Brayan Dias

Associação de marcadores moleculares com características de qualidade da carne e carcaça em bovinos precoces/ Brayan Dias Dauria. – Aquidauana, MS: UEMS, 2017.
70f.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2017.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Julien Ferraz.

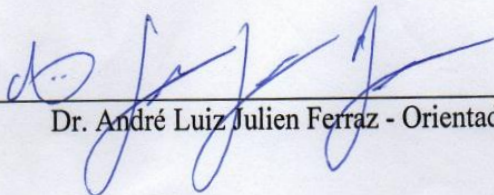
1. Marcador molecular 2. SNP 3. Qualidade de carne I.
Título

CDD 23. ed. - 636.2

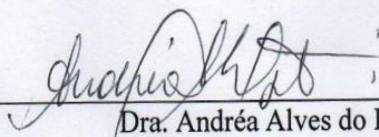
BRAYAN DIAS D'AURIA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

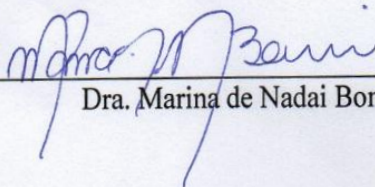
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 16/05/2017.



Dr. André Luiz Julien Ferraz - Orientador.



Dra. Andréa Alves do Egito



Dra. Marina de Nadai Bonin

Á ti meu Deus, por ter me dado a capacidade, inspiração e perseverança nos momentos mais difíceis.

Dedico este trabalho aos meus pais Charles e Lucimara, pelos esforços, amor e confiança, sempre me dando forças para seguir em frente independente de qualquer escolha.

Aos meus avós, Roque e Ramona (*in memoriam*) por todo amor e ensinamentos passados sempre pelas maneiras mais humildes.
Aonde quer que eu vá, levo vocês...

Aos meus irmãos, Dener e Kinsya pelo apoio e confiança.

Aos meus tios e tias amados (as) que sempre me acolheram ou de alguma forma me incentivaram nessa caminhada!

A minha amada Mirella e sua família, pela cumplicidade, amor e apoio em todos os momentos, muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e à Empresa Brasileira de Pesquisa Embrapa Gado de Corte pela estrutura para obtenção deste título;
Ao Prof. Dr. André Luiz Julien Ferraz pela orientação, cumplicidade, conversas produtivas e amizade.

Ao Pesquisador da Embrapa/CNPGC Dr. Gelson Luís Dias Feijó pela co-orientação, incentivo, ensinamentos e oportunidade.

À pesquisadora da Embrapa/CNPGC Dra. Andréa Alves do Egito pelos ensinamentos e confiança.

A toda a equipe do laboratório de Genética e Melhoramento Animal (GEMA) da Embrapa/CNPGC, Franciele, Arianna, Thalles, Isabella, Maitê, Isadora, Thiago, Amanda, Catherine, Ana Paula, Paula, Sallene, Gustavo e Ana Beatriz, obrigado pelos momentos, ensinamentos, cumplicidade e alegrias.

Aos colegas do laboratório da Sanidade Animal, Rudiele, Gisele, Marquinhos e a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para o trabalho.

A equipe do laboratório de qualidade de carne, Marina Bonin, Lucy Mery e Tais, pelos ensinamentos, boas risadas e boa convivência.

A todos os funcionários que colaboraram de alguma forma para que pudesse obter este título

Aos velhos amigos que entenderam a minha ausência em alguns momentos e me incentivaram!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIACÕES.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
 CAPITULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	 01
1 – INTRODUÇÃO.....	01
2 – REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Características da carcaça bovina.....	03
2.1.1. Composição de carcaça.....	03
2.1.2. Deposição de gordura na carcaça.....	04
2.2. Aspectos qualitativos da carne bovina.....	05
2.2.1. Maciez da carne.....	06
2.2.2. Marmoreio da carne	08
2.2.3. Cor.....	09
2.3. Marcadores moleculares.....	11
2.4. PCR em tempo real.....	13
2.5. Genes candidatos.....	14
2.6. Sistema proteolítico: <i>CAPN1</i> e <i>CAST</i>	15
2.6.1. Calpaína (<i>CAPN1</i>)	15
2.6.2. Calpastatina (<i>CAST</i>).....	17
2.7. Deposição de gordura: <i>DGAT1</i> , <i>SCD1</i> , <i>FABP3</i> e <i>FABP4</i>	18
2.7.1. <i>DGAT1</i> - Diacilglicerol O-aciltransferase.....	18

2.7.2. <i>SCD1</i> - <i>Estearoil-CoA</i> dessaturase.....	19
2.7.3. <i>FABP3</i>	20
2.7.4. <i>FABP4</i>	21
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivos gerais.....	23
3.2. Objetivos específicos.....	23
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
 CAPITULO 2 - Associação entre os polimorfismos nos genes <i>CAPN1</i>, <i>CAST</i>, <i>DGAT1</i>, <i>SCD1</i>, <i>FABP3</i> e <i>FABP4</i> em características de qualidade de carne e carcaça em bovinos.....	 40
RESUMO.....	40
INTRODUÇÃO.....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÃO.....	52
AGRADECIMENTOS.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	53
 CAPITULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	 58

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Representação gráfica das escalas de cor do sistema $L^*C^*h^*$ 10

Figura 2. Curva de amplificação da PCR em Tempo Real..... 13

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Genes, primers e sequências das sondas utilizadas para genotipagem em PCR em tempo.....	43
Tabela 2. Frequências alélicas (%) dos SNPs avaliados na população e conforme os grupos genéticos paterno e materno dos animais.....	45
Tabela 3. Valores médios, mínimos e máximos, desvios-padrão e coeficiente de variação para os fenótipos analisados.....	48
Tabela 4. Efeito de associação entre os polimorfismos dos genes <i>CAPN1</i> , <i>CAST</i> , <i>DGAT1</i> , <i>SCD1</i> , <i>FABP3</i> , <i>FABP4</i> e as variáveis analisadas.....	49
Tabela 5. Frequências genotípicas e teste de comparação das médias ajustadas dos genótipos dos polimorfismos com efeitos ($P < 0,05$) sobre características de qualidade da carne e carcaça.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS

AMACIA – Valor de maciez obtido pela diferença de FC dia 0 e 7
ANGNEL – Vacas F1 ½ Angus x ½ Nelore
AOL – Área de olho de lombo
BF – Braford
CAPN1 – Gene codificante da μ -calapaína
CARNEL – Vacas F1 ½ Caracu x ½ Nelore
CAST – Gene codificante da calpastatina
CC – Canchim
cm – Centímetros
COMPCAR – Comprimento de carcaça
CR – Caracu
CROMA GORD – Valores de croma (saturação) na gordura
CROMA MUSC – Valores de croma (saturação) no músculo
DGAT1 – Diacilglicerol O-aciltransferase
DISTRIB – Distribuição de gordura na carcaça
DNA – Ácido Desoxirribonucléico
DPG – Deposição de gordura na carcaça ou grau de acabamento
DISTRASEIRO – Distribuição da gordura no traseiro
EE – Extrato etéreo
EGS – Espessura de gordura subcutânea
EGS/AOL – Relação espessura de gordura mm e área de olho de lombo 100 cm
EGS/PCQ – Relação espessura de gordura mm e peso de carcaça quente 100 kg.
FABP – Proteínas de ligação de ácidos graxos
FC – Força de cisalhamento
FIG – Peso de fígado
GORDPERI – Gordura perirrenal
GORDPERI/PCQ – Relação gordura perirrenal kg por peso de carcaça quente kg
HUE GORD – Ângulo de tonalidade Hue na gordura
HUE MUSC – Ângulo de tonalidade Hue no músculo
Kg – Quilograma
L*GORD – Luminosidade na gordura
L*MUSC – Luminosidade no musculo
MARM - Marmoreio
mm – Milímetros
NE – Nelore
PAB – Peso de abate
PCQ – Peso de carcaça quente
PCR – Reação em cadeia de polimerase
PROFINT – Comprimento de interno da carcaça
QTL – Loci de características quantitativas
RC – Rendimento de carcaça
SCD1 - Estearoil-CoA dessaturase
SNP – Polimorfismo de base única

RESUMO

O Objetivo desta pesquisa foi avaliar a associação de polimorfismos de nucleotídeo unico (SNP) em seis genes candidatos (Metabolismo Proteolítico – *CAPN1* e *CAST*; Metabolismo Lipídico – *DGAT1*, *SCD1*, *FABP3* e *FABP4*) com características quali-quantitativas de carcaça e da carne. A população avaliada (n=136) foi concebida por meio do cruzamento de touros Braford (BF), Canchim (CC), Caracu (CR) e Nelore (NE) com fêmeas F1 Angus-Nelore (ANGNEL), F1 Caracu-Nelore (CARNEL) ou Nelore (NE), totalizando dez grupos genéticos distintos. Os dados genéticos foram obtidos por meio da extração de DNA de amostras do *Longissimus dorsi* individuais, e posteriormente observados os genótipos pelo método de reação em cadeia da polimerase em tempo real. Foram calculadas as frequências alélicas e realizado o teste de Tukey-Kramer ($P<0,05$) para comparação de médias dos alelos nos grupos de herança paterna e materna. No estudo de associação, utilizou-se o procedimento *General Linear Model* (GLM) do programa estatístico SAS. O modelo levou em conta os efeitos dos grupos genéticos paternos e maternos, safra de produção, sexo e os genótipos de cada marcador. Foram observadas associações significativas ($P<0,05$) em todos os marcadores com características quali-quantitativas de carcaça e da carne, com exceção para o *CAST:155* que não apresentou efeito com nenhuma das variáveis. O conjunto de informações dos efeitos transmitidos nos cruzamentos poderá ajudar na condução de programas de melhoramento genético de características de produção, bem como a obtenção de informações sobre a variabilidade de cada marcador em raças específicas.

Palavras-chave: bovinos, genes candidatos, melhoramento genético, SNP

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in six candidate genes (Proteolytic Metabolism - CAPN1 and CAST; Lipid Metabolism - DGAT1, SCD1, FABP3 and FABP4) with qualitative and quantitative characteristics of carcass and meat. The evaluated population (n = 136) was conceptualized through the crossing of Braford (BF), Canchim (CC), Caracu (CR) and Nelore (NE) females with F1 Angus-Nelore (ANGNEL), F1 Caracu-Nelore (CARNEL) or Nelore (NE), totalizing ten distinct genetic groups. Genetic data were obtained by extracting DNA from individual samples of Longissimus dorsi and then observing the genotypes by the real-time polymerase chain reaction method. The allele frequencies were calculated and the Tukey-Kramer test ($P < 0.05$) was performed to compare the averages of the alleles in the paternal and maternal inheritance groups. In the association study, the General Linear Model (GLM) procedure of the SAS statistical program was used. The model took into account the effects of paternal and maternal genetic groups, crop yield, sex and genotypes of each marker. Significant associations ($P < 0.05$) were observed in all markers with qualitative and quantitative carcass and meat characteristics, except for CAST: 155 that did not show any effect with any of the variables. The information set of the effects transmitted in the crosses can help in the conduction of programs of genetic improvement of production characteristics, as well as obtaining information on the variability of each marker in specific breeds.

Keywords: bovine, candidate genes, genetic improvement, SNPs

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A carne bovina é considerada uma das mais importantes fontes de alimento para os seres humanos, sendo responsável por uma representativa fatia econômica no setor do agronegócio do Brasil. Além disso, o país ocupa uma posição de destaque no cenário global, pois além de ser o maior exportador de carne bovina, é considerado o maior rebanho comercial do mundo, com 215,2 milhões de bovinos (IBGE, 2015), o que aumenta a sua responsabilidade frente à demanda dos outros países em requisitos de características quali-quantitativas de carcaça e da carne bovina.

Uma das alternativas é o uso do melhoramento genético, onde os objetivos são a seleção por meio dos dados de desempenho dos animais superiores nas raças, pelo cruzamento entre raças que se complementam ou pela formação de novas raças (ROSA et al., 2013). No entanto, a resposta à seleção para características quantitativas, é complexa, pois essas são determinadas por centenas ou milhares de genes, que dependem da interação do seu genótipo com o ambiente (GELDERMANN, 1975).

Adicionalmente ao melhoramento genético clássico, o uso de marcadores moleculares apresenta potencial para investigação e caracterização dos animais por meio dos seus genótipos. Segundo Kirinus et al. (2014), o benefício do uso destes marcadores é a previsão antecipada do potencial dos animais para características quali-quantitativas de carcaça e da carne, que em alguns casos são obtidas somente após o abate, o que impossibilita serem realizadas em touros reprodutores utilizados para transferência de material genético.

Na última década o marcador do tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*) foi expressivamente utilizado com esta finalidade, pois apresenta alto desempenho, alta acurácia e baixo custo financeiro quando realizado em painel de maior densidade representado por milhares de SNPs (CAETANO, 2009).

O objetivo de estudar genes de interesse zootécnico é analisar o DNA de animais domésticos e obter informações específicas da contribuição e o

número de genes que participam das características. Entretanto, existem dificuldades para alcançar este objetivo, pois características de interesse são na sua maioria quantitativas, ou seja, de ação poligênica, com pequenos efeitos na expressão do fenótipo (COUTINHO et al., 2010).

No sistema proteolítico muscular participam as enzimas calpaína e calpastatina, as principais envolvidas no processo de amaciamento da carne no período *post-mortem*, essas representadas pelos genes *CAPN1* e *CAST*. Assim, estes genes são frequentemente estudados a nível molecular, onde resultados já encontrados foram significativos sobre as características de maciez, marmoreio e parâmetros de cor da carne. (EKERLJUNG et al., 2012; LARA et al., 2012; LI et al., 2013; PEREIRA et al., 2015; CASTRO et al., 2016).

Já o gene *DGAT1* participa da síntese final de triglicerídeos e foi reportado como candidato à estudos de associação em bovinos, onde foi relatado efeito do SNP *DGAT1 K232A* sobre teor de gordura do leite e marmoreio da carne (THALLER et al., 2003; KONG et al., 2007; WU et al., 2012). Há também evidências que o gene *SCD1* e seus alelos influenciam na composição de ácidos graxos do leite e da carne (MELE et al., 2007; JIANG et al., 2008; MILANESI et al., 2008; WU et al., 2012).

Outros genes que também foram estudados são os genes da família *FABP* (Proteínas ligadoras de ácidos graxos) que são responsáveis por codificar pequenas proteínas, altamente conservadas, proteínas citoplasmáticas que se ligam em ácidos graxos de cadeia longa e outras ligações hidrofóbicas (ROY et al., 2003). Dessa forma, os relatos na literatura sugerem que mutações pontuais, nos genes *FABP3* e *FABP4*, apresentaram efeito sobre a espessura de gordura subcutânea e quantidade de gordura intramuscular depositada na carne (MICHAL et al., 2006; AVILÉS et al., 2013; BLECHA et al., 2015).

Dado o exposto, objetivou-se calcular as frequências alélicas e genotípicas de progênes provenientes de bovinos zebuínos e seus mestiços e investigar os efeitos de associações dos SNPs em seis genes candidatos (*CAPN1*, *CAST*, *SCD1*, *DGAT1*, *FABP3* e *FABP4*) sobre características quali-quantitativas de carcaça e da carne.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características da carcaça bovina

2.1.1 Composição de carcaça

A carcaça bovina é composta por músculos, ossos, tecidos conectivos e gordura, sendo o músculo considerado a parte mais importante para os consumidores. Assim, uma carcaça considerada de boa qualidade é aquela que possui harmonia entre os seus constituintes, o que significa conter boa quantidade muscular, menor quantidade de ossos e razoável quantidade de cobertura de gordura depositada na carcaça (BERG & BUTTERFIELD, 1976).

Em relação a proporção de cada componente, os ossos na carcaça reduzem de forma lenta, da maneira que o animal vai ganhando peso, sendo considerado o tecido que apresenta menor variação percentual. Já os músculos representam alta proporção do peso do animal recém-nascido, aumentando conforme o seu ganho de peso corporal e decrescendo na fase de deposição de gordura (SIGNORETTI et al., 1999).

Água, proteína, gordura e minerais representam os componentes químicos da carcaça, e apresentam variabilidade durante toda a fase de crescimento dos animais. Já os componentes físicos são tecidos muscular, ósseo e adiposo, que em conjunto sofrem interferências de fatores como peso vivo do animal, idade, sexo, raça e o nível nutricional da dieta (CARVALHO et al., 2003)

A proporção de músculos na carcaça é representada pela área de olho de lombo (AOL), que é uma medida indicativa do grau de musculosidade total da carcaça, sendo mensurada na 12^a costela, no músculo *Longissimus dorsi* (LUCHIARI FILHO, 2000). Em alguns estudos na literatura o fenótipo apresenta diferenças de AOL conforme a raça avaliada, com isso, sugere-se que o cruzamento entre genótipos distintos possam ser mais eficientes quando somados entre os animais acasalados do que utilizados isoladamente em alguns casos (LUCHIARI FILHO et al., 1989; PEROTTO et al., 1999; YOKOO et al., 2014).

Lopes et al. (2012) sugerem que a porção muscular dos animais medida pela AOL pode ser utilizada para avaliação do rendimento dos cortes comerciais, pois apresenta correlação positiva entre os principais tipos de cortes traseiros, além de, estar correlacionado com comprimento corporal e peso de carcaça quente.

2.1.2 Deposição de gordura na carcaça

A distribuição de gordura na carcaça segue a seguinte ordem: região visceral, intermuscular, subcutânea e intramuscular (WARRIS, 2000). Desta forma, com o avanço da idade do animal as carcaças apresentam maior proporção de gordura e conforme a composição genética maior taxa de gordura intramuscular (BRIDI & CONSTANTINO, 2009).

A taxa de deposição de gordura apresenta diferença entre raças, no entanto, a maior variabilidade encontrada é em relação ao tempo estabelecido para a fase de acabamento. Os animais precoces apresentam menor porte devido a sua taxa de maturação (tempo que o animal leva para atingir o tamanho à maturidade), o que permite que entrem na fase de acabamento com um peso mais leve comparado aos animais de maior porte (BARBOSA, 1999).

A quantidade de gordura a ser depositada na carcaça é considerada importante, pois tem a função de isolante térmico durante o resfriamento na câmara fria. O frio provoca encurtamento das fibras musculares, e consequentemente, afeta a qualidade da carne. Além disso, carcaças com bom grau de acabamento tendem a ter maior quantidade de gordura intramuscular, isso sempre dependente do fator dieta e raça do animal na fase final de engorda, esta gordura entremeada está correlacionada ao sabor e suculência da carne (FELICIO, 1997).

No entanto, diversos fatores interferem na capacidade do animal depositar gordura na carcaça, sendo eles: raça, castração, sexo, idade e dieta. Esses são os fatores que causam a maior variabilidade nesse fenótipo.

Em relação ao efeito do sexo, as fêmeas tendem a depositar maior quantidade de gordura nas suas carcaças, do que os machos castrados, que por sua vez, são superiores aos bovinos inteiros (STEEN, 1995). No sentido biológico, Bridi & Constantino (2009) explicam que os machos possuem uma

taxa anabólica muscular mais elevada do que as fêmeas, o que leva a uma deposição de gordura mais tardia.

Uma das estratégias realizadas é o cruzamento entre bovinos *Bos taurus taurus*, de origem britânica, com animais zebuínos, tradicionalmente criados no Brasil. O efeito gerado desses acasalamentos permitem os animais melhorarem a sua capacidade de apresentarem um acabamento desejável, uma vez que, algumas raças taurinas são especializadas em depositar maior quantidade de gordura na carcaça (PRADO et al., 2008).

As avaliações de deposição de gordura (acabamento) são realizadas de acordo com o sistema brasileiro de forma subjetiva, onde a gordura presente na carcaça é estimada de forma visual com escores de 1 a 5. Sendo 1 = ausência total de gordura, 2= de 1 a 3 mm, 3= 3 a 6 mm, 4= 6 a 10 mm e 5= acima de 10 mm de cobertura de gordura (SAINZ & ARAUJO, 2001).

2.2 Aspectos qualitativos da carne bovina

Os aspectos de qualidade da carne são definidos a partir da preferência dos consumidores no momento da sua aquisição, pela aparência da carne e após o seu preparo e consumo, conferem sabor, suculência e maciez. (JOO et al., 2013). A aparência do produto é um dos aspectos mais importante, a qual é definida pela cor da carne na sua embalagem, e distribuição e cor da gordura (BECKER, 2000).

Existem diferentes formas de conceituar o termo qualidade de carne, a primeiro considera que a qualidade é determinada pelas escolhas visuais dos consumidores de forma subjetiva e não pode ser mensurável. A segunda considera que o termo qualidade da carne só poder ser definido a partir de avaliações mensuráveis, ou seja, de maneira objetiva (BECKER, 2002).

As variações qualitativas encontradas na carne bovina são aquelas associadas aos fatores *ante-mortem*, que antecedem o abate influenciado pela genética (raça), sexo, idade, dieta e do manejo pré-abate e os fatores *post-mortem* definidos pelo processo de abate, o uso da estimulação elétrica, a velocidade e temperatura de resfriamento e a forma de embalagem dos cortes (FELÍCIO, 1997).

Do ponto de vista genético, a composição dos animais puros ou cruzados tem efeito sobre a qualidade da carne. Entre as principais características influenciáveis, estão a maciez, o marmoreio, e a cor (RESTLE et al., 1999; VAZ et al., 2001; MAGGIONI et al., 2012).

De forma objetiva, as mensurações realizadas em laboratório tem a importância de compreender quais são os fatores que afetam e influenciam a qualidade da carne e podem ser úteis para melhorar e controlar os fatores pré e pós abate (DE LIMA JÚNIOR et al., 2012).

2.2.1 Maciez da carne

Entre os aspectos de qualidade da carne, a maciez é um dos principais destaques gustativos por parte dos consumidores. No entanto, essa escolha pode variar entre os mesmos de acordo com o seu país e cultura (WARNER et al., 2010). Esta característica é resultante de fatores genéticos, do tipo de raça envolvida no cruzamento, da idade do animal, da sua alimentação e dos tratamentos realizados no período de *post-mortem* (ALVES & MANCIO, 2007).

O sistema proteolítico responsável pela maciez no período *post-mortem* envolve a enzima da calpaína e seu efeito inibidor calpastatina, sendo essas as principais responsáveis pelo processo de amaciamento da carne (KOOHMARAIE et al., 1987, 1988; TAYLOR et al., 1995; WARRIS, 2000). As catepsinas são consideradas coadjuvantes neste sistema com o menor efeito correspondente quando comparada as calpaínas (BONIN, 2008).

As calpaínas são definidas como enzimas cálcio dependentes e divididas em dois componentes principais para sua ativação, a calpaína tipo I ou μ -calpaína, que requer um nível menor de cálcio, e a calpaína tipo II ou m-calpaína, que requer um maior nível de cálcio. A sua ativação ocorre no período *post-mortem* quando o pH está em torno de 5,7 onde permanece estável por longo período (ANDRIGHETTO et al., 2006).

Embora as calpaínas exerçam maior efeito sobre a maciez no período *post-mortem*, existe o efeito inibidor no complexo proteolítico, onde a calpastatina também é ativada pelos íons de cálcio livre no sarcoplasma e aparece como inibidor da proteólise. Isto ocorre nas primeiras 24 horas no

período *post-mortem*, e possui maior correlação entre a maciez e a conservação do produto final sob resfriamento (FERRAZ, 2009).

O processo após o período de rigor mortis e estocagem da carne refrigerada é chamado de degradação muscular ou maturação. Neste, as estruturas das miofibrilas são modificadas e provocam um amaciamento significativo da carne. Porém, é altamente complexo e dependente de muitas variáveis tais como: a idade, raça ou espécie do animal, velocidade de glicólise, quantidade e solubilidade do colágeno, comprimento de sarcômero das miofibrilas, força iônica e degradação das proteínas miofibrilares (FELICIO, 1997)

Além do sistema calpaína/calpastatina e a ação conjunta dos fatores citados anteriormente, outro aspecto que interfere na maciez da carne são os genótipos dos animais para determinado loco ou região QTL (*Quantitative Trait Locus*). As diferenças de maciez nos animais de origem *Bos taurus* e *Bos indicus* tem recebido um enfoque de pesquisas, onde os fatores determinantes de efeito fisiológico, genéticos e bioquímicos são responsáveis pela variabilidade encontrada nas raças (FELÍCIO, 1997).

Segundo Rubensam et al. (1998), a medida que o grau sanguíneo zebuíno ultrapassa 25 % no cruzamento, a atividade da calpastatina leva a piora na textura e maior força de cisalhamento, resultando em uma carne mais dura. Consequentemente, esse aumento na participação do sangue zebuíno nos cruzamentos provoca um decréscimo na maciez da carne não maturada (RESTLE et al., 1999).

A variação na maciez é atribuída 46% aos efeitos genéticos e 54% de efeito ambiental entre raças (SMITH et al., 2003). Os autores sugerem que é de suma importância controlar os efeitos genéticos por meio de acasalamentos direcionados, com o uso de animais superiores e diminuição do efeito ambiental para que ocorra um aumento significativo sobre o fenótipo. Esta seria uma alternativa para o problema que as indústrias enfrentam com a alta variabilidade relacionada à maciez da carne.

Desta forma, cruzamentos entre animais de raças zebuínas e taurinas são comumente realizados com objetivo de maximizar o ganho por heterose e efeito da complementaridade (PEREIRA, 2012). Nesse sentido, alguns trabalhos demonstraram que animais oriundos do cruzamento triplo ou meio

sangue, na fase terminal, possuem melhores valores de maciez do que animais zebuínos puros (CROUSE et al., 1989; HEINEMANN et al., 2003; PEREIRA et al., 2009; MENEZES et al., 2013).

A variabilidade observada nos grupos genéticos pode ser explicada pela quantidade presente de calpastatinas, enzima inibidora das calpaínas, que ocorre em maior proporção nas raças zebuínas, o que leva a uma produção de carne menos macia em animais de origem *Bos indicus* (WHIPPLE et al., 1990; ALVES et al., 2007).

Um dos métodos subjetivos de avaliar a maciez da carne é por meio de painéis sensoriais. Nesse, a degustação é realizada por um grupo de pessoas treinadas que atribuem notas para as amostras de carne (CROSS et al., 1978).

O método de avaliação objetivo pode ser realizado pelo teste mecânico descrito por Wheller et al. (1994), chamado de força de cisalhamento (FC), que é realizado com um equipamento Warner-Bratzler Shear que aplica a força para romper as fibras das amostras de carnes, ou por meio do equipamento, texturômetro, que mensura a força necessária para o cisalhamento das fibras musculares, onde quanto menor a força aplicada maior é o valor de maciez encontrado.

Finalmente, é importante buscar alternativas que possam minimizar os efeitos da variação na maciez, principalmente por ser uma característica complexa, onde são atribuídos 30% dessa variação de origem genética aditiva e 70% pelos fatores ambientais e genéticos não aditivos dentre raças, o que sugerem uma seleção mais eficiente primeiro dentro das raças (SMITH et al., 2003).

2.2.2 Marmoreio da carne

A deposição de tecido adiposo intramuscular na carne é conhecida como marmoreio, essa gordura presente entre as fibras musculares é a última a ser depositada na carne e pode ser avaliada antes do abate por meio de avaliações ultrassonográficas ou após o animal ser abatido pelo método subjetivo. Esta característica é considerada importante para nichos de mercado que estão dispostos a pagar um preço maior pelo produto (LUCHIARI FILHO, 2000).

Em abordagens na literatura, foi relatado o efeito positivo do marmoreio sobre a maciez da carne, palatabilidade e suculência (COSTA et al., 2002; KERTH et al., 2007; CHRISTENSEN et al. 2011). No entanto, há controversas desse efeito sobre a maciez. Segundo Nishimuri et al. (1999), os efeitos observados seriam de forma indireta sobre a variável, que necessitaria de 8% de marmoreio na carne para que esse efeito contribuísse de forma positiva. Wheeler et al. (1996) embasam essas afirmações ao demonstrarem que os escores de marmoreio não apresentaram efeito sobre a força de cisalhamento.

A raça utilizada nos cruzamentos terminais é essencial para essa característica, pois existem diferenças nas escalas de marmoreio identificadas entre famílias *Bos taurus indicus* vs. *Bos taurus taurus* com o mesmo grau sanguíneo nos cruzamentos. Isto demonstra que a seleção genética principalmente de raças zebuínas deve ser feita inicialmente dentro da própria raça e selecionar os futuros reprodutores (KING et al., 2006).

O método de avaliação de escalas de marmoreio é realizado no músculo do *L. dorsi* na porção do contrafilé e tem como referência o padrão definido pelo United States Departamento of Agriculture – USDA Grade Quality (1999), dividida em quatro subclasses 0, 25, 50, 75, onde posteriormente são calculadas e transformadas em escala numéricas. Nas avaliações, existe certa dificuldade na confiabilidade dos resultados subjetivos (classificação visual), pois podem ocorrer erros do tipo II (aceita a hipótese de nulidade sendo verdadeira quando é falsa), sugere-se então que o número de amostragem tem que ser o suficiente para minimizar esse tipo de erro (HOCQUETTE et al., 2007).

2.2.3 Cor

Os aspectos visuais de cor do produto definem as escolhas dos consumidores no momento da compra (NAM et al., 2009). Segundo Mancini e Hunt (2005), a coloração da carne bovina é complexa, e envolve diversos fatores como a genética do animal, condições físicas e químicas que antecedem o abate e pós abate.

As causas das alterações na cor da carne estão relacionadas com a composição da proteína, principalmente, pela mioglobina que apresenta a

principal função na coloração da carne. No entanto, existem outras duas proteínas que também desempenham papel funcional na coloração, a hemoglobina e o citocromo C (MANCINI & HUNT, 2005).

As variações presentes na mioglobina apresentam diferenças entre raças taurinas e zebuínas. Segundo Norman (1982) animais da raça Charolês e Canchim apresentaram uma cor mais clara do que os animais zebu, isto porque existem variações de mioglobina entre as espécies. Maggione et al. (2012) observaram carne mais escura no grupo de animais Nelore quando comparado aos grupos genéticos de animais cruzados (*Bos taurus* vs. *Bos indicus*).

De maneira geral, a variação na cor da mioglobina também é dependente de outros fatores como, idade do animal, o tipo de dieta e a posição anatômica do músculo, além de outras variáveis que são condicionadas ao pré-abate, pH final, estado de oxigenação e oxidação do músculo (ABRIL et al., 2001).

Os métodos que são comumente utilizados para medir a cor da carne bovina incluem colorímetros e espectrofotômetros. O método mais conhecido são os sistemas L^* , a^* , b^* , e L^* , C^* , H^* denominado de CIELAB. Esse sistema considera três medidas: L^* componente de luminosidade; a^* cores verdes a vermelhas e b^* das cores amarela a azul (RAMOS & GOMIDE, 2007).

Os valores de Chroma (C^*) definem a intensidade de uma cor, podendo então, distinguir a coloração da carne ou gordura pela sua intensidade ou grau de saturação. Já o Hue ou ângulo de tonalidade (H^*) é definido pelo nome da cor e a qualidade que determina as famílias a^* e b^* , é resultado das diferenças entre os impulsos e tamanhos de onda que produzem na retina a sensação das cores (AMS, 1995).

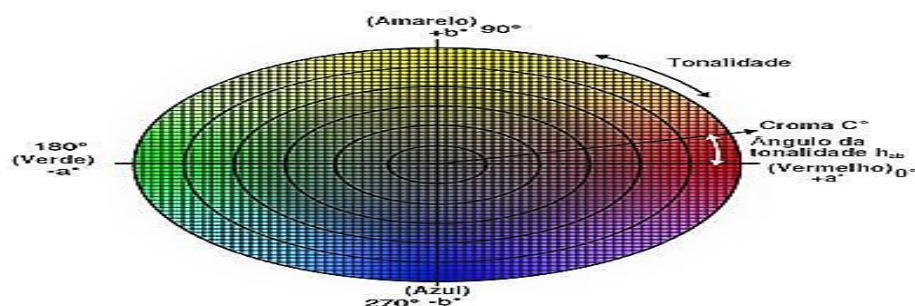


Figura 1. Representação gráfica das escalas de cor do sistema $L^*C^*H^*$.

Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2015/08/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/>

2.3 Marcadores Moleculares

A genética molecular deu um grande passo na ciência quando, em 1953, foi descoberta a estrutura do DNA, por James Watson e Francis Crick. O DNA é um polímero que tem sua forma estrutural constituído por nucleotídeos compostos de pentoses interligados a um ácido fosfórico do grupo fosfato e as bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina e timina), desta forma ele carrega todas as informações genéticas do indivíduo (BROWN, 2000).

Nos eucariotos os cromossomos estão organizados em pares nos organismos diplóides, e tem uma importância fundamental no genoma da espécie, como armazenamento de informações genéticas e transmissão de material genético, pois neles residem os genes. Os genes são segmentos de DNA, podendo ter comprimentos que variam de 75 nucleotídeos a mais de 2.300 kb (kilobases). Assim, são transcritos em moléculas de RNA e traduzidas em proteínas que possuem sistema biológico específico nos organismos (BROWN, 2000).

Segundo Ferreira & Grattapaglia (1998) a definição de marcadores moleculares é descrita como todo ou qualquer fenótipo molecular originado de segmento específico de DNA (expresso ou não). A capacidade que eles possuem em transportar informações é quase ilimitada, sendo variações por todo o genoma que conseguem caracterizar e identificar as diferenças genéticas entre dois ou mais indivíduos em uma população.

O uso de marcadores moleculares teve início na década de 80, devido às dificuldades que se encontravam na época para se gerar um dado ou genótipo levava-se quase uma semana por ser algo inovador e da forma desconhecida que se trabalhava com a técnica (CAETANO, 2009).

As técnicas de biologia molecular atuais são capazes de identificar variações de pares de bases no genoma do indivíduo por meio do seu DNA de forma rápida e eficaz, especialmente a partir da técnica da reação em cadeia da polimerase PCR (*Polymerase Chain Reaction*), que é capaz de gerar bilhões de cópias de um fragmento alvo de DNA com o uso da enzima DNA polimerase, desenvolvida por Kary Mullis em 1983.

O desenvolvimento de marcadores moleculares pode ser realizado de forma aleatória ou planejado. Na abordagem aleatória é realizada um

mapeamento de regiões QTL para a espécie estudada, visando usar os marcadores moleculares para identificar regiões cromossômicas associadas à variação genética de características de interesse econômico. A outra estratégia é a seleção de genes candidatos, que tem como objetivo detectar locos polimórficos que estão associados a genes que interferem em características de interesse zootécnico, tais como: qualidade da carne, peso ao desmame, produção de leite, entre outras (COUTINHO et al., 2010).

As mutações na sequência do DNA podem ocorrer em regiões codificadoras denominadas de exons e em regiões não codificadoras, os íntrons. Na região gênica dos exons ocorre a substituição de nucleotídeo na estrutura do aminoácido (mutações não-sinônimas), esta substituição pode ser conservativa ou não-conservativa de acordo com a natureza química dos aminoácidos que foram trocados, podendo haver mudanças estruturais e funcionais da proteína. Embora na região dos íntrons não exista uma alteração na proteína, eles podem causar mudança na estrutura do RNA mensageiro, e reduzirem a quantidade de proteína produzida (GUIMARÃES & COSTA, 2002).

As tecnologias atuais permitem identificar mutações específicas ao longo do genoma bovino, sendo chamado de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), neste tipo de marcador ocorre a troca de nucleotídeos, podendo ser por inserção (mutação causada pela remoção de um ou mais nucleotídeo na sequência de DNA) ou deleção (adição de um ou mais nucleotídeo na sequência de DNA). Essas variações são consideradas importantes em análises genéticas, pois ocorrem em abundância no DNA e quando estão presentes nas regiões codificadoras podem alterar diretamente a estrutura da proteína (SYVANEN, 2001).

Com isso, o uso de marcador molecular é uma alternativa eficiente para validar os efeitos alélicos sobre fenótipos importantes da produção animal. Além de, permitirem o estudo da variabilidade genética populacional e diferenciar raças e indivíduos de grupos genéticos distintos.

2.4 PCR em tempo real

Desde a descoberta da PCR por Kary Mullis, na década de 80, houve um grande avanço na genética molecular, assim estudos de expressão gênica, levantamento de diagnósticos de doenças e testes de paternidades tiveram um grande impacto mundial. A técnica permite que *in vitro* se obtenha milhões de cópias de determinada região alvo do DNA.

Por meio desse progresso surgiu da PCR uma nova técnica denominada de PCR em Tempo Real, permite a quantificação das amostras amplificadas com uma maior reprodutibilidade e elevada precisão. Neste sentido, houve uma revolução devido a capacidade que a técnica apresenta de monitorar em tempo real cada ciclo da sua reação na amplificação de DNA e RNA. Em cada ciclo ocorre um acúmulo de produtos amplificados na reação, e quando é atingido o limiar, este na fase exponencial, denominado *cycle threshold* (CT), permite a quantificação exata e reprodutível pela fluorescência emitida (REGITANO et al., 2001).

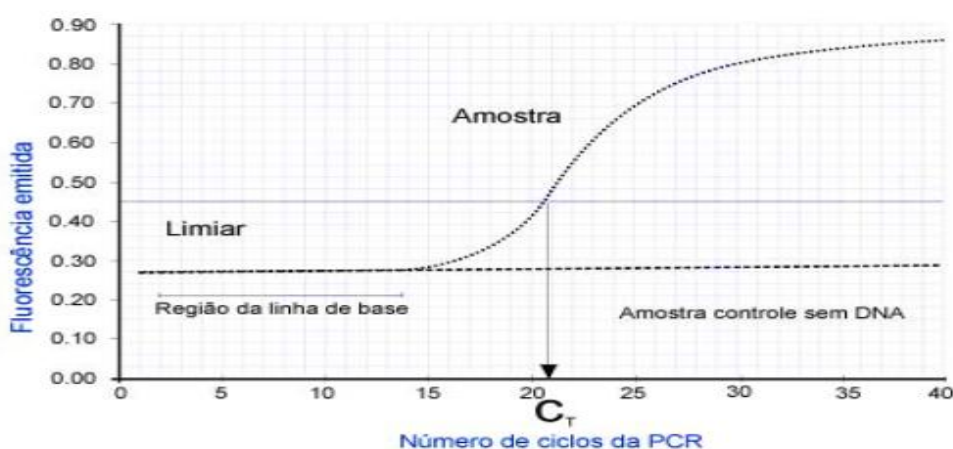


Figura 2. Curva de amplificação da PCR em Tempo Real. CT – *Cycle Threshold* (NOVAIS et al., 2004).

Os fluoróforos são moléculas que absorvem e emitem sinais de luz que aumentam na proporção direta da quantidade de produto da PCR. Com isto, em cada ciclo são armazenados os valores da flúorescência gerada por um termociclador ótico que identifica o feixe de luz pela sua intensidade, apresentando um gráfico ao final de cada reação (NOVAIS et al., 2004).

O sistema TaqMan é composto por uma sonda de hidrólise que corresponde a um fragmento de DNA marcado com corante chamado de *repórter* na região 5' da fita e um corante na outra extremidade 3' chamado de *quencher*. Na primeira etapa ocorre a polimerização onde a sonda hibridiza com a sequência de fita simples de DNA complementar, o alvo da amplificação. Nesse processo a fita é degradada pela enzima exonuclease *TaqDNA* polimerase. Após a degradação da sonda ocorre a separação do *repórter* e *quencher*, causando um aumento na emissão da fluorescência (HEID et al., 1996).

A PCR quantitativa em tempo real é uma das mais confiáveis e sensíveis biotecnias para análise de genotipagem, expressão gênica, determinação do número de cópias transgênicas e diagnósticos de doenças. Assim, apresenta melhor acurácia e maior velocidade nos resultados com um menor risco de contaminação (NOVAIS et al., 2004).

O seu uso é comum em experimentos de genotipagem de SNPs, uma vez que, existe uma grande variação genotípica entre e dentro de raças bovinas que já foram identificados em diversos trabalhos (CARVALHO et al., 2007; BARENDSE et al., 2008; PEREIRA et al., 2015). Neste contexto, a PCR em tempo real é frequentemente utilizada como ferramenta para testes de genotipagem em bovinos com potencial para investigação de regiões que estão associadas a características de interesse econômico.

2.5 Genes candidatos

O estudo de genes candidatos revela a relação entre a característica de interesse e os genes conhecidos, que podem estar ligados à via fisiológica do fenótipo desejável (ANDERSSON, 2001). No caso do gene candidato seja um verdadeiro causativo, sugere-se que esta avaliação possa representar resultados promissores para detecção de regiões QTLs (GAO et al., 2007).

Segundo Fortes. (2007) as vantagens em utilizar genes candidatos como estratégia, é o fato de não ser necessário um tamanho populacional expressivo para avaliação, assim, espera-se que o polimorfismo do gene em estudo tenha efeito direto na variação fenotípica. No entanto, a maioria das características de caráter quantitativa é considerada de origem complexa, onde envolve aspectos

bioquímicos, fisiológicos e ambientais com a ação múltipla de genes (GELDERMANN, 1975).

As limitações apresentadas por essa estratégia é que apenas poucos genes que controlam as características quantitativas são conhecidos, outro aspecto relevante é o estabelecimento definitivo da participação biológica do gene sobre determinado fenótipo, pois a identificação de mutação casual para um gene que tenha efeito pequeno não é facilmente detectado (COUTINHO et al., 2010).

Na literatura, estão presentes diversos trabalhos que apresentam resultados favoráveis aos efeitos de genes candidatos sobre características relacionadas ao metabolismo proteolítico (PAGE et al., 2002; SCHENKEL et al., 2006; TIZIOTO et al., 2013;) e do metabolismo lipídico (GRISART et al., 2002; KONG et al., 2007; FORTES et al., 2009; BARTON et al., 2016). Deste modo, sugere-se que estudo de genes candidatos e os efeitos dos seus SNPs são um dos métodos eficazes para o progresso genético das características quali-quantitativas da carcaça e carne bovina.

2.6 Genes do sistema proteolítico *CAPN1* e *CAST*

2.6.1 Calpaína (*CAPN1*)

No contexto molecular, o gene *CAPN1* representa as μ -calpaínas, principal responsável pelo amaciamento no músculo esquelético, composto por 22 exons, está localizado no cromossomo 29 de bovinos. Frequentemente, os estudos realizados no gene são com bovinos de raças taurinas (PAGE et al., 2004; WHITE et al., 2005; ALLAIS et al., 2011; PEREIRA et al., 2015) influenciando significativamente na maciez da carne.

Segundo Kirinus et al. (2014) a associação do gene *CAPN1* e seu inibidor *CAST* explicam 20% da variabilidade do efeito genético aditivo. Este valor permite realizar a avaliação genética dos indivíduos que serve de referência para a escolha da raça base e quais os cruzamentos adequados para melhoria na maciez por meio da seleção de marcadores.

Existem diversos polimorfismos validados no gene do *CAPN1*, tais como, *CAPN1-316* e *CAPN1-530* (PAGE et al., 2002), *CAPN1-4751* (WHITE et

al., 2005), *CAPN1-947* (BARENDSE et al., 2007) e inúmeros outros SNPs já foram encontrados. O SNP *CAPN-947* G>C tem como resultado uma substituição de aminoácidos de glicina por alanina na posição 316 no domínio proteico II, este mesmo marcador foi descrito por Page et al. (2002) e está incluso em testes comerciais de DNA (VAN EENENNAAM et al., 2007).

Page et al. (2002) avaliaram o marcador e embasaram o fato da divergência esperada entre animais *Bos taurus* e *Bos indicus* no aspecto relativo à maciez. Os autores relataram efeito significativo entre *CAPN:947* ou *CAPN:316* e o fenótipo somente em animais de raça taurina. Este efeito esperado do marcador sobre a característica não foi encontrado no estudo de Ekerljung et al. (2012).

No estudo de Casas et al. (2005), Morris et al. (2006), Barendse et al. (2007) e Corva et al. (2007) foram encontrados efeito de associação ($P < 0,05$) do SNP *CAPN1:974* sobre maciez da carne. No entanto, houve baixa representatividade do alelo C na população de animais de origem zebuína Brahman (CASAS et al., 2005) e Nelore (PINTO et al., 2010; CARVALHO et al., 2017).

Barendse et al. (2007) sugerem que o SNP *CAPN1:974* possa ser mais eficiente em algumas raças taurinas específicas, pois em animais de origem zebuína o mesmo pode não ser informativo devido as irregularidades de segregação alélica, onde demonstra baixa frequência e fixação alélica em determinadas populações.

Por outro lado, Li et al. (2013) encontraram efeito ($P < 0,05$) do loco *CAPN1:974* sobre as características de marmoreio, da porcentagem de gordura intramuscular e Hue no músculo, sendo o alelo C em recessividade o favorável para marmoreio e porcentagem de gordura intramuscular e o genótipo CG para Hue no músculo.

Neste sentido, os resultados já concluídos servem como possibilidades para expandir o uso de seleção por meio de marcadores moleculares para características de qualidade da carne em bovinos cruzados, o que possibilita identificar os alelos herdados de origem parental resultante dos acasalamentos.

2.6.2 Calpastatina (CAST)

Na década de 90 o gene *CAST* foi mapeado estando localizado no cromossomo 7 de bovinos por Bishop et al. (1993), sendo considerado um gene candidato para maciez da carne. Inicialmente, alguns estudos apontaram que o efeito do gene não estava relacionado com a maciez. No entanto, ambos os trabalhos que relataram o efeito contrário da hipótese apresentaram um tamanho populacional pequeno, o que pode ter interferido nos resultados (LONERGAN et al., 1995; CHUNG et al, 1999).

Posteriormente, Chung et al. (2001) foram os pioneiros nos relatos que indicam uma alteração genética no domínio da proteína L no gene *CAST* localizado no íntron 6. Assim, a genotipagem populacional com o marcador, possibilitou identificar o efeito favorável da atividade enzimática da calpastatina sobre características de qualidade da carne.

A mutação foi identificada e patenteada no ano seguinte por Barendse et al. (2002), na região 3' não traduzida do gene *CAST_2959*, transição entre duas purinas (guanina/adenina G/A). Assim, Casas et al. (2006), avaliaram o SNP em uma população considerável de 1.100 animais *Bos taurus* e 500 animais *Bos indicus*. Os genótipos observados e as características de maciez, suculência e sabor apresentaram efeito significativo em animais taurinos, além de, identificar interação entre os genes *CAPN1* e *CAST* ($P < 0,05$). No entanto, os animais de origem zebu não apresentaram efeito significativo do marcador nas características.

Existem outros SNPs que também já foram estudados dentro do gene *CAST* (acesso GenBank Nº. AY008267), O *UOGCAST* que troca uma pirimidina por purina (citosina/guanina), localizado no íntron 5 descrito por Schenkel et al. (2006), e *WSUCAST* que é uma transição de citosina por timina no exon 3 (GARCIA et al., 2006).

O primeiro estudo que encontrou efeito de associação em animais puro sangue *Bos indicus* foi descrito por Pinto et al. (2010), este efeito foi associado no gene *CAST* sobre a característica de maciez da carne. Desta maneira, foi avaliada a FC em diferentes dias de maturação da carne, demonstrando um efeito aditivo em todos os períodos investigados. Assim, o marcador *UOGCAST1* apresentou o alelo C sendo favorável para a maciez e o alelo G o

dominante em animais da raça Nelore. No SNP *WUSCAST* também foi observado o efeito aditivo, sendo similar aos efeitos do *OUGCAST1*.

Barendse et al. (2007) avaliaram diversos SNPs no gene *CAST*, e relataram que o melhor marcador na comparação aos pares foi o *CAST-155 C>T* que ocorre a substituição de uma prolina por leucina, apresentando forte associação com maciez da carne. Este fato também foi encontrado no estudo de Ekerljung. (2012) e Tait et al. (2016) que sugerem que o SNP está fortemente relacionado com a maciez. Em todos os estudos citados o alelo T em homozigose foi o favorável para a característica.

A distribuição alélica do loco *CAST:155* foi investigada por Rubio et al. (2016), os autores demonstraram por meio dos dados agrupados que o alelo C está próximo dos animais de origem *Bos taurus* e o alelo T junto aos animais de origem *Bos indicus* e dos cruzados (*Bos taurus taurus* vs. *Bos taurus indicus*). Isto explica, o fato de existir diferença nos marcadores estudados de acordo com as raças. Desta maneira, essas informações devem ser levadas em consideração na escolha de quais raças e quais marcadores utilizar para determinada característica.

Em suma, observa-se alta complexidade dos genes *CAPN1* e *CAST* com possível efeito concomitante sobre a maioria das características do sistema proteolítico da carne.

2.7 Deposição de gordura: *DGAT1*, *SCD*, *FABP3*, *FABP4*

2.7.1 *DGAT 1- Diacilglicerol O-aciltransferase*

O gene candidato relacionado à deposição de gordura foi o *DGAT1* descrito por Grisart et al. (2002), onde foi detectado uma transição não conservativa na posição K232A envolvendo uma troca de aminoácidos entre lisina e alanina. O gene encontra-se localizado no cromossomo bovino 14, e tem a função de codificar a enzima diacilglicerol-O-aciltransferase que participa no metabolismo final de triglicerídeos.

No loco *DGAT1 K232A* foi encontrado efeito de associação sobre a deposição de gordura no leite (GRISART et al., 2002; THALLER et al., 2003) e marmoreio (KONG et al., 2007; WU et al., 2012; LI et al., 2013). Por outro lado,

existem trabalhos que não confirmam essa hipótese em relação ao efeito do marcador sobre a deposição de gordura intramuscular (PANNIER et al., 2010; SOUZA et al., 2010).

Outro fato relevante nesse marcador foi a segregação dos seus alelos conforme as raças avaliadas. Assim, quando o SNP foi analisado em animais zebuínos (Nelore) houve caso de fixação alélica, o que implica na sua capacidade de ser informativo para características de qualidade de carne (EGITO et al., 2005; LACORTE et al., 2006; SOUZA et al., 2014). Diante os fatos, as avaliações devem ser realizadas em diferentes grupos genéticos para revelar o seu potencial e participação biológica sobre características relacionadas ao metabolismo lipídico na carne.

2.7.2 SCD1- Estearoil-CoA dessaturase

A enzima estearoil-CoA dessaturase - 1 (*SCD1*) é responsável pela conversão e regulação do processo de dessaturação de ácidos graxos saturados em monoinsaturados no tecido adiposo de mamíferos (MILANESI et al., 2008). Este papel importante no metabolismo lipídico despertou grande interesse em ser utilizado como um gene candidato para estudos de associação sobre características da carne e carcaça bovina.

O gene *SCD1* também é chamado de delta 9-dessaturase, pois a ligação dupla esta ligada ao nono carbono da extremidade ômega da molécula (PAUCIULLO et al., 2012). Este gene esta localizado no cromossomo 26 e possui uma estrutura genômica de 17 kb (kilobase) consistido em seis exons e cinco íntrons (MELE., et al 2007). É altamente expresso no fígado, tecido adiposo e glândula mamária de ruminantes.

Na glândula mamária, é responsável pela produção de aproximadamente 80% das comuns formas de ácido linolênico conjugado (CLA, cis-9 trans-11 C18:2) que estão presente no leite (CORL et al., 2001). Há indícios que as variações independentes da dieta no teor de CLA encontradas no leite são causadas por diferenças na regulação da expressão da enzima na glândula mamária e polimorfismos presentes no gene *SCD* (PETERSON et al., 2002).

Segundo Taniguchi et al. (2004) existem oito SNPs no quinto exon, três deles estão nas posições (g.10153G>A) 702, (g.10213C>T) 762 e (g.10329T>C) 878 no gene do *SCD1* região *Open Read Frame* (ORF). No SNP *SCD1*-878 ocorre uma substituição de um aminoácido valina por alanina, os autores sugerem que este polimorfismo está relacionado com a composição de ácidos graxos monoinsaturados presente no marmoreio e o ponto de fusão da gordura no gado japonês.

No estudo de Reardon et al. (2010) foram encontrados efeitos de associação do loco *SCD1:878* sobre as características de parâmetro de cor L*, a* e b*, porcentagem de gordura intramuscular e porcentagem de proteína (N) na carne. O teste de comparação de médias entre os genótipos revelaram que o alelo A em homozigose apresentou o maior valor de porcentagem de gordura intramuscular comparado ao heterozigoto. Para as variáveis do parâmetro de cor, os indivíduos que receberam o genótipo AA apresentaram a carne mais clara que as dos demais genótipos.

Vários estudos apontam efeito entre o polimorfismo no gene *SCD1* e a composição de ácidos graxos da carne, relacionados ao tecido intramuscular, tecido adiposo e a composição de ácidos graxos no leite (TANIGUCHI et al., 2004; CONTE et al., 2006; MELE et al., 2007; JIANG et al., 2008; WU et al., 2012).

2.7.3 *FABP3*

As proteínas *FABP* (proteínas de ligação de ácidos graxos) têm um papel fundamental no metabolismo de ácidos graxos, principalmente a absorção e o transporte intracelular em locais de oxidação β e sítios de síntese de triacilglicerol e fosfolipídios (VEERKAMP & MAATMAN 1995). Existem nove tipos de proteínas citoplasmáticas do tipo *FABP* que são expressas em tecidos específicos, sendo estas diferenciadas pela sua estrutura primária, entre estas estão presentes as proteínas do tipo *FABP3* e *FABP4* (CHMURZYNSKA, 2006).

O *FABP3* é considerado uma proteína do coração e está relacionada ao transporte de ácidos graxos na membrana celular para os locais intracelulares que utilizam os ácidos graxos, esta é expressa principalmente no músculo

cardíaco e esquelético (VEERKAMP & MAATMAN 1995). Segundo Roy et al. (2003) este gene está localizado no cromossomo 2.

Existem dezoito SNPs validados para o gene *FABP3* que compõem o painel comercial BovineHD (Illumina). Nesse gene, a maioria dos trabalhos descritos na literatura é com suínos, que relataram um efeito de associação sobre características de carcaça (CHMURZYNSKA et al., 2007; CHO et al., 2011).

Em bovinos, os relatos encontrados com o gene demonstraram efeito de SNPs sobre características que envolvem o metabolismo lipídico (CHMURZYNSKA et al., 2007; CHO et al., 2008; CHO et al., 2011; LIANG et al., 2014; BLECHA et al., 2015). No trabalho de Blecha et al. (2015) foi validado o SNP *FABP3-G>A* (id:KM382065.1), que está localizado no íntron 1. Com isto, foi sugerido pelos autores que este marcador possa ser utilizado em futuros estudos de associação em bovinos, pois o mesmo apresentou efeito sobre as características AOL e relação AOL/PCQ em animais cruzados (*Bos taurus taurus* vs. *Bos taurus indicus*).

2.7.4 *FABP4*

O *FABP4* também é conhecido como *FABP* adipócito, foi detectado pela primeira vez no tecido pré-adipócito e adiposo maduro (ESPIEGELMAN et al., 1983), este é altamente expresso em adipócitos e representa cerca de 1% de todas as proteínas solúveis no tecido adiposo (BAXA et al., 1989). A sua principal função é o transporte de ácidos graxos e participa na oxidação lipídica (GAN et al., 2015).

Em bovinos a proteína está localizada no cromossomo 14, e, frequentemente, vem sendo estudada, por parte dos pesquisadores, levando em consideração as propriedades biológicas citadas anteriormente e os efeitos já encontrados relacionados com marmoreio e espessura de gordura na carcaça (CHO et al., 2008; BARENDSE et al., 2009; LEE et al., 2010; AVILÉS et al., 2013).

No entanto, Oh et al. (2012) não encontraram efeito de associação em nenhuma das variáveis analisadas (peso de carcaça quente, marmoreio e espessura de gordura) em bovinos coreanos. Fato que corrobora com estudo

de Blecha et al. (2015) que não encontraram efeito de associação em nenhuma das variáveis (espessura de gordura, área de olho de lombo, peso de carcaça quente, marmoreio, força de cisalhamento e rendimento de carcaça) em bovinos cruzados (*Bos taurus taurus* vs. *Bos taurus indicus*).

No estudo de Blecha et al., (2015) o alelo C foi o mais frequente para todos os grupos genéticos avaliados. Barendse et al. (2009) encontraram maior frequência do alelo C em todas as raças, exceto em animais Angus. Por outro lado, Oh et al. (2012) realizaram a genotipagem de bovinos coreanos e encontraram maior presença do alelo G na sua população.

Com objetivo de melhorar características de importância econômica, têm-se buscando por meio de genes candidatos, SNPs que possam ser utilizados como referência na seleção dos animais. Pelos estudos já realizados, pode-se observar grande variabilidade genética envolvendo as raças de origem taurina e zebuína e certa especificidade de cada marcador. Com isso, os estudos de associação entre polimorfismos e características quali-quantitativas de carne e carcaça, revelam informações valiosas que podem contribuir no avanço do melhoramento genético na era genômica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Estudar os polimorfismos *CAPN1*:c.947, *DGAT1*:K232A, *SCD1*:c.878, *CAST*:c.155, *FABP3* e *FABP4*:408 em uma população de bovinos cruzados e avaliar os efeitos desses marcadores sobre características de carcaça e qualidade da carne.

3.2 Objetivos específicos

Calcular as frequências alélicas dos SNPs nos genes *CAPN1*, *CAST*, *SCD*, *DGAT1*, *FABP3* e *FABP4* na população total.

Comparar as porcentagens alélicas dos locos estudados nos subgrupos conforme a herança paterna e materna.

Analisar os efeitos de associações entre SNPs dos genes candidatos e características quali-quantitativas da carne e carcaça.

4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABIEC - **Associação brasileira das indústrias exportadoras de carne**. Relatórios detalhados sobre exportações brasileiras de carne bovina. São Paulo, 2016.

ALVES, D. D.; MANCIO, A. B. Maciez da carne bovina-uma revisão. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v. 14, n. 1, p. 193-216. 2007.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat**. Chicago, American Meat Science Association, 1995.

ANDERSSON, L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. **Nature Reviews Genetics**, v. 2, n. 2, p. 130-138, 2001.

ANDRIGHETTO, C. et al. Maturação da carne bovina (Ageing of meat beef). **REDVET Revista eletrônica de Veterinária**, v. 7, n. 6, p. 1-6, 2006.

AVILÉS, C. et al. Associations between gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. **Journal of animal science**, v. 91, n. 10, p. 4571-4577, 2013.

BARENDSE, W. **DNA markers for meat tenderness. International patent application No.** PCT/AU02/00122. World Intellectual Property Org. Int. Publication No. WO 02/064820. 2002.

BARENDSE, W. et al. Epistasis between calpain 1 and its inhibitor calpastatin within breeds of cattle. **Genetics**, v. 176, n. 4, p. 2601-2610, 2007.

BARENDSE, W. et al. Variation at the Calpain 3 gene is associated with meat tenderness in zebu and composite breeds of cattle. **BMC genetics**, v. 9, n. 1, p. 1, 2008.

BARENDSE, W. et al. A splice site single nucleotide polymorphism of the fatty acid binding protein 4 gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissimus muscle in Australian cattle. **Animal genetics**, v. 40, n. 5, p. 770-773, 2009.

BARBOSA, P. F. Raças e estratégias de cruzamento para produção de novilhos precoces. **SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE**, v. 1, p. 1-20, 1999.

BARTON, L. et al. Associations of polymorphisms in bovine DGAT1, FABP4, FASN, and PPARGC1A genes with intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. **Meat science**, v. 114, p. 18-23, 2016.

BAXA, C. A. et al. Human adipocyte lipid-binding protein: purification of the protein and cloning of its complementary DNA. **Biochemistry**, v. 28, n. 22, p. 8683-8690, 1989.

BECKER, T. Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. **British Food Journal**, v. 102, n. 3, p. 158-176, 2000.

BECKER, T. Defining meat quality. **Meat processing: Improving quality**, p. 2.1-2.7, 2002.

BERG, R. T.; BUTTERFIELD, R. M. **New concepts of cattle growth**. Sydney University Press, University of Sydney, 1976. ISBN 0424000024.

BISHOP, M. et al. Rapid communication: restriction fragment length polymorphisms in the bovine calpastatin gene. **Journal of animal science**, v. 71, n. 8, p. 2277-2277, 1993.

BONIN, M. D. N. **Estudo da influência de touro e de genearca da raça Nelore nos aspectos quantitativos e qualitativos de carcaça e da carne**. 2008. 179f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga – São Paulo, 2008.

BLECHA, I. et al. Identification and evaluation of polymorphisms in FABP3 and FABP4 in beef cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 16353-16363, 2015.

BRIDI, A. M.; CONSTANTINO, C. Qualidade e Avaliação de Carcaças e Carnes Bovinas. Congresso Paranaense dos Estudantes de Zootecnia, Anais... Maringá, 2009.

BROWN, T. A. Genética: **Um Enfoque Molecular**. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000.

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, n. 8, p. 64-71, 2009.

CARVALHO, B. et al. Exploration, normalization, and genotype calls of high-density oligonucleotide SNP array data. **Biostatistics**, v. 8, n. 2, p. 485-499, 2007.

CARVALHO, M. et al. Genotypic and allelic frequencies of gene polymorphisms associated with meat tenderness in Nellore beef cattle. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 16, n. 1, 2017.

CASAS, E. et al. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in cattle. **Journal of animal science**, v. 83, n. 1, p. 13-19, 2005.

CASAS, E. et al. Effects of μ -markers in beef cattle on tenderness traits. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 3, p. 520-525, 2006.

CASTRO, S. et al. Association of single nucleotide polymorphisms in CAPN1, CAST and MB genes with meat color of Brahman and crossbreed cattle. **Meat science**, v. 117, p. 44-49, 2016.

CHMURZYŃSKA, A. et al. Association of a new SNP in promoter region of the porcine FABP3 gene with fatness traits in a Polish synthetic line. **Animal biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 37-44, 2007.

CHMURZYŃSKA, A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. **Journal of applied genetics**, v. 47, n. 1, p. 39-48, 2006.

CHRISTENSEN, M. et al. Relationship between collagen characteristics, lipid content and raw and cooked texture of meat from young bulls of fifteen European breeds. **Meat Science**, v. 87, n. 1, p. 61-65, 2011.

CHO, K. et al. Association of genetic variants for FABP3 gene with back fat thickness and intramuscular fat content in pig. **Molecular biology reports**, v. 38, n. 3, p. 2161-2166, 2011.

CHO, S. et al. Identification of genetic polymorphisms in FABP3 and FABP4 and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. **BMB reports**, v. 41, n. 1, p. 29-34, 2008.

CHUNG, H.; DAVIS, M.; HINES, H. Genetic variants detected by PCR-RFLP in intron 6 of the bovine calpastatin gene. **Animal Genetics**, v. 32, n. 1, p. 53-53, 2001.

CHUNG, H. et al. Effect of the calpain proteolysis and calpain genotype on meat tenderness of Angus Bulls. 1999.

CONTE, G. et al. Relationship between bovine SCD polymorphism locus and mammary gland desaturation activity. **Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006**. Instituto Prociência. p.22-37.

CORL, B. et al. The role of delta-9-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA and other delta-9 desaturated fatty acids in milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. s1, 2000.

CORVA, P. et al. Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in Bos taurus beef cattle from Argentina. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 4, p. 1064-1069, 2007.

COSTA, E. C. D. et al. Composição física da carcaça, qualidade da carne e conteúdo de colesterol no músculo Longissimus dorsi de novilhos Red Angus superprecoces, terminados em confinamento e abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 417-428, 2002.

COSTELLO, S. et al. Association of polymorphisms in the calpain I, calpain II and growth hormone genes with tenderness in bovine M. longissimus dorsi. **Meat science**, v. 75, n. 4, p. 551-557, 2007.

COUTINHO, L. L.; ROSÁRIO, M. F. D.; JORGE, E. C. Biotecnologia animal. **estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 123-147, 2010.

CROSS, H.; MOEN, R.; STANFIELD, M. Training and testing of judges for sensory analysis of meat quality [Textural properties]. **Food Technology**, 1978.

CROUSE, J. D. et al. Comparisons of and inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 10, p. 2661-2668, 1989.

DE LIMA JÚNIOR, D. M. et al. Alguns aspectos qualitativos da carne bovina: uma revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 4, p. 351-358, 2012.

EGITO, A. A. et al. **Polimorfismo Lisina-232/Alanina no gene DGAT1 em raças bovinas criadas no Brasil**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Embrapa. Brasília, p.8. 2005.

EKERLJUNG, M. et al. Associations between candidate SNPs in the calpain 1, calpastatin and leptin genes and meat tenderness among Swedish beef populations. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A–Animal Science**, v. 62, n. 3, p. 114-119, 2012.

DE FELÍCIO, P. E. Fatores ante e post-mortem que influenciam na qualidade da carne bovina. 1997.

FERRAZ, A. L. J. **Análise da expressão gênica no músculo esquelético de bovinos das raças Nelore e Aberdeen Angus e sua relação com o desenvolvimento muscular e a maciez da carne.** 2009. 113f. Tese (doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. São Paulo – Jaboticabal, 2009.

FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. Introduction to the use of molecular markers in genetic analysis. **3rd ed. EMBRAPA-Cenargen, Brasilia, Brazil**, 1998.

FORTES, M. R. S. et al. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, p. 75-82, 2009.

FORTES, M. **Polimorfismos dos genes CAPN1, CAST, LEP, TG e DGAT1 como possíveis indicadores da qualidade da carne em bovinos zebuínos e cruzados abatidos em idade jovem.** 2007. 87f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-Departamento de Reprodução Animal, Universidade Federal de São Paulo, 2007.

GAN, L. et al. FABP4 reversed the regulation of leptin on mitochondrial fatty acid oxidation in mice adipocytes. **Scientific reports**, v. 5, p. 13588-13588, 2014.

GAO, Y. et al. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 36-45, 2007.

GARCIA, M. et al. Significant association of the calpastatin gene with fertility and longevity in dairy cattle. **Animal genetics**, v. 37, n. 3, p. 304-304, 2006.

GELDERMANN, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers: I. Methods. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, 46. 319-330, 1975.

GUIMARÃES, P.E.M.; COSTA, M.C.R. **SNPs: Sutis diferenças de um código**. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, n. 26, 2002.

GRISART, B. et al. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. **Genome research**, v. 12, n. 2, p. 222-231, 2002.

HEID, C. A. et al. Real time quantitative PCR. **Genome research**, v. 6, n. 10, p. 986-994, 1996.

HEINEMANN, R. J. B.; PINTO, M. F.; ROMANELLI, P. F. Fatores que influenciam a textura da carne de novilhos Nelore e cruzados Limousin-Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 963-971, 2003.

HOCQUETTE, J.-F. et al. Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality. 2007.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e estatística**. SIDRA – Sistemas IBGE de Recuperação Automática, 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2>>. Acesso em: 02 de dez. 2016.

JAEGER, S. et al. Características da carcaça de bovinos de quatro grupos genéticos submetidos a dietas com ou sem adição de gordura protegida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1876-1887, 2004.

JIANG, Z. et al. Significant associations of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) gene with fat deposition and composition in skeletal muscle. **Int J Biol Sci**, v. 4, n. 6, p. 345-351, 2008.

JOO, S. et al. Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. **Meat science**, v. 95, n. 4, p. 828-836, 2013.

KING, D. et al. Carcass merit between and among family groups of Bos indicus crossbred steers and heifers. **Meat science**, v. 72, n. 3, p. 496-502, 2006.

KIRINUS, J. K. et al. Aplicação da genética molecular para a melhoria da qualidade da carne bovina. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, p. 165-174, 2014.

KONG, H. et al. Association of sequence variations in DGAT 1 gene with economic traits in Hanwoo (Korea cattle). **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 6, p. 817, 2007.

KOOHMARAIE, M. et al. Factors associated with the tenderness of three bovine muscles. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 407-410, 1988.

KOOHMARAIE, M. et al. Effect of post-mortem storage on Ca²⁺-dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. **Meat Science**, Oxon, v. 19, p.187-196, 1987.

LARA, M. A. C. et al. Detecção de polimorfismos no exon14 do gene CAPN1 em raças bovinas europeias, zebuínas e seus mestiços. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal-AICA**, 2012.

LACORTE, G. et al. DGAT1 K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. **Genet Mol Res**, v. 5, n. 3, p. 475-82, 2006.

LEE, S. et al. Genetic polymorphisms of the bovine fatty acid binding protein 4 gene are significantly associated with marbling and carcass weight in Hanwoo (Korean Cattle). **Animal genetics**, v. 41, n. 4, p. 442-444, 2010.

LI, X. et al. 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, n. 2, p. 153-158, 2013.

LIANG, M.-Y. et al. Functional analysis of FABP3 in the milk fat synthesis signaling pathway of dairy cow mammary epithelial cells. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, v. 50, n. 9, p. 865-873, 2014.

LONERGAN, S. M. et al. Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness. **Journal of animal science**, v. 73, n. 12, p. 3608-3612, 1995.

LOPES, L. S. et al. Características de carcaça e cortes comerciais de tourinhos Red Norte e Nelore terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 970-977, 2012.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: LinBife, 134p, 2000.

LUCHIARI FILHO, A. et al. Características de carcaça e rendimento da porção comestível de machos Nelore comparados a cruzados (F1) obtidos do acasalamento de touros das raças Canchim, Santa Gertrudis, Caracu, Holandês e Suíço com fêmeas Nelore. I. Animais inteiros terminados em. **Boletim de Indústria Animal**, v. 46, n. 1, p. 17-25, 1989.

MAGGIONI, D. et al. Genetic groups and levels of fat thickness on the quality of meat from bulls. **Seminário: Ciências Agrárias (Londrina)**, v. 33, n. 1, p. 391-402, 2012.

MALTIN, C. et al. Determinants of meat quality: tenderness. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 02, p. 337-347, 2003.

MANCINI, R.; HUNT, M. Current research in meat color. **Meat science**, v. 71, n. 1, p. 100-121, 2005.

MELE, M. et al. Stearoyl-coenzyme A desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 9, p. 4458-4465, 2007.

MENEZES, O. et al. Avaliação das características de carcaça e carne de novilhos precoces provenientes do cruzamento entre raças taurinas adaptadas ou não sobre matrizes Nelore¹.

MICHAL, J. et al. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. **Animal Genetics**, v. 37, n. 4, p. 400-402, 2006.

MILANESI, E.; NICOLOSO, L.; CREPALDI, P. Stearoyl CoA desaturase (SCD) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 125, n. 1, p. 63-67, 2008.

MORRIS, C. et al. Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked M. longissimus dorsi steaks from Jersey× Limousin, Angus and Hereford-cross cattle. **Animal genetics**, v. 37, n. 4, p. 411-414, 2006.

MULLIS, K. et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. **Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology**, 1986. Cold Spring Harbor Laboratory Press. p.263-273.

NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES, M.; SILVA, F. PCR em tempo real. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, p. 10-13, 2004.

OH, D.-Y. et al. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism) for fatty acid composition associated with beef flavor-related FABP4 (fatty acid binding protein 4) in Korean cattle. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 25, n. 7, p. 913-920, 2012.

PAUCIULLO, A. et al. A single nucleotide polymorphism in the promoter region of river buffalo stearyl CoA desaturase gene (SCD) is associated with milk yield. **Journal of dairy research**, v. 79, n. 04, p. 429-435, 2012.

PAGE, B. et al. L. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 12, p. 3474-3481, 2004.

PAGE, B. et al. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in for association with meat tenderness in cattle. **Journal of animal science**, v. 80, n. 12, p. 3077-3085, 2002.

PANNIER, L. et al. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred Bos taurus cattle. **Meat science**, v. 85, n. 3, p. 515-518, 2010.

PEREIRA, C. S. et al. Detecção de polimorfismos associados à maciez da carne em genes da calpaína e da calpastatina em bovinos da raça simental no rio grande do sul. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, v. 1, n. 13, 2015.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal**. Escola de Veterinária da UFMG (Brasil) 6. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2012. 758p.

PEREIRA, P. M. R. D. C. **Características de carcaça e qualidade de carne de bovinos superprecoces de três grupos genéticos**. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande – Mato Grosso do Sul, 2009.

PETERSON, D.; KELSEY, J.; BAUMAN, D. Analysis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2164-2172, 2002.

PEROTTO, D.; MOLETTA, J. L.; CUBAS, A. C. Características da carcaça de bovinos canchim e aberdeen angus e de seus cruzamentos. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, 1999.

PINTO, L. et al. Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 3, p. 1431-1442, 2010.

RAMOS, E. M.; DE MIRANDA GOMIDE, L. A. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamento e metodologias**. UFV, 2007. ISBN 8572692894.

REARDON, W. et al. 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, n. 2, p. 270-275, 2010.

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

RESTLE, J. et al. Características de carcaça e da carne de novilhos de diferentes genótipos de Hereford x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 6, p. 1245-1251, 1999.

ROSA, A. N.; MENEZES, G. R. O.; EGITO, A. A. **Melhoramento genético aplicado em gado de corte**: Programa Geneplus-Embrapa. 21ed. Brasília: 2013, 12-25 p.

ROY, R. et al. Fine mapping of the bovine heart fatty acid-binding protein gene (FABP3) to BTA2q45 by fluorescence in situ hybridization and radiation hybrid mapping. **Animal genetics**, v. 34, n. 6, p. 466-467, 2003.

RUBENSAM, J. M.; FELÍCIO, P. D.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade de calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, p. 405-409, 1998.

RUBIO LOZANO, M. S. et al. Meat Tenderness Genetic and Genomic Variation Sources in Commercial Beef Cattle. **Journal of Food Quality**, 2016.

SAINZ, R. D.; ARAUJO, F. R. Tipificação de carcaças de bovinos e suínos. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 2001. Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos Campinas. p.26-55.

SCHENKEL, F. S. et al. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 2, p. 291-299, 2006.

SMITH, T. P. et al. Theory and application of genome-based approaches to improve the quality and value of beef. **Outlook on Agriculture**, v. 32, n. 4, p. 253-265, 2003.

SOUKI, G. Q. et al. Atributos que afetam a decisão de compra dos consumidores de carne bovina. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 5, n. 2, 2011

SOUZA, F. R. et al. Assessment of DGAT1 and LEP gene polymorphisms in three Nelore (*Bos indicus*) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. **Journal of animal science**, v. 88, n. 2, p. 435-41, 2010.

SOUZA, F. et al. Assessment of and gene polymorphisms in three Nelore () lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. **Journal of animal science**, v. 88, n. 2, p. 435-441, 2014.

SPIEGELMAN, B.; FRANK, M.; GREEN, H. Molecular cloning of mRNA from 3T3 adipocytes. Regulation of mRNA content for glycerophosphate dehydrogenase and other differentiation-dependent proteins during adipocyte development. **Journal of Biological Chemistry**, v. 258, n. 16, p. 10083-10089, 1983.

SUGUISAWA, L. S. et al. Utilização de Marcadores Moleculares para Qualidade de Carne em bovinos de corte. **Ciê. Agr. Saúde. FEA, Andradina**, v. 2, p. 43-46, dez, 2002.

STEEN, R. The effect of plane of nutrition and slaughter weight on growth and food efficiency in bulls, steers and heifers of three breed crosses. **Livestock Production Science**, v. 42, n. 1, p. 1-11, 1995.

SYVANEN, A.-C. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. **Nature Reviews Genetics**, v. 2, n. 12, p. 930-942, 2001.

TAIT, R. G. et al. Selection enhanced estimates of marker effects on means and variances of beef tenderness. 2016.

TANIGUCHI, M. et al. Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. **Mammalian genome**, v. 15, n. 2, p. 142-148, 2004.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1351-1367, 1995.

THALLER, G. et al. Effects of variants on milk production traits in German cattle breeds. **Journal of animal science**, v. 81, n. 8, p. 1911-1918, 2003.

TIZIOTO, P. C. et al. Genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiological genomics**, v. 45, n. 21, p. 1012-1020, 2013.

YOKOO, M. J.-I. et al. Medidas repetidas no estudo de características de crescimento e carcaça avaliadas por ultrassom em novilhas de corte cruzadas. **Boletim de Indústria Animal**, v. 71, n. 3, p. 200-210, 2014.

VAN EENENNAAM, A. et al. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. **Journal of animal science**, v. 85, n. 4, p. 891-900, 2007.

VAZ, F. N. et al. Qualidade e composição química da carne de bovinos de corte inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos Charolês x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 518-525, 2001.

VEERKAMP, J. H.; MAATMAN, R. G. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: their structure and genes. **Progress in lipid research**, v. 34, n. 1, p. 17-52, 1995.

VIGNAL, A. et al. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 3, p. 275-306, 2002.

VITTORI, A. et al. Características de carcaça de bovinos de diferentes grupos genéticos, castrados e não-castrados, em fase de terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 5, p. 2085-2092, 2006.

USDA. **Official United States standards for grades of carcass beef**. Washington, D.C.: Agric. Marketing Serv, 1999.

WARNER, R. et al. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 171-183, 2010.

WARRIS, P. Meat science. An introductory text. New York: CABI Pub: Inc 2000.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. Molecular structure of nucleic acids. **Nature**, v. 171, n. 4356, p. 737-738, 1953.

WHIPPLE, G. et al. Predicting beef-longissimus tenderness from various biochemical and histological muscle traits. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 12, p. 4193-4199, 1990.

WHITE, S. et al. A new single nucleotide polymorphism in extends the current tenderness marker test to include cattle of and crossbred descent. **Journal of animal science**, v. 83, n. 9, p. 2001-2008, 2005.

WHEELER, T.; CUNDIFF, L.; KOCH, R. Effect of marbling degree on beef palatability in Bos taurus and Bos indicus cattle. **Journal of animal science**, v. 72, n. 12, p. 3145-3151, 1994.

WU, X. et al. Association of SCD1 and DGAT1 SNPs with the intramuscular fat traits in Chinese Simmental cattle and their distribution in eight Chinese cattle breeds. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 2, p. 1065-1071, 2012.

Uma parte deste capítulo seguiu as normas da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) para fins de submissão do artigo.

CAPÍTULO – 2. Associação de polimorfismos nos genes *CAPN1*, *CAST*, *DGAT1*, *SCD1*, *FABP3* e *FABP4* com características de qualidade de carcaça e da carne em bovinos

B.D, Dauria¹, G.L.D, Feijó², A.L.J, Ferraz¹.

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS, Brasil

² Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil

RESUMO. Os objetivos deste estudo foram caracterizar as frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em seis genes candidatos (*CAPN1*, *CAST*, *DGAT1*, *SCD1*, *FABP3* e *FABP4*) e avaliar a sua associação com características quali-quantitativas da carcaça e da carne. Os animais foram obtidos de uma população (n = 136) provenientes do cruzamento entre touros Braford, Canchim, Caracu e Nelore com matrizes F1 ½ Angus x ½ Nelore, F1 ½ Caracu x ½ Nelore e Nelore totalizando 10 grupos genéticos. Os genótipos foram obtidos pelo método de genotipagem por PCR em tempo real. Foram observadas as frequências alélicas e verificada a distribuição dos alelos pelo teste qui-quadrado (P<0,05). Os marcadores *DGAT1* K232A e *CAPN1*:978 foram pouco informativos em animais Nelore devido a nula e baixa frequência alélica, respectivamente. O efeito encontrado nos SNPs sobre as variáveis foi para espessura de gordura (EGS), área de olho de lombo (AOL), área de olho de lombo/peso de carcaça quente (AOL/PCQ), luminosidade no musculo (L*MUSC), hue na gordura (HUEGORD), rendimento de carcaça (RC), gordura perirrenal (GORDPERI), gordura perirrenal, peso de carcaça quente (GORDPERI/PCQ), profundidade interna (PROF), relação entre espessura de gordura/peso de carcaça quente (EGS/PCQ) e relação entre espessura de gordura e área de lombo (EGS/AOL) (P = ≤0,05). O loco *CAST*:155 não apresentou efeito sobre as variáveis analisadas. Os conjuntos de informações encontrados servem como referencial para identificação da variabilidade dos marcadores em produtos oriundos de cruzamentos, e ferramenta adicional em programas de seleção de melhoramento genético.

Palavras-chave: Cruzamento; Genes candidatos; Marcadores moleculares; Marmoreio; Melhoramento genético; SNPs

INTRODUÇÃO

A busca por melhor eficiência na produção da carne bovina, que implicaria em carcaças com maior porção muscular, menor quantidade de ossos e quantidade desejável de gordura, é altamente complexa, isto porque, existe uma diversidade de fatores que determinam a qualidade final da carcaça (Berg & Butterfield, 1976). A associação de aspectos intrínsecos, aqueles pré-abate, como nutrição, sanidade, sexo, idade ao abate, raça e a expressão do genótipo do animal com sua interação com o ambiente, e fatores extrínsecos, ou pós-abate, que são representados pelas formas de tratamento e processamento da carne e da carcaça (estimulação elétrica, temperatura e velocidade de resfriamento, maturação, métodos de cocção) são determinantes da qualidade das carcaças e da carne bovina (Felício, 1997).

Para evidenciar o efeito da genética sobre as características das carcaças e da carne bovina pode-se utilizar estudos com genes candidatos, ou seja, genes com funções biológicas envolvidas no desenvolvimento ou na fisiologia de determinada característica de interesse econômico (Bryne & McMullen, 1996). Esse efeito tem sido demonstrado em estudos de associação entre marcadores moleculares, como os polimorfismos de base única (SNP), e características de interesse econômico (área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, marmoreio e maciez) (Casas et al., 2005; Cho et al., 2008; Fortes et al., 2009; Reardon et al., 2010; Pintos & Corva, 2011; Lara et al., 2012; Li et al., 2013; Tait et al., 2016).

O sistema proteolítico calpaína/calpastatina é considerado como determinante no processo de amaciamento *post-mortem* da carne. Há dois tipos da enzima calpaína, μ -calpaína e a m-calpaína, que se diferenciam pela quantidade de cálcio necessária para sua ativação e estas são moduladas pelo efeito inibidor da calpastatina (Koohmarie, 1992; Wheeler et al., 2000). Assim, no sistema proteolítico da carne, os genes frequentemente estudados são os precursores da μ -calpaína (*CAPN1*) e da calpastatina (*CAST*) (Casas et al., 2006; Barendse et al., 2007; Pinto et al., 2010; Li et al., 2013; Castro et al., 2016).

Os SNPs nos genes *CAPN1* e *CAST* foram associados com características qualitativas, principalmente, para maciez, marmoreio e cor da carne (White et al., 2005; Casas et al., 2005, 2006; Morris et al., 2006; Corva et al., 2007; Li et al., 2013). Segundo Barendse et al. (2007), os SNPs *CAPN1*: c.947 G>C e *CAST*: c.155 C>T são promissores para serem usados em processos de seleção para características de carcaça, pois ambos mostraram efeito significativo.

Genes associados ao metabolismo lipídico também influenciam a qualidade da carcaça. A deposição de gordura é determinante em características como marmoreio, espessura de gordura subcutânea e perfil de ácidos graxos da carne (Michal et al., 2006; Kong et al., 2007; Wu et al., 2012; Li et al., 2013). Dessa forma, alguns genes foram elencados como candidatos para estudos de associação com características relacionadas à deposição de gordura em bovinos, entre eles *SCD1*, *DGAT1*, *FABP3* e *FABP4* (Pannier et al., 2010; Li et al., 2013; Blecha et al., 2015; Barton et al., 2016).

De acordo com Myazaki e Ntambi (2003), o gene *SCD1* codifica o esteroil-CoA dessaturase uma enzima responsável por catalisar a biossíntese de ácidos graxos monoinsaturados e fazer a conversão do ácido esteárico (saturado) em ácido oleico (insaturado). O polimorfismo *SCD1.878 G>A* foi associado ao perfil lipídico da carne bovina e gordura intramuscular (Milanesi et al., 2008; Wu et al., 2012).

Já o gene *DGAT1* tem como função codificar a enzima diacilglicerol-O-aciltransferase que participa no metabolismo final de triglicerídeos (Grisart et al., 2002). Alguns autores identificaram uma transição não conservativa *DGAT1.K232A AA>GC*

que demonstrou estar associado com teor de gordura no leite (Grisart et al., 2002; Spelman et al., 2002). E também em variações de traços de marmoreio na carne (Li et al., 2013).

Os genes *FABP3* e *FABP4* codificam proteínas pertencentes a uma família de pequenas proteínas citoplasmáticas altamente conservadas que se ligam a longas cadeias de ácidos graxos e outros ligantes hidrofóbicos, atuando no metabolismo de ácidos graxos. Os SNPs *FABP3 G>A* e *FABP4.408 G>C* foram associados à espessura de gordura subcutânea e à gordura intramuscular (Michal et al., 2006; Avilés et al., 2014; Blecha et al., 2015).

Objetivou-se estimar as frequências alélicas de polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo proteolítico (*CAPN1* e *CAST*) e ao metabolismo lipídico (*DGAT1*, *SCD1*, *FABP3* e *FABP4*) em uma população de animais cruzados e zebuínos puros, assim como em função da origem paterna e materna dos animais. E também estimar os efeitos de associação entre esses SNPs e características quali-quantitativas da carcaça e carne bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e população experimental

Esta pesquisa foi realizada no laboratório de Genética e Melhoramento Animal (GEMA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - Gado de Corte), localizada no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Foram utilizadas informações fenotípicas de 136 bovinos, machos e fêmeas concebidos por meio de inseminação artificial e nascidos nas safras de 2013 e 2014. As matrizes eram F1 ½ Caracu x ½ Nelore, F1 ½ Angus x ½ Nelore e Nelore e os touros foram da raça Braford, Caracu, Canchim e Nelore. Após o desmame os animais permaneceram em um pasto de Braquiária com suplementação na época da seca. Na fase de terminação os animais foram confinados por 90 dias antes do abate.

Análises fenotípicas

Os animais foram destinados a um frigorífico comercial e abatidos conforme legislação higiênico-sanitária (RIISPOA) e seguindo regras de bem-estar animal vigentes no país. No abate, foram obtidos os pesos de gordura perirrenal (GORDPERI), de fígado e de carcaça quente (PCQ).

Após resfriamento por um período de 24 horas, foram obtidas as medidas de comprimento da carcaça (COMPCAR), profundidade interna da carcaça (PROFINT) e feitas avaliações subjetivas da distribuição da gordura (DISTRIB) (escala de 1= gordura mal distribuída a 3= gordura bem distribuída) e do grau de acabamento (ACABAMENTO) (deposição da gordura na carcaça, conforme a escala 1= ausente a 5= excessiva - portaria MAPA nº 612 de 1989).

O músculo *Longissimus dorsi* foi seccionado entre a 12ª e 13ª costelas, onde foi desenhado o contorno do músculo para posterior mensuração da área de lombo (AOL) com o auxílio de um medidor de área foliar, foi medida a espessura de gordura subcutânea (EGS) com um paquímetro digital e estimada a deposição de gordura intramuscular (MARMORIZAÇÃO) conforme padrões do USDA quality grade (1997).

O músculo *L. dorsi* entre a 12ª e 10ª costelas foi desossado para a realização de análises colorimétricas da carne e da gordura (L*, a*, b* sistema CIELAB) e posterior obtenção dos valores de croma (CROMAMUSC e CROMAGORD) e hue (HUEMUSC).

e HUEGORD). O músculo foi desengordurado e subdividido em três subamostras transversais, sendo dois bifes com 2,5 cm de espessura e um com 1 cm. Os bifes espessos, destinados ao teste da força de cisalhamento, foram embalados a vácuo, sendo um deles congelado imediatamente (FC dia 0) e outro colocado para maturação por sete dias antes de ser congelado (FC dia 7). Com a diferença entre essas duas medidas foram calculados os percentuais de amaciamento da carne.

O terceiro bife, com espessura de 1 cm, foi utilizado para a avaliação do extrato etéreo (EE) pelo método AOCS Am 5-04 (2009), com um sistema de extração automática utilizando éter a alta temperatura e pressão.

Por fim, foram calculados o rendimento da carcaça (RC) e obtidas relações entre variáveis AOL/PCQ, EGS/AOL, EGS/PCQ e GORDPERI/PCQ.

Extração de DNA e genotipagem

Para a genotipagem foram coletadas amostras do músculo *Longissimus dorsi*, que foram armazenadas em tubo criogênico e congeladas a -20°C. O DNA genômico foi extraído pelo método *salting out* na qual a maceração das amostras foi realizada utilizando o homogeneizador elétrico *Tissue Ruptor* com 250 mg de carne por amostra e após, realizado a extração conforme protocolo para extração de DNA de músculo adaptado de Regitano e Coutinho (2001).

Posteriormente, o DNA extraído foi avaliado para a concentração e pureza (razão absorvância A_{260}/A_{280}) utilizando o equipamento espectrofotômetro (NanoDrop). As amostras, após a quantificação, foram diluídas em uma concentração de trabalho (50ng/uL).

Para a genotipagem dos animais, os alelos dos SNPs foram discriminados por meio de PCR em tempo real utilizando “primers” e sondas no sistema “*TaqMan genotyping*” (StepOne Plus, Life Technologies Corporation, USA).

Descrição dos polimorfismos investigados

Os “primers” e sondas utilizadas para amplificação e discriminação dos marcadores (Tabela 1) foram selecionados baseando-se nos relatos de Ekerljung (2012) para os SNPs nos genes *CAPN1*, *CAST*, *DGAT1* e *SCD1* e conforme Blecha et al. (2015) nos polimorfismos dos genes *FABP3* e *FAB4*.

Tabela 1. Genes, primers e sequências das sondas utilizadas para genotipagem em PCR em tempo real.

Gene	Direto	Reverso	Repórter 1 (VIC)	Repórter 2 (FAM)
CAPN1	GGCTGGGCAGGTCAGT	AGCTGCTCCGCATGTAAG	CCACGgCGTTCCA	CCACGcCGTTCCA
CAST	AACAAGCCTTGGGAGCAGT	AAAGTAGGTGCTTTTCATGTCCA	AAAAAGCCCcGGTCC	AAAAAGCCCiGGTCC
DGAT1	CGCTTGCTCGTAGCTTTGG	CGCGGTAGGTCAGGTTGTC	CGTTGGCCttCTTAC	TTGGCCgcCTTAC
SCD1	CCCCGAGAGAATATTCTGGTTTC	CCACTAGACGTGGTCTTGCT	CTTACCCgCAGCTCC	ACTTACCCaCAGCTCC
FABP3	GGTCATTGAGCCCCTTGACT	GAGGGAAGGGTATGAGCATGAG	TCGCCTCTcGTCCAG	TCGCCTCTCaTCCAG
FABP4	TGGGATGACCTAGCACTAAAATCTAGAA	ACCATAAAGAGAAAACCTGGATGAT	AGAAGATACTCAGcAGCACC	AGAAGATACTCAGcAGCACC

VIC e FAM: Fluoróforos usados para marcar os nucleotídeos dos SNPs (indicados com letra minúscula e negrito).

O gene da calpaína (*CAPN1*) (AF248054), localizado no BTA29, contém uma mutação (SNP *CAPN1*:974 G>C rs17872000) que provoca a substituição do aminoácido glicina por alanina (Barendse et al., 2007). O gene da calpastatina (*CAST*) (NM_174003.2), localizado no BTA7, apresenta o SNP *CAST*:155 C>T onde ocorre a substituição do aminoácido prolina por leucina (Barendse et al., 2007).

O gene *DGAT1* (AY065621), posicionado no BTA14, apresenta o SNP duplo *DGAT1* AA>GC que está localizado na posição K232A (exon 8) sendo responsável por uma mutação bi alélica resultando na substituição do aminoácido lisina (K) por alanina (A) (Grisart et al., 2002).

O *SCD1* (AY241932.1) encontra-se posicionado no BTA26 e apresenta o SNP *SCD1*.878 G>A onde ocorre uma substituição do aminoácido alanina por valina na posição A293V (Taniguchi et al., 2004; Wu et al., 2012).

Os genes *FABP3* (KM382065,1) e *FABP4* (ID:281759) estão localizados no BTA2 e BTA14, respectivamente. Os polimorfismos investigados foram o *FABP3* G>A e *FABP4*.408 C>G descritos por Blecha et al. (2015) e CHO et al. (2008).

Análise estatística

As frequências alélicas e genótípicas da população foram calculadas de acordo com Weir (1996) e a comparação da segregação dos alelos entre os grupos genéticos foi analisada pelo teste qui-quadrado ($P < 0,05$).

O estudo de associação entre os SNPs e as variáveis foi pela análise de variância por meio do procedimento GLM (SAS, 2002). Para essa análise foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijklmn} = \mu + Safr_j + Sexo_k + Mat_l + Pat_m + Gene_n + \epsilon$$

Y_{ijklm} = Fenótipo observado no i-ésimo animal pertencente à j-ésima safra do k-ésimo sexo do l-ésimo grupo materno e do m-ésimo grupo paterno apresentando o n-ésimo genótipo de um determinado gene.

μ = Média do fenótipo Y analisado.

Safra = Efeito da j-ésima safra, onde j varia de 1 a 2.

Sexo = Efeito do k-ésimo sexo, onde k determina se é macho ou fêmea.

Mat = Efeito do l-ésimo grupo materno, onde l assume um dos grupos: ANGNE, CARNE ou NE.

Pat = Efeito do m-ésimo grupo paterno, onde m assume uma das raças: BF, CC, CR ou NE.

Gene_n = Efeito do n-ésimo genótipo de um determinado gene: *CAPN1*, *CAST*, *DGAT1*, *SCD1*, *FABP3* ou *FABP4*.

ϵ = Erro experimental

Quando observado efeito significativo dos genes sobre um dado fenótipo, as médias ajustadas dos genótipos dos SNPs foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Frequências alélicas

Todos os alelos estudados estavam segregando na população (Tabela 2). Para o polimorfismo *CAPN1:974* o alelo mais frequente foi o G (86%), para o *CAST:155* foi o alelo T (60%), para o *DGAT1 K232A* foi o alelo AA (69%), para o *SCD1,878* foi o alelo G (57%), para o *FABP3* foi o alelo G (59%) e para o *FABP4,408* foi o alelo C (78%). Essa segregação, entretanto, foi diferente quando analisada conforme a origem paterna ou materna dos animais.

A maior frequência do alelo G para o loco *CAPN1:974* também foi encontrada no estudo de Rubio et al. (2016), os autores analisaram a correspondência entre a segregação dos alelos e os grupos genéticos (*Bos taurus*, *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus*), os resultados do agrupamento dos dados demonstraram que o alelo C está mais próximo de animais taurinos e o alelo G junto aos grupos de animais zebuínos e dos cruzados. Castro et al. (2016) também observaram maior frequência para o alelo G (90%) na população geral, representada por animais da raça Brahman e de animais oriundos do acasalamento entre *Bos taurus* e *Bos indicus*.

Para o loco *CAST:155* o alelo T também apresentou maior proporção alélica (72%) no estudo de Rubio et al. (2016). Os autores concluíram por meio dos resultados do agrupamento de dados, que o alelo C foi mais frequente nos animais de origem taurina e o alelo T em animais de origem zebuína e seus mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*). Contudo, Li et al. (2013) demonstraram que a frequência do alelo T foi de 58% na população de raças de origem *Bos taurus*.

Tabela 2. Frequências alélicas (%) dos SNPs avaliados na população e conforme os grupos genéticos paterno e materno dos animais.

SNPS	Alelos	Paterno				Materno			População
		BF	CC	CR	NE	ANGNEL	CARNEL	NE	
<u>CAPN1:c.974</u>		n= 29	n=30	n= 53	n= 20	n= 31	n=50	n=53	n=135
	G	84,45b	79,95b	83,90b	97,50a	83,90ab	80,40b	90,55a	0,86
	C	15,55	20,05	16,10	2,50	16,10	19,60	9,45	0,14
<u>CAST:155</u>		n=30	n=30	n=55	n=20	n=31	n=50	n=54	n=135
	C	35,05	43,35	43,65	30,00	43,55ab	46,00a	31,50b	0,40
	T	64,95	56,65	56,35	70,00	56,45	54,00	68,50	0,60
<u>DGAT1 K232A</u>		n=30	n=30	n=56	n=20	n=31	n=51	n=54	n=136
	AA	58,35b	60,00b	69,60b	100,0a	46,75c	66,70b	85,15a	0,69
	GC	41,65	40,00	30,40	—	53,25	33,30	14,85	0,31
<u>SCD1.878</u>		n=29	n=27	n=55	n=13	n=30	n=51	n=43	n=124
	A	39,65b	24,05b	59,10a	19,25b	45,00	39,25	45,35	0,43
	G	60,35	75,95	40,90	80,75	55,00	60,75	54,65	0,57
<u>FABP3</u>		n=28	n=30	n=54	n=19	n=29	n=50	n=52	n=131
	G	67,85a	60,00a	67,55a	20,60b	79,30a	65,00a	42,30b	0,59
	A	32,15	40,00	32,45	79,40	20,70	35,00	57,70	0,41
<u>FABP4.408</u>		n=28	n=29	n=53	n=17	n=29	n=49	n=49	n=127
	C	69,60b	82,80ab	77,35ab	88,25a	74,10	75,50	83,70	0,78
	G	30,40	17,20	22,65	11,75	25,90	24,50	16,30	0,22

Nas colunas paterno e materno; frequências alélicas de um dado gene seguidas de letras diferentes, diferem pelo teste qui-quadrado ($P < 0,05$). BF: Braford; CC: Canchim; CR: Caracu; NE: Nelore; ANGNEL: Angus x Nelore; CARNEL: Caracu x Nelore.

Para *DGAT1 K232A* a maior frequência do alelo AA também foi encontrada no estudo de Fortes et al. (2009) em 56% da população geral, na qual pertenciam animais cruzados (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*) e de origem pura para ambas subespécies. Quando esse loco foi avaliado em população Nelore a frequência do alelo AA foi de 97% (Souza et al., 2010). Por outro lado, quando o loco foi avaliado em raças taurinas a frequência do alelo GC apresentou 90% (Pannier et al., 2010) e 91% (Li et al., 2013).

No loco *SCD1:878* as frequências alélicas foram similares aos de bovinos chineses, sendo observada a maior proporção do alelo G em 8 raças distintas, variando de 66% a 95% (Wu et al., 2012). O mesmo fato foi encontrado no estudo de Li et al. (2013) que apresentaram a frequência de 66% do alelo G considerando todos os grupos genéticos de raças taurinas. Contudo, Reardon et al. (2010) encontraram o alelo A sendo o mais frequente com 61% em população de bovinos mestiços da Irlanda.

No loco *FABP3* também foram encontrados maior frequência do alelo G considerando todos os grupos genéticos de uma população de animais cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*) (Blecha et al., 2015).

Já no loco *FABP4.408* Blecha et al. (2015) encontraram maior frequência do alelo C em todos os grupos genéticos avaliados. Em contraste com as frequências apresentadas, Oh et al. (2012) encontraram 66% do alelo G em população de bovinos coreanos.

No SNP *CAPN1:974* houve diferença nas frequências alélicas em função da origem paterna e materna. A frequência do alelo G foi maior em progênies de touros Nelore em relação aos demais touros, que não apresentaram diferença entre si. Já no grupo de origem materna, a frequência do alelo G nos filhos de vacas Nelore foi maior do que em filhos de vacas Caracu x Nelore e intermediária em filhos de vacas Angus x Nelore, que não apresentou diferença com as anteriores.

Em alguns casos específicos o SNP apresentou variabilidade na segregação alélica conforme as raças estudadas. Em zebuínos a frequência do alelo C foi inferior ou próxima a 1%, como o Nelore (Pinto et al., 2010; Carvalho et al., 2017) e o Brahman (Casas et al., 2005). Li et al. (2013) encontraram frequências maiores em Angus (36%), intermediárias (entre 10% e 20%) em Charolês, Simental e Limousin e baixas em Hereford (1%).

Para o loco *CAST:155* não houve diferença nas frequências alélicas nos grupos de origem paterna. No materno, os filhos de vacas Nelore apresentaram maior frequência do alelo T do que nos filhos de Caracu x Nelore, sendo a frequência dos filhos de vacas Angus x Nelore intermediária e não diferente das anteriores.

A maior frequência do alelo T também foi encontrada em animais da raça taurina Murray Grey 58%, entretanto, as populações de origem Angus e Hereford apresentaram menor frequência do alelo T com 33% e 23%, respectivamente (Barendse et al., 2007). Em contraste, Li et al. (2013) encontraram maior frequência do alelo T em Angus (79%), Charolês (57%), Hereford (59%) e Limousin (57%), a única raça que apresentou menor observação do alelo T foi a Simental com (24%).

Para o loco *DGAT1 K232A* houve diferença nas frequências alélicas nos animais tanto em função da origem paterna quanto em materna. A frequência do alelo AA foi maior nos filhos de touros Nelore em relação as dos demais touros, que não diferiram entre si. Em fato, nas progênies de touros Nelore não houve segregação do alelo GC. De forma similar os filhos de vacas Nelore também apresentaram maior frequência do alelo AA, sendo a dos filhos de Caracu x Nelore intermediária e diferente da dos filhos de Angus x Nelore. Contudo, em filhos de vacas Angus x Nelore houve inversão na

frequência alélica do marcador *DGAT1 K232A*, sendo o alelo *GC* o mais frequente (53,25%).

A maior frequência observada do alelo *GC* em animais cruzados, também pode ser notada no estudo de Pappas et al. (2004), que apresentaram frequências alélicas de animais originados do cruzamento entre Canchim x Nelore e Angus x Nelore e em ambos a presença do alelo *GC* foram maiores. Os autores sugerem que o alelo *GC* que codifica o aminoácido alanina está em maior proporção nos animais taurinos. Com isso, Barton et al. (2016) ressaltam os fatos encontrados, demonstrando que em população de bovinos taurinos da raça Simental Fleckvieh a frequência do alelo *GC* é de 94%.

Já o alelo *AA* no loco *DGAT1 K232A* foi relatado com frequências de 100% para algumas populações de Nelore (Egito et al., 2005; Lacorte et al., 2006) e em outras populações com 99% (Kaupe et al., 2004; Souza et al., 2010). Os autores sugerem que esse alelo pode estar fixado em alguns rebanhos da raça Nelore. Ao contrário, Li et al. (2013) relataram 100% de frequência do alelo *GC* em animais da raça Hereford e Simental e uma maior proporção desse alelo em Angus (81%), Charolês (89%) e Limousin (94%). Embora o alelo *GC* não tenha sido encontrado em filhos de touros Nelore, ele estava presente nas progênies (n= 54) de vacas Nelore, pois essas apresentaram 14,85% do alelo *GC*, e consequentemente, os alelos herdados vieram dos pais de origem taurina.

Para o loco *SCD1:878* houve diferença nas frequências alélicas observadas nos animais em função da origem paterna, mas não nas de origem materna ($P>0,05$). Os filhos de touros Caracu apresentaram frequências alélicas diferentes das dos demais, tanto que nesses o alelo mais observado foi o *A* enquanto nos demais grupos foi o *G*. No estudo de Li et al. (2013) todos os grupos genéticos de origem taurina apresentaram maior frequência do alelo *G*, com 75% para o Angus, 64% para o Charolês, 77% para o Hereford, 59% para o Limousin e 57% para o Simental.

Para o loco *FABP3* houve diferença nas frequências alélicas observadas nos animais tanto em função da origem paterna quanto materna. Para ambas as origens, nos filhos de Nelore o alelo *A* foi diferente em relação aos demais grupos que apresentaram o alelo *G* como o mais frequente, onde não houve diferença nas demais distribuições alélicas por grupo genético.

Esse SNP foi recentemente investigado no trabalho de Blecha et al. (2015), entretanto, estudos nesse sentido com o marcador ainda são escassos. As frequências encontradas pelos autores demonstraram que quando foi utilizadas raças Canchim em cruzamentos terminal, o alelo *A* apresentou a maior frequência alélica com 34,6% em Canchim x Angus-Nelore, 34,4% em Canchim x Caracu-nelore e 32% em touros Canchim x Valdostana-Nelore. No presente estudo, os filhos de Canchim de origem paterna apresentaram frequência do alelo *A* de 40%, sendo somente menor que aos de filhos de touros Nelore.

Para o loco *FABP4:408* houve diferença nas frequências alélicas observadas nos grupo genéticos em função da origem paterna, mas não nas de origem materna ($P>0,05$). A frequência do alelo *C* nos filhos de touros Nelore foi maior que nos de touros Braford, sendo a frequência dos filhos de touros Caracu e Canchim intermediárias e não diferentes das anteriores.

De forma similar, Barendse et al. (2009) encontraram o alelo *C* em maior proporção nas raças Murray Grey (74%), Brahman (85%), Belmont Red (79%), Hereford (81%), Shorthorn (66%) e Santa Gertrudis (50%), exceto para população de animais Angus que apresentou 45% do alelo *C*.

Estudo de associação entre os SNPs e as variáveis

Com os fenótipos observados nos animais estudados (Tabela 3) e os resultados dos estudos de associação (Tabela 4) observa-se que o loco *CAPN1:974* apresentou efeito para espessura de gordura subcutânea (mm); que o loco *CAST:155* não apresentou efeito sobre as variáveis analisadas; que o loco *DGAT1 K232A* mostrou efeito sobre área de olho de lombo (cm²), relação área de lombo/peso de carcaça quente (cm²/100 kg) e luminosidade no músculo; que o loco *SDC1:878* apresentou efeito sobre hue na gordura; que o loco *FABP3* mostrou efeito sobre rendimento de carcaça (%) e que o loco *FABP4:408* apresentou associação com as variáveis espessura de gordura subcutânea (mm), profundidade interna (cm), relação área de lombo/peso de carcaça quente (cm²/100 kg), relação espessura de gordura/área de olho de lombo (mm/cm²), gordura perirrenal (kg) e relação gordura perirrenal/peso de carcaça quente (kg/100 kg).

Tabela 3. Valores médios, mínimos e máximos, desvios-padrão e coeficiente de variação para os fenótipos analisados.

Fenótipos	Unidade	Média	Desvio Padrão	CV(%)	Mínimo	Máximo
Qualidade da carcaça						
PABATE	kg	530,47	68,85	12,98	366,50	762,00
PCQ	kg	280,56	39,00	13,90	191,40	413,40
RENDGAR	%	52,87	1,99	3,76	46,97	57,05
FÍGADO	kg	5,68	0,84	14,81	3,68	7,93
GORDPERI	kg	9,31	2,69	28,89	3,79	16,48
GORDPERI/PCQ ¹	kg/100kg	3,36	0,95	28,37	1,34	6,21
COMPGAR	cm	131,87	6,13	4,65	117,00	148,00
PROFINT	cm	39,07	2,04	5,22	33,00	44,50
AOL	cm ²	77,86	10,38	13,33	55,66	111,25
AOL/PCQ ²	cm ² /100kg	27,97	3,18	11,38	20,49	39,85
ACABAMENTO*	escore	3,50	0,70	19,99	2,00	5,00
DISTRIBUIÇÃO**	escore	2,29	0,54	23,65	1	3,00
DISTRASEIRO	escore	2,89	1,15	39,86	1	5,00
EGS	mm	8,14	3,99	48,98	3,53	23,33
EGS/PCQ ³	mm/100kg	2,95	1,44	48,89	1,07	7,94
EGS/AOL ⁴	mm/100cm ²	10,71	5,54	51,71	3,82	30,90
Qualidade da carne						
MARMORIZAÇÃO***	escore	7,91	2,58	32,59	3,00	15,00
EE	%	1,91	0,83	43,79	0,44	6,67
L*MÚSC	valor	37,46	2,76	7,28	29,66	44,78
CROMAMÚSC	ângulo	25,05	2,28	9,09	18,75	31,58
HUEMÚSC	ângulo	39,09	2,62	6,70	25,55	46,55
L*GORD	valor	73,52	2,79	37,80	58,51	78,35
CROMAGORD	ângulo	23,84	2,65	11,14	17,18	35,35
HUEGORD	ângulo	63,86	3,64	5,70	44,00	71,05
FC dia 0	kg	7,61	2,60	34,16	1,71	16,47
FC dia 7	kg	5,82	1,88	32,25	2,18	12,34
AMACIAMENTO****	%	25,54	14,96	58,60	0,03	70,46

* - grau de acabamento conforme portaria mapa nº 612 de 05/10/1989; ** Conforme escala de 1=gordura mal distribuída a 3=gordura bem distribuída; *** Conforme escala de 1=traços - a 18=abundante +; **** - diferença proporcional entre a força de cisalhamento após maturação de 07 dias e sem maturação; ¹ Relação gordura perirrenal/peso de carcaça quente; ² Relação entre área de lombo e o peso de carcaça; ³ Relação entre espessura de gordura e o peso de carcaça quente; ⁴ Relação entre espessura de gordura e área de lombo; PABATE - peso de abate; PCQ - peso de carcaça quente; RENDGAR - rendimento de carcaça; GORDPERI - gordura perirrenal; COMPGAR - comprimento de carcaça; PROFINT - profundidade interna; AOL - área de olho de lombo; DISTRASEIRO - Distribuição da gordura no traseiro; EGS - espessura de gordura subcutânea; EE - extrato etéreo; L*MÚSC - valor de luminosidade no músculo; CROMAMÚSC - valor de cor no músculo; HUEMÚSC - valor de hue no músculo; L*GORD - valor de luminosidade na gordura; CROMAGORD - valor de cor na gordura; HUEGORD - valor de hue na gordura; FC - força de cisalhamento.

Tabela 4. Efeito de associação entre os polimorfismos dos genes *CAPN1*, *CAST*, *DGAT1*, *SCD1*, *FABP3*, *FABP4* e as variáveis analisadas.

Variáveis	Genes					
	<i>CAPN1</i>	<i>CAST</i>	<i>DGAT1</i>	<i>SCD1</i>	<i>FABP3</i>	<i>FABP4</i>
Qualidade da carcaça						
PABATE (kg)	0,3510	0,9309	0,7359	0,6707	0,1041	0,7124
PCQ (kg)	0,4403	0,8681	0,4206	0,5074	0,1172	0,5761
REND CAR (%)	0,4049	0,7928	0,0929	0,5092	0,0415	0,4662
FÍGADO (kg)	0,8336	0,7762	0,6430	0,9899	0,3278	0,5661
GORDPERI (kg)	0,2488	0,4977	0,7248	0,6112	0,4644	0,0176
GORDPERI/PCQ (kg)	0,2449	0,5432	0,8660	0,6442	0,8997	0,0344
COMPCAR (cm)	0,3159	0,7147	0,9923	0,3897	0,4064	0,5745
PROFINT (cm)	0,5912	0,7596	0,4251	0,4679	0,2780	0,0135
AOL (cm ²)	0,6705	0,7834	0,0033	0,1565	0,9472	0,3349
AOL/PCQ (cm ² /kg)	0,2675	0,6897	0,0329	0,5360	0,1082	0,6280
ACABAMENTO (escore)	0,3660	0,9425	0,2631	0,4546	0,9668	0,4592
DISTRIBUIÇÃO (escore)	0,2182	0,4181	0,3136	0,8443	0,8075	0,3490
DISTRASEIRO (escore)	0,3280	0,8385	0,2101	0,4176	0,9550	0,1013
EGS (mm)	0,0359	0,1474	0,8171	0,9287	0,7785	0,0162
EGS/PCQ (mm/kg)	0,0818	0,2238	0,7070	0,7993	0,5693	0,0026
EGS/AOL (mm/cm ²)	0,1110	0,2205	0,4124	0,6131	0,8607	0,0152
Qualidade da carne						
MARMORIZAÇÃO (escore)	0,8737	0,5186	0,2557	0,8661	0,6451	0,7872
EE (%)	0,3165	0,4558	0,7650	0,3353	0,1939	0,8899
L*MÚSC	0,4883	0,9956	0,0407	0,1331	0,3153	0,2929
CROMAMUSC	0,1392	0,5360	0,3087	0,0558	0,5066	0,2921
HUEMUSC	0,9959	0,5163	0,5942	0,5243	0,9324	0,0766
L*GORD	0,6109	0,5541	0,1976	0,0893	0,3740	0,3356
CROMAGORD	0,8025	0,4422	0,1671	0,1260	0,7664	0,3072
HUEGORD	0,5800	0,5344	0,6200	0,0174	0,5433	0,5546
FC dia 0 (kg)	0,7341	0,5614	0,8646	0,9885	0,3281	0,5544
FC dia 7 (kg)	0,2099	0,6759	0,8360	0,7197	0,1800	0,5679
AMACIAMENTO (%)	0,1908	0,3298	0,8551	0,3902	0,3464	0,3089

* - grau de acabamento conforme portaria mapa nº 612 de 05/10/1989; ** Conforme escala de 1=gordura mal distribuída a 3=gordura bem distribuída; *** Conforme escala de 1=traços - a 18=abundante +; **** - proporção entre a força de cisalhamento após maturação de 07 dias e sem maturação; ¹ Relação gordura perirrenal/peso de carcaça quente; ² Relação entre área de lombo e o peso de carcaça quente (cm² /100 kg); ³ Relação entre espessura de gordura e o peso de carcaça quente (mm /100 kg); ⁴ Relação entre espessura de gordura e área de lombo (mm /100 cm²); (PABATE) peso de abate ; (PCQ) peso de carcaça quente; (RC) rendimento de carcaça; (GORDPERI) gordura perirrenal; (COMPCAR) comprimento de carcaça; (PROFINT) profundidade interna; (AOL) área a de olho de lombo; (DISTRASEIRO) Distribuição da gordura no traseiro; (EGS) espessura de gordura subcutânea; (EE) extrato etéreo; (L*MUSC) valor de luminosidade no músculo; (CROMAMUSC) valor de croma no músculo; (HUEMUSC) valor de hue no músculo; (L*GORD) valor de luminosidade na gordura; (CROMAGORD) valor de croma na gordura; (HUEGORD) valor de hue na gordura; (FC) força de cisalhamento; em negrito médias significativas de (P<0,05).

Na Tabela 5 encontram-se as frequências genotípicas e as médias comparadas entre si de cada polimorfismo. Em relação ao loco *CAPN1*:974, o alelo *C* demonstrou ser favorável para maior deposição de espessura de gordura subcutânea, onde os animais com genótipo *CC* apresentaram maior espessura de gordura subcutânea (11,38 mm) que os com genótipo homozigoto *GG* (7,74 mm), sendo os heterozigotos *GC* intermediários e não diferentes dos demais.

Esse loco é frequentemente estudado no intuito de explicar variações em características dependentes do sistema calpaína/calpastatina. Há relatos do seu efeito sobre a maciez da carne (Barendse et al., 2007; Corva et al., 2007) e também sobre variações na deposição de gordura intramuscular e porcentagem de gordura intramuscular na carne (Li et al., 2013). Por outro lado, esse SNP foi investigado em bovinos da espécie *Bos indicus* (Casas et al., 2005) e *Bos taurus* (Corva et al., 2007) sem que se tenha evidenciado efeito sobre a espessura da gordura de cobertura. Com os

resultados encontrados, entretanto, suspeita-se que esse loco tenha efeito aditivo sobre a deposição de gordura subcutânea na carcaça.

Tabela 5. Frequências genótípicas e teste de comparação das médias ajustadas dos genótipos dos polimorfismos com efeitos ($P<0,05$) sobre características de qualidade da carne e carcaça.

SNPs	Fenótipos	N	Genótipos (frequências genótípicas) e médias		
CAPN1:c,974		135	GG	CG	CC
G>C	Espessura de gordura		(73%) 7,74b	(24%) 8,42ab	(3%) 11,38a
DGAT1		136	AA/AA	AA/GC	GC/GC
K232A	Área de lombo (cm ²)		(55%) 78,42a	(29%) 77,34a	(16%) 70,20b
AA>GC	Área de lombo/PCQ (cm ² /100 kg)		10,27b	10,97ab	11,72a
	Luminosidade no músculo		37,74b	37,93ab	39,28a
SCD1,878		124	AA (29%)	AG	GG
G>A	Hue na gordura		(27%) 63,59ab	(44%) 64,74a	(44%) 62,45b
FABP3		136	AA (10%)	AG	GG
G>A	Rendimento de carcaça (%)		(45%) 54,13	(67%) 53,01	(67%) 52,59
FABP4,408		127	CC (60%)	CG	GG
C>G	Gordura perirrenal (kg)		(37%) 8,40b	(3%) 9,80a	(3%) 9,71ab
	Gordura perirrenal/PCQ (kg/100 kg)		3,08b	3,53a	3,35ab
	Profundidade interna (cm)		38,51b	39,46a	39,02ab
	Espessura de gordura (mm)		8,64a	7,04b	7,38ab
	Relação EGS /PCQ (mm/100 kg)		3,16a	2,54b	2,58ab
	Relação EGS/AOL (mm/100 cm ²)		11,62a	9,44b	9,37ab

ab: médias, seguidas de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey-Kramer ($P<0,05$).

Para o loco *DGAT1 K232A*, os animais com genótipo *GC/GC* apresentaram menor área de olho de lombo que os demais genótipos. Por outro lado, a relação entre área de olho de lombo e peso de carcaça quente (cm²/kg) desses animais foi maior que a dos animais homozigotos *AA/AA*, sendo os heterozigotos intermediários e não diferentes dos demais. De forma similar, a luminosidade no músculo dos homozigotos *GC/GC* foi maior que a do homozigoto *AA/AA*.

Embora com os resultados observados possa-se supor que o alelo *AA* do loco *DGAT1 K232A* tenha efeito de dominância sobre o alelo *GC* para a área de lombo, a associação entre esse loco e esse fenótipo não foi observada por Kong et al. (2007), Fortes et al. (2009) e nem por Souza et al. (2010). Já para a relação entre a área de olho de lombo e o peso de carcaça quente, observou-se que houve efeito aditivo dos alelos desse loco e que houve uma inversão do genótipo favorável, sendo os animais homozigotos *GC/GC* aqueles que apresentaram maior quantidade de área do músculo *Longissimus dorsi* por 100 kg de peso de carcaça. Como área de lombo e peso de carcaça são características correlacionadas positivamente ($R^2 = 0,45$; $P<0,01$) (Silva et

al., 2003), ao haver seleção de animais para o genótipo AA haveria aumento da área de lombo e do peso de carcaça quente, porém, ocorreria uma tendência de diminuição da proporção de carne na carcaça.

Observou-se efeito ($P < 0,05$) dos genótipos do loco *DGAT1K232A* sobre a luminosidade no músculo e com os resultados encontrados o alelo AA teria efeito de dominância sobre o alelo GC, promovendo diminuição na luminosidade do músculo. Assim, os animais que receberam o alelo GC em homozigose apresentaram a cor do músculo *L. dorsi* mais clara. No estudo de Li et al. (2013) não foi encontrado efeito do marcador *DGAT1 K232A* sobre esse fenótipo.

No loco *SCD1:878* os animais que receberam o genótipo do heterozigoto AG apresentaram a maior ângulo de hue na gordura ($64,74^\circ$), que foram diferentes do homozigoto GG. Com isto, animais que receberam o genótipo AG apresentaram uma cor de gordura mais clara na região do *L.dorsi*. Com os resultados observados, pode-se pressupor que o gene tenha efeito de sobredominância sobre o fenótipo avaliado. Porém, os efeitos encontrados na literatura relacionados ao marcador são com parâmetros de cor no músculo (Reardon et al., 2010; Li et al., 2013). Sendo assim, há uma necessidade maior de se investigar parâmetros de cor da gordura, pois segundo FELICIO, (1998) esta é uma das principais características que corresponde às exigências dos consumidores.

Para o SNP do gene *FABP3* não foi encontrado diferença entre as médias dos genótipos em rendimento de carcaça (%). Isto se deve ao maior rigor do teste de Tukey-Kramer que compara os intervalos de confiança simultâneos com um nível de confiança maior que a análise de variância (ANOVA). Este fenótipo foi investigado no estudo de Blecha et al. (2015), porém os autores não encontraram efeito de associação entre o marcador e rendimento de carcaça (%). Em sua maioria, os trabalhos anteriores no gene *FABP3* foram direcionados para suínos em características voltadas para deposição de gordura (Chmurzynska et al., 2007; Cho et al., 2011). Dessa forma, avaliações utilizando características de carcaça, como neste trabalho ainda é recente para este SNP.

Já no loco *FABP4.408* os animais que receberam o genótipo CG apresentaram a maior quantidade de gordura perirrenal, relação gordura perirrenal/PCQ e profundidade interna com 9,80 kg, 3,53 kg e 39,46 cm, respectivamente. E foram diferentes dos animais homozigoto CC seguindo a mesma ordem, 8,40 kg, 3,08 kg e 38,51 cm.

Por outro lado, nas variáveis espessura de gordura subcutânea (mm), relação de espessura de gordura subcutânea/peso de carcaça quente (mm/100 kg) e espessura de gordura subcutânea/área de olho de lombo (mm/100 cm²) o genótipo favorável foi o homozigoto CC com 8,64 mm, 3,16 mm e 11,62 mm, respectivamente. E foram diferentes dos animais heterozigoto CG 7,04 mm, 2,54 mm e 9,44 mm, respectivamente.

Com os resultados encontrados entre o SNP *FABP4.408* e as variáveis gordura perirrenal e gordura perirrenal/peso de carcaça quente, pode-se pressupor que o gene tenha efeito de sobredominância sobre os fenótipos, sendo os animais heterozigotos que apresentaram maior quantidade de gordura perirrenal.

Para a profundidade interna o SNP *FABP4.408* também apresentou efeito de sobredominância sobre o fenótipo. Os animais que apresentaram o genótipo CG foram superiores aos demais para profundidade interna (cm).

A partir dos resultados observados, pode-se pressupor que este gene tenha efeito aditivo sobre espessura de gordura. Dessa forma, o genótipo CC foi considerado favorável para a maior espessura de gordura no *L.dorsi*. Embora esse efeito tenha sido encontrado a primeira vez nesse estudo, o fenótipo já foi investigado em outros

trabalhos (Oh et al., 2012; Blecha et al., 2015), porém não encontraram o mesmo efeito encontrado neste trabalho.

Para relação de espessura de gordura subcutânea/peso de carcaça quente (3,16 kg), o genótipo favorável foi CC. Com esses resultados, pode-se pressupor que o gene tenha efeito aditivo sobre esse fenótipo. No entanto, a correlação entre as características EGS e PCQ é negativa ($R^2 = -0,01$ $P < 0,05$) o que indica que as duas variáveis são inversamente proporcionais (Lopes et al., 2012). Por fim, a relação espessura de gordura/área de olho de lombo (11,62 kg) apresentou o genótipo favorável CC. Com as observações das interações genotípicas, pode-se pressupor que o gene também tenha efeito de dominância incompleta sobre a variável, pois o heterozigoto foi o intermediário em termos quantitativos. A correlação entre as variáveis é considerada de baixa magnitude ($R^2 = 0,21$ $P < 0,01$) (Meirelles et al., 2010). Sugerindo que as duas características são determinadas por diferentes conjuntos de genes de ação aditiva. Portanto, realizar a seleção para qualquer uma das características não influencia na mudança da outra, tanto para aumentar como para diminuir.

CONCLUSÕES

Considerando a metodologia utilizada e os resultados obtidos pode-se concluir que: Os alelos dos locos *CAPN1:947*, *CAST:155*, *SCD1:878*, *DGAT1 K232A*, *FABP3* e *FABP4:408* estão segregando na população estudada.

Os locos analisados apresentam variação na frequência alélica em função da origem paterna e materna, exceto o loco *CAST:155* de origem paterna e os locos *FABP4.408* e *SCD1.878* de origem materna que apresentam frequências alélicas similares nas raças avaliadas.

O alelo “GC” do loco *DGAT1K232A* é raro na raça Nelore, tanto que não foi encontrado nos filhos de touros Nelore.

O loco *CAST:155* não apresenta efeito sobre as características de carcaça e carne avaliadas na população estudada.

O alelo “C” do loco *CAPN1:947* aparenta ser favorável à deposição de gordura subcutânea em animais cruzados.

O alelo “AA” do loco *DGAT1 K232A* é favorável para aumentar a área de lombo na carcaça, entretanto, pode reduzir a proporção desta em relação ao peso de carcaça quente.

O alelo “C” do loco *FABP4.408* é favorável à deposição de gordura externa na carcaça e desfavorável para deposição de gordura interna, em particular, a gordura perirrenal.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a EMBRAPA e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto, bem como a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) pela concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avilés C, Polvillo O, Peña F, Juárez M et al. (2013). Associations between gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. *Journal of Animal Science*. v, 91, n. 10: 4571-4577.
- Barendse W, Harrison BE, Hawken RJ, Fergunson DM et al. (2007), Epistasis between calpain 1 and its inhibitor calpastatin within breeds of cattle. *Genetics*. v, 176, n. 4: 2601-2610.
- Barendse W, Bunch RJ, Thomas MB and Harrison BE (2009). A splice site single nucleotide polymorphism of the fatty acid binding protein 4 gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissimus muscle in Australian cattle. *Animal genetics*. 40, no. 5: 770-773.
- Barton L, Bures D, Kott T and Rehak D, (2016). Associations of polymorphisms in bovine *DGAT1*, *FABP4*, *FASN* and *PPARGC1A* genes with Intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls, *Meat Science*. 114: 18-23.
- Berg RT and Butterfield RM (1976). New concepts of cattle growth. Sydney University Press, Sydney.
- Blecha IMZ, Siqueira F, Ferreira ABR, Feijó GLD et al. (2015). Identification and evaluation of polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* in beef cattle, *Genetics and Molecular Research*, v, 14, n. 4: 16353-16363.
- Carvalho ME, Eler JP, Bonin MN, Rezende FM et al, (2017), Genotypic and allelic frequencies of gene polymorphisms associated with meat tenderness in Nellore beef cattle. *Genetics and Molecular Research*. v, 16, n. 1: 6018957.
- Casas E, White SN, Riley DG, Smith TPL et al, (2005). Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in cattle. *Journal of Animal Science*, 83, no. 1: 13-19.
- Casas E, White SN, Wheeler TL, Shackelford SD et al, (2006). Effects of and μ -markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*. 84, no. 3: 520-525.
- Castro S, Ríos M, Ortiz Y, Manrique C et al, (2016). Association of single nucleotide polymorphisms in *capn1*, *cast* and *mb* genes with meat color of Brahman and crossbreed cattle. *Meat science*, 117: 44-49.
- Chmurzynska A, Szydlowski M, Stachowiak M, Stankiewicz M et al. (2007). Association of a new SNP in promoter region of the porcine *FABP3* gene with fatness traits in a Polish synthetic line. *Animal Biotechnology*. v, 18, n. 1: 37-44,

- Cho K, Kim MJ, Jeon GJ and Chung HY (2011). Association of genetic variants for *FABP3* gene with back fat thickness and intramuscular fat content in pig, *Molecular Biology Reports*, v, 38, n. 3: 2161-2166.
- Cho S, Park TS, Yoon DH, Cheong HS, et al. (2008). Identification of genetic polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. *BMB Rep.* 41: 29-34.
- Corva P, Soria L, Schor A, Villarreal E et al. (2007). Association of *CAPN1* and *CAST* gene polymorphisms with meat tenderness in *Bos taurus* beef cattle from Argentina. *Genetics and Molecular Biology*. v, 30, n. 4: 1064-1069.
- Felício PE (1997). Fatores ante e *post-mortem* que influenciam na qualidade da carne bovina, In: Produção do novilho de corte (Peixoto AM, Moura JC e Faria VP, Eds.). Fundação de Estudos agrários Luís de Queiroz, Piracicaba. 79-97.
- Egito AA, Albuquerque MSM, Pappas MCR, Paiva SR et al. (2005). Polimorfismo Lisina-232/Alanina no gene *DGAT1* em raças bovinas criadas no Brasil, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. ISSN 9192-0099.
- Ekerljung M, Li X, Lundén A, Lundstrom K et al. (2012). Associations between candidate SNPs in the calpain 1, calpastatin and leptin genes and meat tenderness among Swedish beef populations. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section A–Animal Science*. v, 62, n. 3: 114-119.
- Felício, PE (1998). Avaliação da qualidade da carne bovina. In: Simpósio sobre Produção Intensiva de Gado de Corte, Campinas. Anais. São Paulo: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal (CBNA). p.92-99.
- Fortes MRS, Curi RA, Chardulo LAL, Silveira AC et al. (2009). Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness, *Genetics and Molecular Biology*. 32: 75-82.
- Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L et al. (2002). Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine *DGAT1* gene with major effect on milk yield and composition, *Genome Research*, v, 12, n. 2: 222-231.
- Kaupe B, Winter A, Fries R and Erhardt G (2004). *DGAT1* polymorphism in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds. *Journal of Dairy Research*. v, 71, n. 02: 182-187.
- Kong HS, Oh JD, Lee JH, Yoon DH et al. (2007). Association of sequence variations in *DGAT1* gene with economic traits in Hanwoo (Korea Cattle). *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 20, n. 6: 817.
- Koohmaraie M (1992). The role of Ca²⁺-dependent proteinases (calpains) in *post-mortem* proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*. v, 74: 239-245.

- Lacorte GA, Machado MA, Martinez ML, Campos AL et al. (2006). *DGAT1* K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. *Genetics And Molecular Research*. v, 5, n. 3: 475-82.
- Lara MAC, Gutmanis G, Pinatti E, Faria MH, Cavalcante-Neto A et al. (2012). Detecção de polimorfismos no exon14 do gene *capn1* em raças bovinas europeias, zebuínas e seus mestiços. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal-AIC*. 197-202.
- Li X, Ekerljung M, Lundstrom K, Lunden A et al. (2013). 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, n. 2, p, 153-158.
- Lopes LS, Ladeira MM, Machado Neto OR, Paulino, PVR et al. (2012). Características de carcaça e cortes comerciais de tourinhos Red Norte e Nelore terminados em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v, 41, n. 4, p, 970-977.
- Meirelles SL, Alencar MM, Oliveira HN and Regitano LCA (2010). efeitos de ambiente e estimativas de parâmetros genéticos para características de carcaça em bovinos da raça Canchim criados em pastagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 1437-1442.
- Michal JJ, Zhang ZW, Gaskins CT and Jiang Z (2006). The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. *Animal Genetics*. v, 37, n. 4: 400-402.
- Milanesi E, Nicoloso L and Crepaldi P (2008). Stearoyl CoA desaturase (*SCD*) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. v, 125, n. 1, p, 63-67.
- Miyazaki M and Ntambi James M (2003). Role of stearyl-coenzyme A desaturase in lipid metabolism. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. v, 68, n. 2: 113-121.
- Morris C, Cullen NG, Hickey SM, Dobbie PM et al. (2006). Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked M, longissimus dorsi steaks from Jersey x Limousin, Angus and Hereford-cross cattle. *Animal Genetics*. v, 37, n. 4: 411-414.
- Oh D, Lee Y, La B and Yeo J (2012). Identification of the SNP (Single Nucleotide Polymorphism) for Fatty Acid Composition Associated with Beef Flavor-related *FABP4* (Fatty Acid Binding Protein 4) in Korean Cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 25: 913-920.
- Pannier L, Mullen AM, Hamill RM, Stapleton PC et al. (2010). Association analysis of single nucleotide polymorphisms in *DGAT1*, *TG* and *FAB4* genes and intramuscular fat in crossbred Bos Taurus cattle. *Meat Science*. 85, n. 3: 515-518.

- Pappas MCR, Lourenço IT, Regitano LCA, de Alencar MM, et al. (2004). Investigação do polimorfismo K232a do gene DGAT1 em raças de *Bos indicus* e seus cruzamentos, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica.
- Pinto LFB, Ferraz JBS, Meirelles FV, Eler JP et al. (2010). Association of SNPs on *CAPN1* and *CAST* genes with tenderness in Nellore cattle. *Genetics And Molecular Research*. v, 9, n. 3: 1431-42.
- Pintos D and Corva PM (2011). Association between molecular markers for beef tenderness and growth traits in argentinian angus cattle, *Animal genetics*. 42, n. 3: 329-332.
- Reardon W, Mullen AM, Sweeney T and Hamill RM (2010). 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, n. 2: 270-275.
- Regitano LCA and Coutinho LL (2001). Biologia molecular aplicada à produção animal. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p 205.
- Rubio Lozano MS, Alfaro-Zavala S, Sifuentes-Rincón AM, Parra-Bracamonte GM et al. (2016). Meat tenderness genetic and genomic variation sources in commercial beef cattle. *Journal of Food Quality*. v, 39, n. 2: 150-156.
- Sas Institute. *SAS/STAT: user's guide: statistics*, version 9,0, Cary: SAS Institute, 2002.
- Souza FRP, Mercadante MEZ, Fonseca LFS, Ferreira LMS et al. (2010). Assessment of *DGAT1* and *LEP* gene polymorphisms in three Nelore (*Bos indicus*) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. *Journal Animal Science*. V,88: 435-441.
- Spelman RJ, Ford CA, Mcelhinney P, Gregory GC et al. (2002). Characterization of the *DGAT1* gene in the New Zealand dairy population. *Journal of Dairy Science*. v, 85, n.12: 3514-3517.
- Tait RG, Shackelford SD, Wheeler TL, King DA et al. (2016). Selection enhanced estimates of marker effects on means and variances of beef tenderness. Roman L, Hruska U.S. *Meat Animal Research Center*. Paper 382.
- Taniguchi M, Utsugi T, Oyama K, Mannen H et al. (2004). Genotype of stearyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian genome*. v, 15, n, 2: 142-148.
- Wheeler TL, Shackelford SD and Koohmaraie M (2000). Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*. v, 78, n. 4: 958-965.
- Weir BS. *Genetic data analysis: methods for discret population genetic data*. 2.ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 445p, 1996.

- White S, Casas E, Wheeler TL, Shackelford SD et al. (2005). A new single nucleotide polymorphism in extends the current tenderness marker test to include cattle of and crossbred descent. *Journal of Animal Science*. v, 83, n. 9: 2001-2008.
- Wu XX, Yang ZP, Shi XK, Li JY et al. (2012). Association of *SCD1* and *DGAT1* SNPs with the intramuscular fat traits in Chinese Simmental cattle and their distribution in eight Chinese cattle breeds. *Molecular biology reports*. v, 39, n. 2: 1065-1071.

CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados com ferramentas moleculares têm sido cada vez mais alcançado por técnicas automatizadas (sequenciamento genômica, genotipagem por PCR em tempo real etc.) que permitem avanços importantes. Por meio destas ferramentas, é possível identificar as variabilidades e caracterizar geneticamente as raças que servem como base para os cruzamentos. Outro aspecto relevante são as observações de maneira precoce, o que possibilita identificar os animais que apresentam potencial para determinadas características.

Ressaltando a importância das frequências aqui observadas, a variabilidade da segregação alélica encontrada ocorreu conforme as raças de origem paterna e materna. Sugerindo que os marcadores apresentam certa especificidade de acordo com raças ou espécies. Desta forma, destaca-se a importância de novas avaliações em outras populações, com uma maior representatividade de amostras para que possam ser encontrados efeitos de menores participações gênicas.

Considerando a distribuição dos alelos nas raças, filhos de animais Nelore puros apresentaram frequência nula do alelo GC para o loco *DGAT1* K232A e baixa frequência do alelo C no loco *CAPN1*:978. Portanto, os marcadores foram considerados pouco informativos na população de animais zebuínos no presente estudo.

No estudo de associação, foram encontrados efeitos entre os marcadores sobre as variáveis: espessura de gordura área de olho de lombo, área de olho de lombo/peso de carcaça quente, luminosidade no musculo, Hue na gordura rendimento de carcaça, gordura perirrenal, gordura perirrenal sobre peso de carcaça quente, profundidade interna, espessura de gordura sobre peso de carcaça quente e espessura de gordura sobre área de lombo ($P = \leq 0,05$). Com exceção para o loco *CAST*:155 que não apresentou efeito sobre nenhuma das variáveis.

As maiorias dos efeitos aqui encontrados foram vistos pela primeira vez no presente estudo, o que sugere novas investigações entre os marcadores e os fenótipos mensurados em outras populações.