

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MARCADORES MOLECULARES ASSOCIADOS À  
QUALIDADE DE CARNE EM BOVINOS NELORE**

**Bárbara Oliveira Borges  
Médica Veterinária**

**2013**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MARCADORES MOLECULARES ASSOCIADOS À  
QUALIDADE DE CARNE EM BOVINOS NELORE**

**Bárbara Oliveira Borges**

**Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Luis Artur Loyola Chardulo**

**Coorientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Rogério Abdallah Curi**

**Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,  
Câmpus de Jaboticabal, com parte das  
exigências para a obtenção do título de  
Mestre em Genética e Melhoramento Animal**

**2013**

Borges, Bárbara Oliveira  
B732m Marcadores moleculares associados à qualidade de carne em  
bovinos Nelore / Bárbara Oliveira Borges. -- Jaboticabal, 2013  
viii, 46 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013  
Orientadora: Luis Artur Loyola Chardulo  
Banca examinadora: Simone Cristina Méo Niciura, Josineudson  
Augusto II de Vasconcelos Silva  
Bibliografia

1. Anquirina. 2. Miogenina. 3. Titina. 4. Triglicerídeos. 5. Gene  
candidato. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias.

CDU 636.2:636.082

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.  
e-mail: barbaraoliveirab@gmail.com

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**BÁRBARA OLIVEIRA BORGES** – Nascida em 19 de fevereiro de 1988, em Brasília (DF). Graduiu-se em Medicina Veterinária em outubro de 2010, na Universidade de Brasília (UnB). Durante a graduação desenvolveu, como voluntária, projeto de extensão universitária em 2007 e foi bolsista em três projetos de iniciação científica entre 2007 e 2010. Foi bolsista de auxílio técnico na Embrapa Cenargen entre outubro de 2010 e fevereiro de 2011. Durante a realização deste projeto recebeu bolsa de mestrado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Dedico esta dissertação a Paulo Borges. Meu pai, meu herói, meu melhor amigo, meu grande companheiro, meu primeiro professor e meu maior incentivador. Você foi decisivo na formação do meu caráter e na escolha da minha profissão. Não há um momento em que a sua presença não nos faça falta, mas sabemos que você sempre estará conosco.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, às minhas irmãs (Carolina e Paula) e ao meu sobrinho (Vinícius) pelo apoio incondicional nesse ano tão difícil para nós todos. Certamente eu não conseguiria continuar sem o amor de vocês.

Ao meu namorado (Tiago) por todo amor, carinho, paciência e ajuda. Sempre te agradecerei por todo esforço que você fez para estar comigo ao longo desse ano!

À família Paim (Clarice, Eduardo e Taciana) que amparou a minha família em Brasília enquanto eu estava dedicada ao mestrado. O apoio de vocês me deu muita tranquilidade para prosseguir o trabalho.

Ao meu padrinho Celso Cardoso, representando todos os tios e primos, com quem eu sei que sempre posso contar!

Aos meus amigos Pedro, Ana Paula, Rosana, Andressa, Mariana e Lucas, representando todos os amigos de Brasília, que mesmo longe estiveram sempre tão presentes ao longo desses dois anos.

Às meninas de Botucatu (Natália, Luiza, Mariane, Marina e Luara) que foram como uma família para mim nesse ano de 2012!

Ao meu orientador, Luis Artur Loyola Chardulo, e ao meu coorientador, Rogério Abdallah Curi, que compreenderam os momentos em que precisei me ausentar e pelos ensinamentos indispensáveis para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas e estagiários do projeto temático que deram grande contribuição para a coleta das amostras e realização das análises laboratoriais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto e pela concessão da bolsa de estudos (processo nº 2010/17237-5).

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	2
2. 1. Estatísticas da bovinocultura e da produção de carne.....	2
2. 2. Composição muscular.....	2
2. 2. 1. Fibras musculares.....	4
2. 2. 2. Tecido adiposo.....	5
2. 2. 3. Tecido conjuntivo.....	6
2. 3. Transformação bioquímica do músculo em carne no <i>post mortem</i> .....	6
2. 4. Metodologias de avaliação da produção e qualidade da carne.....	8
2. 4. 1. Área de olho de lombo (AOL).....	8
2. 4. 2. Força de cisalhamento.....	8
2. 4. 3. Perdas por cocção.....	8
2. 4. 4. Coloração instrumental da carne.....	9
2. 4. 5. Índice de fragmentação miofibrilar (MFI).....	9
2. 4. 6. Lipídeos totais.....	11
2. 5. Seleção para a qualidade de carne.....	11
2. 6. Gene candidato.....	12
2. 6. 1. <i>DGAT1</i> .....	15
2. 6. 2. <i>TCAP</i> .....	17
2. 6. 3. <i>MYOG</i> .....	18
2. 6. 4. <i>ANK1</i> .....	19
3. Referências bibliográficas.....	22
POLIMORFISMOS NOS GENES <i>DGAT1</i> , <i>ANK1</i> , <i>TCAP</i> e <i>MYOG</i> ASSOCIADOS À QUALIDADE DE CARNE EM BOVINOS NELORE	
1. Resumo.....	29
2. Abstract.....	29
3. Introdução.....	30

4. Material e métodos.....	32
4. 1. Coleta de amostras e análises da carne.....	32
4. 2. Extração do DNA e genotipagem.....	33
4. 3. Análise estatística.....	34
5. Resultados.....	35
5. 1. Análises fenotípicas.....	35
5. 2. Genotipagem e frequências alélicas.....	36
5. 3. Estudo de associação com as características fenotípicas.....	38
6. Discussão.....	38
7. Conclusão.....	42
8. Referências bibliográficas.....	42



## RESUMO

O objetivo deste estudo foi estimar as frequências dos polimorfismos nos genes *DGAT1* (sequência de 18 nucleotídeos na região promotora – VNTR), *ANK1* (novo polimorfismo identificado na região regulatória), *TCAP* (AY428575.1:g.346G>A) e *MYOG* (NW\_001501985:g.511G>C) e associá-los a características relacionadas à qualidade de carne e carcaça em bovinos Nelore (*Bos indicus*). Foram utilizados 600 machos, terminados em confinamento com idade inferior a dois anos, com informações de desempenho e genealogia. Os animais foram abatidos em frigoríficos comerciais, onde foram obtidas amostras individuais do músculo *Longissimus dorsi* para extração do DNA e realização das análises fenotípicas da carne. A genotipagem foi realizada por meio da técnica da PCR-RFLP, com exceção do VNTR do gene *DGAT1* que foi apenas amplificado pela PCR. Por meio da análise do tamanho dos fragmentos em gel de agarose, foram determinados os genótipos dos indivíduos para o cálculo das frequências alélicas e genotípicas. O estudo de associação com o peso de carcaça quente, área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea, força de cisalhamento, perdas por cocção (perdas), coloração instrumental ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), porcentagem de gordura intramuscular (GIM) e índice de fragmentação miofibrilar foi realizado por meio do procedimento GLM do SAS<sup>®</sup>. O alelo B do gene *ANK1* foi associado ao aumento da coloração vermelha ( $a^*$ ) da carne ( $p < 0,05$ ). No gene *DGAT1*, os alelos 5R, 6R e 7R foram associados ( $p < 0,05$ ) ao aumento da GIM, à redução das perdas e ao aumento da AOL, respectivamente. O SNP do gene *TCAP* não foi polimórfico e os alelos do gene *MYOG* não foram associados a nenhuma das características testadas. Os resultados obtidos indicam que os genes *DGAT1* e *ANK1* podem ser utilizados na seleção de animais Nelore para qualidade de carne e carcaça.

**Palavras-chave:** anquirina, bovino de corte, gene candidato, miogenina, titina, triglicerídeos

## ABSTRACT

The aim of this study was to estimate the polymorphism frequencies of the genes *DGAT1* (sequence of 18 nucleotides at the promoter region – VNTR), *ANK1* (new polymorphism identified at the regulatory region), *TCAP* (AY428575.1:g.346G>A) and *MYOG* (NW\_001501985:g.511G>C) and associate them to carcass and meat quality in Nellore cattle (*Bos indicus*). It was used 600 males, finished at feedlot under two years old, with performance and genealogy information. Slaughter was carried out in commercial abattoir where individual samples were obtained from *Longissimus dorsi* for DNA extraction and meat analysis. Genotyping was performed by PCR-RFLP, with exception for the VNTR of gene *DGAT1* that was only amplified by PCR. By analyzing the fragment size on the agarose gel, the genotypes of the animals were determined for calculation of allele and genotype frequencies. The associations study with hot carcass weight, ribeye area (REA), back fat thickness, shear force, cooking loss (CL), meat color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), percentage of intramuscular fat (IF) and myofibrillar fragmentation index was performed using the GLM procedure of SAS<sup>®</sup>. The allele B from *ANK1* gene was associated to higher redness ( $a^*$ ) of meat ( $p < 0.05$ ). The alleles 5R, 6R and 7R from *DGAT1* VNTR gene were associated ( $p < 0.05$ ) to increased IF, reduced CL and increased REA, respectively. The SNP of *TCAP* gene was not polymorphic and *MYOG* alleles were not associated to any of the tested characteristics. Results indicate that *DGAT1* and *ANK1* genes can be used in the selection of Nellore cattle for carcass and meat quality.

**Key-words:** ankirin, beef cattle, candidate gene, myogenin, titin, triglycerides

## **CAPÍTULO 1 – Considerações gerais**

### **1. Introdução**

A bovinocultura de corte possui grande importância econômica para o Brasil, o segundo maior exportador de carne do mundo (ABIEC, 2012). No entanto, a pecuária de corte brasileira caracteriza-se por apresentar baixa produtividade e grande variação na qualidade da carne produzida.

O conceito de qualidade de carne é bastante amplo e pode variar de acordo com aspectos culturais, socioeconômicos, comerciais, técnico-científicos e experiências pessoais (BRIDI, 2004). De maneira geral, é a medida de aspectos desejados e valorizados pelo consumidor, incluindo características visuais, sensoriais, nutricionais, segurança alimentar e bem-estar animal (BECKER, 2000).

A avaliação da qualidade de carne é indispensável para que ocorram progressos nessa característica. No entanto, sua mensuração é difícil e onerosa. Os programas de seleção necessitam utilizar informações geradas após o abate de irmãos, meio-irmãos e progênie para poder estimar o valor genético das características de carne e carcaça dos touros. Por esse motivo, essas características raramente são incluídas como objetivo de seleção nos programas de melhoramento genético. Uma alternativa para contornar esse problema é associar as técnicas de melhoramento tradicionais à seleção assistida por marcadores (MAS). Para colocar a MAS em prática, é preciso conhecer quais genes estão envolvidos no controle dessas características e a maneira como interagem entre si.

Este capítulo tem como objetivo fornecer a base teórica para o desenvolvimento do segundo capítulo deste trabalho, denominado “Polimorfismos dos genes *DGAT1*, *ANK1*, *TCAP* e *MYOG* associados à qualidade de carne em bovinos Nelore”.

## **2. Revisão de literatura**

### **2. 1. Estatísticas da bovinocultura e da produção de carne**

A pecuária desempenha papel importante na economia brasileira dado que em 2011 foi responsável por 6,7% do PIB nacional, o equivalente a 278 bilhões de reais (CEPEA, 2012). Dentre as atividades pecuárias nacionais, a bovinocultura de corte merece destaque. Em 2010 foram contabilizados 209 milhões de bovinos, o que resultou na produção de 9,5 milhões de toneladas de carne e na exportação de 951 mil toneladas de carne fresca (FAO, 2012). Essa situação faz do Brasil o segundo maior exportador mundial de carne bovina *in natura* atrás apenas da Austrália (ABIEC, 2012; FAO, 2012). Em 2011 foram abatidas 21,5 milhões de cabeças em todo o país, destinadas ao consumo interno e a 135 mercados externos, tendo como maior comprador a Rússia (BRASIL, 2012).

As projeções do mercado de carnes para o Brasil nos próximos 10 anos mostram que esse setor deve apresentar crescimento, sendo estimado em 2,1% ao ano para a carne bovina. As projeções para consumo interno estimam aumento de 2%, e as exportações devem situar-se em média anual de 2,1% (BRASIL, 2012).

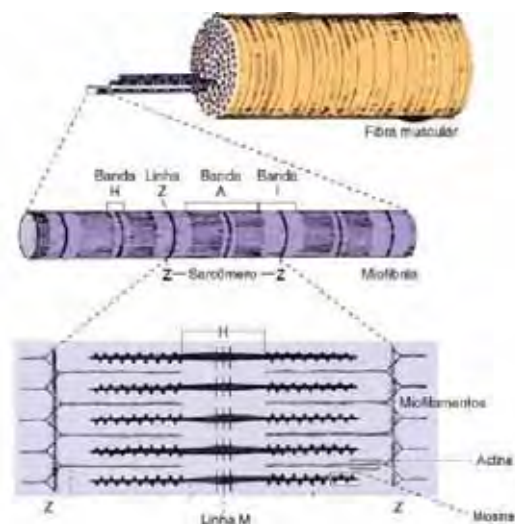
Cerca de 70% do rebanho nacional é composto por zebuínos e seus mestiços, explorados, em sua maioria, para a produção de carne (SIQUEIRA et al., 2012). A raça zebuína Nelore compõe a base da bovinocultura de corte brasileira pela adaptação às condições tropicais, que incluem tolerância ao calor, resistência a parasitas, capacidade de aproveitar pastagens com baixo valor nutricional e maior rusticidade do bezerro (ALBUQUERQUE; MERCADANTE; ELER, 2007). Entretanto, a qualidade de carne é um dos pontos fracos dessa raça, que apresenta menor marmorização e maciez quando comparada a animais de raças taurinas. Sendo assim, a melhoria na qualidade de carne tende a ser um dos focos dos programas de seleção da raça Nelore.

### **2. 2. Composição muscular**

O músculo estriado esquelético é formado por feixes de células longas, cilíndricas e multinucleadas que contêm diversos filamentos, as miofibrilas. Estas

são compostas por filamentos finos (actina) e grossos (miosina) dispostos longitudinalmente e organizados em distribuição simétrica e paralela. Essa organização é mantida por diversas proteínas do citoesqueleto (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O tamanho e a quantidade dos feixes musculares, denominados fibras musculares, determinam a massa muscular.

As fibras musculares esqueléticas apresentam estriações transversais pela alternância de faixas claras e escuras. A faixa escura é denominada banda A; a faixa clara, banda I; no centro da banda A existe uma zona mais clara, a banda H; e no centro de cada banda I nota-se uma linha transversal escura, a linha Z. Essas estriações das miofibrilas são devidas à repetição da sua unidade fundamental, o sarcômero, alocado entre duas linhas Z (Figura 1) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A linha M, localizada no meio da banda H, divide o sarcômero na metade.



**Figura 1.** Diagrama ilustrado da estrutura e posição dos miofilamentos no sarcômero.

Fonte: Junqueira e Carneiro (2004), adaptado.

O músculo estriado esquelético é um tecido heterogêneo, composto por diversos tipos celulares, como fibras musculares, adipócitos e tecido conjuntivo. Todos esses componentes podem afetar a qualidade da carne, conforme detalhado nos itens a seguir.

### 2. 2. 1. Fibras musculares

A formação das fibras musculares (miogênese) em mamíferos e aves ocorre apenas durante o período embrionário. Portanto, o número de fibras musculares é determinado por fatores genéticos e maternos no período pré-natal. Após o nascimento, o crescimento do músculo estriado esquelético se dá por aumento no diâmetro e comprimento das fibras (hipertrofia), mas não por aumento no número de células (hiperplasia) (REHFELDT; FIEDLER; STICKLAND, 2004).

O número de fibras musculares determina a capacidade de crescimento muscular pós-natal. A hipertrofia muscular nessa fase é inversamente proporcional ao número total de fibras no músculo e pode ser influenciada por fatores como idade, sexo, raça, estado nutricional e atividade física (REHFELDT; FIEDLER; STICKLAND, 2004).

Embora não ocorra hiperplasia, o músculo tem pequena capacidade de regeneração. As células satélites, dispostas paralelamente às fibras dentro da lâmina basal, podem tornar-se ativas após uma lesão, proliferarem-se por divisão mitótica e fundirem-se umas às outras para formar novas fibras (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Existem três tipos de fibras musculares com características bioquímicas e biofísicas distintas (CHOE et al., 2008). A principal diferença entre elas é o metabolismo glicolítico e oxidativo. Este ocorre na presença de oxigênio; requer mais mioglobina, que transporta oxigênio e confere a coloração vermelha à fibra; e mitocôndrias, que estão relacionadas com a capacidade do músculo de oxidar ácidos graxos. Aquela é anaeróbica e utiliza o glicogênio como fonte de energia (KIM et al., 2008; WARRIS, 2000).

Do ponto de vista funcional, as fibras vermelhas (oxidativas) têm contração lenta e as brancas (glicolíticas) contração rápida. A fibra tipo I é vermelha, bastante capilarizada, com baixo teor de glicogênio, e níveis mais altos de gordura intracelular e mioglobina que a fibra tipo IIB (NAM et al., 2009). A fibra IIB apresenta coloração branca, pela baixa quantidade de mioglobina. Já a fibra IIA apresenta posição

intermediária (NAM et al., 2009), é aeróbica, como a fibra tipo I, e de contração rápida como a fibra tipo IIB. O tipo de fibra pode afetar a conversão do músculo em carne e a coloração da carne no *post mortem* (CHOE et al., 2008). As fibras IIA e IIB conferem à carne menor pH final pelo maior teor de ácido láctico (CHOE et al., 2008), e menor capacidade de retenção de água. Um corte com predominância das fibras I e IIA será mais vermelho quando comparado a outro com predominância de fibras IIB (NAM et al., 2009; WARRIS, 2000).

### **2. 2. 2. Tecido adiposo**

No músculo, os adipócitos podem estar dispostos intrínsecos às fibras ou entre diferentes grupos musculares (intermusculares). A gordura intramuscular corresponde ao total de lipídeos, quimicamente extraíveis, associados aos miócitos e adipócitos, excluindo a gordura intermuscular. Em bovinos, existem quatro sítios de depósito de gordura: subcutânea, visceral, inter e intramusculares (GERBENS, 2004).

Esses quatro tipos de gordura são depositadas na seguinte ordem, da primeira para última: visceral (principalmente perirrenal), intermuscular, subcutânea e intramuscular (WARRIS, 2000). Dessa maneira, animais abatidos jovens terão menor porção de gordura intramuscular em relação às demais. Os mecanismos pelos quais ocorre essa diferença de deposição ainda não foram completamente elucidados, mas existem evidências de que a deposição de gordura intramuscular ocorre por uma via metabólica distinta (HOCQUETTE et al., 2010).

Em relação à composição química, a gordura intramuscular é constituída de fosfolipídeos, triglicerídeos, mono e diglicerídeos, colesterol e ácidos graxos livres; sendo os dois primeiros os mais importantes. Os fosfolipídeos são os principais componentes da membrana celular e sua proporção é praticamente constante dentro do mesmo grupo muscular, mas pode variar entre diferentes músculos (GERBENS, 2004). De maneira geral, o aumento na gordura intramuscular é devido ao incremento no conteúdo de triglicerídeos, que podem ser depositados nos adipócitos intramusculares (80-95%) como também dentro do citoplasma das miofibrilas próximo às mitocôndrias (5-20%) (HOCQUETTE et al., 2010). Sendo

assim, o metabolismo de triglicerídeos no músculo deve ser objeto de estudo para a identificação de genes envolvidos na variação da deposição de gordura intramuscular.

### **2. 2. 3. Tecido conjuntivo**

As fibras musculares estão envolvidas por uma rede de tecido conectivo que fornece suporte ao tecido muscular em vários níveis: o epimísio, que recobre o músculo como um todo; o perimísio, que envolve os feixes de fibras; e o endomísio, que envolve cada fibra muscular, individualmente. O tecido conjuntivo mantém as fibras musculares unidas, permitindo que a força de contração gerada por cada fibra atue no músculo inteiro. É também por intermédio desse tecido que a força da contração muscular se estende para tendões e ossos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Após o abate, o tecido conjuntivo presente no músculo sofre pouca ou nenhuma alteração. Portanto, a influência desse tecido sobre maciez da carne é determinada, predominantemente, pelo desenvolvimento de ligações cruzadas estáveis em altas temperaturas. Essas ligações ocorrem entre as fibras de colágeno, principal proteína que constitui o perimísio, e causam a diminuição significativa da maciez da carne (WARNER et al., 2010). Provavelmente, não é a quantidade de colágeno que mais influencia esse processo, mas sim o número de ligações que são realizadas, que tendem a aumentar com a idade (BAILEY, 1985).

### **2. 3. Transformação bioquímica do músculo em carne no *post mortem***

Por definição, carne é o tecido estriado esquelético após a resolução do *rigor mortis*. No período entre o abate do animal e o consumo da carne ocorrem diversas mudanças bioquímicas no músculo que influenciam na textura, sabor e cor do produto final.

Após a morte do animal, todos os processos fisiológicos no músculo ocorrem de maneira anaeróbica, devido à falta de oxigênio. A quebra do glicogênio leva ao acúmulo de ácido láctico, o que reduz o pH de 7,0 para 5,8 a 5,3, dependendo do



músculo e da espécie animal (HONIKEL, 2004). Segundo Warris (2000), o processo de acidificação pode durar de 15 a 36 h em bovinos.

Quando o pH cai, a capacidade de retenção de água do músculo reduz tanto pela desnaturação das proteínas musculares, quanto pelo alcance do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares. No ponto isoelétrico as interações proteína-proteína são altas e a força de atração entre elas é máxima, o que leva à diminuição do espaço entre os miofilamentos e à perda de água com mais facilidade (HONIKEL, 2004). Essas mudanças nas proteínas também promovem mudança na coloração da carne que passa de escura e translúcida para pálida e opaca (WARRIS, 2000).

No músculo em repouso, o ATP mantém o músculo relaxado e apenas quando hidrolisado para ADP ocorre contração muscular. A concentração de ATP é mantida pela quebra do glicogênio até que a falta de substrato ou situações desfavoráveis às enzimas inibam a glicogenólise. O *rigor mortis* ocorre quando o nível de ATP é tão baixo que não é possível manter o relaxamento. Assim que isso ocorre, as moléculas de actina e miosina se combinam irreversivelmente, levando à contração muscular. Em bovinos, o *rigor mortis* dura, em média, 24 h (WARRIS, 2000).

Após esse período, há progressiva resolução do *rigor mortis* por meio de mudanças na estrutura das miofibrilas. Os filamentos de actina e miosina permanecem unidos, o que ocorre é a quebra da ligação entre os miofilamentos e as estruturas de sustentação do sarcômero (WARRIS, 2000). Assim, as miofibrilas se fragmentam com mais facilidade, processo que pode ser monitorado por meio do índice de fragmentação miofibrilar (MFI).

O que promove a desestruturação do sarcômero é a ação de enzimas proteolíticas presentes no músculo, que fisiologicamente degradam e reciclam proteínas nos tecidos vivos (WARRIS, 2000). As calpaínas e catepsinas parecem ser as mais importantes nas espécies de carne vermelha. Essas são liberadas dos lisossomos no *post mortem* e parecem degradar os miofilamentos em pH<5, faixa que raramente ocorre na carne bovina. Aquelas são ativadas por íons cálcio, atuam em maior faixa de pH e são inibidas pelas calpastatinas (HOPKINS; TAYLOR, 2004).

A maior atividade de calpastatina em *B. indicus* seria uma das razões para a menor maciez da carne desses animais (SHACKELFORD et al., 1991).

## **2. 4. Metodologias de avaliação da produção e qualidade da carne**

### **2. 4. 1. Área de olho de lombo (AOL)**

É a medida da área do músculo *L. dorsi* na 12<sup>a</sup> costela associada à musculosidade da carcaça. A AOL aumenta à medida que o animal cresce, podendo ter influência do peso final e da idade ao abate (BERGEN et al., 1997).

### **2. 4. 2. Força de cisalhamento**

Dentre as características que influenciam na palatabilidade (sabor, suculência e maciez), a maciez é a mais importante, tanto que cortes considerados mais macios são mais caros. A maciez da carne é determinada pela quantidade e solubilidade de tecido conjuntivo, encurtamento do sarcômero durante o *rigor mortis*, e proteólise *post mortem* das miofibrilas e das proteínas a elas associadas (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

A força de cisalhamento é um método de mensuração da textura da carne cozida (WARRIS, 2000). A cocção rompe as estruturas celulares, encolhe as fibras de colágeno, desnatura e agrega as proteínas miofibrilares, o que diminui a maciez da carne (BAILEY, 1985). À medida que a temperatura aumenta a maciez diminui, por isso o cozimento deve ser o mais padronizado possível a uma temperatura ótima de, aproximadamente, 72° C (WARRIS, 2000).

O teste mais comum para mensurar a maciez é o Warner-Bratzler que mede a força necessária para cortar um cilindro de carne, com espessura padronizada, que passa através de lâmina de metal de 1 mm de espessura (WARRIS, 2000).

### **2. 4. 3. Perdas por cocção**

Como geralmente a carne é consumida após o cozimento, a perda de líquidos após a cocção é um critério importante. Durante o aquecimento, a compressão do músculo pelo colágeno e a desnaturação proteica, resultam em liberação de exsudato (BAILEY, 1985), composto não apenas por água como também por

gordura. As mudanças estruturais por cozimento se dão em três etapas: desnaturação da miosina de 40 a 60°C, do colágeno de 60 a 70°C e da actina a aproximadamente 80°C (PEARCE et al., 2011).

A quantidade de exsudato perdido é influenciada pela temperatura, método de cocção e pH da carne antes da cocção. Quanto menor o pH, maior a perda, visto que a acidificação resulta em redução da capacidade de retenção de água pelas miofibrilas (HONIKEL, 2004; WARRIS, 2000). A proteólise também pode ter efeito sobre a capacidade de retenção de água quando a carne é maturada (PEARCE et al., 2011). As perdas variam de 15 a 35%, acima disso geralmente resultam em carne ressecada (PEARCE et al., 2011).

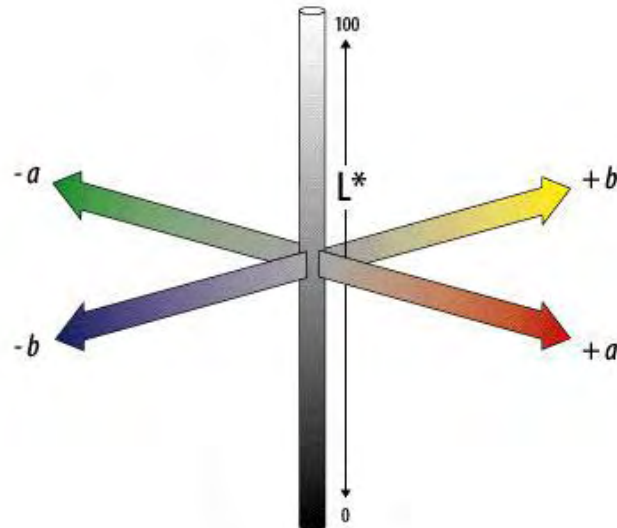
#### **2. 4. 4. Coloração instrumental da carne**

A cor da carne é uma das características que mais influencia na decisão do consumidor no momento da compra (NAM et al., 2009). Ela é determinada pela concentração de pigmentos, como a hemoglobina e a mioglobina, e pela microestrutura do músculo (WARRIS, 2000). A coloração pode ser medida objetivamente por meio da comparação das cores primárias (vermelho, amarelo e azul) a um sistema de eixos coordenados, que definem a cor como um ponto no espaço. As diferenças entre os pontos plotados no espaço de cores correspondem às diferenças visuais entre as cores traçadas. Baseando-se nesse princípio, a escala CIELAB, que se aproxima muito à percepção de cores humana, define a cor por meio de três medidas: L\*, o componente de luminosidade; a\*, o componente das cores vermelha a verde; e b\*, o componente das cores amarela a azul (Figura 2).

#### **2. 4. 5. Índice de fragmentação miofibrilar (MFI)**

O enfraquecimento da ligação das miofibrilas ao sarcômero, por ação da proteólise, é etapa central no processo de amaciamento da carne. As principais estruturas do citoesqueleto degradadas são: a ligação entre as linhas Z (ver Figura 1), realizada pela desmina; a ligação entre as linhas Z e M (ver Figura 1), realizada pela titina; e a ligação entre as linhas Z, M e retículo sarcoplasmático, realizada

pelas proteínas de ancoragem, como a anquirina (ver Figura 6) (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006; TAYLOR et al., 1995).



**Figura 2.** Representação em eixos da escala CIELAB. O eixo  $L^*$  varia de branco (100) a preto (zero); o eixo  $a^*$  de vermelho (positivo) a verde (negativo); e o eixo  $b^*$  de amarelo (positivo) a azul (negativo). Fonte: <http://mimoriarty.wordpress.com/2010/06/07/un-espacio-de-posibilidades-cielab>.

Sendo assim, carnes que sofreram maior proteólise são mais macias e possuem miofibrilas mais frágeis. O MFI, que se baseia nesse conceito, é utilizado como um método para estimar a maciez da carne (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006) e também pode ser utilizado como indicador da fragilidade das proteínas do citoesqueleto, como a titina (TAYLOR et al., 1995).

Nesse método, as miofibrilas são fragmentadas por meio de homogeneização controlada do músculo em solução aquosa. O grau de fragmentação é estimado pela opalescência da suspensão de miofibrilas, que possui conteúdo de proteína conhecido e equiparado por meio de diluição. Uma suspensão mais opalescente indica que as partículas são menores, refletindo melhor fragmentação das miofibrilas (WARRIS, 2000).

#### **2. 4. 6. Lipídeos totais**

Os lipídeos totais (gordura intramuscular) são medidos na carne por meio da extração com solventes orgânicos, sendo que sua constituição no extrato pode variar de acordo com o solvente utilizado. Éter, hexano e éter de petróleo extraem triglicerídeos, mas não fosfolipídeos. Para que estes também sejam extraídos, é necessária a utilização de clorofórmio/metanol. Por mais que a concentração de fosfolipídeos seja quase constante, sua inclusão na mensuração da gordura total pode ser importante quando os níveis de triglicerídeos na gordura intramuscular forem muito baixos (WARRIS, 2000), como é o caso de bovinos da raça Nelore.

A gordura intramuscular pode estar ligada à suculência, palatabilidade e maciez da carne, contribuindo com 3 a 10% da variação dessas características (NISHIMURA; HATTORI; TAKAHASHI, 1999). A influência nas duas primeiras características seria direta, melhorando o sabor da carne após a cocção e o fluxo de saliva na boca (WARRIS, 2000). Já a influência na maciez seria indireta por meio da separação e desorganização do tecido conjuntivo intramuscular, permitindo que as ligações entre as miofibrilas fossem desfeitas mais facilmente (HOCQUETTE et al., 2010; NISHIMURA; HATTORI; TAKAHASHI, 1999; WARRIS, 2000). Porém, segundo Nishimura, Hattori e Takahashi (1999) seria necessário mais 8% de gordura intramuscular para que esse efeito fosse observado.

#### **2. 5. Seleção para a qualidade de carne**

A variação na qualidade de carne é causada tanto por fatores genéticos quanto por fatores ambientais. Estes incluem o regime de criação na fazenda, manejo pré-abate e fatores pós-abate (WARNER et al., 2010).

A contribuição da genética na variação da qualidade de carne depende da característica estudada. A herdabilidade pode ser de moderada a alta ( $h^2 = 0,2 - 0,5$ ) para número de fibras musculares; moderada ( $h^2 = 0,2 - 0,3$ ) para força de cisalhamento, gordura intramuscular e tamanho da fibra muscular; e baixa ( $h^2 = 0,1 - 0,25$ ) para coloração e perdas por cocção (REHFELDT; FIEDLER; STICKLAND, 2004; WARNER et al., 2010).

No entanto, os programas de seleção fizeram poucos progressos em relação às características de qualidade de carne e carcaça. Isso porque essas características são medidas após o abate e os métodos de avaliação são relativamente onerosos para os programas de seleção (GAO et al., 2007). Por serem características medidas ao final da vida do animal, a seleção poderia ser mais eficiente se elas pudessem ser preditas ainda no animal vivo (REHFELDT; FIEDLER; STICKLAND, 2004), devido à redução do intervalo entre gerações.

## 2. 7. Gene candidato

Grande parte das características de importância econômica em animais de produção é complexa, poligênica e controlada por um número desconhecido de *loci* de características quantitativas (QTL) dispersos no genoma (GRISART et al., 2002). Um QTL é definido como uma região do genoma que abriga um ou mais genes que afetam as características quantitativas, ou seja, que apresentam distribuição contínua dos valores fenotípicos (ANDERSSON, 2001). Em relação à qualidade de carne não é diferente: pouco se sabe sobre quais genes estão envolvidos e a maneira como eles interagem. Sendo assim, o principal objetivo da pesquisa genômica em animais de produção é identificar e caracterizar esses QTL (GAO et al., 2007).

O número total de QTL que controla uma característica pode variar e, segundo a teoria da genética quantitativa clássica, segue o modelo infinitesimal (ANDERSSON, 2001). Até agora, os efeitos dos QTL têm mostrado distribuição exponencial: poucos *loci* com efeito moderado a alto são passíveis de mapeamento, enquanto o restante da variação genética permanece indefinido. Mesmo para QTL mapeados, a identidade do gene e o polimorfismo responsável pelo efeito QTL podem permanecer desconhecidos (GRISART et al., 2002).

A abordagem do gene candidato é utilizada quando existe informação pré-existente sobre o efeito do gene em determinada característica (gene candidato funcional) ou quando o gene está localizado em uma região que hospede um QTL (gene candidato posicional) (TE PAS; SOUMILLION, 2001). Os benefícios dessa

abordagem são baixo custo e facilidade de análise, porém o sucesso depende da qualidade das informações fenotípicas e da população analisada (GERBENS, 2004).

Para a identificação do QTL a partir da estratégia do gene candidato é necessário: identificar o efeito esperado do gene por meio dos seus mecanismos fisiológicos de funcionamento ou pela localização no cromossomo; investigar a origem da variação genômica do gene, podendo ser na região codificante, regulatória ou cromossômica ao redor do gene; e validar o polimorfismo por meio de estudo de associação, que consiste em genotipar um grande número de animais e correlacionar ao fenótipo por meio de ferramentas estatísticas (TE PAS; SOUMILLION, 2001).

Em genômica, variação genética é uma mutação que leva a uma proteína modificada ter ligeira mudança na atividade ou mudança na expressão de uma proteína não modificada em sua estrutura (TE PAS; SOUMILLION, 2001).

Se um gene candidato estiver realmente envolvido na variação da característica, essa abordagem pode ser informativa e detectar mesmo *loci* com pequenos efeitos (GAO et al., 2007). Os testes com genes candidatos devem ser interpretados com cautela porque resultados falsos positivos podem ocorrer devido ao desequilíbrio de ligação com outros genes ou porque os testes de significância não foram ajustados devidamente ao testar vários genes candidatos (ANDERSSON, 2001).

O desequilíbrio de ligação é uma associação não aleatória de alelos em dois ou mais *loci* no mesmo cromossomo (SLATKIN, 2008). Esse conceito mostra que outros genes que não estão envolvidos fisiologicamente podem estar associados à característica investigada (GAO et al., 2007). A presença do desequilíbrio de ligação aumenta a probabilidade de encontrar associações verdadeiras entre o marcador e as características, mas também aumenta o risco de encontrar associações que se percam ao longo das gerações (ANDERSSON, 2001).

No entanto, para fins de melhoramento genético, a detecção da mutação causal não é tão importante como para a biologia molecular. O importante para o

melhoramento genético é que o marcador, ferramenta que revela o polimorfismo no DNA, e o verdadeiro alelo causal, localizado em um *locus* próximo, estejam em desequilíbrio de ligação para que sejam herdados juntos em grande parte da população (CHEONG et al., 2007; TE PAS; SOUMILLION, 2001).

O marcador pode ser um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), inserções ou deleções de tamanhos variáveis e um número variável de repetições em sequência (VNTR) (VIGNAL et al., 2002). SNP é uma variação em um nucleotídeo em uma região específica do genoma que, por definição, é encontrado em mais de 1% da população (KIM; MISRA, 2007). Caso contrário será considerado uma mutação pontual. Dessa maneira, SNPs não incluem inserções ou deleções. No entanto, na prática essa definição não é tão rigorosa (KIM; MISRA, 2007).

Apesar de, em princípio, nos SNPs qualquer um dos quatro nucleotídeos poderem ser substituídos pelo outro, a probabilidade de ocorrerem transições de purina-purina (A, G) e pirimidina-pirimidina (C, T) pode ser quase duas vezes maior do que de ocorrerem transversões de purina-pirimidina ou pirimidina-purina. Essa probabilidade deveria ser de 0,5 se as mutações fossem aleatórias (VIGNAL et al., 2002).

Um método simples, que pode ser realizado em qualquer laboratório de biologia molecular, e de baixo custo para detectar SNPs é por meio do uso de enzimas de restrição, que clivam o DNA em sequências específicas. Se o SNP estiver no sítio de restrição da enzima, os produtos da PCR, quando cortados pela enzima, gerarão fragmentos que podem ser separados em gel de eletroforese. Essa técnica é conhecida como PCR-RFLP (KIM; MISRA, 2007; VIGNAL et al., 2002).

Marcadores VNTR são altamente polimórficos, podendo funcionar como reguladores da transcrição e tradução ou modificando a função de uma proteína quando a região sequencialmente repetida encontra-se na região codificante do gene (NAKAMURA; KOYAMA; MATSUSHIMA, 1998). Podem ser classificados como microssatélites, que consistem na repetição de 2-6 pares de bases em sequência diversas vezes, ou como minissatélites em que a repetição é de 10-100 pares de bases (RISCHKOWSKY; PILLING, 2007).



As informações obtidas pelas análises de genes candidatos podem ser utilizadas para a seleção assistida por marcadores (MAS). Com ela é possível prever os animais que terão melhor desempenho, o que irá acelerar o ganho genético no rebanho. No entanto, como as características de carne são poligênicas, a MAS pode englobar poucos dos muitos genes envolvidos na característica. Isso, somado ao efeito do ambiente, irá determinar se o animal realmente exibirá o fenótipo desejado. Por essas razões, a MAS deve ser utilizada como uma ferramenta para melhorar as técnicas de melhoramento tradicionais (GAO et al., 2007).

Para que a MAS seja bem sucedida em uma população é importante que os marcadores sejam nela validados. Existem grandes evidências de que zebuínos e taurinos são originários de subespécies distintas de um ancestral comum e que foram domesticados em momentos e em ambientes diferentes (RISCHKOWSKY; PILLING, 2007). A divergência entre *B. taurus* e *B. indicus* pode ter ocorrido há, pelo menos, 200.000 anos (LOFTUS et al., 1994). Dessa forma, os marcadores de *B. taurus* e *B. indicus* podem ser diferentes e é preciso desenvolver marcadores apropriados para os *B. indicus*, que constituem a maioria da população bovina brasileira (CASAS et al., 2005; FORTES et al., 2009).

### **2.7.1. DGAT1**

O gene *DGAT1*, localizado no cromossomo bovino 14, codifica a enzima diacilglicerol-O-aciltransferase (DGAT) que catalisa a reação final da síntese de triglicerídeos (CASES et al., 1998; GRISART et al., 2002).

Essa enzima pode estar envolvida em diversos processos que envolvem síntese e estocagem de lipídeos como: absorção intestinal de gordura, montagem de lipoproteínas, regulação da concentração plasmática de triglicerídeos, depósito de gordura nos adipócitos, metabolismo energético muscular, produção de leite e ovos, incluindo oócitos de mamíferos (CASES et al., 1998).

A substituição de lisina por alanina na posição 232 (K232A) do gene *DGAT1* foi associada ao aumento no teor de gordura do leite em Holandês e outras raças

taurinas portadoras do alelo lisina (GAUTIER et al., 2007; GRISART et al., 2002; NÄSLUND et al., 2008; SANDERS et al., 2006; THALLER et al., 2003a).

O efeito positivo do alelo lisina do *DGAT1* também foi observado para gordura intramuscular no músculo semitendíneo em Holandês e Charolês (*B. taurus*) (THALLER et al., 2003b). No entanto, não foi encontrada a mesma associação com gordura intramuscular em seis raças de *B. taurus* cruzadas entre si (PANNIER et al., 2010), nem com marmorização (CASAS et al., 2005) e espessura de gordura (CASAS et al., 2005; SOUZA et al., 2010) em *B. indicus*.

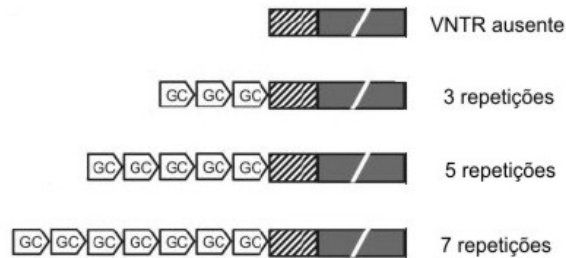
Outro efeito do polimorfismo K232A do gene *DGAT1* foi sobre a fertilidade de vacas holandesas (*B. taurus*) (DEMETER et al., 2009). Após retirar o efeito da produção de leite sobre a fertilidade, que poderia influenciar na análise pela correlação negativa, o alelo alanina reduziu as taxas de não retorno à inseminação. Esse achado é sugestivo de que o gene *DGAT1* afete o desempenho reprodutivo por meio de um efeito na proliferação e diferenciação das células ovarianas ou pela relação do gene a um QTL localizado no cromossomo 14.

As diferenças no efeito do polimorfismo K232A levaram a suposição de que deveria haver outra fonte de variação relacionada ao gene *DGAT1*. Ela foi atribuída a um número variável de repetições em tandem (VNTR) presente região promotora do gene *DGAT1* (KÜHN et al., 2004).

O VNTR do gene *DGAT1* compreende 3 a 7 repetições de uma sequência de 18 nucleotídeos (AGGCCCGCCCTCCCCGG) (KÜHN et al., 2004), rica em guanina e citosina, que resultam em uma variação no número de sítios de ligação potenciais para o fator de transcrição Sp1 (Figura 3) (FURBASS et al., 2006). Essa variação pode impactar a transcrição do *DGAT1* e, conseqüentemente, a expressão da enzima DGAT.

Em *Bos taurus*, o alelo 5 (7 repetições) do VNTR gene do *DGAT1* afetou o teor de gordura no leite de maneira similar ao alelo lisina do polimorfismo K232A, porém com menor magnitude (KÜHN et al., 2004). No entanto, outros trabalhos

mostraram pouco (GAUTIER et al., 2007) ou nenhum efeito (SANDERS et al., 2006) do VNTR sobre a gordura do leite.



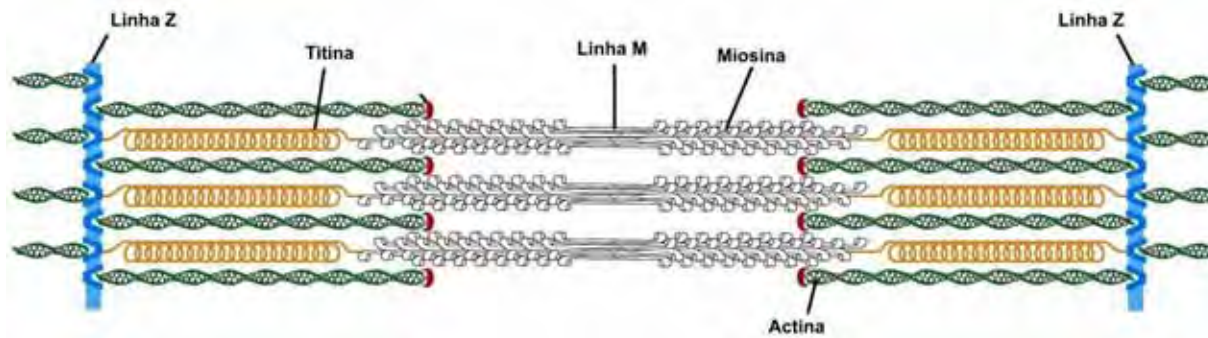
**Figura 3.** Representação esquemática do VNTR com 18 nucleotídeos, representados pelas setas marcadas com GC. Fonte: Furbass et al. (2006), adaptado.

Já em *Bos indicus* e cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*) foi encontrado efeito do *DGAT1* VNTR sobre espessura de gordura subcutânea. Os alelos 2 (4 repetições) e 3 (5 repetições) tiveram efeito negativo e o alelo 4 (6 repetições) efeito positivo (CURI et al., 2011).

### 2.7.2. TCAP

A titina, ou conectina, é uma proteína fundamental para a manutenção da organização do sarcômero por meio da ligação do filamento de miosina à linha Z (WARRIS, 2000). É uma proteína robusta que abrange metade do sarcômero, de maneira que seu domínio N-terminal está ligado à linha Z e o C-terminal à miosina (Figura 4) (CHENG et al., 2010). Também é a terceira proteína mais abundante no músculo estriado esquelético, atrás apenas da miosina e da actina (GREGÓRIO et al., 1998).

A titina é uma das primeiras proteínas miofibrilares identificadas em sarcômeros em desenvolvimento e parece servir como molde para sua montagem (GREGÓRIO et al., 1998). Essa proteína é degradada no *post mortem* pelas calpaínas (WARRIS, 2000) em, no mínimo, dois fragmentos e está associada ao aumento da maciez em 24-72h após o abate (HOPKINS; TAYLOR, 2004).



**Figura 4.** Representação esquemática do sarcômero. Fonte: Alberts et al. (2004), adaptado.

O gene titin-cap (*TCAP*) codifica a teletonina proteína que interage com a titina na linha Z (CHEONG et al., 2007) e está envolvida na regulação da secreção de miostatina, proteína que inibe o crescimento muscular (HOPKINS; TAYLOR, 2004). Cheong et al. (2007) testaram a associação de SNPs do gene *TCAP* com marmoreio e peso de carcaça em bovinos *Bos taurus*. A associação foi significativa apenas para marmoreio, porém os mecanismos biológicos dessa relação ainda não são entendidos e essa associação ainda precisa ser validada.

### 2. 7. 3. *MYOG*

O crescimento e a diferenciação muscular estão sobre controle multifatorial (HOUBA; TE PAS, 2004). Um conjunto de genes localizados no cromossomo 16, conhecidos como fatores diferenciação miogênica (família MYOD), está envolvido na regulação da hiperplasia e da hipertrofia muscular (BHUIYAN et al., 2009). Devido à conversão do músculo em carne após o abate, esses genes podem ser importantes na quantidade de carne depositada, sendo considerados genes candidatos em potencial (HOUBA; TE PAS, 2004).

A família MYOD é constituída por quatro genes: *MYOD1* (ou *MYF3*), *MYOG* (também chamado de miogenina ou *MYF4*), *MYF5* e *MYF6* (ou herculina) (HOUBA; TE PAS, 2004; BHUIYAN et al., 2009). Durante o período embrionário, os genes *MYOD1* e *MYF5* são expressos em mioblastos em proliferação, já o *MYOG* é expresso durante a diferenciação/fusão dos mioblastos em miofibrilas multinucleadas (HOUBA; TE PAS, 2004). Além disso, também podem ser expressos

no tecido muscular esquelético no período pós-natal associado ao reparo a danos nas fibras musculares e ao crescimento hipertrófico (TE PAS; SOUMILLION, 2001).

O gene *MYOG* parece estar diretamente relacionado ao número de fibras musculares e, conseqüentemente, à massa muscular e à quantidade de carne na carcaça (TE PAS; SOUMILLION, 2001). Uma mutação positiva nesse gene pode aumentar a quantidade de tecido muscular esquelético por meio de hiperplasia e promover o aumento no peso ao nascimento, assim como ocorre em bovinos com dupla musculatura (HOUBA; TE PAS, 2004). É possível que uma variação na seqüência de DNA regulatória (um SNP, por exemplo) provoque atraso no início da expressão do gene, o que estenderia o período de proliferação dos mioblastos, aumentando-os em quantidade (KIM et al., 2009).

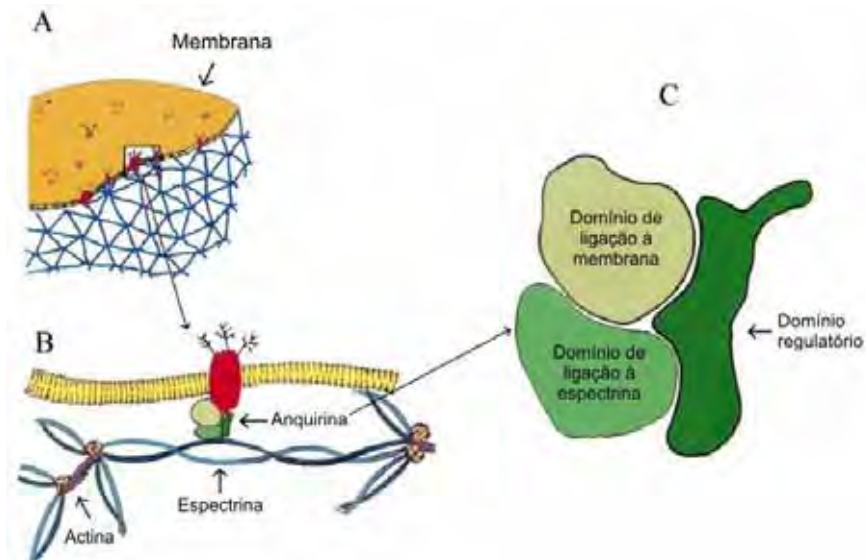
Estudos de associação com polimorfismos no gene *MYOG* em suíno, encontraram efeito nas fibras musculares, por meio do aumento no número e na área transversal das fibras (KIM et al., 2009); aumento do peso ao nascer, do peso de carcaça e da taxa de crescimento (TE PAS et al., 1999).

Já em bovinos de raças indígenas chinesas (*B. taurus*), houve efeito sobre capacidade de retenção de água e maciez da carne (UJAN et al., 2011). Na raça coreana Hanwoo (*B. taurus*), um polimorfismo no gene *MYOG* foi associado à tendência ( $p=0,08$ ) de redução do peso vivo, sem correlação significativa com AOL (BHUIYAN et al., 2009).

#### **2. 7. 4. ANK1**

As anquirinas são proteínas envolvidas na manutenção do formato da célula, mediando a interação entre proteínas da membrana plasmática e citoesqueleto. Foram identificados três genes distintos que codificam as anquirinas (*ANK1*, *ANK2* e *ANK3*) que são expressos em tecidos específicos. Os peptídeos correspondentes são designados anquirina R, anquirina B e anquirina G, respectivamente. De maneira geral, a proteína é constituída por três domínios: de ligação à membrana; de ligação à espectrina; e regulatório, que modula a função dos outros dois (Figura

5) (RUBTSOV; LOPINA, 2000). A espectrina é outra proteína do citoesqueleto que interage diretamente com a actina presente no citoesqueleto.

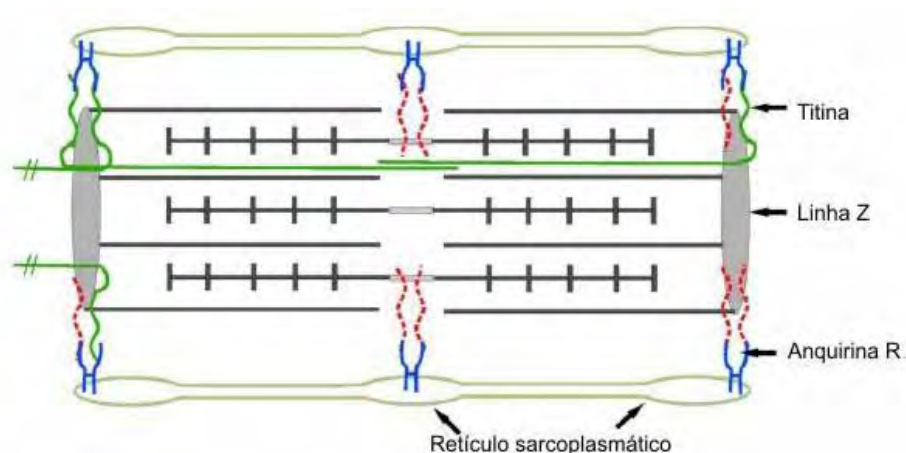


**Figura 5.** (A) Modelo esquemático da interação citoesqueleto-membrana plasmática; (B) união da anquirina à proteína transmembrana e à espectrina; (C) domínios da anquirina. Fonte: Rubtsov e Lopina (2000), adaptado.

Uma forma de “splicing” alternativo do gene *ANK1* produz anquirinas R menores, que estão localizadas nas linhas M e Z do sarcômero e na membrana do retículo sarcoplasmático (Figura 6) (BAGNATO et al., 2003; RUBTSOV; LOPINA, 2000). As anquirinas R possuem apenas o domínio regulatório que é sensível à proteólise (RUBTSOV; LOPINA, 2000) e podem sofrer proteólise pelas calpaínas (HARADA et al., 1997). Além disso, Bagnato et al. (2003) propuseram que a estrutura formada entre anquirinas, miofibrilas e retículo sarcoplasmático pode estar envolvida na liberação dos canais de cálcio, íon essencial para a ativação das calpaínas.

SNPs na região promotora do gene *ANK1* foram associados, positiva ou negativamente, a características de qualidade de carne, como maciez e gordura intramuscular em bovinos cruzados (*B. taurus*) (ASLAN et al., 2010), e perdas por exsudação e gordura intramuscular em suínos (ASLAN et al., 2012). A expressão do gene *ANK1* também foi associada positivamente a perdas por exsudação da carne

em suínos, o que sugeriria maior disponibilidade de alvos para a ação proteolítica das calpáinas no citoesqueleto (ASLAN et al., 2012).



**Figura 6.** Representação esquemática da ligação da anquirina R ao retículo sarcoplasmático e ao sarcômero. FONTE: Porter et al. (2005), adaptado.

Em outro estudo sobre a expressão do gene *ANK1* em suínos Duroc (Du), Pietrain (Pi) e cruzados Du x Pi, Pi x (Landrace x Large White), Du x (Landrace x Large White), foi encontrada associação com pH, capacidade de retenção de água e perdas (exsudação e cocção) da carne nos cruzamentos Pi x (Landrace x Large White), Du x (Landrace x Large White) (WIMMERS et al., 2007). No entanto, os autores atribuíram os efeitos à associação a um QTL que segrega nas raças brancas (Large White e Landrace) e não nas raças Duroc e Pietrain. O fato de não ter sido encontrada associação no cruzamento entre as essas duas raças puras corrobora com essa hipótese.

### 3. Referências

ABIEC (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE). **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br>>. Acesso em: 26 nov. 2012.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; WALTER, P.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular biology of the cell**. 4. ed. Nova Iorque: Garland Sciences, 2004.

ALBUQUERQUE, L. G.; MERCADANTE, M. E. Z.; ELER, J. P. Aspectos da seleção de *Bos indicus* para produção de carne. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 64, n. 4, p. 339-348, 2007.

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

ASLAN, O.; HAMILL, R. M.; MULLEN, A. M.; DAVEY, G. C.; GIL, M.; GLADNEY, C. D.; SWEENEY, T. Association between promoter polymorphisms in a key cytoskeletal gene (Ankyrin 1) and intramuscular fat and water-holding capacity in porcine muscle. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 39, n. 4, p. 3903-3914, 2012.

ASLAN, O.; SWEENEY, T.; MULLEN, A. M.; HAMILL, R. M. Regulatory polymorphisms in the bovine Ankyrin 1 gene promoter are associated with tenderness and intramuscular fat content. **BMC Genetics**, London, v. 11, n. 111, p. 2-14, 2010.

BAGNATO, P.; BARONE, V.; GIACOMELLO, E.; ROSSI, D.; SORRENTINO, V. Binding of an ankyrin-1 isoform to obscurin suggests a molecular link between the sarcoplasmic reticulum and myofibrils in striated muscles. **The Journal of Cell Biology**, New York, v. 160, n. 2, p. 245-253, 2003.

BAILEY, A. J. The role of collagen in the development of muscle and its relationship to eating quality. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 60, n. 6, p. 1580-1587, 1985.

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

BERGEN, R. D.; MCKINNON, J. J.; CHRISTENSEN, D. A.; KOHLE, N.; BELANGER, A. Use of real-time ultrasound to evaluate live animal carcass traits in young performance-tested beef bulls. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 75, n. 9, p. 2300-2307, 1997.

BHUIYAN, M. S. A.; KIM, N. K.; CHO, Y. M.; YOON, D.; KIM, K. S.; JEON, J. T.; LEE, J. H. Identification of SNPs in *MYOD* gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 126, n. 1-3, p. 292-297, 2009.



BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do agronegócio**: Brasil 2011/2012 a 2021/2022, projeções de longo prazo. Brasília, DF, 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/ministerio/gestao-estrategica/projecoes-do-agronegocio>>. Acesso em: 26 nov. 2012.

BRIDI, A. M. **Qualidade da carne para o mercado internacional**. Londrina, PR, 2004. Disponível em: <<http://www.uel.br/pessoal/ambridi/Carnesecarcacasarquivos/QualidadedaCarneparaoMercadoInternacional.pdf>>. Acesso em: 15 nov 2012.

CASAS, E.; WHITE, S. N.; RILEY, D. G.; SMITH, T. P. L.; BRENNEMAN, R. A.; OLSON, T. A.; JOHNSON, D. D.; COLEMAN, S. W.; BENNETT, G. L.; CHASE, C. C. JUNIOR. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 83, n. 1, p. 13-19. 2005.

CASES, S.; SMITH, S. J.; ZHENG, Y.; MYERS, H. M.; LEAR, S. R.; SANDE, E.; NOVAK, S.; COLLINS, C.; WELCH, C. B.; LUSIS, A. J.; ERICKSON, S. K.; FARESE, R. V. JUNIOR. Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. **Proceedings of National Academy of Sciences of USA**, Washington, DC, v. 95, n. 22, p. 13018-13023, 1998.

CEPEA (CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA). **PIB do agronegócio**. Piracicaba, [2012?]. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/>>. Acesso em: 26 nov. 2012.

CHENG, H.; XU, X.; ZHAO, S.; LIU, B.; YU, M.; FAN, B. Molecular cloning and expression profile analysis of porcine *TCAP* gene. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 37, n. 3, p. 1641-1647, 2010.

CHEONG, H. S.; YOON, D.; KIM, L. H.; PARK, B. L.; LEE, H. W.; HAN, C. S.; KIM, E. M.; CHO, H.; CHUNG, E. R.; CHEONG, I.; SHIN, H. D. Titin-cap (*TCAP*) polymorphisms associated with marbling score of beef. **Meat Science**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 257-263, 2007.

CHOE, J. H.; CHOI, Y. M.; LEE, S. H.; SHIN, H. G.; RYU, Y. C.; HONG, K. C.; KIM, B. C. The relation between glycogen, lactate content and muscle fiber type composition, and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality. **Meat Science**, Amsterdam, v. 80, n. 2, p. 355-362, 2008.

CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; ARRIGONI, M. D. B.; SILVEIRA, A. C.; OLIVEIRA, H. N. Associations between *LEP*, *DGAT1* and *FABP4* gene polymorphisms and carcass and meat traits in Nelore and crossbred beef cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 135, n. 2, p. 244-250, 2011.

DEMETER, R. M.; SCHOPEN, G. C. B.; OUDE LANSINK, A. G. J. M.; MEUWISSEN, M. P. M.; VAN ARENDONK, J. A. M. Effects of milk fat composition, *DGAT1*, and *SCD1* on fertility traits in Dutch Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 92, n. 11, p. 5720-5729, 2009.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**. Roma, 2012. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 26 nov 2012.

FORTES, M. R. S.; CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; SILVEIRA, A. C.; ASSUMPTÃO, M. E. O. D.; VISINTIN, J. A.; OLIVEIRA, H. N. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 1, p. 75-82, 2009.

FURBASS, R.; WINTER, A.; FRIES, R.; KUHN, C. Alleles of the bovine *DGAT1* variable number of tandem repeat associated with a milk fat QTL at chromosome 14 can stimulate gene expression. **Physiological Genomics**, Bethesda, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2006.

GAO, Y.; ZHANG, R.; HU, X.; LI, N. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. **Meat Science**, New York, v. 77, n. 1, p. 36-45, 2007.

GAUTIER, M.; CAPITAN, A.; FRITZ, S.; EGGEN, A.; BOICHARD, D.; DRUET, T. Characterization of the *DGAT1* K232A and variable number of tandem repeat polymorphisms in french dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 90, n. 6, p. 2980-2988, 2007.

GERBENS, F. Genetic control of intramuscular fat accretion. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality**. Oxfordshire: CABI, 2004. p. 346-361.

GREGORIO, C. C.; TROMBITÁS, K.; CENTNER, T.; KOLMERER, B.; STIER, G.; KUNKE, K.; SUZUKI, K.; OBERMAY, F.; HERRMANN, B.; GRANZIER, H.; SORIMACHI, H.; LABEIT, S. The NH<sub>2</sub> terminus of titin spans the Z-Disc: its interaction with a novel 19-kD Ligand (T-cap) is required for sarcomeric integrity. **The Journal of Cell Biology**, New York, v.143, n. 4, p. 1013-1027, 1998.

GRISART, B.; COPPIETERS, W.; FARNIR, F.; KARIM, L.; FORD, C.; BERZI, P.; CAMBISANO, N.; MNI, M.; REID, S.; SIMON, P.; SPELMAN, R.; GEORGES, M.; SNELL, R. Effect on milk yield and composition of a missense mutation in the bovine *DGAT1* gene with major positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification. **Genome Research**, Woodbury, v. 12, n. 2, p. 222-231, 2002.

HARADA, K.; FUKUDA, S.; KUNIMOTO, M.; YOSHIDA, K. Distribution of ankyrin isoforms and their proteolysis after ischemia and reperfusion in rat brain. **Journal of Neurochemistry**, West Sussex, v. 69, n. 1, p. 371-376, 1997.

HOCQUETTE, J. F.; GONDRET, F.; BAÉZA, E.; MÉDALE, F.; JURIE, C.; PETHICK, D. W. Intramuscular fat content in meat producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 2, p. 303-319, 2010.

HONIKEL, K. Water holding capacity of meat. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals**: physiology, genetics and meat quality. Oxfordshire: CABI, 2004. p. 389-400.

HOPKINS, D. L.; TAYLOR, R. G. Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderness. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals**: physiology, genetics and meat quality. Oxfordshire: CABI, 2004. p. 363-388.

HOUBA, P. H. J.; TE PAS, M. F. W. The muscle regulatory factors gene family in relation to meat production. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals**: physiology, genetics and meat quality. Oxfordshire: CABI, 2004.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 184-205.

KIM, J. M.; CHOI, B. D.; KIM, B. C.; PARK, S. S.; HONG, K. C. Associations of the variation in the porcine myogenin gene with muscle fibre characteristics, lean meat production and meat quality traits. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, v. 126, n. 2, p.134-141, 2009.

KIM, N. K.; LIM, J. H.; SONG, M. S.; KIM, O. H.; PARK, B. Y.; KIM, M. J.; HWANG, I. H.; LEE, C. S. Comparisons of *longissimus* muscle metabolic enzymes and muscle fiber types in Korean and western pig breeds. **Meat Science**, New York, v. 78, n. 4, p. 455-460, 2008.

KIM, S.; MISRA, A. SNP genotyping: technologies and biomedical applications. **Annual Review of Biomedical Engineering**, Philadelphia, v. 9, p. 289-320, 2007.

KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G. H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, New York, v. 74, n. 1, p. 34-43, 2006.

KÜHN, C.; THALLER, G.; WINTER, A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; KAUPE, B.; ERHARDT, G.; BENNEWITZ, J.; SCHWERIN, M.; RUEDI, F. Evidence for multiple alleles at the *DGAT1* locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. **Genetics**, Bethesda, v. 167, n. 4, p. 1873-1881, 2004.

LOFTUS, R. T.; MACHUGH, D. E.; BRADLEY, D. G.; SHARP, P. M.; CUNNINGHAM, P. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, DC, v. 91, n. 7, p. 2757-2761, 1994.

NAKAMURA, Y.; KOYAMA, K.; MATSUSHIMA, M. VNTR (variable number of tandem repeat) sequences as transcriptional, translational, or function regulators. **Journal of Human Genetics**, London, v. 43, n. 3, p. 149-152, 1998.

NAM, Y. J.; CHOI, Y. M.; LEE, S. H.; CHOE, J. H.; JEONG, D. W.; KIM, Y. Y.; KIM, B. C. Sensory evaluations of porcine *longissimus dorsi* muscle: Relationships with postmortem meat quality traits and muscle fiber characteristics. **Meat Science**, New York, v. 83, p. 731–736, 2009.

NÄSLUND, J.; FIKSE, W. F.; PIELBERG, G. R.; LUNDÉN, A. Frequency and effect of the bovine Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*) K232A polymorphism in Swedish dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 91, n. 5, p. 2127-2134, 2008.

NISHIMURA, T.; HATTORI, A.; TAKAHASHI, K. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese black cattle: effect of marbling on beef tenderization. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 77, n. 1, p. 93-104, 1999.

PANNIER, L.; MULLEN, A. M.; HAMILL, R. M.; STAPLETON, P. C.; SWEENEY, T. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in *DGAT1*, *TG* and *FABP4* genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. **Meat Science**, New York, v. 85, n. 3, p. 515–518, 2010.

PEARCE, K. L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H. J.; HOPKINS, D. L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes — a review. **Meat Science**, New York, v. 89, n. 2, p. 111-124, 2011.

PORTER, N. C.; RESNECK, W. G.; O'NEILL, A.; VAN ROSSUM, D. B.; STONE, M. R.; BLOCH, R. J. Association of small ankyrin 1 with the sarcoplasmic reticulum. **Molecular Membrane Biology**, London, v. 22, n. 5, p. 421-432, 2005.

REHFELDT, C.; FIEDLER, I.; STICKLAND, N. C. Number and size of muscle fibres in relation to meat production. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality**. Oxfordshire: CABI, 2004. p. 1-38.

RISCHKOWSKY, B.; PILLING, D. Molecular markers: a tool for exploring genetic diversity. In: \_\_\_\_\_. **The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rome: Food and Agriculture Organization, 2007. p. 359-379.

RUBTSOV, A. M.; LOPINA, O. D. Ankyrins. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 482, n. 1-2, p. 1-5, 2000.

SANDERS, K.; BENNEWITZ, J.; REINSCH, N.; THALLER, G.; PRINZENBERG, E. M.; KÜHN, C.; KALM, E. Characterization of the *DGAT1* mutations and the *CSN1S1* promoter in the german angeln dairy cattle population. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 89, n. 8, p. 3164-3174, 2006.

SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M. F.; CROUSE, J. D.; REAGAN, J. O. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 69, n. 1, p. 171-177, 1991.

SIQUEIRA, J. B.; OBA, E.; PINHO, R. O.; GUIMARÃES, S. E. F.; NETO, T. M.; GUIMARÃES, J. D. Testicular shape and andrological aspects of young Nelore bulls under extensive farming. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 41, n. 3, p. 612-617, 2012.

SLATKIN, M. Linkage disequilibrium – understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 9, n. 6, p. 477-485, 2008.

SOUZA, F. R. P.; MERCADANTE, M. E. Z.; FONSECA, L. F. S.; FERREIRA, L. M. S.; REGATIERI, I. C.; AYRES, D. R.; TONHATI, H.; SILVA, S. L.; RAZOOK, A. G.; ALBUQUERQUE, L. G. 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**, Savoy, v. 88, n. 2, p. 435-441, 2010.

TAYLOR, R. G.; GEESINK, G. H.; THOMPSON, V. F.; KOOHMARAIE, M.; GOLL, D. E. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 73, n. 5, p. 1351-1367, 1995.

TE PAS, M. F. W.; SOUMILLION, A. Improvement of livestock breeding strategies using physiologic and functional genomic information of the muscle regulatory factors gene family for skeletal muscle development. **Current Genomics**, Bussum, v. 2, n. 3, p. 285-304, 2001.

TE PAS, M. F. W.; SOUMILLION, A.; HARDERS, F. L.; VERBURG, F. J.; VAN DEN BOSCH, T. J.; GALESLOOT, P.; MEUWISSEN, T. H. Influences of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness, and lean weight of pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 77, n. 9, p. 2352-2356, 1999.

THALLER, G.; KRÄMER, W.; WINTER, A.; KAUPE, B.; ERHARDT, G.; FRIES, R. Effects of *DGAT1* variants on milk production traits in German cattle breeds. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 81, n. 8, p.1911-1918, 2003a.

THALLER, G.; KÜHN, C.; WINTER, A.; EWALD, G.; BELLMANN, O.; WEGNER, J.; ZÜHLKE, H.; FRIES, R. *DGAT1*, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. **Animal Genetics**, West Sussex, v. 34, n. 5, p. 354-357, 2003b.

UJAN, J. A.; ZAN, L. S.; SHENGJUAN, W.; ADOLIGBE, C.; WANG, H. B. Meat tenderness and water holding capacity are associated with a 959 A G mutation in the *MYOG* gene of Chinese indigenous cattle. **African Journal of Biotechnology**, Victoria Island, v. 10, p. 5654-5660, 2011.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, Londo, v. 34, n. 3, p. 275-305, 2002.

WARNER, R. D.; GREENWOOD, P. L.; PETHICK, D. W.; FERGUSON, D. M. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, Savoy, v. 86, n. 1, p. 171-183, 2010.

WARRIS, P. D. **Meat science**: an introductory text. Wallingford: CABI, 2000. p. 37-65, 93-105, 229-267.

WIMMERS, K.; MURANI, E.; TE PAS, M. F. W.; CHANG, K. C.; DAVOLI, R.; MERKS, J. W. M.; HENNE, H.; MURANIOVA, M.; da COSTA, N.; HARLIZIUS, B.; SCHELLANDER, K.; BOLL, I.; BRAGLIA, S.; DE WIT, A. A. C.; CAGNAZZO, M.; FONTANESI, L.; PRINS, D.; PONSUKSILI, S. Associations of functional candidate genes derived from gene-expression profiles of prenatal porcine muscle tissue with meat quality and muscle deposition. **Animal Genetics**, West Sussex, v. 38, n. 5, p. 474-484, 2007.

## **CAPÍTULO 2 – Polimorfismos nos genes *DGAT1*, *ANK1*, *TCAP* e *MYOG* associados à qualidade de carne em bovinos Nelore**

### **1. Resumo**

O objetivo deste trabalho foi estimar as frequências dos polimorfismos nos genes *DGAT1*, *ANK1*, *TCAP* e *MYOG* em bovinos Nelore (*Bos indicus*) e associá-los à qualidade de carne e carcaça. Um total de 600 machos foram genotipados para os polimorfismos *DGAT1* (VNTR com 18 nucleotídeos na região promotora), *ANK1* (novo polimorfismo identificado na região regulatória), *TCAP* (AY428575.1:g.346G>A) e *MYOG* (NW\_001501985:g.511G>C). Para o estudo de associação foram utilizados os dados fenotípicos de peso de carcaça quente, área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea, porcentagem de gordura intramuscular (GIM), força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar, coloração da carne ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) e perdas por cocção (perdas). O alelo B do gene *ANK1* foi associado ao aumento da coloração vermelha ( $a^*$ ) da carne ( $p < 0,05$ ). No gene *DGAT1*, os alelos 5R, 6R e 7R foram associados ( $p < 0,05$ ) ao aumento da GIM, à redução das perdas e ao aumento da AOL, respectivamente. O SNP do gene *TCAP* não foi polimórfico e os alelos do gene *MYOG* não foram associados a nenhuma das características testadas. Os resultados obtidos indicam que os genes *ANK1* e *DGAT1* podem ser utilizados na seleção de animais Nelore para qualidade de carne e carcaça.

**Palavras-chave:** anquirina, bovino de corte, gene candidato, miogenina, titina, triglicerídeo

### **2. Abstract**

The aim of this work was to estimate the polymorphisms frequencies of the genes *DGAT1*, *ANK1*, *TCAP* and *MYOG* in Nelore cattle (*Bos indicus*) and associate them to meat quality and carcass. A total of 600 males were genotyped for the polymorphisms *DGAT1* (VNTR with 18 nucleotides at the promoter region), *ANK1* (new polymorphism at the regulatory region), *TCAP* (AY428575.1:g.346G>A) and *MYOG* (NW\_001501985:g.511G>C). For association study, we used phenotypic data of hot carcass weight, ribeye area (REA), backfat thickness, percentage of

intramuscular fat (IF), shear force, myofibrillar fragmentation index, meat color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and cooking losses (CL). The allele B from *ANK1* gene was associated to higher redness ( $a^*$ ) ( $p < 0.05$ ). The alleles 5R, 6R and 7R from *DGAT1* VNTR gene were associated ( $p < 0.05$ ) to increased IF, reduced CL and increased REA, respectively. The SNP of *TCAP* gene was not polymorphic and *MYOG* alleles were not associated to any of the tested characteristics. Results indicate that *ANK1* and *DGAT1* genes can be used in the selection of Nellore cattle for meat quality and carcass weight.

**Key-words:** ankirin, beef cattle, candidate gene, myogenin, titin, triglycerides

### 3. Introdução

Os atributos visuais, sensoriais e nutricionais da carne; a segurança alimentar e o bem-estar animal definem a qualidade de carne (BECKER, 2000). Esses aspectos desejados e valorizados pelo consumidor influenciam no momento da compra e devem ser alvo de seleção dos programas de melhoramento genético de bovinos de corte.

A qualidade de carne, como grande parte das características de importância econômica em animais de produção, é complexa, poligênica e controlada por um número desconhecido de *loci* de características quantitativas (QTL) (GRISART et al., 2002). A abordagem do gene candidato pode ser utilizada para mapear QTL quando existe informação prévia sobre o efeito de um gene na característica (TE PAS; SOUMILLION, 2001).

O gene *DGAT1* codifica a enzima diacilglicerol-O-aciltransferase (DGAT) que catalisa a reação final da síntese de triacilglicerol (CASES et al., 1998; GRISART et al., 2002) e está envolvida na síntese e estocagem de lipídeos (CASES et al., 1998). Dois marcadores nesse gene foram associados a variações no teor de gordura no leite e na carne: a substituição de lisina por alanina na posição 232 (K232A) e um número variável de repetições em tandem (VNTR) presente na região promotora. O VNTR do gene *DGAT1* compreende 3 a 7 repetições de uma sequência de 18 nucleotídeos, ricos em guanina e citosina (KÜHN et al., 2004), que resultam em variação no número de sítios de ligação para o fator de transcrição Sp1 (FURBASS



et al., 2006). Essa variação pode impactar o nível de transcrição do *DGAT1* e de expressão da enzima DGAT.

A titina, ou conectina, é uma proteína extremamente robusta que liga a linha Z e à miosina no sarcômero (CHENG et al., 2010). Ela é degradada no *post mortem* pelas calpaínas (WARRIS, 2000) em pelo menos dois fragmentos e está associada ao aumento da maciez em 24-72h após o abate (HOPKINS; TAYLOR, 2004). O gene titin-cap (*TCAP*) codifica a teletonina proteína que interage com a titina na linha Z do sarcômero (CHEONG et al., 2007). Cheong et al. (2007) testaram a associação de SNPs do gene *TCAP* com marmoreio e peso de carcaça em *B. taurus* e encontraram que a troca de G por A reduziu o escore de marmorização.

Os genes da família *MYOD* (*MYOD1* ou *MYF3*; *MYOG*, miogenina ou *MYF4*; *MYF5*; *MYF6* ou herculina) estão envolvidos na regulação do desenvolvimento hiperplásico e hipertrófico do tecido muscular (BHUIYAN et al., 2009; HOUBA; TE PAS, 2004). O gene *MYOG* é expresso no período embrionário durante a diferenciação/fusão dos mioblastos em miofibrilas multinucleadas (HOUBA; TE PAS, 2004). No período pós-natal, pode estar associado ao reparo a danos nas fibras musculares e ao crescimento hipertrófico (TE PAS; SOUMILLION, 2001). Esse gene já foi relacionado ao aumento no número e na área transversal das fibras musculares (KIM et al., 2009); e ao aumento do peso ao nascer, do peso de carcaça e da taxa de crescimento (TE PAS et al., 1999) em suínos. Já em bovinos *B. taurus*, houve efeito apenas sobre capacidade de retenção de água e maciez da carne (UJAN et al., 2011).

As anquirinas são proteínas envolvidas na interação entre a membrana plasmática e o citoesqueleto (BAGNATO et al., 2003). Os genes *ANK1*, *ANK2* e *ANK3* codificam as anquirinas que são expressas em tecidos específicos (RUBTSOV; LOPINA, 2000). O “splicing” alternativo do gene *ANK1* produz anquirinas que promovem a ligação da membrana do retículo sarcoplasmático às linhas M e Z do sarcômero nas fibras musculares (RUBTSOV; LOPINA, 2000; BAGNATO et al., 2003;). Esse tipo de anquirina possui um domínio sensível à proteólise (RUBTSOV; LOPINA, 2000), podendo ser alvo das calpaínas (HARADA et al., 1997), o que afetaria a maciez da carne.

Nos quatro genes mencionados, existe pouca ou nenhuma informação sobre a frequência dos polimorfismos em *B. indicus*. Devido às diferenças na ancestralidade entre *B. taurus* e *B. indicus* (ANDERSSON, 2001), é importante que os marcadores identificados em taurinos sejam confirmados em zebuínos (CASAS et al., 2005; FORTES et al., 2009), vislumbrando a realização da seleção assistida por marcadores. Com ela é possível prever os animais que terão melhor desempenho, o que irá acelerar o ganho genético no rebanho (GAO et al., 2007).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo identificar as frequências dos polimorfismos dos genes *DGAT1* (VNTR com 18 nucleotídeos na região promotora), *ANK1* (novo polimorfismo identificado na região regulatória), *TCAP* (AY428575.1:g.346G>A) e *MYOG* (NW\_001501985:g.511G>C) em bovinos Nelore (*B. indicus*), bem como associá-los a características de qualidade de carne e carcaça.

#### **4. Material e métodos**

##### **4. 1. Coleta de amostras e análises da carne**

Foram utilizados 600 machos inteiros da raça Nelore (*Bos indicus*), com idade média de 24 meses, terminados em confinamento por 90 a 100 dias. Os animais participavam do programa de melhoramento genético da Conexão Delta G que forneceu os dados de manejo. O abate ocorreu em frigoríficos comerciais colaboradores, onde as carcaças foram pesadas ainda quentes (PCQ), identificadas e resfriadas por um período de 24 a 48 h. Em seguida, foram colhidas amostras do músculo *Longissimus dorsi*, entre a 9ª e 13ª costelas, da meia carcaça esquerda.

As amostras coletadas entre a 12ª e 13ª costelas foram utilizadas para medir a área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), força de cisalhamento (SF), perdas por cocção (perdas) e coloração da carne ( $L^*$  = luminosidade,  $a^*$  = cor vermelha,  $b^*$  = cor amarelo). O restante da carne foi utilizado para as análises de índice de fragmentação miofibrilar (MFI), porcentagem de gordura intramuscular (GIM) e para a extração de DNA. A AOL foi mesurada pelo método dos quadrantes de pontos e a EGS com paquímetro em milímetros, ambos

segundo o método descrito pelo USDA (USDA, 2000). As perdas peso por cozimento foram determinadas por diferença de peso entre a carne crua e a carne após a cocção. As outras medidas fenotípicas (SF, MFI, GIM, L\*, a\*, b\*) foram determinadas segundo as metodologias descritas por Wheeler et al. (1995), Culler et al. (1978), Bligh e Dyer (1959) e Renerre (1982), respectivamente.

#### 4. 2. Extração do DNA e genotipagem

O DNA foi extraído a partir da carne, utilizando-se o kit DNeasy<sup>®</sup> Blood & Tissue (QIAGEN, EUA), segundo as recomendações do protocolo de purificação do DNA total de tecidos animais.

Para a reação da PCR foram utilizadas, de acordo com as recomendações do fabricante, as enzimas: Taq DNA Polimerase (Invitrogen, EUA) para o *MYOG* e *TCAP*; e GoTaq<sup>®</sup> Flexi DNA Polimerase (Promega, EUA) para *DGAT1* e *ANK1*. A sequência de nucleotídeos dos quatro pares de primers (Bioneer, Coréia do Sul) foi obtida na literatura (Tabela 1). A amplificação foi realizada no termociclador MyCycler<sup>™</sup> (BIORAD, EUA) com temperatura inicial de desnaturação de 95°C por 5 min; seguida por 35 a 40 ciclos (Tabela 1) de 95°C por 1 min, 30 a 45s a uma temperatura de anelamento específica para cada polimorfismo (Tabela 1), 72°C por 1 min; e a etapa final de extensão a 72°C por 5 min. Os tamanhos dos fragmentos de cada polimorfismo resultantes da PCR estão descritos na Tabela 1.

Com exceção do VNTR do gene *DGAT1*, os fragmentos resultantes da PCR dos genes *ANK1*, *MYOG* e *TCAP* foram digeridos com as enzimas de restrição (New England Biolabs, EUA) *MspI*, *NgoMIV*, *BtsCI*, respectivamente. A temperatura e o tempo de incubação de cada uma das enzimas foram: 37°C por 12h para *MspI*; 37°C por 16h para *NgoMIV* e 50°C por 12h para *BtsCI*. Os produtos resultantes da digestão foram corados com brometo de etídio e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% para o gene *MYOG* e a 3% para os genes *ANK1* e *TCAP*. Os fragmentos da PCR do VNTR do gene *DGAT1* foram separados em gel de agarose de alta definição a 4%. Um padrão de peso molecular de 100 pb foi adicionado em cada gel para orientar sobre o tamanho dos fragmentos produzidos. Os genótipos

dos indivíduos foram determinados para cada polimorfismo por meio da análise do tamanho dos fragmentos identificados nos géis.

**Tabela 1.** Primers “forward” (F) e “reverse” (R) e suas referências, anelamento (temperatura em C° e tempo em segundos), número de ciclos e tamanho dos fragmentos (TF) utilizados para amplificação dos genes *TCAP*, *MYOG*, *ANK1* e *DGAT1* em bovinos.

Gene (n° de acesso)	Sequência do primer (5' para 3')	Referência	Anel.	N° de ciclos	TF
<i>TCAP</i> (AY428575.1)	F: GGGAGTGAGCAGTCATCATGGC R: AGAGGCAGCACCCGCTGGT	Cheong et al. (2007)	60°C/ 45s	36	517 pb
<i>MYOG</i> (NW_001501985.2)	F: CTGAGAGAGAAGCGCACACT R: CTGGCTCAACTAGACCGACT	Bhuiyan et al. (2009)	56°C/ 30s	38	680 pb
<i>ANK1</i> (NW_001494427.3)	F: GGTGTTTTTGCTTCTCCAGC R: CTGAGTGAAGGACGACTGTAATGA	Aslan et al. (2010)	52°C/ 30s	35	701 pb
<i>DGAT1</i> (AJ318490.1)	F: TCAGGATCCAGAGGTACCAG R: CAATGAGAAGGCACGGACTGTGAA	Gautier et al. (2007)	58°C/ 30s	40	210, 228, 246, 264 e 282 pb

Anel. = anelamento; TF = tamanho dos fragmentos.

#### 4. 3. Análise estatística

A partir dos genótipos identificados nos géis, as frequências alélicas e genotípicas foram calculadas para cada polimorfismo de acordo com Weir (1996). As análises foram realizadas por meio do procedimento GLM do SAS<sup>®</sup>. O efeito de substituição de alelos dos polimorfismos estudados sobre as características de interesse foram estimados por regressão do número de cópias do alelo. O modelo utilizado foi:  $Y_{ijk} = \mu + GC_i + b_1 \times n_{jk} + b_2 \times IA_j + e_{ijk}$ , onde  $Y_{ijk}$  = característica de interesse,  $\mu$  = média,  $GC_i$  = efeito fixo do  $i$ -ésimo grupo de contemporâneos ( $i = 1, \dots, 45$ ),  $b_1$  = coeficiente de regressão para a covariável número de alelos,  $n_{jk}$  = número de alelos do genótipo do  $j$ -ésimo animal,  $b_2$  = coeficiente de regressão para a covariável idade ao abate,  $IA_j$  = idade ao abate do  $j$ -ésimo animal e  $e_{ijk}$  = erro aleatório. Para evitar dependências nos polimorfismos *ANK1* e *MYOG*, a regressão foi feita apenas nos alelos B e C, respectivamente. Para o VNTR do gene *DGAT1*, com presença de múltiplos alelos e frequência muito baixa dos alelos 4R e 8R, a dependência foi evitada considerando-se como zero os efeitos médios dos alelos 4R e 8R em conjunto. Na análise do gene *DGAT1* a redução total da soma dos

quadrados causada pelo efeito dos três alelos do modelo foi calculada para obter o  $p$ -nominal do *locus*.

O grupo de contemporâneos foi formado considerando o grupo de manejo ao sobreano e o grupo de abate. Entende-se por grupo de abate aqueles animais que foram abatidos na mesma data e no mesmo abatedouro. Os grupos com menos de três animais foram excluídos da análise. O efeito touro não foi incluído no modelo porque o número de filhos do mesmo touro foi muito pequeno, assim a possibilidade de confundir o efeito do alelo com o efeito do touro foi minimizado.

## 5. Resultados

### 5. 1. Análises fenotípicas

O resumo dos dados fenotípicos com médias e coeficientes de variação correspondentes encontra-se descrito na Tabela 2. A formação do grupo de contemporâneos reduziu o número de medidas de todas as características.

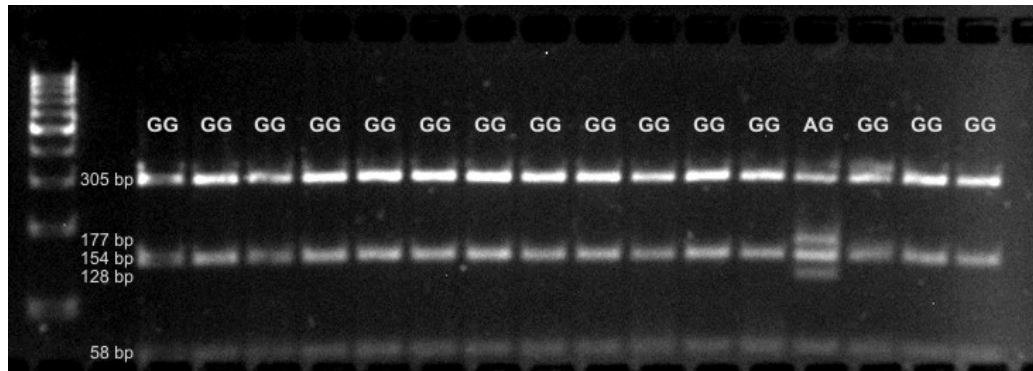
**Tabela 2.** Estatística descritiva para perímetro escrotal e características de qualidade de carne.

Característica	Número de medidas	Média	Coeficiente de variação
PCQ (kg)	509	268,40	8,0
perdas (%)	516	23,62	14,7
AOL (cm <sup>2</sup> )	515	65,62	11,8
EGS (mm)	515	5,20	45,5
SF (kg)	515	4,77	27,1
L*	516	33,24	17,1
a*	514	18,34	21,4
b*	514	10,13	30,6
MFI	503	24,81	35,2
GIM (%)	501	0,757	37,5

PCQ = peso de carcaça quente, perdas = perdas por cocção, AOL = área de olho de lombo, EGS = espessura de gordura subcutânea, SF = força de cisalhamento, L\* = luminosidade da carne, a\* = coloração vermelha da carne, b\* = coloração amarela da carne, MFI = índice de fragmentação miofibrilar, GIM = porcentagem de gordura intramuscular.

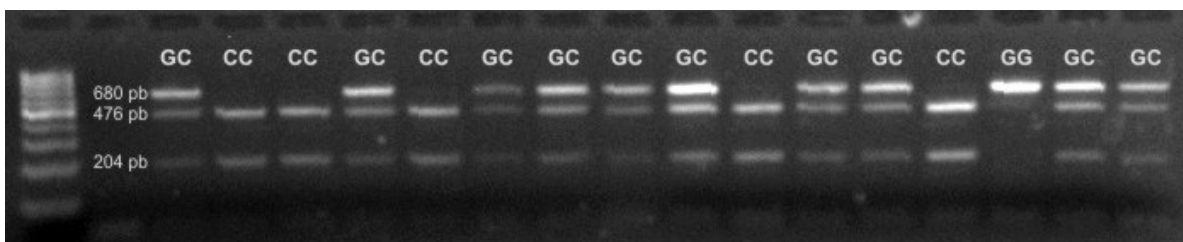
## 5. 2. Genotipagem e frequências alélicas

No gene *TCAP*, a enzima *BtsCI* clivou fragmentos de 177, 154, 128 e 58 pb para o alelo A e fragmentos de 305, 154 e 58 pb para o alelo G (Figura 1).



**Figura 1.** Padrão eletroforético do gene *TCAP* após digestão com *BtsCI*. A visualização de cinco bandas (305, 177, 154, 128 e 58 pb) configura o genótipo AG e três bandas (305, 154 e 58 pb), o genótipo GG.

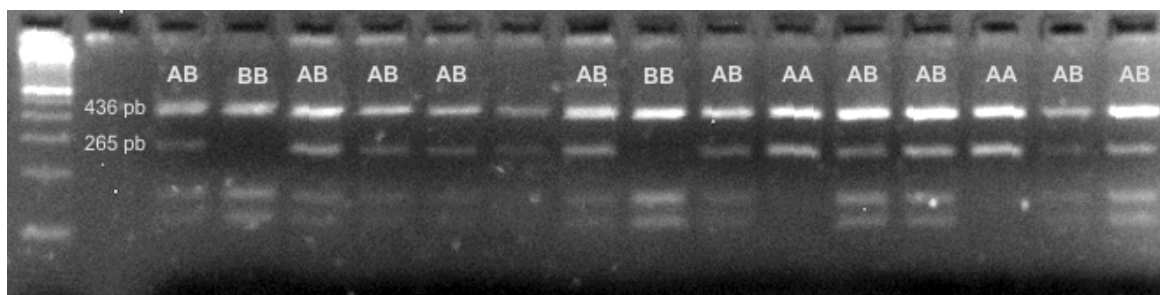
No gene *MYOG* a digestão com a enzima *NgoMIV* resultou em dois fragmentos de 476 e 204 pb para o alelo C e em um fragmento não digerido de 680 pb para o alelo G (Figura 2).



**Figura 2.** Padrão eletroforético do gene *MYOG* após digestão com *NgoMIV*. A visualização de três bandas (680, 476 e 204 pb) configura o genótipo GC; duas bandas (476 e 204 pb) configura o genótipo CC e uma banda (680pb), o genótipo GG.

Para o gene *ANK1* foi encontrado um novo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). Quando a enzima *MspI* gerou fragmentos de 436 e 265 pb o alelo foi denominado A; já no outro alelo, denominado B, o fragmento de 436 pb se repetiu e o de 265 pb foi clivado em dois (Figura 3). Por meio da sequência da região e do

sítio de reconhecimento da enzima (5' C<sup>▼</sup>CGG 3'), é possível inferir que os fragmentos tenham 112 e 153 pb, 121 e 144 pb, ou 151 e 114 pb (Figura 4). Entretanto, a localização exata do polimorfismo ainda precisa ser confirmada por sequenciamento.



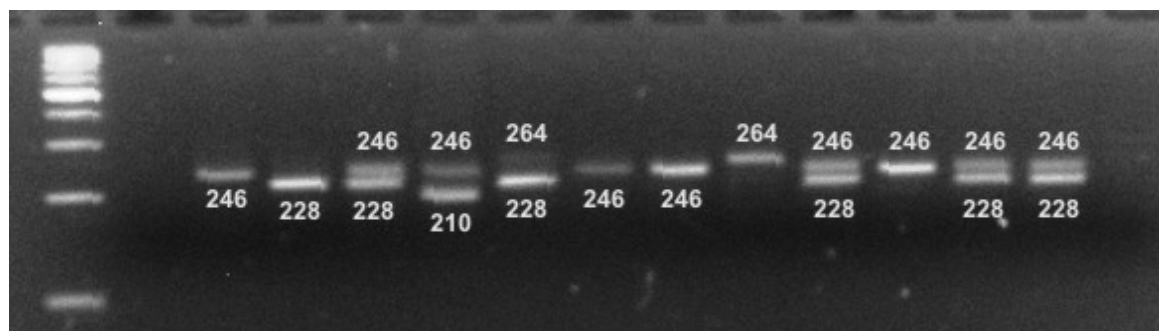
**Figura 3.** Padrão eletroforético do gene *ANK1* após digestão com *MspI*. A visualização de quatro bandas configura o genótipo AB; três bandas o genótipo BB e duas bandas o genótipo AA.

```
GGTGTTTTGCTTCTCCAGCTGTATTGACGCTACTGGGTTCTGTCCTGCCTGAGAAAAGTCTCTCCAGCCTCT
CTCCTGGCCCCTTGGCCACCCTCTGCACTGAGGCTGGTCCAGGGGCCCGATGGGCAGCCATCTGGCCT
CAGCTTTTCCGCAGATCCAAGCGGGCCCTTCTGTGAGGCTACAGCTGTGGTAAAAACCACCACCAAGGGCC
GCTCCGTGACACTCTGTTCCACAGCAGCTGGAAACCCCCAGCTGAGGGGCCSGGCCATCCCC
```

**Figura 4.** Sequência parcial de nucleotídeos da região regulatória do gene *ANK1* (gi:355475919). O novo polimorfismo estaria localizado na posição -534 (troca de A por G na caixa em negrito), -544 (troca de A por G na caixa tracejada) ou -574 (troca de C por G na caixa pontilhada) em relação ao sítio de início da transcrição descrito por Aslan et al. (2010). Em cinza escuro está sítio de restrição da enzima, sendo S o SNP4 (C/G) identificado por Aslan et al. (2010).

O polimorfismo do gene *DGAT1* foi caracterizado pela presença de cinco alelos (4R, 5R, 6R, 7R e 8R) com 210, 228, 246, 264 e 282 pb, respectivamente (Figura 5). Segundo Gautier et al. (2007), os alelos com 228 pb desse gene possuem 5 repetições da sequência de 18 nucleotídeos do VNTR. Sendo assim, foram encontrados alelos com 4 a 8 repetições. As frequências alélicas observadas foram: alelo 4R = 0,039, alelo 5R = 0,431, alelo 6R = 0,455, alelo 7R = 0,073 e alelo

8R = 0,004. Para a análise estatística, como já explicado anteriormente, o efeito dos alelos 4R e 8R, com menor frequência, foram igualados a zero.



**Figura 5.** Padrão eletroforético dos genótipos do polimorfismo VNTR do gene *DGAT1*. Na figura são observados os alelos 4R (210 pb), 5R (228 pb), 6R (246 pb) e 7R (264 pb).

O cálculo das frequências alélicas e genotípicas (Tabela 3) demonstrou que o gene *TCAP* não foi polimórfico (frequência < 1%) para a mutação g.346G>A em bovinos *B. indicus*. Por isso, não foi realizado estudo de associação com esse gene.

**Tabela 3.** Frequências alélicas e genotípicas dos genes *ANK1*, *MYOG* e *TCAP*.

	Frequência alélica		Frequência genotípica		
<i>ANK1</i>	0,43 (A)	0,57 (B)	0,20 (AA)	0,47 (AB)	0,33 (BB)
<i>MYOG</i>	0,54 (C)	0,46 (G)	0,30 (CC)	0,47 (GC)	0,23 (GG)
<i>TCAP</i>	0,004(A)	0,996 (G)	0 (AA)	0,008 (AG)	0,992 (GG)

### 5. 3. Estudo de associação com as características fenotípicas

A substituição de um alelo aleatório pelos alelos 5R, 6R e 7R do gene *DGAT1* influenciou, respectivamente, GIM, perdas e AOL. A substituição do alelo A pelo B do gene *ANK1* foi associado a a\*. Não houve associação da substituição do alelo G pelo C do gene *MYOG* com nenhuma das características testadas (Tabela 4).

## 6. Discussão

O alelo G do gene *TCAP* apresentou-se quase fixado na população analisada (Tabela 3), contrastando com o que foi encontrado por Cheong et al. (2007) em bovinos Hanwoo (*B. taurus*) em que a frequência de G foi 0,57. Já para o gene



*MYOG*, o alelo C foi mais frequente que o alelo G o que está de acordo com o que foi encontrado por Bhuiyan et al. (2009) em bovinos Brahman e Red Chittagong (*B. indicus*). Nesse mesmo estudo, o oposto ocorreu em bovinos *B. taurus* em que a frequência de G foi consideravelmente maior (superior a 0,84) que a frequência de C nas cinco raças estudadas.

**Tabela 4.** Efeito de substituição dos alelos 5R, 6R e 7R do gene *DGAT1*; do alelo B do gene *ANK1* e do alelo C do gene *MYOG* sobre porcentagem de gordura intramuscular (GIM), área de olho de lombo (AOL), perdas por cocção (perdas) e coloração vermelha da carne (a).

		GIM (%)	AOL	Perdas	a
<i>DGAT1</i>	Alelo 5R	0,078 ± 0,04*	0,534 ± 1,00	- 0,892 ± 0,50	0,172 ± 0,51
	Alelo 6R	0,071 ± 0,04	1,317 ± 1,00	- 0,989 ± 0,50*	0,264 ± 0,51
	Alelo 7R	0,051 ± 0,05	2,711 ± 1,22*	- 0,279 ± 0,61	- 0,358 ± 0,62
<i>ANK1</i>		- 0,016 ± 0,02	- 0,116 ± 0,48	0,293 ± 0,23	0,516 ± 0,24*
<i>MYOG</i>		- 0,006 ± 0,02	- 0,585 ± 0,46	0,108 ± 0,22	0,335 ± 0,23

\*p<0,05; efeito ± erro padrão.

Essas diferenças nas frequências alélicas entre *B. indicus* e *B. taurus* estão relacionadas, em parte, à origem genética desses dois grupos. Existem evidências de que zebuínos e taurinos são originários de subespécies distintas de um ancestral comum e que foram domesticados em momentos e ambientes diferentes (RISCHKOWSKY; PILLING, 2007). As seleções natural e antrópica que ocorreram após a domesticação, provalvente, resultaram nas diferenças genéticas e fenotípicas entre animais zebuínos e taurinos.

Em relação ao VNTR do gene *DGAT1*, as frequências alélicas são mais variáveis mesmo dentro da raça Nelore (*B. indicus*). Enquanto o alelo 5R foi mais frequente em Curi et al. (2011), no presente trabalho foi o alelo 6R. Um resultado semelhante foi encontrado por Kühn et al. (2004) e Gautier et al. (2007) em vacas holandesas em que os alelos 4R e 5R, respectivamente, foram mais frequentes. Essas variações podem ser devidas a um processo de seleção nas populações estudadas que privilegiou a predominância de um alelo em detrimento de outro.

A quantidade de alelos encontrada para o *DGAT1* também variou na raça Nelore (*B. indicus*). Enquanto Curi et al. (2011) encontraram alelos com três a seis

repetições do VNTR, o presente trabalho encontrou uma gama maior de alelos (quatro a oito repetições). A ausência dos alelos 7R e 8R no trabalho de Curi et al. (2011) pode ser explicada pelo menor número de animais utilizados por esses autores (n = 114) que reduz a probabilidade de encontrar alelos com baixa frequência.

O alelo 5R do gene *DGAT1* afetou positivamente a porcentagem de gordura intramuscular. Esse efeito era esperado visto que o gene codifica a enzima DGAT (CASES et al., 1998; GRISART et al., 2002) e o VNTR está envolvido na transcrição desse gene (FURBASS et al., 2006). No entanto, os resultados ainda não permitem concluir qual número de repetições do VNTR que seria mais favorável ao aumento na síntese de triglicerídeos. Outros trabalhos já encontraram associações positivas com sete (KÜHN et al., 2004) e seis repetições (CURI et al., 2011).

É provável que o gene *DGAT1* esteja relacionado à deposição de gordura na carne e no leite, porém por mecanismos diferentes. Enquanto o alelo lisina do polimorfismo K232A do gene *DGAT1* foi bastante associado ao aumento no teor de gordura no leite (GAUTIER et al., 2007; GRISART et al., 2002; NÄSLUND et al., 2008; SANDERS et al., 2006; THALLER et al., 2003), o mesmo efeito não foi encontrado para marmorização e espessura de gordura subcutânea (CASAS et al., 2005; SOUZA et al., 2010). Já o VNTR do gene *DGAT1*, que foi associado à gordura intramuscular no presente estudo e espessura de gordura da carne (CURI et al., 2011), mostrou pouco (GAUTIER et al., 2007) ou nenhum efeito (SANDERS et al., 2006) sobre a gordura do leite. Aparentemente, o polimorfismo K232A estaria mais associado à gordura no leite e o VNTR à gordura na carne.

Outro indício disso é que os zebuínos, que apresentam o alelo lisina do polimorfismo K232A quase fixado na população (EGITO et al., 2005; LACORTE et al., 2006; FORTES et al., 2009; SOUZA et al., 2010), possuem grande quantidade de gordura no leite e baixo teor de marmorização quando comparados aos taurinos.

Selecionar bovinos para o aumento na porcentagem de gordura intramuscular pode melhorar a suculência, palatabilidade e maciez da carne, contribuindo com 3 a 10% da variação dessas características (NISHIMURA; HATTORI; TAKAHASHI,

1999). A influência nas duas primeiras características seria direta, ajudando na melhoria do sabor da carne após a cocção e para um melhor fluxo de saliva na boca (WARRIS, 2000). Já a melhora na maciez seria indireta por meio da separação e desorganização do tecido conjuntivo intramuscular, permitindo que as ligações entre as miofibrilas fossem desfeitas mais facilmente (HOCQUETTE et al., 2010; NISHIMURA; HATTORI; TAKAHASHI, 1999; WARRIS, 2000;). Porém, segundo Nishimura, Hattori e Takahashi (1999) seria necessário mais 8% de gordura intramuscular para que o efeito sob a maciez fosse observado, em ensaios de análise sensorial.

Os alelos 6R e 7R do *DGAT1* tiveram associação negativa com perdas por cocção e positiva com área de olho de lombo, respectivamente. Esses achados não têm, a princípio, uma explicação direta em relação aos mecanismos fisiológicos relacionados ao gene *DGAT1*, que está envolvido na síntese de triacilglicerol. Porém podem estar em desequilíbrio de ligação com outro gene que influencie essas características. Apesar de não haver relatos de associação dos polimorfismos K232A (CASAS et al., 2005; SOUZA et al., 2010) e VNTR (CURI et al., 2011) do gene *DGAT1* com AOL nem com perdas, essas duas associações são benéficas do ponto de vista da tecnologia de carnes e da produção animal. A redução das perdas por cocção evita o ressecamento da carne (PEARCE et al., 2011) e o aumento na AOL, que é uma medida de musculosidade (BERGEN et al., 1997), pode aumentar o rendimento de cortes cárneos.

O alelo B do gene *ANK1* foi associado ao aumento na coloração vermelha (a\*) da carne. Essa associação no gene *ANK1* também não era esperada devido à função biológica do produto do gene. Esse efeito pode estar relacionado ao desequilíbrio de ligação desse polimorfismo com outro polimorfismo em outro gene no mesmo cromossomo. Outros trabalhos já associaram SNPs na região promotora do gene *ANK1* à maciez e gordura intramuscular em *B. taurus* (ASLAN et al., 2010) e perdas por exsudação e gordura intramuscular em suínos (ASLAN et al., 2012), porém esse é o primeiro relato de associação com coloração da carne em bovinos.

A cor da carne é uma das características que mais influencia na decisão do consumidor no momento da compra (NAM et al., 2009), sendo a cor vermelha

considerada mais desejável (BARBUT, 2005). A coloração vermelha é associada à maior proporção de fibras musculares do tipo I (GENTRY et al., 2004) que possuem metabolismo oxidativo e requerem maior concentração de mioglobina para transporte oxigênio, quando comparada a fibras de metabolismo glicolítico, do tipo II (KIM et al., 2008). As fibras do tipo I também são positivamente correlacionadas a maior aceitabilidade da cor da carne (NAM et al., 2009). No entanto, uma variação, mesmo que significativa, nos valores de  $a^*$  pode não influenciar diretamente a aceitabilidade (NAM et al., 2009) porque pode estar fora da faixa de percepção humana.

## 7. Conclusão

Os resultados obtidos indicam que, dentre os genes testados, apenas o VNTR do gene *DGAT1* e o SNP do gene *ANK1* podem ser utilizados na seleção de animais Nelore para qualidade de carne e carcaça. Esses resultados também ressaltam a importância do desenvolvimento de marcadores moleculares apropriados para a seleção de *B. indicus*.

## 8. Referências bibliográficas

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

ASLAN, O.; HAMILL, R. M.; MULLEN, A. M.; DAVEY, G. C.; GIL, M.; GLADNEY, C. D.; SWEENEY, T. Association between promoter polymorphisms in a key cytoskeletal gene (Ankyrin 1) and intramuscular fat and water-holding capacity in porcine muscle. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 39, n. 4, p. 3903-3914, 2012.

ASLAN, O.; SWEENEY, T.; MULLEN, A. M.; HAMILL, R. M. Regulatory polymorphisms in the bovine Ankyrin 1 gene promoter are associated with tenderness and intramuscular fat content. **BMC Genetics**, London, v. 11, n. 111, p. 2-14, 2010.

BAGNATO, P.; BARONE, V.; GIACOMELLO, E.; ROSSI, D.; SORRENTINO, V. Binding of an ankyrin-1 isoform to obscurin suggests a molecular link between the sarcoplasmic reticulum and myofibrils in striated muscles. **The Journal of Cell Biology**, New York, v. 160, n. 2, p. 245-253, 2003.

BARBUT, S. Effect of enhanced fluorescent light on acceptability of meat cuts. **Journal of Muscle Foods**, Hoboken, v. 16, n. 2, p. 77-86, 2005.

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

BERGEN, R. D.; MCKINNON, J. J.; CHRISTENSEN, D. A.; KOHLE, N.; BELANGER, A. Use of real-time ultrasound to evaluate live animal carcass traits in young performance-tested beef bulls. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 75, n. 9, p. 2300-2307, 1997.

BHUIYAN, M. S. A.; KIM, N. K.; CHO, Y. M.; YOON, D.; KIM, K. S.; JEON, J. T.; LEE, J. H. Identification of SNPs in *MYOD* gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 126, n. 1-3, p. 292-297, 2009.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

CASAS, E.; WHITE, S. N.; RILEY, D. G.; SMITH, T. P. L.; BRENNEMAN, R. A.; OLSON, T. A.; JOHNSON, D. D.; COLEMAN, S. W.; BENNETT, G. L.; CHASE, C. C. JUNIOR. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 83, n. 1, p. 13-19, 2005.

CASES, S.; SMITH, S. J.; ZHENG, Y.; MYERS, H. M.; LEAR, S. R.; SANDE, E.; NOVAK, S.; COLLINS, C.; WELCH, C. B.; LUSIS, A. J.; ERICKSON, S. K.; FARESE, R. V. JUNIOR. Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. **Proceedings of National Academy of Sciences of USA**, Washington, DC, v. 95, n. 22, p. 13018-13023, 1998.

CHEONG, H. S.; YOON, D.; KIM, L. H.; PARK, B. L.; LEE, H. W.; HAN, C. S.; KIM, E. M.; CHO, H.; CHUNG, E. R.; CHEONG, I.; SHIN, H. D. Titin-cap (*TCAP*) polymorphisms associated with marbling score of beef. **Meat Science**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 257-263, 2007.

CHENG, H.; XU, X.; ZHAO, S.; LIU, B.; YU, M.; FAN, B. Molecular cloning and expression profile analysis of porcine *TCAP* gene. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 37, n. 3, p. 1641-1647, 2010.

CULLER, R. D.; PARRISH JUNIOR, F. C.; SMITH, G. C.; CROSS, H. R. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 43, n. 4, p. 1177-1180, 1978.

CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; ARRIGONI, M. D. B.; SILVEIRA, A. C.; OLIVEIRA, H. N. Associations between *LEP*, *DGAT1* and *FABP4* gene polymorphisms and carcass and meat traits in Nelore and crossbred beef cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 135, n. 2, p. 244-250, 2011.

EGITO, A. A.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; PAPPAS, M. C. R.; PAIVA, S. R.; GRATTAPAGLIA, D.; McMANUS, C.; CASTRO, S. R.; ALMEIDA, L. D.; CUNHA, P. A.; MARIANTE, A. S. **Polimorfismo lisina-232/alanina no gene *DGAT1* em raças bovinas criadas no Brasil**. Brasília: Embrapa Cenargem, 2005. p. 1-9. (Comunicado Técnico, 134).

FORTES, M. R. S.; CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; SILVEIRA, A. C.; ASSUMPÇÃO, M. E. O. D.; VISINTIN, J. A.; OLIVEIRA, H. N. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 1, p. 75-82, 2009.

FURBASS, R.; WINTER, A.; FRIES, R.; KUHN, C. Alleles of the bovine *DGAT1* variable number of tandem repeat associated with a milk fat QTL at chromosome 14 can stimulate gene expression. **Physiological Genomics**, Bethesda, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2006.

GAO, Y.; ZHANG, R.; HU, X.; LI, N. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. **Meat Science**, New York, v. 77, n. 1, p. 36-45, 2007.

GAUTIER, M.; CAPITAN, A.; FRITZ, S.; EGGEN, A.; BOICHARD, D.; DRUET, T. Characterization of the *DGAT1* K232A and variable number of tandem repeat polymorphisms in french dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 90, n. 6, p. 2980-2988, 2007.

GENTRY, J. G.; MCGLONE, J. J.; MILLER, M. F.; BLANTON, J. R. JUNIOR. Environmental effects on pig performance, meat quality, and muscle characteristics. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 82, n. 1, p. 209-217, 2004.

GRISART, B.; COPPIETERS, W.; FARNIR, F.; KARIM, L.; FORD, C.; BERZI, P.; CAMBISANO, N.; MNI, M.; REID, S.; SIMON, P.; SPELMAN, R.; GEORGES, M.; SNELL, R. Effect on milk yield and composition of a missense mutation in the bovine *DGAT1* gene with major positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification. **Genome Research**, Woodbury, v. 12, n. 2, p. 222-231, 2002.

HARADA, K.; FUKUDA, S.; KUNIMOTO, M.; YOSHIDA, K. Distribution of ankyrin isoforms and their proteolysis after ischemia and reperfusion in rat brain. **Journal of Neurochemistry**, West Sussex, v. 69, n. 1, p. 371-376, 1997.

HOCQUETTE, J. F.; GONDRET, F.; BAÉZA, E.; MÉDALE, F.; JURIE, C.; PETHICK, D. W. Intramuscular fat content in meat producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 2, p. 303-319, 2010.

HOPKINS, D. L.; TAYLOR, R. G. Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderness. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality**. Oxfordshire: CABI, 2004. p. 363-388.

HOUBA, P. H. J.; TE PAS, M. F. W. The muscle regulatory factors gene family in relation to meat production. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. **Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality**. Oxfordshire: CABI, 2004.

KIM, J. M.; CHOI, B. D.; KIM, B. C.; PARK, S. S.; HONG, K. C. Associations of the variation in the porcine myogenin gene with muscle fibre characteristics, lean meat production and meat quality traits. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, v. 126, n. 2, p.134-141, 2009.

KIM, N. K.; LIM, J. H.; SONG, M. S.; KIM, O. H.; PARK, B. Y.; KIM, M. J.; HWANG, I. H.; LEE, C. S. Comparisons of *longissimus* muscle metabolic enzymes and muscle fiber types in Korean and western pig breeds. **Meat Science**, New York, v. 78, n. 4, p. 455-460, 2008.

KÜHN, C.; THALLER, G.; WINTER, A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; KAUPE, B.; ERHARDT, G.; BENNEWITZ, J.; SCHWERIN, M.; RUEDI, F. Evidence for multiple alleles at the *DGAT1* locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. **Genetics**, Bethesda, v. 167, n. 4, p. 1873-1881, 2004.

LACORTE, G. A.; MACHADO, M. A.; MARTINEZ, M. L.; CAMPOS, A. L.; MACIEL, R. P.; VERNEQUE, R. S.; TEODORO, R. L.; PEIXOTO, M. G. C. D.; CARVALHO, M. R. S.; FONSECA, C. G. *DGAT1 K232A* polymorphism in Brazilian cattle breeds. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 5, n. 3, p. 475-482, 2006.

NAM, Y. J.; CHOI, Y. M.; LEE, S. H.; CHOE, J. H.; JEONG, D. W.; KIM, Y. Y.; KIM, B. C. Sensory evaluations of porcine *longissimus dorsi* muscle: Relationships with postmortem meat quality traits and muscle fiber characteristics. **Meat Science**, New York, v. 83, p. 731–736, 2009.

NÄSLUND, J.; FIKSE, W. F.; PIELBERG, G. R.; LUNDÉN, A. Frequency and effect of the bovine Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*) K232A polymorphism in Swedish dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 91, n. 5, p. 2127-2134, 2008.

NISHIMURA, T.; HATTORI, A.; TAKAHASHI, K. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese black cattle: effect of marbling on beef tenderization. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 77, n. 1, p. 93-104, 1999.

PEARCE, K. L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H. J.; HOPKINS, D. L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes — a review. **Meat Science**, New York, v. 89, n. 2, p. 111-124, 2011.

RENERRE, M. La couleur de la viande et sa mesure. **Bulletin Technique**, CRVZ Theix, INRA, n. 47, p. 47-54, 1982.

RISCHKOWSKY, B.; PILLING, D. Molecular markers: a tool for exploring genetic diversity. In: \_\_\_\_\_. **The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rome: Food and Agriculture Organization, 2007. p. 359-379.

RUBTSOV, A. M.; LOPINA, O. D. Ankyrins. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 482, n. 1-2, p. 1-5, 2000.

SANDERS, K.; BENNEWITZ, J.; REINSCH, N.; THALLER, G.; PRINZENBERG, E. M.; KÜHN, C.; KALM, E. Characterization of the *DGAT1* mutations and the *CSN1S1* promoter in the German Angeln dairy cattle population. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 89, n. 8, p. 3164-3174, 2006.

SOUZA, F. R. P.; MERCADANTE, M. E. Z.; FONSECA, L. F. S.; FERREIRA, L. M. S.; REGATIERI, I. C.; AYRES, D. R.; TONHATI, H.; SILVA, S. L.; RAZOOK, A. G.; ALBUQUERQUE, L. G. 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**, Savoy, v. 88, n. 2, p. 435-441, 2010.

TE PAS, M. F. W.; SOUMILLION, A.; HARDERS, F. L.; VERBURG, F. J.; VAN DEN BOSCH, T. J.; GALESLOOT, P.; MEUWISSEN, T. H. Influences of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness, and lean weight of pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 77, n. 9, p. 2352-2356, 1999.

TE PAS, M. F. W.; SOUMILLION, A. Improvement of livestock breeding strategies using physiologic and functional genomic information of the muscle regulatory factors gene family for skeletal muscle development. **Current Genomics**, Bussum, v. 2, n. 3, p. 285-304, 2001.

THALLER, G.; KRÄMER, W.; WINTER, A.; KAUPE, B.; ERHARDT, G.; FRIES, R. Effects of *DGAT1* variants on milk production traits in German cattle breeds. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 81, n. 8, p. 1911-1918, 2003.

UJAN, J. A.; ZAN, L. S.; SHENGJUAN, W.; ADOLIGBE, C.; WANG, H. B. Meat tenderness and water holding capacity are associated with a 959 A G mutation in the *MYOG* gene of Chinese indigenous cattle. **African Journal of Biotechnology**, Victoria Island, v. 10, p. 5654-5660, 2011.

USDA. **United States Standards for Grades of Feeder Cattle**. Washington, DC: Agric. Marketing Serv. Livestock and Seed Program, 2000.

WARRIS, P. D. **Meat science**: an introductory text. Wallingford: CABI, 2000. p. 37-65, 93-105, 229-267.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis**: methods for discrete population genetic data. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 376 p.

WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S. D. **Standardized Warner-Bratzler shear force procedures for meat tenderness measurement**. Clay Center: USDA, 1995.