



Polimorfismos en genes candidatos a la composición de ácidos grasos y su efecto en carne Wagyu-Cross

Luis Enrique Sánchez-Ramos¹ ; Ana Maria Sifuentes-Rincón¹ ; Juan Gabriel Magaña-Monforte² ; Víctor Ricardo Moreno-Medina¹ ; Gaspar Manuel Parra-Bracamonte^{1*} .

¹Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica. Laboratorio de Biotecnología Animal. Tamaulipas, México.

²Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Yucatán, México.

*Correspondencia: gparra@ipn.mx

Recibido: Enero 2022; Aceptado: Abril 2023; Publicado: Mayo 2023.

RESUMEN

Objetivo. Comparar la composición de ácidos grasos (FA) en la carne Wagyu y sus cruza con Angus, Beefmaster, Brangus y Hereford, y analizar su relación con marcadores genéticos del metabolismo lipídico. **Materiales y métodos.** Se colectaron 111 muestras de *Longissimus dorsi*, las cuales se agruparon por grupo genético, se cuantificaron los FA (cromatografía de gases líquidos) y se tipificaron marcadores de ADN asociados teóricamente a FA. Se examinó el equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento de los marcadores y se estimó el efecto de las cruza y el efecto de los genotipos. **Resultados.** Las cruza no mostraron diferencias substanciales en la composición de FA con respecto a Wagyu. Nueve SNPs mostraron asociación con la composición de FA, y se encontró un efecto importante en el marcador SLC2A4 ss62538460, el cual influyó sobre SFA, MUFA y MUFA/SFA. Los marcadores, PLTP ss77832104 y IGF2R ss77831885 influyeron sobre C16:0, MYOZ1 ss77832104 sobre C17:1 y PPARGC1A c.1892+19 sobre C18:2. Además, se comprobaron efectos previamente descritos de MEF2C ss38329156 y SCD c.878. **Conclusiones.** Los presentes resultados representan una de las primeras evidencias sobre la deposición de FA en ganado Wagyu y sus cruza y propone algunos *loci* en genes candidatos con posibilidad de implementación en estrategias de mejoramiento asistido.

Palabras clave: Ácidos grasos; calidad de la carne; carne; genes candidatos; polimorfismo de un solo nucleótido; selección asistida por marcadores; veteado (*Fuentes: MeSH, FAO*).

ABSTRACT

Objective. To assess the fatty acids composition (FA) in Wagyu beef and its crosses with Angus, Beefmaster, Brangus and Hereford, and to analyze its relationship with genetic markers related to lipid metabolism. **Materials and methods.** 111 *Longissimus dorsi* samples were collected and grouped by genetic group. FA were extracted and quantified in a gas-liquid chromatography and DNA markers theoretically associated to FA were typed. Hardy-Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium

Como citar (Vancouver).

Sánchez-Ramos LE, Sifuentes-Rincón AM, Magaña-Monforte JG, Moreno-Medina VR, Parra-Bracamonte GM. Polimorfismos en genes candidatos a la composición de ácidos grasos y su efecto en carne Wagyu-Cross. Rev MVZ Córdoba. 2023; 28(2):e3090. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3090>



©El (los) autor (es) 2023. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

were examined, the effect of crosses and the effect of genotypes were estimated. **Results.** The crosses did not show substantial differences in FA composition. Nine SNPs showed association with FA composition, and a significant effect was found in the SLC2A4 marker ss62538460 which influenced SFA, MUFA and MUFA/SFA; PLTP ss77832104 and IGF2R ss77831885 markers, influenced C16:0, MYOZ1 ss77832104 on C17:1 and PPARGC1A c.1892+19 on C18:2. In addition, previously described effects of MEF2C ss38329156 and SCD c.878 were supported. **Conclusions.** These results are first evidence on FA deposition in Wagyu cattle and their crosses, and proposes some *loci* in candidate genes with the possibility of implementation in assisted selection strategies.

Keywords: Candidate gene; crossbreeding; fatty acid; marbling; marker-assited selection; meat quality; red meat; single nucleotide polymorphism (Sources: MeSH, FAO).

INTRODUCCIÓN

El término "Wagyu" significa ganado japonés, por lo que este término incluye a las cuatro razas de ganado bovino de origen japonés, (Negro japonés [BJ], Café japonés, Polled japonés y Shorthorn japonés) (1). La carne Wagyu es reconocida mundialmente por el alto contenido de grasa intramuscular (IMF), sin embargo, de las cuatro razas, solo el BJ puede producir carne al nivel de marmoleo con el que es reconocida esta carne. Debido a esto, en Japón, BJ ocupa mas del 90% de la población total de ganado y es la única que se cría a gran escala en países como Australia, España y Estados Unidos (2). El término Wagyu fuera de Japón habitualmente se utiliza para referirse a la carne del ganado BJ.

La IMF o marmoleo está estrechamente relacionada a las percepciones sensoriales del consumidor, por lo que es utilizada como un indicador visual de calidad sensorial (3), y el incremento de IMF en la carne se ha asociado a con una mayor palatabilidad (4,5). Igualmente, la composición de ácidos grasos (FA) en la IMF influye sobre características sensoriales y nutricionales. En razas específicas, la carne bovina marmoleada no solo tiene una excelente calidad sensorial, sino que también contiene una gran cantidad de FA beneficios para la salud (6).

Generalmente, los ácidos grasos saturados (SFA) han sido relacionados con efectos negativos en la salud de los consumidores y sabor de la carne (7,8); por el contrario, los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), se han asociado a efectos positivos sobre la salud (6) y a las características sensoriales, y los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se han asociado a diversos efectos positivos en la salud. Se ha sugerido que los consumidores prefieren y demandan carne con mayores cantidades de MUFA y menores de SFA (8). Debido a lo anterior, se busca mejorar

la proporción MUFA/SFA. Algunos estudios han indicado que la carne Wagyu, contiene mayor concentración de MUFA y menor SFA respecto a Angus, Charolais, Holstein (9,10).

En México la raza Wagyu, fue introducida a través de embriones procedentes de Estados Unidos y actualmente se produce a través de cruzamientos con razas cárnicas con la intención de mejorar características de la canal y adaptabilidad a las condiciones de producción y actualmente, su carne es comercializada bajo el nombre Wagyu-Cross que utiliza la estrategia de cruzamientos con otras razas de ganado para carne para combinar las habilidades de conformación y tamaño de canal con la habilidad de marmoleo y deposición grasa (11), sin embargo, las ventajas relativas de esta estrategia no han sido evaluadas. Por lo tanto, el objetivo este estudio fue caracterizar y comparar la composición de FA en carne Wagyu y sus cruza, y estudiar el efecto de un panel de marcadores genéticos en genes candidatos del metabolismo lipídico sobre la composición de los FA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de las muestras. Se colectaron 111 muestras de carne del músculo *Longissimus dorsi* de la sección entre la 11ª y 12ª costilla, de animales provenientes de la ganadería rancho "Exhacienda Cañas" ubicado en el municipio de Canatlán Durango, México, 24.806 N, -104.815 O, con clima semiárido, cálido con lluvias en verano.

Las muestras se agruparon de acuerdo al grupo genético en: Wagyu (WAG, n=39) y sus cruza con Angus (WAN, n=18), Beefmaster (WBM, n=12), Brangus (WBR, n=29) y Hereford (WHF, n=13). Los animales muestreados fueron alimentados durante el engorde con una dieta con formulación especial a base de maíz, heno, salvado, pasta de

soya, granos secos, ensilado, alfalfa y calcio. Los animales tenían una edad promedio de 33.6±8.9 meses, y fueron engordados durante 428±149.6 días en promedio y sacrificados en un rastros de Tipo Inspeccion Federal (TIF).

Cuantificación de ácidos grasos. Las muestras de carne se procesaron con el Lipid Extraction Kit No. Catálogo MAK174 (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO) utilizando el protocolo sugerido por el fabricante y solución de trifluoruro de boro-metanol para el proceso de transesterificación. La cuantificación de FA se realizó en un cromatógrafo de gases líquidos/espectrometría de masas (GC/MS) GC7890A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA), con la columna 123-2332 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) DB-23 (30 m x 0.32 mm, 0.25 µm), siguiendo los parámetros previamente reportados (11), donde la temperatura de inyección fue de 50°C, seguido de incrementos de 10°C/min hasta alcanzar los 180°C donde se mantuvo por 5 min, posteriormente se utilizaron incrementos de 5°C/min hasta alcanzar los 220°C donde se mantuvo por 20 min. El tiempo de lectura fue de 48 min a una temperatura máxima de 240°C. El gas acarreador fue el helio con flujo total de 29.174 mL/min. La lectura de los cromatogramas se realizó con el programa Agilent G1701EA ChemStation GC/MSD (Agilent Technologies, Santa Clara, CA), tomando como base el tiempo de retención de los FA del standard Supelco® 37 Component FAME mix (Supelco®, Burlington, MA). Las concentraciones de FA en las muestras (g/100g de FA), se obtuvieron de los porcentajes de las áreas de los picos cuantificados (11).

Genotipificación. Se seleccionó un panel de 20 SNPs localizados en 17 genes candidatos para determinar su asociación con la deposición de FA tomando como base el diseño de Vela (11). Los SNPs se seleccionaron considerando su participación en alguna ruta metabólica asociada a los FA y su efecto reportado en la composición de los FA en carne o leche (Tabla 1). Se realizó la extracción de ADN de las muestras con el kit comercial Genelute Mammalian Genomic DNA Cat. G1N350 (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO). La tipificación se realizó en la compañía NEOGEN Corp. con la tecnología Sequenom massARRAY® system (Agena Bioscience, San Diego, CA).

Tabla 1. Panel de 22 SNPs seleccionados para la asociación a ácidos grasos.

Gen	Cromosoma	Locus	Alelos	Ref
ACACA	19	ss64381883	G/A	12
DGAT1	14	ss77831745	G/A	13
HNF4A	13	ss61961144	T/C	12
IGF2R	9	ss77831885	G/A	12
INSIG2	2	rs134478878	C/G	14
INSIG2	2	rs133396141	C/T	14
LPL	8	ss65478732	T/C	12
MEF2C	7	ss38329156	G/T	12
MYOZ1	28	ss77831945	T/C	12
PLTP	13	ss77832104	G/A	12
PPARG	22	ss62850198	A/G	12
PPARGC1A	6	c.1847	C/T	15
PPARGC1A	6	c.1892+19	T/C	15
PRKAR2A	22	ss62837580	T/C	12
PRKAR2A	22	ss62837667	T/C	12
SCD	26	c.702	A/G	16
SCD	26	c.762	T/C	16
SCD	26	c.878	C/T	16
SCD5	6	rs109937152	C/T	14
SLC2A4	19	ss62538460	G/A	12
SREBF1	19	ss62543518	T/C	12
SRPR	29	rs110036978	C/G	14

Análisis estadísticos. Se examinó el equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) de cada locus estudiado por grupo genético, adicionalmente el desequilibrio de ligamiento utilizando el software GENEPOP (17).

Para estimar el efecto de las cruces de Wagyu y ajustar la concentración de FA, para la posterior asociación con los genotipos en los *loci* estudiados, se ajustó un modelo mixto utilizando el procedimiento MIXED, de la siguiente manera:

$$Y_{ijklmn} = +S_i + GG_j + E_k + S_l + A_m + D_n + e_{ijklmn}$$

Donde: Y_{ijklmn} = variable aleatoria de concentración de FA, μ = media general, S_i = efecto aleatorio del semental, GG_j = efecto fijo del j-ésimo Grupo Genético, E_k = efecto fijo del k-ésima extracción de FA, S_l = efecto fijo del l-ésimo sexo del animal, A_m = efecto fijo del m-ésimo año, D_n = Efecto fijo de la covariable lineal de los m-ésimo día en engorde, y e_{ijklmn} = error aleatorio residual, considerado posteriormente como la variable aleatoria de ajuste de la concentración de FA en carne (aY_i). Las medias de mínimos cuadrados de cada Grupo Genético fueron estimadas y se realizó una comparación de medias con una prueba de t de mínima diferencia significativa y considerando un alfa = 0.05.

Posteriormente, se ajustó un modelo lineal poligénico para estimar el efecto de los genotipos en los *loci* estudiados de la siguiente manera:

$$aY_i = +G_{1...i} + \epsilon_i$$

Donde: aY_i = Variable aleatoria ajustada de concentración de FA, μ = media general, G_i = efecto poligénico fijo de los $n = 1...i$ *loci* y ϵ_i = error aleatorio residual. Las medias de mínimos cuadrados de los genotipos en cada locus fueron estimadas y se realizó una comparación de medias con una prueba de t de mínima diferencia significativa con ajuste de Bonferroni para múltiples comparaciones, considerando un $\alpha = 0.05$.

Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados utilizando el software SAS v.9.4 (SAS Institute Inc., Cary, CN).

RESULTADOS

Composición de los ácidos grasos. Se determinó la composición de los siguientes FA: láurico (C12:0) mirístico (C14:0), miristoleico (C14:1), pentadecanoico (C15:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), heptadecanoico (C17:0), heptadecenoico (C17:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), α -linolénico (C18:3), eicosanoico (C20:0), eicosenoico (C20:1), eicosadienoico (C20:2) y eicosatrienoico (C20:3), además de las proporciones MUFA/SFA y PUFA/SFA de carne Wagyu y Wagyu-cross. Las medias de FA de la población se presentan en la tabla 2.

Se analizaron las medias de mínimos cuadrados del efecto de las cruzas sobre la deposición de FA en el *longissimus dorsi* de los grupos WAN, WBM, WBR, WHF y WAG (Tabla 3). WBM presentó la mayor concentración de C16:0 y C18:0 y Σ SFA, donde se observó una diferencia (5.3%, 6.2% y 13.0%, respectivamente) respecto a WBR, el cual fue el grupo con la menor concentración, no obstante, no se obtuvieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los grupos. Además, C15:0 y C17:0 se encontraron en mayor concentración en WBM, pero solo para C17:0 se encontró diferencia significativa respecto a los demás grupos genéticos ($p < 0.01$) estudiados. Por otro lado, WBM tuvo la menor concentración del C18:1, Σ MUFA y C18:2, donde se observó una diferencia (10.213%, 11.039%, y 2.754%, respectivamente), respecto a WBR, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$).

Tabla 2. Perfil de AG (g/100g de carne) en la población Wagyu y cruzas. $n=83$.

Ácido graso	Símbolo	Media \pm EE
Ácido Laurico	C12:0	0.120 \pm 0.075
Ácido Mirístico	C14:0	3.759 \pm 1.076
Ácido Miristoleico	C14:1	0.746 \pm 0.408
Ácido Pentadecanoico	C15:0	0.466 \pm 0.210
Ácido Palmítico	C16:0	27.509 \pm 5.713
Ácido Palmitoleico	C16:1c	3.710 \pm 1.505
Ácido Heptadecanoico	C17:0	0.837 \pm 0.377
Ácido Heptadecenoico	C17:1	0.467 \pm 0.253
Ácido Esteárico	C18:0	16.731 \pm 6.122
Ácido Oleico	C18:1	40.877 \pm 6.433
Ácido Linoleico	C18:2	4.348 \pm 1.608
Ácido α -Linolénico	C18:3	0.218 \pm 0.100
Ácido Araquídico	C20:0	0.160 \pm 0.140
Ácido Eicosenoico	C20:1	0.289 \pm 0.131
Ácido Eicosadienoico	C20:2	0.102 \pm 0.138
Ácido Dihomo- γ -linolenico	C20:3	0.183 \pm 0.171
Ácidos grasos saturados	Σ SFA	49.421 \pm 5.905
Ácidos grasos monoinsaturados	Σ MUFA	45.801 \pm 6.393
Ácidos grasos poliinsaturados	Σ PUFA	4.776 \pm 1.922
MUFA/SFA		0.952 \pm 0.224
PUFA/SFA		0.097 \pm 0.040

Análisis del efecto de los marcadores en genes candidatos sobre la concentración de los ácidos grasos de carne bovina. De los SNPs analizados, se encontró que HNF4A ss61961144 y SCD c.762 se encontraron en desviación del equilibrio de HW ($p < 0.001$ y $p < 0.05$, respectivamente). Por otra parte, se encontró que SCD c.702 se encuentra en desequilibrio de ligamiento con SCD c.762, asimismo SCD c.702 y SCD c.762 mostraron ligamiento a SCD c.878 ($p < 0.001$); de igual manera que los SNPs ss62837667 y ss62837580 ubicados en el gen PRKAR2A mostraron estar en desequilibrio de ligamiento ($p < 0.001$).

Se encontraron nueve marcadores con efecto sobre la composición de FA en carne Wagyu y Wagyu-Cross (Tabla 4). Dentro de los genes que interactúan en la ruta catabólica de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), el marcador MEF2C ss38329156 se encontró asociado a C14:0 ($p < 0.05$), PPARGC1A c.1892+19 a C18:2 ($p < 0.05$) y SLC2A4 ss62538460 a Σ SFA ($p < 0.01$), Σ MUFA y MUFA/SFA ($p < 0.05$). En el conjunto de genes analizados que participan en la ruta anabólica AMPK, los tres marcadores en SCD se asociaron a diferentes FA. El marcador c.702 se asoció a C14:0 y C16:0 ($p < 0.05$) C762 a Σ SFA ($p < 0.05$) y c.878 a Σ SFA ($p < 0.01$), C16:0, C17:1, C18:1, Σ MUFA y MUFA/SFA ($p < 0.05$). El marcador PLTP ss77832104 fue el único de los genes analizados en la ruta del colesterol que tuvo una asociación, este marcador tiene efecto sobre C16:0 ($p < 0.05$). Finalmente, en el resto de los marcadores analizados IGF2R ss77831885 se asoció a C16:0 ($p < 0.05$) y MYOZ1 ss77832104 a C17:1 ($p < 0.05$).

Tabla 3. Medias de mínimos cuadrados del efecto de la cruce con ganado Wagyu sobre la deposición de AG en carne.

FA	WAN	WBM	WBR	WHF	WAG	P-value
	n= 18	n= 12	n= 23	n=12	n= 31	
C12:0	0.217±0.046	0.161±0.071	0.249±0.045	0.183±0.046	0.190 ±0.040	0.1312
C14:0	3.402±0.918	3.012±1.408	2.857±0.888	3.352±0.901	2.971±0.802	0.8433
C14:1	0.492±0.311	0.602±0.477	0.329±0.301	0.654±0.305	0.510±0.271	0.7473
C15:0	0.402±0.128	0.730±0.197	0.379±0.124	0.364±0.126	0.367±0.112	0.4437
C16:0	28.380±3.506	31.604±5.376	26.279±3.391	28.056±3.442	28.363±3.061	0.7128
C16:1	2.706±0.911	1.895±1.398	3.075±0.881	2.591±0.895	2.623±0.796	0.8519
C17:0*	0.810±0.225 ^b	1.890±0.345 ^a	0.819±0.218 ^b	0.534±0.221 ^b	0.689±0.196 ^b	0.0026
C17:1	0.490±0.121	0.601±0.186	0.522±0.117	0.379±0.119	0.457±0.106	0.4559
C18:0	18.621±4.185	24.081±6.418	17.928±4.048	19.157±4.109	18.519±3.655	0.9395
C18:1	39.849±4.810	31.543±7.377	41.756±4.653	41.095±4.722	40.281±4.201	0.6626
C18:2	4.376±1.286	2.848±1.973	5.602±1.244	3.502±1.263	4.741±1.123	0.3482
ΣSFA	51.834±4.239	61.481±6.501	48.514±4.100	51.648±4.162	51.101±4.162	0.3352
ΣMUFA	43.538±4.620	34.643±7.085	45.682±4.469	44.721±4.536	43.873±4.034	0.5524
MUFA/SFA	0.826±0.164	0.528±0.251	0.935±0.158	0.843±0.162	0.862±0.143	0.5406
PUFA/MUFA	0.084±0.0322	0.052±0.049	0.118±0.310	0.064±0.031	0.095±0.028	0.3101

FA: Ácido graso. *p<0.05. WAN: Wagyu x Angus. WBM: Wagyu x Beefmaster. WBR: Wagyu x Brangus. WHF: Wagyu x Hereford. WAG: Wagyu. SFA: Ácidos grasos saturados. MUFA Ácidos grasos monoinsaturados PUFA Ácidos grasos poliinsaturados

Tabla 4. Efecto de polimorfismos en genes candidatos sobre la concentración de ácidos grasos de carne bovina

Gen y locus	A/B	AAF	FA	MMC ± EE			P-value
				AA	AB	BB	
MEF2C ss38329156	G/T	0.784	C14:0	-2.783±1.761 ^a	-1.367±1.614 ^b	-3.010±2.030 ^{ab}	0.0367
PPARGC1A c.1892+19	T/C	0.194	C18:2	-2.003±3.258 ^{ab}	-1.751±2.645 ^a	0.204±2.413 ^b	0.0353
SLC2A4 ss62538460	G/A	0.969	ΣSFA	-4.864±2.413 ^b	-14.537±8.975 ^a	-	0.0090
			ΣMUFA	5.276±7.686 ^b	14.922±8.975 ^a	-	0.0350
			AGM/AGS	0.204±0.266 ^b	0.570±0.311 ^a	-	0.0224
SCD c.702	A/G	0.662	C14:0	-1.844±1.606 ^{ab}	-0.587±1.564 ^b	-4.730±1.564 ^a	0.0140
			C16:0	-0.004±5.072 ^b	-0.263±4.941 ^b	-12.002±7.366 ^a	0.0322
SCD c.762	T/C	0.680	ΣSFA	-6.477±6.775 ^{ab}	-6.913±6.590 ^b	-15.711±6.778 ^a	0.0202
SCD c.878	C/T	0.0593	C16:0	-7.358±5.995 ^a	-5.891±6.04 ^a	0.978±5.052 ^b	0.0270
			C17:1	-0.104±0.229 ^b	0.2151±0.23 ^a	0.018±0.193 ^{ab}	0.0154
			C18:1	16.620±9.800 ^{ab}	15.001±9.876 ^a	3.450±8.259 ^b	0.0255
			ΣSFA	-14.598±6.950 ^a	-11.859±7.003 ^a	-2.643±5.857 ^b	0.0087
			ΣMUFA	14.325±8.897 ^{ab}	13.212±8.966 ^a	2.759±7.498 ^b	0.0272
			AGM/AGS	0.545±0.308 ^{ab}	0.484±0.311 ^a	0.133±0.260 ^b	0.0302
PLTP ss77832104	G/A	0.785	C16:0	-8.638±5.856 ^a	-6.060±5.679 ^a	2.427±5.805 ^{2b}	0.0394
IGF2R ss77831885	G/A	0.829	C16:0	-5.477±5.834 ^{ab}	-7.730±5.795 ^a	0.936±5.652 ^b	0.0423
MYOZ1 ss77832104	T/C	0.396	C17:1	-0.123±0.202 ^b	0.061±0.218 ^{ab}	0.181±0.226 ^a	0.0427

A/B: Relación alélica de locus. AAF: Frecuencia de alelo A, FA: Ácido graso.

DISCUSIÓN

La carne Wagyu es reconocida mundialmente por desarrollar carne con alto contenido de IMF, esta es una de las características más importantes debido a que mejora las percepciones sensoriales como sabor, jugosidad y suavidad (18,19); además, el contenido y proporción de los FA en las carnes rojas se ha relacionado a efectos en la salud.

Generalmente los SFA son los más abundantes de la carne bovina y son asociados negativamente a la salud; C16:0 y C18:0 son los SFA más abundantes en la carne bovina, en la población analizada la suma de estos equivale al 89.5% de los cuales C12:0, C16:0 y C18:0 se han asociado a riesgo de diabetes tipo II, cardiopatía coronaria y enfermedades cardiovasculares (7,20). Por otro lado, C16:1 y C18:1 son los MUFA más

abundantes y ambos se han asociado a mejorar la percepción sensorial en la carne bovina (8,21). En conjunto estos MUFA conforman el 97.3% de Σ MUFA. Los PUFA se han relacionado con múltiples efectos positivos en la salud (22,23). Debido a lo anterior se busca mejorar las proporciones MUFA/SFA y PUFA/SFA en la carne. No existe un consenso sobre la proporción ideal de MUFA/SFA, sin embargo, esta proporción permite comparar la composición de grasa. En la raza Wagyu, generalmente se reportan valores de 1.17 (9,10), en este estudio, se encontró un valor de 0.95. La relación PUFA/SFA es uno de los principales parámetros que se utiliza para medir la calidad nutricional de la proporción lipídica de los alimentos. Las pautas nutricionales recomiendan una relación superior a 0.4, la proporción para la carne bovina es cercana a 0.1 (24), en el presente estudio se encontró un valor de 0.097.

Diferencias en la deposición de los ácidos grasos de Wagyu y sus cruzas. La diferencia genética de las razas influye sobre el metabolismo de los FA provenientes de fuentes dietarias y la síntesis *de novo*, los cuales influyen en gran medida en el contenido de SFA y MUFA (22,25,26). En la tabla 3, se presentan las medias de mínimos cuadrados de la concentración de FA en el *Longissimus* de las diferentes cruzas estudiadas. De los grupos analizados WBR obtuvo la mejor proporción de FA, que aumentó tanto la relación MUFA/SFA como PUFA/SFA, sin embargo, sin diferencias significativas ($p \geq 0.05$). En los resultados obtenidos solo C17:0 tuvo diferencia significativa donde WBM produjo hasta 3.5 veces más contenido, en contraste con WHF. Estudios de población a gran escala han demostrado efectos de C17:0 sobre la reducción de riesgos de mortalidad, obesidad y numerosas enfermedades cardio-metabólicas y hepáticas (7,27).

Estudios previos han dejado claro la diferencia que existe entre las razas Angus y Wagyu. En novillos Wagyu y Angus alimentados con una dieta especial (ej. Japonesa), se encontraron diferencias significativas donde el músculo *longissimus dorsi* de Wagyu tuvo mayor concentración de C14:1 y menor de C18:0 con mayor proporción MUFA/SFA, además en la IMF y grasa subcutánea se encontraron diferencias en cuatro FA que influyeron favorablemente sobre la concentración MUFA/SFA de Wagyu (9). En novillos Wagyu y Angus se encontraron diferencias significativas en seis FA del *longissimus*; tres

favorecían la proporción MUFA/SFA de Wagyu y dos la proporción de Angus, no obstante, no se observaron diferencias significativas en MUFA/SFA. Angus presentó mayor concentración en C18:2, lo que mejoró significativamente la proporción PUFA/SFA. Además, se encontraron diferencias de seis FA de grasa subcutánea (28). En otro análisis donde se evaluaron distintos sistemas de finalización entre ganado Angus y Wagyu se encontraron diferencias por efecto de la raza en C14:0, C16:0 y tres PUFA de grasa subcutánea, donde los animales Wagyu presentaron menor concentración de los C14:0 y C16:0 y mayor concentración de PUFA en la mayoría de los sistemas de finalización (29).

Existen pocas comparaciones de FA en carne de cruza Wagyu, respecto a otras razas. En animales Angus y sus cruza con Brangus y Brahman (25%, 50% y 75%, respectivamente), se reportaron diferencias de múltiples FA en el *longissimus*. En los grupos Angus 25%, Angus 50% y Brahman 75% obtuvieron las menores concentraciones de SFA debido a que también tenían menor concentración de C16:0, adicionalmente el grupo Brahman mostró mayor concentración de 9 PUFA reflejando una diferencia en Σ PUFA (20). En cruza Hereford con Angus y Limousine se encontró diferencia de C16:0 Σ SFA, Σ MUFA, 7 PUFA (30). Otro estudio de cruza Hereford, con Belgian Blue, Limousine y Rubia gallega, reveló diferencias entre estas razas de los FA C10:0 y C18:0 (31).

Análisis del efecto de los marcadores en genes candidatos sobre la concentración de los ácidos grasos de carne bovina. La promesa de mejoramiento genético mediante marcadores moleculares ha incentivado el descubrimiento y validación de los marcadores genéticos que incluye estudios en diferentes razas bovinas. En el presente estudio, se encontraron nueve marcadores genéticos con efecto sobre la composición de FA en carne Wagyu y Wagyu-Cross (Tabla 4).

Algunos de los marcadores que mostraron efectos significativos forman parte de la vía AMPK, que participa como sensor del estado energético celular activado por aumentos de la proporción celular AMP/ATP causado por estrés metabólico que interfiere con la producción de ATP. Una vez activada, la vía AMPK induce rutas catabólicas como la oxidación y la glucólisis de FA para la producción de ATP (32). En la vía de señalización AMPK, PPAR γ es regulado

por PPARGC1A y este induce a SLC2A4, el cual activa la biogénesis mitocondrial; por otra parte, MEF2 interacciona específicamente al elemento de respuesta MEF2C del gen SLC2A4, que es esencial para la expresión de GLUT4 en el músculo esquelético (12).

El gen PPARGC1A sintetiza el Coactivador del receptor gamma 1-alfa activado por el proliferador de peroxisomas, en el intrón 9 de este gen, se encuentra la transición c.1892+19, donde el alelo T de este marcador, se asoció al incremento de grasa en leche de ganado Holstein (15,33). En este análisis se encontró que el alelo T redujo la concentración de C18:2. El homocigoto CC produjo 1.955 g/100g más que TC ($p < 0.05$). PPARGC1A regula la expresión de genes implicados en la adipogénesis, gluconeogénesis, el metabolismo oxidativo y termogénesis adaptativa, homeostasis energética, además activa múltiples receptores de hormonas nucleares (15). Los ácidos linoleicos conjugados (CLA) conforman una familia de isómeros de 18 carbonos y dos dobles enlaces (C18:2) los cuales han sido asociados a efectos anticancerígenos, anti-obesidad y antidiabéticos (34). Por otra parte, el ácido linoleico (C18:2c9,12) es un ω -6 esencial debido a que no puede ser sintetizado por humanos, este es el PUFA más abundante en la carne y ha sido correlacionado positivamente a sabor, jugosidad y suavidad (21).

El gen MEF2C sintetiza al Factor potenciador de miocitos 2C, en el intrón 10 se encuentra la transición ss38329156, donde el homocigoto GG se asoció 50% con menor concentración de C14:0 respecto al heterocigoto GT ($p < 0.05$). Este dato respalda lo encontrado previamente (11) donde GG se asoció a menor concentración de C14:0, C15:0, C16:0, C16:0 C17:0 en carne comercial mexicana, incluida Wagyu-Cross. PPARGC1A y MEF2C son genes activos del músculo esquelético involucrados en el metabolismo de las grasas y el desarrollo muscular. Sin embargo, MEF2C se expresa selectivamente en miocitos diferenciados y activa casi todos los genes del músculo esquelético y cardíaco, controlando la morfogénesis, la miogénesis cardíaca y el desarrollo vascular (12).

En el exón 11 de SLC2A4, se encuentra la transición ss62538460, en los presentes resultados, el genotipo GA de este SNP se asoció a un 66% menor contenido de SFA y 64% mayor de MUFA y MUFA/SFA ($p < 0.001$, $p < 0.05$ y $p < 0.05$, respectivamente) respecto a GG. Previamente este marcador se asoció

a C17:0 y FA totales (11). La proporción de FA influye sobre los FA totales, por lo que la previa asociación puede estar validada por los resultados aquí obtenidos. Es posible que el alelo A tenga un efecto aditivo, sin embargo, no se encontraron homocigotos. Al igual que en esta población, en razas españolas se encontró baja segregación del alelo A (15). El Miembro 4 de la familia 2 de transportadores de solutos (GLUT4) es una proteína producida por SLC2A4 la cual capta la glucosa mediada por insulina en células musculares y adiposas (12). Las diferencias en el impacto fisiológico de la expresión de SLC2A4 en el desarrollo adiposo de los rumiantes podría deberse al hecho de que la glucosa es un sustrato menor para la síntesis de FA (12).

Además de activar rutas catabólicas, la vía AMPK inhibe procesos anabólicos como la síntesis de proteínas, FA y glucógeno para restablecer el equilibrio energético (12). La vía AMPK inhibe al SREBF1, el cual regula los genes ACACA y SCD, los cuales participan en vías anabólicas como la síntesis de los FA y la adición de dobles enlaces a estos (16). El gen SCD sintetiza la enzima Estearoil Co-A desaturasa, la cual cataliza la inserción de un doble enlace *cis* en la posición Δ -9 en sustrato. Taniguchi et al (16) descubrió tres SNPs del exón 5, los cuales se asociaron a distintos FA de este estudio (Tabla 4). Los datos muestran que el alelo A en c.702 aumenta la concentración de C14:0, el homocigoto GG se asoció a 87% menor concentración respecto al heterocigoto AG ($p < 0.001$) además, el homocigoto GG se asoció a 11.998 g/100g menor concentración respecto a AA y 11.739 g/100 g respecto a AG de C16:0 ($p < 0.05$). En el marcador c.762 la presencia del alelo T aumenta SFA, el homocigoto CC se asoció a 55% menor concentración, respecto al heterocigoto TC ($p < 0.05$). En el marcador c.878, se observó un efecto aditivo del alelo C, los genotipos CC y CT se asociaron a menor concentración de C16:0 en 8.336 y 6.869 g/100g respecto a TT ($p < 0.05$) y 11.955 y 10.453 en SFA ($p < 0.05$); además, CT se asoció a 11.551g/100g, 10.453 g/100g y 0.351, menor concentración de C18:1, MUFA y MUFA/SFA, respecto a ($p < 0.05$); por otro lado, CT se asoció a 0.3191 g/100g mayor concentración de C17:1 respecto a CC ($p < 0.05$). Múltiples estudios coinciden en la asociación del alelo C del marcador c.878 en el aumento de C18:1 y MUFA de distintas razas (15, 16, 35, 36), sin embargo, no se han reportado efectos de C16:0 y C17:1. El efecto de este marcador sobre C16:0 se relaciona la enzima Estearoil Co-A desaturasa que utiliza a este FA como sustrato dando lugar a C16:1 (12).

El colesterol forma parte de las membranas en las células de los mamíferos, así como un precursor de los ácidos biliares, la vitamina D y las hormonas esteroideas. Sobre los genes que interactúan sobre el metabolismo del colesterol, la proteína de transferencia de fosfolípidos sintetizada por el gen PLTP transporta una gran cantidad de moléculas anfipáticas diferentes (como fosfolípidos, diacilglicerol y lipopolisacáridos), desempeñando una función fundamental en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas (12). La transición ss77832104 ubicado en la región 3'UTR, ha sido asociado a la proporción n6/n3 en el músculo de razas españolas (37, 38). En este estudio se observó un efecto aditivo en el alelo G; los genotipos GG y GA se asociaron a menor contenido (11.066 g/100g y 8.487 g/100g, respectivamente) de C16:0 respecto a AA ($p < 0.05$).

Dentro del grupo sin relación con metabolismo de FA, IGF2R sintetiza el receptor 2 para el factor de crecimiento para la insulina el cual tiene múltiples funciones celulares como la diferenciación, migración y apoptosis de múltiples células (37). En estudios previos, el marcador ss77831885 se ha asociado a cinco FA y la intensidad de sabor de la carne de ganado español (37,38). En este estudio el heterocigoto GA presentó 8.666 g/100g menor concentración de C16:0 respecto a AA ($p < 0.05$). Finalmente, el producto del gen MYOZ1 desempeña un papel importante como proteína de unión intracelular y localiza señales de calcineurina en el sarcómero (12). En razas españolas se encontró que el marcador ss77832104 influye sobre el CLA, la proporción C18:2/C18:3 y C22:6 (37). En el presente análisis se observó un efecto aditivo del alelo C, el homocigoto CC presentó 0.303 g/100g mayor contenido de C17:1 respecto a TT ($p < 0.05$).

En el presente estudio se evaluó la deposición de carne Wagyu y Wagyu-cross conocida por producir carne con alto contenido de IMF. Esta característica y la composición de FA influye sobre los conceptos de calidad sensorial y nutricional. De manera general se identificaron FA poliinsaturados que permiten confirmar la deposición favorable en la población estudiada, sin embargo, la distribución de las muestras

no permitió en algunos casos su comparación. Los resultados mostraron que la carne Wagyu y Wagyu-Cross, tienen una composición de FA muy similar entre grupos evaluados, pero resaltó la diferencia 3.5 veces mayor concentración de C17:0 de WBM respecto a los demás grupos. Esto permite concluir que no hay un efecto importante en la deposición de los FA entre Wagyu y sus cruza, pero que aspectos específicos en la deposición como en C17:0 podrían ser sujetos a estudios particulares para determinar su confirmación.

Concluyentemente, se encontraron 17 asociaciones significativas en 9 SNPs vinculados a la composición de FA en carne Wagyu y Wagyu-Cross, algunas asociaciones confirman reportes previos, sin embargo, la mayoría de las asociaciones encontradas en este estudio, son nuevas. Entre las nuevas asociaciones es importante destacar el efecto del marcador SLC2A4 ss62538460 donde el heterocigoto GA se asoció a la reducción considerable de las concentraciones MUFA, SFA y la proporción MUFA/SFA. Además, los marcadores, PLTP ss77832104 y IGF2R ss77831885 se asociaron a C16:0, el SNP MYOZ1 ss77832104 se asoció a C17:1 y PPARGC1A c.1892+19 a C18:2. Por otro lado, las asociaciones en MEF2C ss38329156 y SCD c.878 respaldan asociaciones descritas anteriormente. Estas evidencias confirman a SLC2A4, PLTP, MYOZ1, PPARGC1A y SCD como genes candidatos y a sus marcadores para su potencial utilización en estrategias de selección asistida. De esta manera esta información también permite ampliar el número de marcadores para el entendimiento de la arquitectura genética de la composición de FA de la carne bovina.

Finalmente, es importante resaltar que un mayor tamaño de muestra, que también implica aumento de costos de financiamiento, podrían validar estos resultados sobre todo considerando la evaluación de efectos correlacionados con los beneficios de otros caracteres de la canal (p.e. grasa intramuscular) con la deposición de FA en las cruza derivadas de Wagyu y asegurar la mejor implementación en el uso de la información con fines comerciales y de los marcadores estudiados de manera integrada en programas de mejoramiento asistido.

Conflicto de interés

Los autores manifiestan que no tienen ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Los autores agradecen la donación de las muestras e información de los animales para la realización de este estudio a la Ing. Paola Mares y el personal de Agroindustrias Coahuayana por, así como al M. en C. Williams Arellano Vera y Dra. Diana A. Vela Vásquez del Laboratorio de Biotecnología Animal CBG-IPN por las colectas y formación del banco de carne utilizado en el presente estudio, financiadas por el proyecto CONACYT 299055.

REFERENCIAS

1. Motoyama M, Sasaki K, Watanabe A. Wagyu and the factors contributing to its beef quality: A Japanese industry overview. *Meat Sci.* 2016; 120:10–18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.026>
2. Gotoh T, Nishimura T, Kuchida K, Mannen H. The Japanese Wagyu beef industry: current situation and future prospects - A review. *Asian-australas J Anim Sci.* 2018; 31(7):933–950. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.18.0333>
3. Nguyen DV, Nguyen OC, Malau-Aduli AEO. Main regulatory factors of marbling level in beef cattle. *Vet Anim Sci.* 2021; 14(100219):100219. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vas.2021.100219>
4. Frank D, Ball A, Hughes J, Krishnamurthy R, Piyasiri U, Stark J, et al. Sensory and flavor chemistry characteristics of Australian beef: Influence of intramuscular fat, feed, and breed. *J Agric Food Chem.* 2016; 64(21):4299–4311. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00160>
5. Jung E-Y, Hwang Y-H, Joo S-T. The relationship between chemical compositions, meat quality, and palatability of the 10 primal cuts from Hanwoo steer. *Korean J Food Sci Anim Resour.* 2016; 36(2):145–151. <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.2.145>
6. Troy DJ, Tiwari BK, Joo S-T. Health implications of beef intramuscular fat consumption. *Korean J Food Sci Anim Resour.* 2016; 36(5):577–582. <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.5.577>
7. Forouhi NG, Koulman A, Sharp SJ, Imamura F, Kröger J, Schulze MB, et al. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct case-cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014; 2(10):810–818. [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70146-9](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70146-9)
8. O’Quinn TG, Woerner DR, Engle TE, Chapman PL, Legako JF, Brooks JC, et al. Identifying consumer preferences for specific beef flavor characteristics in relation to cattle production and postmortem processing parameters. *Meat Sci.* 2016; 112:90–102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.001>
9. May SG, Sturdivant CA, Lunt DK, Miller RK, Smith SB. Comparison of sensory characteristics and fatty acid composition between Wagyu crossbred and Angus steers. *Meat Sci.* 1993; 35(3):289–298. [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90034-F](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(93)90034-F)
10. Shirouchi B, Albrecht E, Nuernberg G, Maak S, Olavanh S, Nakamura Y, et al. Fatty acid profiles and adipogenic gene expression of various fat depots in Japanese Black and Holstein steers. *Meat Sci.* 2014; 96(1):157–164. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.027>

11. Vela DAV. Caracterización genética y fenotípica de la carne de res comercializada en el norte de México, con énfasis en la composición de los ácidos grasos. Instituto Politécnico Nacional: México; 2018. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/26866>
12. Sevane N, Armstrong E, Cortés O, Wiener P, Wong RP, Dunner S, et al. Association of bovine meat quality traits with genes included in the PPARG and PPARGC1A networks. *Meat Sci.* 2013; 94(3):328–335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.014>
13. Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, et al. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.* 2002; 12(2):222–231. <http://dx.doi.org/10.1101/gr.224202>
14. Medrano JF, Rincon G. SNPs associated with fatty acid composition of bovine meat and milk. U.S. Patent 8,551,703. 2013.
15. Weikard R, Kühn C, Goldammer T, Freyer G, Schwerin M. The bovine PPARGC1A gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. *Physiol Genomics.* 2005; 21(1):1–13. <http://dx.doi.org/10.1152/physiolgenomics.00103.2004>
16. Taniguchi M, Utsugi T, Oyama K, Mannen H, Kobayashi M, Tanabe Y, et al. Genotype of stearoyl-coA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mamm Genome.* 2004; 15(2):142–148. <http://dx.doi.org/10.1007/s00335-003-2286-8>
17. Rousset F. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 2008; 8(1):103–106. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
18. Corbin CH, O'Quinn TG, Garmyn AJ, Legako JF, Hunt MR, Dinh TTN, et al. Sensory evaluation of tender beef strip loin steaks of varying marbling levels and quality treatments. *Meat Sci.* 2015; 100:24–31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.09.009>
19. Stewart SM, Gardner GE, McGilchrist P, Pethick DW, Polkinghorne R, Thompson JM, et al. Prediction of consumer palatability in beef using visual marbling scores and chemical intramuscular fat percentage. *Meat Sci.* 2021; 181(108322):108322. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108322>
20. Khaw K-T, Friesen MD, Riboli E, Luben R, Wareham N. Plasma phospholipid fatty acid concentration and incident coronary heart disease in men and women: the EPIC-Norfolk prospective study. *PLoS Med.* 2012; 9(7):e1001255. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1001255>
21. Hwang Y-H, Joo S-T. Fatty acid profiles, meat quality, and sensory palatability of grain-fed and grass-fed beef from Hanwoo, American, and Australian crossbred cattle. *Korean J Food Sci Anim Resour.* 2017; 37(2):153–161. <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.2.153>
22. Barendse W. Should animal fats be back on the table? A critical review of the human health effects of animal fat. *Anim Prod Sci.* 2014; 54(7):831–855. <http://dx.doi.org/10.1071/an13536>
23. Wood JD, Enser M. Manipulating the fatty acid composition of meat to improve nutritional value and meat quality. En: *New Aspects of Meat Quality.* Elsevier; 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00023-0>
24. Romero MC, Romero AM, Doval MM, Judis MA. Nutritional value and fatty acid composition of some traditional Argentinean meat sausages. *Food Sci Technol.* 2013; 33(1):161–166. <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612013005000007>
25. Flowers S, Hamblen H, Leal-Gutiérrez JD, Elzo MA, Johnson DD, Mateescu RG. Fatty acid profile, mineral content, and palatability of beef from a multibreed Angus-Brahman population. *J Anim Sci.* 2018; 96(10):4264–4275. <http://dx.doi.org/10.1093/jas/sky300>

26. Scollan ND, Dannenberger D, Nuernberg K, Richardson I, MacKintosh S, Hocquette J-F, et al. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 2014; 97(3):384–394. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.015>
27. Venn-Watson S, Lumpkin R, Dennis EA. Efficacy of dietary odd-chain saturated fatty acid pentadecanoic acid parallels broad associated health benefits in humans: could it be essential? *Sci Rep.* 2020;10(1):8161. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-64960-y>
28. Xie YR, Busboom JR, Gaskins CT, Johnson KA, Reeves JJ, Wright RW, et al. Effects of breed and sire on carcass characteristics and fatty acid profiles of crossbred wagyu and angus steers. *Meat Sci.* 1996; 43(2):167–177. [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(96\)84588-8](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(96)84588-8)
29. Chung KY, Lunt DK, Choi CB, Chae SH, Rhoades RD, Adams TH, et al. Lipid characteristics of subcutaneous adipose tissue and M. longissimus thoracis of Angus and Wagyu steers fed to US and Japanese endpoints. *Meat Sci.* 2006; 73(3):432–441. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.01.002>
30. Papaleo Mazzucco J, Goszczynski DE, Ripoli MV, Melucci LM, Pardo AM, Colatto E, et al. Growth, carcass and meat quality traits in beef from Angus, Hereford and cross-breed grazing steers, and their association with SNPs in genes related to fat deposition metabolism. *Meat Sci.* 2016; 114:121–129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.018>
31. Domingo G, Iglesias A, Monserrat L, Sanchez L, Cantalapiedra J, Lorenzo JM. Effect of crossbreeding with Limousine, Rubia Gallega and Belgium Blue on meat quality and fatty acid profile of Holstein calves: Effect of Crossbreeding on Meat Quality. *Anim Sci J.* 2015; 86(11):913–921. <http://dx.doi.org/10.1111/asj.12373>
32. Garcia D, Shaw RJ. AMPK: Mechanisms of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance. *Mol Cell.* 2017; 66(6):789–800. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.032>
33. Pasandideh M, Mohammadabadi MR, Esmailzadeh AK, Tarang A. Association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk production and composition in Holstein cattle. *Czech J Anim Sci.* 2016; 60(3):97–104. <http://dx.doi.org/10.17221/8074-cjas>
34. Koba K, Yanagita T. Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obes Res Clin Pract.* 2014; 8(6):e525–e532. <http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2013.10.001>
35. Li C, Aldai N, Vinsky M, Dugan MER, McAllister TA. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearoyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers: SCD and FASN SNPs and fatty acids. *Anim Genet.* 2012; 43(1):93–107. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02217.x>
36. Oh D-Y, Lee Y-S, Yeo J-S. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism) of the stearoyl-CoA desaturase (SCD) associated with unsaturated fatty acid in Hanwoo (Korean cattle). *Asian-australas J Anim Sci.* 2011; 24(6):757–765. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2011.10410>
37. Dunner S, Sevane N, Garcia D, Levéziel H, Williams JL, Mangin B, et al. Genes involved in muscle lipid composition in 15 European Bos taurus breeds. *Anim Genet.* 2013; 44(5):493–501. <http://dx.doi.org/10.1111/age.12044>
38. Sevane N, Levéziel H, Nute GR, Sañudo C, Valentini A, Williams J, et al. Phenotypic and genotypic background underlying variations in fatty acid composition and sensory parameters in European bovine breeds. *J Anim Sci Biotechnol.* 2014; 5(1):20. <http://dx.doi.org/10.1186/2049-1891-5-20>