

POLIMORFISMO g.17924A>G EN EL GEN *FASN* Y SU RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS (MUFA Y CLA) EN LA CARNE DE NOVILLOS ABERDEEN ANGUS

Polymorphism *g.17924A>G* in *FASN* Gene Related to Meat Fatty Acid Composition (MUFA and CLA) in Aberdeen Angus Steers

Karla Inostroza¹, Giovanni Larama² y Néstor Sepúlveda^{2,3*}

¹Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ²Licenciado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ^{3*} Departamento de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. Casilla 54-D. nestor@ufro.cl.

RESUMEN

El interés en la composición de ácidos grasos de la carne bovina está relacionado con producir alimentos más saludables, por ejemplo, con altos contenidos de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y ácido linoleico conjugado (CLA), debido a que la carne es considerada un alimento con un excesivo contenido de grasa. El principal objetivo fue determinar la relación del polimorfismo g.17924A>G en el gen *FASN* con la composición de ácidos grasos en la carne de bovinos Aberdeen Angus. El polimorfismo g.17924A>G fue identificado mediante PCR-RFLP (reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción). Los ácidos grasos de los músculos *L. dorsi*, fueron analizados y cuantificados mediante cromatografía gaseosa. En este estudio, animales con el genotipo g.17924GG poseen mayores contenidos de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y oleico (C18:1n9c) ($P<0,05$), y no se observan diferencias en los contenidos de otros ácidos grasos saturados ($P>0,05$). Indirectamente, los animales que presentan este genotipo poseen un mayor contenido de ácidos grasos monoinsaturados ($P<0,05$), que animales con el genotipo g.17924AA. Además, animales con el genotipo g.17924GG presentan mayores contenidos de los principales isómeros de ácido linoleico conjugado y un mayor contenido de grasa ($P<0,05$). En conclusión, los resultados sugieren una relación del polimorfismo en el dominio TE del gen *FASN* con una composición de ácidos grasos más saludable en carne de vacuno.

Palabras clave: Composición de ácidos grasos, ácidos grasos monoinsaturados, ácido linoleico conjugado, carne de vacuno, ácido graso sintasa.

ABSTRACT

Interest in beef fatty acid composition relates to produce healthier foods, i.e. with a higher content of monounsaturated fatty acids (MUFA) and conjugated linoleic acid (CLA), because meat is considered a food with excessive fat. The main objective was to determine the relationship of *g.17924A>G* polymorphism in *FASN* gene with the fatty acid composition of *Longissimus dorsi* muscle of Aberdeen Angus beef cattle. Polymorphism *g.17924A>G* was identified by PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism). Fatty acids of *L. dorsi* muscle were analyzed and quantified by gas chromatography. In this study, animals with the *g.17924GG* genotype have higher contents of palmitic acid (C16:0), stearic (C18:0) and oleic (C18:1n9c) ($P<0.05$), and no differences in the contents of other saturated fatty acids ($P>0.05$). Indirectly, the animals with this genotype have a higher content of monounsaturated fatty acids ($P<0.05$) than animals with *g.17924AA* genotype. In addition, animals with the *g.17924GG* genotype have higher contents of the main isomers of conjugated linoleic acid and a higher fat content ($P<0.05$). In conclusion, the results suggest a relation of TE polymorphism in *FASN* gene with a beef fatty acid composition more healthy.

Key words: Fatty acid composition, monounsaturated fatty acid, conjugated linoleic acid, beef cattle, fatty acid synthase.

INTRODUCCIÓN

El perfil de ácidos grasos (AG) es de gran importancia en la industria global, y en años recientes, se ha incrementado la atención del mercado en mejorar los aspectos relacionados

con la salud de la carne y subproductos [19], incrementándose el interés en encontrar maneras de manipular la composición de AG de la carne [20]. La carne de vacuno (*Bos taurus* y *Bos indicus*) es una de las principales fuentes de proteínas con un alto valor nutricional, fuente de vitaminas E, A y D y del complejo B y aporte de minerales como hierro y zinc [15]. La carne de vacuno además contiene ácidos linoleicos conjugados (CLA) recientemente relacionados a una serie de efectos benéficos para la salud humana [7]. CLA corresponden a un grupo de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico [17] destacándose hoy la asociación entre los CLA y efectos positivos en el tratamiento del cáncer, enfermedades cardiovasculares, metabolismo lipídico y sistema inmune entre otras enfermedades [18]. Los AG están involucrados en varios aspectos tecnológicos de la calidad de la carne. Debido a que ellos tienen muy distintos puntos de fusión, la variación en la composición de AG tiene un efecto importante en la firmeza o suavidad de la grasa en la carne, especialmente en la grasa subcutánea e intermuscular, pero también en la grasa intramuscular [20]. En este sentido, altas concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) en los adipositos contribuyen en la suavidad de la grasa, mejoran el sabor de la carne de vacuno y ayudan a disminuir la concentración de colesterol (LDL) circulante [14].

Las grandes variaciones en la calidad y contenido de la grasa en la carne de vacuno se deben a muchos factores, tales como: diferencias genéticas, sexo, edad, manejo y nutrición [11]. La composición de AG en ganado vacuno es mucho menos dependiente de la alimentación que en el caso de los no rumiantes, debido a que los microorganismos del rumen hidrogenan la mayoría de los ácidos grasos insaturados (AGI) provenientes de la dieta, la mayoría de los cuales son absorbidos como ácidos grasos saturados (AGS) [6]. Existen enzimas lipogénicas claves en la ruta de síntesis de AG las que juegan un rol importante en la determinación de la composición de AG en carne de vacuno. Ácido graso sintasa (*FASN*) es un complejo enzimático multifuncional que cataliza la síntesis de AGS de cadena larga. El dominio tioesterasa (TE), dentro del complejo *FASN*, es responsable de la terminación de la síntesis de AG y liberación de los nuevos AGS, por lo tanto, se supone que cualquier variación en este dominio entre individuos, puede ser un candidato para establecer diferencias hereditarias en la composición de AG en la carne bovina [21].

El objetivo de este estudio fue determinar la relación de la presencia del polimorfismo g.17924A>G del gen *FASN* y la composición de AG en la carne de novillos de raza Aberdeen Angus.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras y extracción de ADN. El estudio fue realizado con 100 novillos de la raza Aberdeen Angus provenientes

de un predio ubicado en la comuna de Vilcún, Región de la Araucanía, Chile (38°65'LS y 72°13'LO), a una altura de 320 m.s.n.m., clima oceánico (Clasificación climática de Köppen:Cfb), con temperatura media de 14°C y una precipitación anual de 1200 mm [12]. Los animales correspondían a un mismo lote de engorde y fueron sacrificados en el Frigorífico Temuco en mayo 2011 con una edad promedio de 12 meses. El peso de las canales fueron de 263 ± 18 kg. Dos días después del sacrificio se recolectó un trozo de aproximadamente 100 g de músculo *Longissimus dorsi* obtenido a la altura de la 10ª y 11ª vertebra torácica de cada canal y se almacenó al vacío a -80°C (Ultra-low temperature up right freezer MDF, Sanyo, Japón) hasta su análisis. Posteriormente se extrajo ADN genómico de cada muestra con el kit comercial ISOLATE genomic DNA mini Kit (Bioline, EUA) y cada muestra fue cuantificada mediante espectrofotometría (Halo DNAMaster, Lab Expert Co., Ltd. Tailandia).

Detección del SNP g.17924A>G. La presencia del SNP g.17924A>G fue evaluada por reacción en cadena de la polimerasa (PCR-RFLP) – polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción. Se diseñó un set de iniciadores con el programa *Primer3* (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi), basados en la secuencia disponible en GenBank (número acceso: AF285607), iniciador F: 5'-GGTACCTAGC-AACGCCCACTCGAG-3' y R: 5'-AAGCTTGGCAGGCTGTG TGAGATGAG-3'. Una región de 758 pb del gen *FASN* fue amplificado por la PCR. Para la PCR se utilizó un volumen final de reacción de 50µL, que contenían: 50 ng de ADN, 2,5 unidades de *Paq 5000 DNA™* Polymerase (Agilent Technologies, EUA), solución amortiguadora, 0,2 mM de dNTP's y 200 nM de cada uno de los partidores. La reacción de la PCR se realizó en el termociclador (LabNet®, Multigene, EUA) con el siguiente programa de temperatura: denaturación inicial (95°C por 2 min) y 30 ciclos de amplificación con denaturación (95°C por 20 seg), hibridación (58°C por 20 seg), extensión (72°C por 30 seg) y extensión final (72°C por 5 min).

Los genotipos del polimorfismo g.17924A>G en el gen *FASN* fueron detectados por RFLP. Los productos de PCR fueron digeridos con la enzima de restricción *MscI* (Fermentas, EUA), utilizando 2,5 unidades de enzima *MscI*, solución amortiguadora de la enzima de restricción y 10µL de producto de PCR. El mix de digestión fue incubado a 37°C toda la noche. De acuerdo con la secuencia disponible, el producto de PCR con el genotipo g.17924AA fue digerido en cuatro fragmentos (273; 217; 167 y 101 pb), el genotipo g.17924AG fue digerido en cinco fragmentos (440; 273; 217; 167 y 101 pb). En contraste, el producto de PCR con el genotipo g.17924GG fue digerido en tres fragmentos (440; 217 y 101 pb). Los fragmentos fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 3%, teñido con GelRed (Biotium®, EUA).

Análisis de ácidos grasos. Los AG de las muestras de músculo *L. dorsi* fueron extraídos por el método descrito por Folch y col. [4]. Los ésteres metílicos de AG fueron analizados por cromatografía gaseosa, en un cromatógrafo de gases mo-

delo Clarus 500, Perkin Elmer, EUA, acoplado a un detector de ionización de llama (FID) y equipado con una columna SPTM Fused Silica Capillary Column 2380 (60m x 0,25mm x 0,2 µm film thickness, Supelco, EUA). Para la detección de los AG se diseñó un programa de temperaturas de 48 min que incluyó: 150°C por 1 min, luego un aumento de temperatura a razón de 1°C por min hasta llegar a los 168°C y mantenidos por 11 min, seguido por un segundo incremento de temperatura de 6°C por min, para alcanzar finalmente los 230°C mantenidos por 8 min, utilizando nitrógeno como gas transportador. Las temperaturas de inyector y detector fueron 250°C, y se inyectó 1 µL de muestra. Se utilizó la mezcla estándar de 37 componentes de AG F.A.M.E Mix (C4-C24, Supelco, EUA) para la identificación de los AG. Además, el estándar Octadecadienoic, Acid, Conjugated Methyl Ester (CLA Sigma, EUA) para la identificación de los isómeros de ácido linoleico conjugado. Todos los AG fueron cuantificados (mg de AG/g de músculo) mediante curvas de calibración, utilizando el ácido graso Methyl Nonadecanoate (Sigma, EUA) como estándar interno.

Análisis estadístico. Las medias marginales estimadas (\pm MME) fueron determinadas utilizando un modelo lineal con el programa Statistical Product and Service Solution versión 17.0 para Windows (SPSS Inc, Chicago IL, EUA), que incluye:

$$y_{ijk} = \mu + \text{Peso}_i + \text{Edad}_j + \text{Genotipo}_k + \varepsilon_{ijk}$$

donde:

y_{ijk} = variable dependiente (mg de ácidos grasos/g de músculo).

μ = media general de las observaciones.

Peso_i = efecto de i th kg de carcasa.

Edad_j = efecto de j th meses de edad.

Genotipo_k = efecto de k th genotipo FASN (g.17924AA, g.17924AG, g.17924GG).

ε_{ijk} = error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El dominio TE está localizado en la región 3' terminal de FASN y está codificado por cuatro exones (exones 39-42) [21]. Mediante la PCR se amplificó un fragmento de 758 pb correspondiente al dominio TE de FASN (FIG. 1). Los animales de raza Aberdeen Angus fueron genotipificados mediante RFLP, generando los genotipos g.17924AA, g.17924AG y g.17924GG (FIG. 2).

Las frecuencias genotípicas y alélicas se describen en la TABLA I. La frecuencia del alelo G del SNP g.17924A>G correspondió a 0,48, similar a la frecuencia (0,53) obtenida por Schenink y col. [16]. Ambos estudios muestran frecuencias altas en comparación a las reportadas por Morris y col. [10] en ganado lechero Friesian y Jersey (0,31 y 0,13, respectivamente).

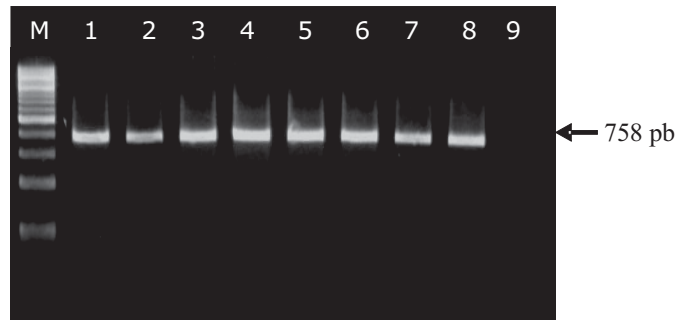


FIGURA 1. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA AL 2% DE LOS PRODUCTOS DE AMPLIFICACIÓN DE PCR. M: MARCADOR DE PARES DE BASES (200 pb). 1-8) FRAGMENTO DE AMPLIFICACIÓN DEL DOMINIO TE. 9) CONTROL NEGATIVO.

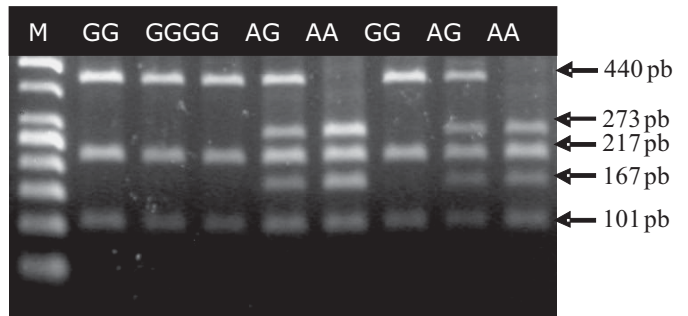


FIGURA 2. ELECTROFORESIS EN UN GEL DE AGAROSA AL 3% DE LOS GENOTIPOS DEL POLIMORFISMO g.17924A>G. DIGESTIÓN CON LA ENZIMA DE RESTRICCIÓN MscI MUESTRA LOS GENOTIPOS g.17924AA, g.17924AG Y g.17924GG. M) MARCADOR DE PARES DE BASES (50 pb).

**TABLA I
FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS
DEL POLIMORFISMO g.17924A>G**

Variable	g.17924AG		
	AA (n=29)	AG (n=47)	GG (n=24)
Frecuencia genotípica	0,29	0,47	0,24
Frecuencia alélica	A=0,52		G=0,48

El complejo FASN cataliza la formación de AG de 16 átomos de carbono de longitud desde acetil-coenzima A y malonil coenzima A. Los AG que se van originando se unen a una proteína portadora de acilo (ACP) a lo largo de su síntesis y generalmente son liberados en el dominio TE [2]. Debido a que el polimorfismo g.17924A>G se encuentra en el dominio TE del gen FASN, según Zhang y col. [21], este polimorfismo de único nucleótido, debido al cambio de aminoácidos de treonina a alanina en la proteína, afectaría el sitio de unión de substrato y ac-

tividad de este dominio, con una alta especificidad hacia acil-C16ACP y menor hacia acil-C14ACP, produciendo mayores contenidos de ácido palmítico (C16:0) y menores contenidos de ácido mirístico (C14:0). En este mismo sentido, el ácido palmítico puede ser sustrato de elongasas (elongado a ácido esteárico C18:0) y puede ser desaturado por la enzima esteroil CoA desaturasa (SCD) a ácido oleico (C18:1n9c). Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos en este estudio, debido a que animales con el genotipo g.17924GG presentan mayores contenidos de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y oleico (C18:1n9c) ($P < 0,05$) y contenidos similares de ácido mirístico (C14:0) y de otros AGS (ácido cáprico C10:0 y ácido láurico C12:0) ($P > 0,05$) (TABLA II). Indirectamente, debido a que los principales MUFA, reportados en músculo de vacuno, son el ácido palmitoleico (C16:1) y oleico (C18:1n9c), el contenido total de MUFA es mayor en animales con genotipo g.17924GG ($P < 0,05$) en comparación a animales con genotipo g.17924AA. Diversas investigaciones han demostrado que la concentración de ácido oleico en carne bovina, músculo *L. dorsi*, es correlacionada positivamente con la palatabilidad general, lo cual puede ser relacionado con la suavidad de la grasa, debido a que los lípidos de la carne de vacuno, enriquecidos con ácido oleico, poseen bajos puntos de fusión [1]. En conclusión, altas concentraciones de MUFA y bajos puntos de fusión en grasa se consideran que contribuyen a la suavidad de la grasa bovina y favorecen el sabor de la carne de vacuno [8].

Por otra parte, Zhang y col. [21] indicaron que, producto de la elongación del ácido esteárico (C18:0) y posterior desaturación por la enzima SCD puede haber una mayor producción del ácido *cis*-vaccénico (C18:1n7), hipótesis que no ha

sido comprobada en este estudio debido a la dificultad para detectar este AG. En este sentido, Mele y col. [9] señalan que el ácido vaccénico es sustrato para la enzima SCD, el cual es convertido a los principales isómeros de ácido linoleico conjugado (*cis*-9 *trans*-11/*trans*-9 *cis*-11 CLA), el cual es el principal isómero (más del 80% del total de CLA). De esta misma manera, las mezclas de CLA extraídas desde carne de vacuno pueden inhibir la proliferación de células cancerígenas humanas, un alto contenido en isómeros *cis*, *trans* lideran el máximo efecto antiproliferativo [3]. En este contexto, es importante determinar las variaciones de la distribución de los isómeros de CLA en carne de vacuno ya que estas proporciones podrían influenciar las propiedades biológicas de CLA. En el presente estudio, los animales con el genotipo g.17924GG muestran mayores contenidos de CLA ($P < 0,05$) que los animales de genotipo g.17924AA, por lo cual, el SNP g.17924A>G también estaría afectando el contenido de CLA en los animales en estudio. Además, se identificaron otros isómeros de CLA (*cis*-10, *cis*-12 y *trans*-10 y *cis*-12) los cuales se presentaron en muy bajas concentraciones. Por otra parte, en relación al total de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) no se observan diferencias entre los genotipos de *FASN* ($P > 0,05$).

El complejo enzimático *FASN* ha sido propuesto como un gen candidato para el porcentaje de grasa en leche, así como para la composición de AG en leche y carne [5,16]. El porcentaje de grasa en leche ha sido asociado a dos SNPs g.17924AG y g.16024GA [12,15], pero no existen antecedentes de asociación a grasa intramuscular. En el presente estudio, el genotipo g.17924GG mostró mayores contenidos de grasa intramuscular total ($P < 0,05$), en relación al genotipo g.17924AA.

TABLA II
COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS (MG DE ÁCIDO GRASO/G MÚSCULO)
POR GENOTIPO DEL POLIMORFISMO g.17924A>G^a

Ácidos grasos	g.17924A>G		
	AA	AG	GG
C10:0	0,27 ± 0,006	0,28 ± 0,004	0,29 ± 0,006
C12:0	0,23 ± 0,006	0,24 ± 0,005	0,25 ± 0,006
C14:0	0,79 ± 0,12	0,93 ± 0,10	1,14 ± 0,13
C16:0	5,63 ± 0,87b	7,06 ± 0,69ab	8,32 ± 0,89a
C18:0	5,65 ± 0,80b	7,31 ± 0,63ab	8,14 ± 0,82a
C18:1n9t	0,93 ± 0,18	0,96 ± 0,14	1,05 ± 0,19
C18:1n9c	10,55 ± 1,67b	14,06 ± 1,30ab	16,0 ± 1,71a
SFA ^b	15,83 ± 2,08b	19,25 ± 1,63ab	22,57 ± 2,12a
MUFA ^c	13,49 ± 2,04b	17,42 ± 1,60ab	20,04 ± 2,08a
PUFA ^d	7,28 ± 0,49	7,53 ± 0,39	7,01 ± 0,52
CLA ^e	0,28 ± 0,08b	0,38 ± 0,06ab	0,51 ± 0,08a
MUFA:SFA ^f	0,83 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,85 ± 0,03
Contenido graso ^g	0,023 ± 0,002b	0,027 ± 0,001ab	0,029 ± 0,02a

^a Valores expresados como MME ± EE. ^b SFA: ácidos grasos saturados. ^c MUFA: ácidos grasos monoinsaturados. ^d PUFA: ácidos grasos poliinsaturados. ^e CLA: ácido linoleico conjugado isómero *cis*-9, *trans*-11/ *trans*-9 *cis*-11. ^f MUFA:SFA: proporción ácidos monoinsaturados:ácidos grasos saturados. ^g Contenido graso expresado en gramo de grasa/gramo de carne.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio sugieren una relación del SNP presente en el dominio TE del gen *FASN* con la variación del contenido total de MUFA y de los principales isómeros de CLA. Sin embargo, se necesitan estudios más detallados para confirmar estas relaciones y mecanismos moleculares con otros genes y otros polimorfismos más eficientes que estén influenciando la composición de ácidos grasos en carne de vacuno.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Frigorífico Temuco por proporcionar las muestras utilizadas en este estudio. Este estudio fue parcialmente financiado gracias a los aportes de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) Beca Apoyo Tesis Doctoral y el Programa FIC-FIA PIT-2008-009.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABE, T.; SABURI, J.; HASEBE, H.; NAKAGAWA, T.; MISUMI, S.; NADE, T.; NAKAJIMA, H.; SHOJI, N.; KOBAYASHI, M.; KOBAYASHI, E. Novel mutations of the *FASN* gene and their effect on fatty acid composition in Japanese Black Beef. **Biochem. Genet.** 47:397-411. 2009.
- [2] CHAKRAVARTY, B.; GU, Z.; CHIRALA, SS.; WAKIL, S. J.; QUIOCHO, FA.. Human fatty acid synthase: structure and substrate selectivity of the thio esterase domain. **Proc.Nac. Acad. Sci. USA.** 101: 15567-15572. 2004.
- [3] DE LA TORRE, A.; GRUFFAT, D.; DURAND, D.; MICOL, D.; PEYRON, A.; SCISLOWSKI, V.; BAUCHART, D. Factors influencing proportion and composition of CLA in beef. **Meat Sci.** 73: 258-268. 2006.
- [4] FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE-STANLEY, G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **J. Biol. Chem.** 226: 497-509. 1957.
- [5] INOSTROZA, K.; SEPULVEDA, N. Asociación de polimorfismo en gen *SCD* con el contenido de ácidos grasos y ácido linoleico conjugado en leche de vacas frisón negro chileno. **Proc. XXXVI Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal.** Punta Arenas 11/9-11. Chile. Pp 23-24. 2011.
- [6] JENKINS, C. Lipid metabolism in the rumen. **J. Dairy Sci.** 76: 3851-3863. 1993.
- [7] KHANAL, R. Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA): a review. **J Anim. Sci.** 17: 1315-1328. 2004.
- [8] MANNEN, H. identification and utilization of genes associated with beef qualities. **Anim. Sci. J.** 82:1-7. 2011.
- [9] MELE, M.; CONTE, M.; CASTIGLIONI, B.; CHESSA, S.; MACCIOTTA, N.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; PAGNACCO, G.; SECCHIARI, P. Stearoyl-Coenzyme A desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. **J. Dairy Sci.** 90: 4458-4465. 2007.
- [10] MORRIS, C.; CULLEN, N.; GLASS, B.; HYNDMAN, D.; MANLEY, T.; HICKEY, S.; McEWAN, J.; PITCHFORD, W.; BOTTEMA, C.; LEE, M. Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. **Mamm. Genome.** 18: 64-74. 2007.
- [11] RAES, K.; BALCAEN, A.; DIRINCK, P.; DE WINNE, A.; CLAEYS, E.; DEMEYER, D.; DE SMET, S. Meat quality, fatty acid composition and flavor analysis in Belgian retail beef. **Meat Sci.** 65, 1237-1246. 2003.
- [12] RIOSECO, R.; TESSER, C. Cartografía Interactiva de los climas de Chile. Instituto de Geografía. Pontificia Universidad Católica de Chile 2006. En Línea: http://www.uc.cl/sw_education/geografia/cartografiainteractiva.htm. 05/06/2013.
- [13] ROY, R.; ORDOVAS, L.; ZARAGOZA, P.; ROMERO, A.; MORENO, C.; ALTARRIBA, J.; RODELLAR, C. Association of polymorphisms in the bovine *FASN* gen with milk-fat content. **Anim. Genet.** 37: 215-218. 2006.
- [14] RUDEL, L.; PARK, S.; SAWYER, K. Compared with dietary monounsaturated and saturated fat, polyunsaturated fat protects African green monkeys from coronary artery atherosclerosis. **Arterioscl. Thromb Vascul. Biol.** 15: 2101-2110. 1995.
- [15] SAUCIER, L. Meat safety: challenges for the future. **Nutrition Abst. Rev.** (Serie A). 69: 705-708. 1999.
- [16] SCHENNINK, A.; BOVENHUIS, H.; LEONKLOOSTERZIEL, M.; VAN ARENDONK, M.; VISKER, M. Effect of polymorphisms in the *FASN*, *OLR1*, *PPARG-C1A*, *PRL* and *STAT5A* genes on bovine milk-fat composition. **Anim. Genet.** 40: 909-916. 2009.
- [17] SCHIMID, A.; COLLOMB, M.; SIEBER, R.; BEE, G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. **Meat Sci.** 73: 29-41. 2006.
- [18] SCOLLAN, N.; HOCQUETTE, J.; NUEMBERG, K.; DANENBERG, D.; RICHARDSON, I.; MOLONEY, A. Innovations in beef products systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Sci.** 74, 17-33. 2006.
- [19] STOOP, W.; VAN ARENDONK, H.; VAN VALENBERG, H.; BOVENHUIS, H. Genetic parameters for major fatty acids and milk productions traits of Dutch Holstein-Friesians. **J. Dairy Sci.** 91: 385-394. 2008.
- [20] WOOD, J.; RICHARDSON, R.; NUTE, G.; FISHER, A.; CAMPO, M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Sci.** 66: 21-32. 2003.
- [21] ZHANG, S.; KNIGHT, T.; REECY, J.; BEITZ, D. DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. **Anim. Genet.** 39:62-72. 2008.