Polimorfizam DGAT1 gena i sastav masnih kiselina loja tovne junadi

Vrančić, Valentina

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:171155

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

POLIMORFIZAM *DGAT1* GENA I SASTAV MASNIH KISELINA LOJA TOVNE JUNADI

DIPLOMSKI RAD

Valentina Vrančić

Zagreb, rujan, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Genetika i oplemenjivanje životinja

POLIMORFIZAM *DGAT1* GENA I SASTAV MASNIH KISELINA LOJA TOVNE JUNADI

DIPLOMSKI RAD

Valentina Vrančić

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Danijel Karolyi

Zagreb, rujan, 2017.

UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF AGRICULTURE

Graduate study:
Genetics and animal breeding

DGAT1 GENE POLYMORPHISM AND FATTY ACID COMPOSITION OF FAT IN SIMMENTAL BEEF CATTLE

MASTER THESIS

Valentina Vrančić

Supervisor: Izv. prof. dr. sc. Danijel Karolyi

Zagreb, September, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Valentina Vrančić**, JMBAG 01780947508, rođen/a dana 30.03.1994. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

POLIMORFIZAM *DGAT1* GENA I SASTAV MASNIH KISELINA LOJA TOVNE JUNADI

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Valentine Vrančić**, JMBAG 01780947508, naslova

POLIMORFIZAM *DGAT1* GENA I SASTAV MASNIH KISELINA LOJA TOVNE JUNADI

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	Izv. prof. dr. sc. Danijel Karolyi	mentor	_____
2.	Izv.prof.dr.sc. Krešimir Salajpal	član	_____
3.	Doc.dr.sc. Nikolina Kelava Ugarković	član	_____

Zahvala

Zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Danijelu Karolyiju na stručnoj pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Hvala svim profesorima i asistentima, koji su me svojim radom motivirali i pružili mi stečeno znanje.

Najveću zahvalu dugujem svojim roditeljima i bratu, koji su mi sve to omogućili te dečku Petru koji mi je uz njih bio najveća podrška tokom svih pet godina studiranja.

HVALA!

Sadržaj

1. Uvod 1

2. Pregled literature 3

2.1. Diacilglicerol O-aciltransferaza 1 (DGAT1) 3
2.2. Genski polimorfizmi koji utječu na nakupljanje masti i kakvoću mesa goveda 6
2.2.1. *FABP4* gen 6
2.2.3. Tiroglobulin (*TG*) 7
2.2.4. Kalpain 1 (*CAPN1*) 8
2.2.5. Stearoil-CoA desaturaza (*SCD1*) 8
2.2.6. Kalpastanin (*CAST*) 8
2.3. Simentalsko govedo 9

3. Hipoteze i cilj istraživanja 11

4. Materijali i metode rada 12

4.1. Životinje 12
4.2. Klanje i klaonička obrada trupa 12
4.3. Analiza tkiva 12
4.5. Statističke analize 13

5. Rezultati i rasprava 14

6. Zaključak 19

7. Popis Literature 20

Životopis 29

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Valentine Vrančić**, naslova

POLIMORFIZAM *DGAT1* GENA I SASTAV MASNIH KISELINA LOJA TOVNE JUNADI

Cilj rada bio je odrediti frekvencije alela i genotipova polimorfizma bovinog *DGAT1* gena koji kodira diacilglicerol-O-aciltransferazu, enzim koji sudjeluje u završnom koraku sinteze triglicerida, i njegovu povezanost sa taloženjem masti i sastavom masnih kiselina masnog tkiva (loj) tovne junadi. *DGAT1* K232A polimorfizam genotipiziran je PCR/RFLP metodom u DNA ekstrahiranoj iz uzoraka leđnog mišića 26 jednogodišnjih simentalskih bikova i junica iz intenzivnog uzgoja. K alel *DGAT1* gena bio je manje zastupljen kod junica (0.08%) nego kod bikova (0.27%) sa ukupnom frekvencijom od 17% K alela. Ukupna genotipska frekvencija bila je viša za AA nego KA, dok genotip KK, povezan s jačim nakupljanjem masnog tkiva, nije pronađen. Nije utvrđeno odstupanja od Hardy-Weinbergove ravnoteže. Zamašćenje trupa i stupanj nezasićenosti masti bili su viši u junica nego u bikova, bez interakcije *DGAT1* i spola. Utjecaj polimorfizma *DGAT1* gena na nakupljanja i masno-kiselinski sastav masnog tkiva nije utvrđen.

Ključne riječi: govedo, *DGAT1*, masno tkivo, masne kiseline, simentalska pasmina

Summary

Of the master's thesis – student **Valentina Vrančić,** entitled

DGAT1 GENE POLYMORPHISM AND FATTY ACID COMPOSITION OF FAT IN SIMMENTAL BEEF CATTLE

The aim of this study was to determine allele and genotype frequencies of bovine *DGAT1* gene encoding the diacylglycerol-O-acyltransferase , enzym that catalyses the final step of triglyceride synthesis, and its association with deposition and fatty acid composition of fat tissue in fattening beef cattle. *DGAT1* K232A polymorphism was genotyped with PCR/RFLP method from DNA extracted from *longissimus* muscle of 26 Simmental beef cattle from intensive production. K allele of *DGAT1* gene was less frequent in heifers (0.08%) than in bulls (0.27%), with overall allelic frequency of 17% K allele. Overall genotype frequency was higher for AA than KA, while KK genotype, associated with increased accumulation of fat tissue, was not found. No deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was found. Heifers showed a higher degree of carcass fattening and higher degree of unsaturation of fat than bulls; however, there was no interaction between sex and *DGAT1* gene. Effect of *DGAT1* gene polymorphism on deposition and fatty acid composition of fat tissue was not found.

Key words: cattle, *DGAT1*, fat tissue, fatty acid, Simmental breed

1. Uvod

Jedan od gena koji utječe na metabolizam masti goveda je diacilglicerol-O-aciltransferaza (*DGAT1*) koja kodira DGAT1 enzim koji katalizira završni korak sinteze triglicerida (Sanders i sur. 2006.). Nekoliko istraživanja na govedima su opisala lokus za kvantitativna svojstva (eng. *quantitative trait locus* ili QTL) sa utjecajem na svojstvo proizvodnje mlijeka, posebno postotak mliječne masti, u 3 cM velikoj regiji u centromernom dijelu *Bos taurus* autosoma 14 (BTA14) (Riquet i sur. 1999.; Loof i sur. 2001.). Kasnije su Grisart i sur. (2002., 2004.) i Winter i sur. (2002., 2004.) identificirali dinukleotidnu supstituciju (K232A) koja uzrokuje supstituciju K (lizin) u A (alanin) na *DGAT1* genu.

Originalno istraživanje Winter i sur. (2002.) otkrilo je da je K varijanta više uobičajna u Jersey govedu (frekvencija oko 80%), Holstein-Friesian i Antolian Black govedu (frekvencija oko 35%) nego u drugim *Bos taurus* pasminama goveda (manje od 20% forme lizina). Od istih autora K alel je prvo predložen kao uzročna varijanta koja utječe na svojstva masti mlijeka. Istraživanja na *Bos indicus* govedima su pokazala da oni imaju fiksiran K alel (Winter i sur. 2002.; Tantia i sur. 2006.) ili u veoma visokoj frekvenciji (Casas i sur. 2005.).

Thaller i sur. (2003.) u svom istraživanju provedenom na njemačkoj Holstein i Charolais populaciji goveda, prvi su prikazali značajan utjecaj *DGAT1* polimorfizma na intramuskularni sadržaj masti u *musculus (m.) semitendinosus,* ali ne i na *m. longissimus dorsi* (iako je postojala tendencija ka većem udjelu masti u ovom mišiću kod lizin/lizin homozigotnih Holstein životinja). KK genotip nije pronađen kod Charolais pasmine, dok su Holstein životinje sa KK genotipom imale značajno više intramuskularne masti u *m. semitendinosus* ($p < 0,01$) i *m. longissimus dorsi* ($p < 0,05$) od heterozigotnih i životinja sa homozigotnim AA genotipom (Thaller i sur. 2003.). Razlika u pasminama može se objasniti višom frekvencijom od 0,446 za alelnu varijantu za povećanje mramoriranosti (K alel) kod *DGAT1* njemačkog Holsteina, dok ista varijanta ima vrijednost od samo 0,111 kod Charolais pasmine (Thaller i sur. 2003.). Istraživanja koja slijede na govedima pokazuju da K alel *DGAT1* gena ima također pozitivan utjecaj na debljinu subkutane masti u Nerole govedu (Curi i sur. 2011.).

Suprotno tome, nekoliko drugih istraživanja nisu pronašla nikakve značajne asocijacije *DGAT1* polimorfizma sa nakupljanjem masnog tkiva u trupu ili mišićima komercijalnih linija ili čistokrvnih *Bos Taurus* (Moore i sur. 2003.; Pannier i sur. 2010.) ili *Bos Indicus* (Fortes i sur. 2009.; Sauza i sur. 2010.) goveda.

Hrvatsko govedarstvo temelji se najvećim dijelom na proizvodnim osobinama simentalske pasmine (Jakopović 2007.), čiji se udio u pasminskoj strukturi kreće oko 62,8% (HPA 2016.). Kao pasmina dvojnih proizvodnih osobina, koja je dobro prilagođena proizvodnim uvjetima u Hrvatskoj, koristi se u svim proizvodnim sustavima kako onim u proizvodnji mlijeka tako isto i u proizvodnji mesa (Jakopović 2007.). Proizvodnja goveđeg mesa provodi se manjim dijelom na obiteljskim farmama koje drže mliječne krave, a najvećim dijelom na specijaliziranim farmama za tov, pod intentivnim proizvodnim uvjetima smještaja i hranidbe. Glede polimorfizma *DGAT1* gena kod simentalske pasmine, u svom istraživanju L. Hanusova i sur. (2014.) pokazuju da je u polimorfizmu K232A frekvencija genotipova AA (alanin) veća od genotipa KA kod čeških simentalskih bikova, dok homozigotni genotip KK (lizin) nije pronađen. Isto tako, prijašnja istraživanja na simentalskom govedu iz nekoliko

zemalja su pokazala odsutnost (ili potpunu odsutnost) varijabilnosti DGAT1 lokusa, sa veoma niskom frekvencijom lizin (K) alela (Kaupe i sur. 2004.; Pannier i sur. 2010.; Scotti i sur. 2010.).

U ovom radu bit će istražene frekvencije alela i genotipova polimorfizma *DGAT1* gena te njegova povezanost s taloženjem masti i sastavom masnih kselina masnog tkiva kod domaće simentalske tovne junadi iz intenzivnog uzgoja.

2. Pregled literature

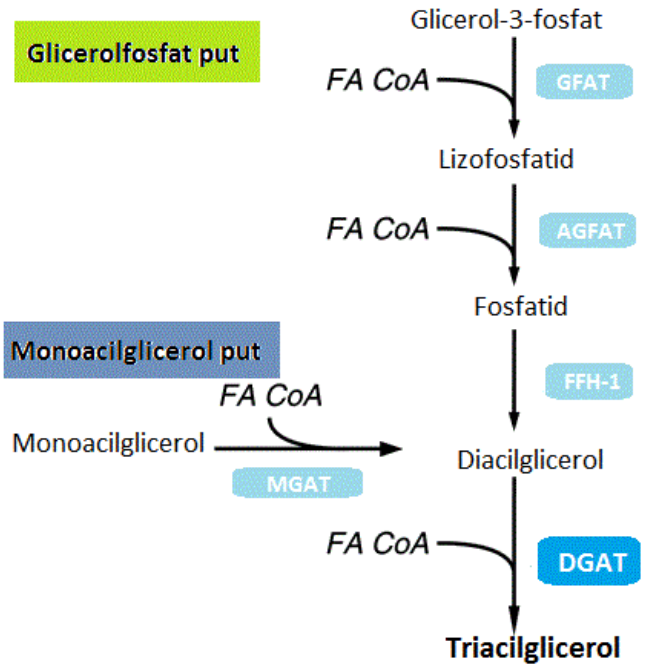
2.1. Diacilglicerol O-aciltransferaza 1 (DGAT1)

Genetska istraživanja ukazuju da polimorfizam nekoliko kandidat gena utječe na metabolizam i taloženje masti (Thaller i sur. 2003.; Barendes 1997.). Jedan od gena predložen da utječe na metabolizam masti kod goveda je diacilglicerol O-aciltransferaza 1 (*DGAT1*) koji katalizira zadnji korak sinteze triglicerida (Cases i sur. 1998.). Kao što je prikazano na slici 2.1.1., taj posljednji korak može ići u dva smjera: unutar puta glicerolfosfata ili monoacilglicerol puta (Komisarek i sur. 2004.). Enzim sudjeluje u transformaciji ugljikohidrata u masti i njihovom skladištenju u masni depo. *DGAT1* kodira mikrosomalni enzim acil-CoA: diacilglicerol aciltransferazu koja igra značajnu ulogu u metabolizmu staničnog diacilglicerola u fiziološkim procesima, kao što su crijevna apsorpcija masti, sklapanje lipoproteina, formiranje adipoznog tkiva i laktacija, koji su uključeni u metabolizam triacilglicerola u viših eukariota (Cases i sur. 1998.). Nekoliko istraživanja na govedima opisala su QTL sa utjecajem na svojstvo proizvodnje mlijeka i postotak mliječne masti u 3 cM velikoj regiji u centromernom dijelu *Bos taurus* autosoma 14 (BTA14) (Riquet i sur. 1999.; Looft i sur. 2001.). Grisart i sur. (2002.) i Winter i sur. (2002.) pokazali su da besmislena mutacija, poznatija u genetici kao *„nonsens“* mutacija, uzrokuje supstituciju lizina za alanin na poziciji 232 *DGAT1* gena koji je prvo predložen kao uzročna varijanta koja utječe na svojstva masti mlijeka (Slika 2.1.2.). Daljnja istraživanja također su pronašla ne-konzervativnu supstituciju lizina za alanin (*DGAT1* K232A) kao posljedicu supstitucije adenin/adenin u gvanin/citozin na poziciji 10433 i 10434 na egzonu VIII u europskim populacijama goveda (Spelman i sur. 2002.; Thaller i sur. 2003.; Weller i sur. 2003.). Nakon sekvenciranja te regije *u Bos taurus taurus*, *Bos taurus indicus*, *Bos grunniens* i *Bubalus bubalus*, Winter i sur. (2002.) ustanovili su da je alanin-kodirani haplotip prisutan samo u *Bos taurus taurus*, ukazujući da lizin-kodirajuća varijanta vjerojatno ancestralno stanje *DGAT1* gena (Slika 2.1.3.).

Značajno smanjenje količine mlijeka i proteina u mlijeku i povećanje u prinosu mliječne masti su povezani sa supstitucijom lizina (K alel). Varijanta alanina (A alel) je povezana s povećanjem prinosa proteina i mlijeka te smanjenjem prinosa masti (Spelman i sur. 2002.; Thaller i sur. 2003.; Weller i sur. 2003.). Kasnija istraživanja su pokazala međuodnos između K232A polomorfizma u genu i zamašćenosti trupa i svojstva kvalitete mesa (Istvan i sur. 2011.; Avilӧs i sur. 2015.; Curi i sur. 2011.; Li X. i sur. 2013.; Thaller i sur. 2003.; Wu XX i sur. 2012.).

Curi i sur. (2011.) u svom istraživanju na govedima pokazuju da K alel DGAT1 gena ima pozitivan utjecaj na debljinu subkutane masti u Nerole goveda, dok su Istvan i sur. (2011.) pokazali pozitivan utjecaj K alela na sadržaj intramuskularne masti u mađarskim Angus bikovima. Istraživanja na *Bos indicus* populaciji goveda su pronašla da oni imaju fiksiran K alel (Winter i sur. 2002.; Tantia i sur. 2006.) ili prisutan u veoma visokoj frekvenciji (Casas i sur. 2005). Lacorte i sur. (2006.) izvještavaju da je K alel fiksiran u brazilskim *Bos indicus* pasminama Nelore i Guzerat. Isto tako, analizirajući *Bos indicus* populaciju, Fortes i sur. (2009.) izvještavaju da je A alel manje frekventivan (< 50%) nego dominantan K alel.

Kod DGAT1 polimorfizma, A alel je povezan s haplotipovima koji daju niže procijenjene uzgojne vrijednosti (UV) za potkožno masno tkivo (Moore i sur. 2003.). U istraživanju Moore i sur. (2003.) nije pronađena značajna povezanost između DGAT1 alela i procijenjene UV debljine potkožnog masnog tkiva, ali je utvrđena iznenađujuća niska frekvencija K alela u testiranoj populaciji komercijalnih linija *Bos taurusa.* Frekvencija K alela u tom istraživanju bila je samo 0,12 nasuprot 0,70 kod mliječnih goveda (Grisart i sur. 2002.). Nižu frekvenciju K alela (0,00 do 0,38) kod različitih pasmina goveda za proizvodnju mesa navode Kaupe i sur. (2002.), dok je kod mliječnih pasmina frekvencija K alela iznosila 0,02 do 0,69. To može ukazivati na jači selekcijski pritisak protiv K alela kod 38 različitih pasmina *Bos taurus* i *Bos indicus* goveda (Kaupe i sur. 2002.). U istraživanju provedenom na simentalskim bikovima, Ardicli i sur. (2016.) dobili su rezultate koji pokazuju da u K232A polimorfizmu, genotip AA znatno prevladava (82,71%) nad KA, dok homozigotni KK genotip nije pronađen. Hanusova i sur. (2014.) u istraživanju provedenom na češkim simentalskim bikovima također su dobili veću frekvenciju genotipa AA nego KA, dok homozigotni genotip KK nije pronađen. Slično, alel A dominira nad K alelom (0,945 i 0,055) (Hanusova i sur. 2014.). Za razliku od njih, Lacorte i sur. (2006.) izvještavaju da KK frekvencija je jako dominantna nad AA i KA genotipom.



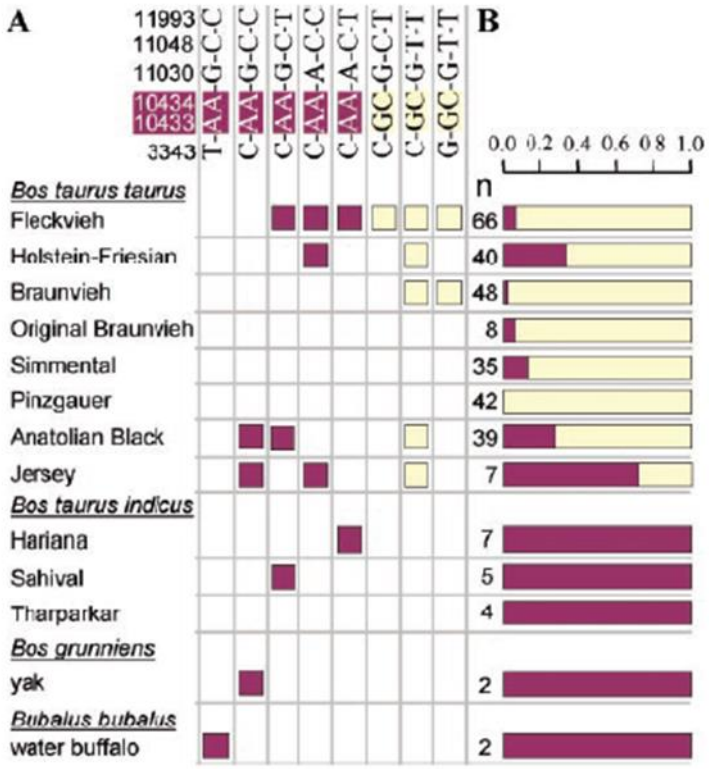
Slika 2.1.1. Sinteza triglicerida i DGAT enzimi. Trigliceridi (triacilgliceroli) su krajnji proizvod višestrukog puta. Konačna reakcija je katalizirana s jedan od dva poznata DGAT enzima, DGAT1 i DGAT2. GFAT označava glicerol-fosfat aciltransferazu; AGFAT označava acilglicerol-fosfat aciltransferazu; FFH-1 označava fosfatidinsku kiselinu fosfohidulaza-1; MGAT označava acil CoA: monoacilglicerol aciltransferazu

Izvor: https://goo.gl/kMqxme



Slika 2.1.2. Višestruko poravnavanje sekvenci DGAT1 proteina *Bos taurus*, *Bison bison*, *Ovis aries*, *Sus scrofa*, *Homo sapiens*, *Cercopithecus aethiops*, *Mus musculus domesticus*, i *Rattus norvegicus* zahvaljujući evolucijskom očuvanju lizina (K) mutiranom u goveđem K232A polimorfizmu

Izvor: Grisart i sur. (2001.)



Slika 2.1.3. (A) Haplotipovi *DGAT1* bazirani na nukleotidnim položajima 3343, 10433, 10434, 11030, 11048 i 11993 koji su određeni izravnim sekvenciranjem i (B) Preliminarne procjene frekvencija za lizin (ljubičasto) i alanin (žuto) kodiraju alele u različitim vrstama i pasminama određenim RFLP testom (n= broj životinja).

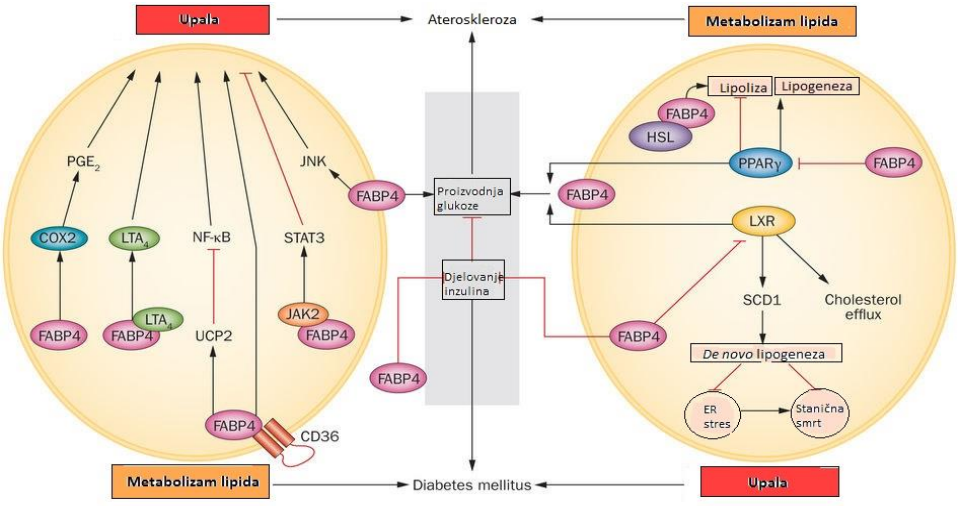
Izvor: Winter i sur. (2002.)

2.2. Genski polimorfizmi koji utječu na nakupljanje masti i kakvoću mesa goveda

Varijabilnost organoleptičke kvalitete govedine jedan je od najvećih izazova za ostvarivanje zadovoljstva potrošača (Aass i sur. 2009.). Masni depoi u trupu goveda povezani su ne samo uz ekonomsku vrijednost trupa pri klasifikaciji na liniji klanja, već i s očekivanim ugodnim okusom goveđeg mesa (Jeremiah 1996.), i pod utjecajem su mnogih faktora prije klanja, uključujući i one genetske. Stoga su, kandidatni geni koji utječu na svojstva nakupljanja masti i kakvoću mesa postali koristan alat za predviđanje genotipova goveda poželjnih ekonomski važnih svojstava. Među najvažnije genske polimorfizme koji utječu na nakupljanje masti i kakvoću mesa goveda mogu se ubrojiti oni u *FABP4*, *LEP*, *TG*, *CAPN1*, *SCD1* i *CAST* genima.

2.2.1. *FABP4* gen

FABP4 (eng. fatty-acid binding protein 4) gen je prvo predstavljen kao genetski faktor koji utječe na taloženje masti u mišićima i trupu goveda (Barendse 1999.; Michal i sur. 2006.; Thaller i sur. 2003.). Pronađen je na kromosomu 14 i primarno je ekspresiran u adipocitima gdje kodira protein koji veže masne kiseline (Matarese i Bernlohr 1988.) te je uključen u intracelularno prepoznavanje masnih kiselina (MK) (Gerbens i sur. 1998.) Funkcionalno, FABP su unutarstanični proteini koji prenose masne kiseline od stanične membrane do mjesta oksidacije masnih kiselina, do fosfolipida ili do mjesta sinteze triacilglicerola (Gerbens i sur. 2000.; Slika 2.2.1.1.). Polimorfizam koji uzrokuje promjena samo jednog nukleotida (eng. single nucleotide polymorphism ili SNP) pronađen u goveđem *FABP4* genu (egzon 3) izaziva substituciju valina u metionin na poziciji 110 (pozicija nukleotida 3691=g.3691G>A) i karakterizira ga povezanost s poželjnim povećanjem razine mramoriranosti (> IMF) i ocjenom organoleptičke kvalitete mesa (Shin i sur. 2012.). Također utječe na težinu trupa i debljinu potkožnog masnog tkiva (Maharoni i sur. 2012.; Shin i sur. 2012.).

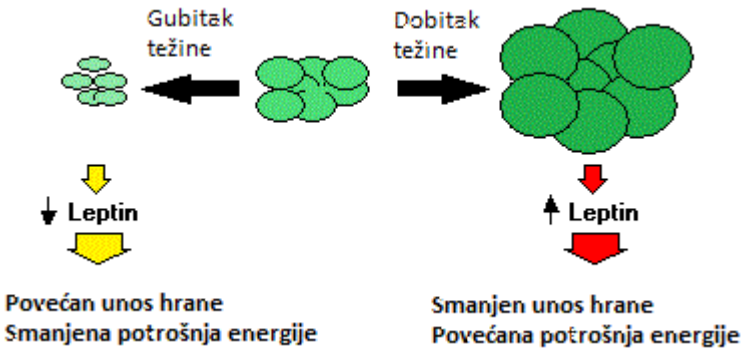


Slika 2.2.1.1. *FABP4* provodi niz intracelularnih uloga, suzbija lipogenezu masnog tkiva i potiče lipolizu.

Izvor: https://goo.gl/6H2WHB

2.2.2. Leptin (*LEP*)

Leptin (*LEP*) gen kodira hormonski amino-kiselinski proizvod kojeg izlučuju pretežno adipociti masnog tkiva, a njegova ekspresija je regulirana tjelesnom debljinom i energetskim balansom u organizmu (Istvan i sur. 2012.). Uključen je u regulaciju tjelesne težine putem prijenosa lipostatičnih signala od adipocita do receptora leptina u hipotalamusu rezultirajući tako smanjenjem apetita i povećanom termogenezom (Zang i sur. 1994.; Ji i sur. 1998.) (Slika 2.2.2.1.). Leptin gen je mapiran na goveđem kromosomu 4 (Stone i sur. 1996.). Nekoliko polimorfizama u *LEP* genu je opisano kod goveda, uključujući *LEP* 1620 (A/G) lociran na intronu 2 *LEP* gena (Lien i sur. 1997.) i *LEP* 305 (T/C) lociran na egzonu 2 (Buchanan i sur. 2002.). Kod LEP 305 (T/C), cistin alel je povezan s većom razinom leptin mRNA, povećanim sadržajem masti u trupu i manjom mramoriranosti kod goveda (Buchanan i sur. 2002.; Di Stasio i sur. 2007.). Životinje s TT genotipom polimorfizma na goveđoj leptin promotornoj regiji povezane su sa povećanom razinom mramoriranosti, koncentracijom leptina i debljinom potkožnog masnog tkiva (Nkrumah i sur. 2005.). Polimorfizam leptina povezan je i s prinosom mlijeka kod mliječnih goveda (Liefers i sur. 2002.). Životinje s TT genotipom pokazuju povećanu proizvodnju mlijeka i prinos proteina u mlijeku u usporebi sa CC i CT genotipovima (Buchanan i sur. 2003.).



Slika 2.2.2.1. Kontrola sinteze i ekspresije leptina
Izvor: https://goo.gl/bYG5sT

2.2.3. Tiroglobulin (*TG*)

Tiroglobulin (*TG*) je glikoproteinska prekursorna molekula hormona koji utječu na metabolizam masti i sintetizira se u tiroidnoj žlijezdi (Istvan i sur. 2012.). Mapiran je na centromernoj regiji goveđeg kromosoma 14 (Cappieters i sur. 1998.; Winter i sur. 2002.). *TG* gen kontrolira sintezu tiroidnih hormona (T3 i T4) koji reguliraju adipocitnu diferencijaciju i rast (McPeake 2005.; Ailhaud i sur. 1992.) kao i intramuskularno taloženje masti (McPeake 2005.). Debljina potkožnog masnog tkiva i postotak masti u tkivima generalno, uključujući mlijeko, očekivano su pod utjecajem *TG* polimorfizma zato što jodtironini utječu na diferencijaciju adipocita i razina tiroidnog hormona utječe na postotak masti u mlijeku (Folley i Malpress 1948.).

Kod polimorfizma *TG* gena goveda TT genotip povezan je s manjim ukupnim sadržajem

mišićnih lipida i manjom debljinom potkožnog masnog tkiva, dok CC/CT genotipovi rezultiraju većim ukupnim sadržajem lipida u *musculus longissimus dorsi* (MLD) (0.39%) (Kelava i sur. 2013.). Značajno različite frekvencije alela u pogledu *TG* gena pronađene su između Hereford i Simentalskog goveda ($p<0.01$) i Hereford i Charolais populacije goveda ($p< 0.0001$) (Kelava i sur. 2013.).

2.2.4. Kalpain 1 (*CAPN1*)

Kalpain 1 gen, jedan od najviše proučavanih gena, kodira veliku podjedinicu μ-kalpaina-enzimske proteaze koja je povezana sa procesom zrenja i omekšavanja mesa *post mortem* (Page i sur. 2004.; Corva i sur. 2007.) te mramoriranosti mišića (Cheong i sur. 2008.). Goveđi CAPN1 mapiran je na kromosomu 29 (Page i sur. 2004.). SNP G316A na egzonu 9 (aleli G/C) CAPN1 gena određuje substituciju alanina sa glicinom u aminokiselini 316 proteinske domene II (Miquel i sur. 2009.; Soria i sur. 2010.). G316A genotip povezan je sa završnom težinom (Miquel i sur. 2009.), prosječnim dnevnim prirastom (Miquel i sur. 2009.; Tait u sur. 2014.) i svojstvima kvalitete mesa (Gill i sur. 2009.; Miquel i sur. 2009.; Pinto i sur. 2010.). Gen je mapiran na telomernom kraju kromosomalne regije uključujući značajno preklapanje QTL-ova koji reguliraju ne samo mekoću govedine nego također rast (težina nakon odbića, težina trupa) i učinkovitost iskorištavanja hrane (Casas i sur. 2003.; Pintos i Corva 2011.).

2.2.5. Stearoil-CoA desaturaza (*SCD1*)

Istraživanja genske ekspresije pokazala su da je povišena aktivnost stearoil-CoA desatureze 1 (*SCD1*) povezana s povećanim nakupljanjem masti i desaturacijom zasićenih masnih kiselina u skeletnim mišićima (Zhihua i sur. 2008.). Genotipizacija SNP-ova na Wagyu x Limousin referentnoj populaciji u istraživanju Zhihua i sur. (2008.) otkrila je da je *SCD1* gen značajno povezan s više svojstava taloženja masti i sastava masnih kiselina u skeletnim mišićima, ali ne i sa debljinom potkožne masti i udjelom unutrašnje masti u tjelesnim šupljinama (bubrezi-zdjelica-srce). U istom istraživanju su potvrdili da je visoka aktivnost stearoil-CoA desaturaze 1 pozitivno korelirana sa razinom mramoriranosti mesa, količinom mononezasićenih masnih kiselina (MNMK) i sadržajem konjugirane linoleinske kiseline, ali negativno korelirana s količinom zasićenih masnih kiselina (ZMK). Isto tako, Zhihua i sur. (2008.) navode da je SCD1 enzim, koji katalizira sintezu MNMK, koje su komponente triglicerida, estera voska, kolesteril estera i membranskih fosfolipida, ograničene brzine. Gen je visoko ekspresiran u bijelom i smeđem masnom tkivu u normalnim hranidbenim uvjetima (Zhihua i sur. 2008.).

2.2.6. Kalpastanin (*CAST*)

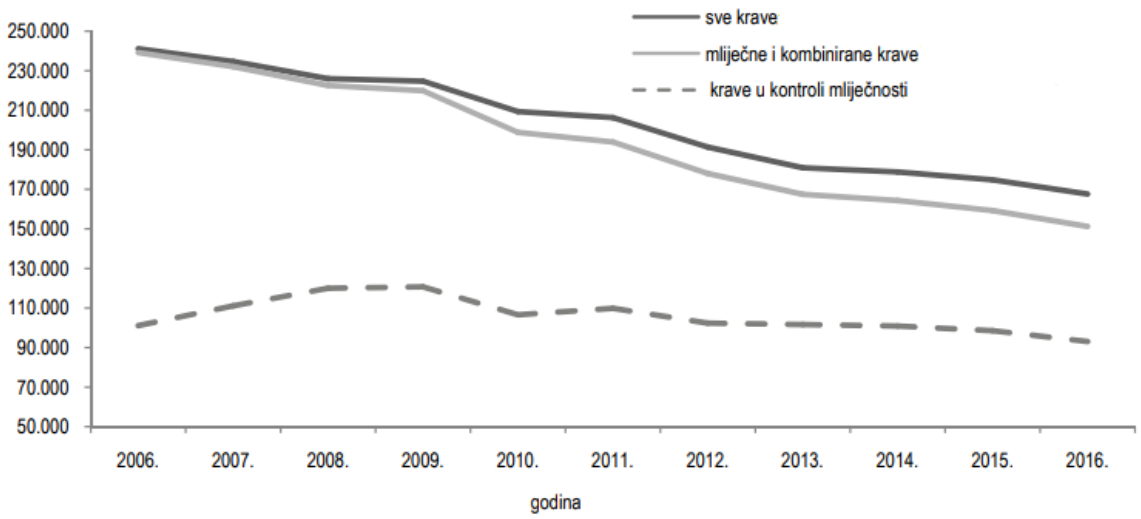
Goveđi kalpastanin (*CAST*) gen, mapiran na kromosomu 7 (BTA7), je kandidat gen za kvalitetu mesa, posebno za *post mortem* zrenje i omekšavanje mesa (Schenkel i sur. 2006.). Serin/treonin supstitucija (S20T) na *CAST* genu (egzon 1C/1D) na poziciji 20 povezana je sa svojstvima mekoće mesa (Juszczuk-Kubiak i sur. 2004.). *CAST* gen funkcionalni je gen za

svojstva trupa i kvalitete goveđeg mesa zbog fiziološke aktivnosti njegovih proteinskih produkata (Kohmaraie 1994.; Curi i sur. 2009.). Dosadašnji rezultati pokazali su višu frekvenciju heterozigotnog genotipa *CAST* C20T polimorfizma kod simentalskog goveda (65.43%) (Ardicli i sur. 2016.). Isto je utvrđeno u istraživanju Juszczuk-Kubiak i sur. (2004.) i Yousefi i Azari (2012.).

2.3. Simentalsko govedo

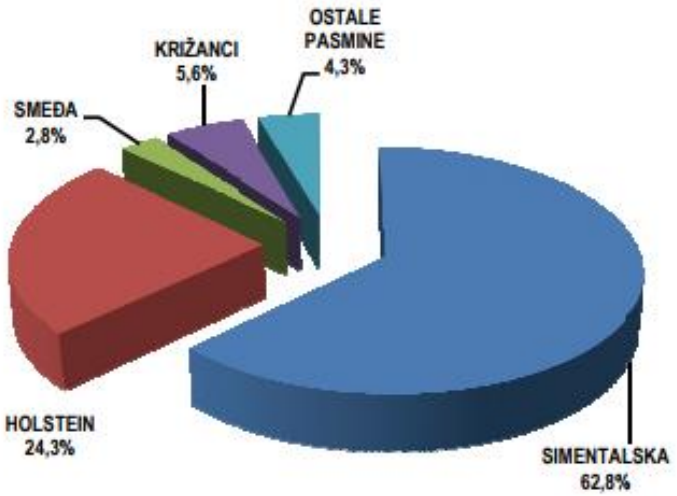
Simentalska pasmina goveda jedna je od najstarijih i najrasprostranjenijih pasmina u svijetu. Kao pasmina spominje se u srednjem vijeku u švicarskim pokrajinama Simmental i Saanenland, po kojima je i dobila ime. Izvrsna radna snaga, dobra tovna sposobnost i veći okvir učinile su ovu pasminu jednom od najpopularnijih u zemljama srednje Europe (Ivanković 2014.). Dalje Ivanković (2014.) navodi da je sustavni uzgojni rad na simentalskoj pasmini započeo 1806. godine utemeljenjem matične knjige u Bernu. Od tada počinje širenje simentalske pasmine diljem svijeta. Tijekom 19. stoljeća pasmina se proširila na područje Rusije i susjednih europskih zemalja, a krajem 19. i početkom 20. stoljeća na područje Sjeverne i Južne Amerike i Afrike. Na području Hrvatske prvi se puta uvozi 1827. godine. Kasnije se uvozi i u druge krajeve Hrvatske, primarno u okolicu Križevaca, Bjelovara, Koprivnice i Vrbovca. Od 1970. godine govedarstvo Hrvatske je temeljeno na simentalcu. Svjetski savez uzgajivača simentalskog goveda (World Simmental Federation) osnovan je u Zagrebu 1974. godine, a na području Europe aktivno je Europsko udruženje uzgajivača simentalskog goveda. Ukupan broj goveda u Republici Hrvatskoj prema izvješću Hrvatske poljoprivredne agencije (HPA) za 2016. godinu iznosio je 462 361 grla, od toga krava 167 628, broj krava mliječnih i kombiniranih pasmina iznosio je 151 274 (Graf 2.3.1.), a unutar njih, simentalskoj pasmini pripada 105 389 krava, što u ukupnom udjelu svih krava odgovara 62,8% (HPA 2016.) (Graf 2.3.2.). Simentalac je snažne konstitucije, prilagođen uvjetima proizvodnje u nizinskim i brežuljkastim krajevima Hrvatske. Boja simentalskog goveda varira od svjetložute do crvene, s bijelim plohama, bijele glave i repa. Tjelesna masa bikova 1100-1350 kg, krava 600-750 kg. Visina bikova u grebenu 145-155 cm, a krava 130-140 cm. Dlaka je mekana, koža srednje debela i djelomično pigmentirana. Porodna masa teladi iznosi 38-40 kg. Dnevni prirasti kreću se od 1200-1500 g. Visoki udio istog mesa u polovicama (62-67%) i mramoriranost svrstavaju ga u red najboljih pasmina za proizvodnju mesa. Prosječna mliječnost u simentalskoj pasmini iznosi 4971 kg mlijeka, s 4,0% m.m. i 3,3% bjelančevina (HPA 2016.). Za sustav krava-tele osobito je pogodan bezrožni simentalac. Premda je simentalac pasmina dvojnih osobina (kombinirana pasmina), afirmirao se i u relativno intenzivnoj proizvodnji mlijeka. U stadima s dobrim menadžmentom može godišnje proizvesti više od 7000 kg mlijeka, zadovoljavajućeg sastava. Ova razina proizvodnje nema negativne posljedice na proizvodnju kvalitetne teladi za tov i kvalitativan sastav polovica. Nešto je nižeg kapaciteta konzumacije suhe tvari krme i troši više energije za uzdržne potrebe. Prednost mu je duži proizvodni vijek i kvalitetna telad za tov. Dobar je izbor u pogledu proizvodnje mlijeka za male farme odnosno mješovita gospodarstva. Simentalac mesnog tipa srednjeg je do velikog okvira, dobre muskulature sapnog, leđnog i lopatičnog dijela. Pogodan je za intenzivne do umjereno intenzivne tehnologije proizvodnje goveđeg mesa, te za uporabna križanja s drugim pasminama (Charolais, Blonde d'Aquitane, Belgian Blue). Postiže dobre priraste, visoki randman, poželjnu kakvoću mesa i udio mišićnog tkiva u

polovicama. Poželjno je podržavati varijabilnost okvira (veličine grla), budući da su grla manjeg okvira pogodna i za nešto ekstenzivnije sustave korištenja.



Graf 2.3.1. Kretanje ukupnog broja krava u RH

Izvor: HPA (2016.)



Graf 2.3.2. Udio simentalske pasmine u pasminskoj strukturi RH

Izvor: HPA (2016.)

3. Hipoteze i cilj istraživanja

Jedan od gena s mogućim utjecajem na metabolizam masti kod goveda je diacilglicerol-O-aciltransferaza 1 (*DGAT1*), koja katalizira završni korak sinteze triglicerida. Ne-konzervativna dinukletidna supstitucija AA/GC i posljedična zamjena lizina alaninom (K232A) u bovinom *DGAT1* genu, prethodno mapiranom na 14 kromosomu, prvo je predložena kao uzročna varijacija s utjecajem na svojstva mliječne masti. Kasnija istraživanja pokazala su značajne utjecaje K/A polimorfizma *DGAT1* gena i na svojstva masnog tkiva u mesu i trupu goveda, pri čemu je KK genotip povezan s jačim nakupljanjem masnog tkiva. Međutim, u nekim od provedenih studija kod tovnih goveda nije utvrđena značajnija povezanost ovog polimorfizma s svojstvima masnog tkiva, te utjecaj *DGAT1* gena u tom pogledu i dalje ostaje nejasan. Navedeno posebno vrijedi za simentalsku pasminu goveda kod koje u dosadašnjim istraživanjima nisu pronađene visoke frekvencije KK genotipa. Stoga istraživanja polazi od pretpostavke da je kod simentalske pasmine utjecaj polimorfizma *DGAT1* gena na svojstva masnog tkiva trupa još uvijek nedovoljno poznat te ga je potrebno dodatno istražiti.

Da bismo potvrdili hipoteze, cilj rada bio je utvrditi:

- frekvencije alela i genotipova SNP-ova *DGAT1* gena na uzorku domaćih tovnih simentalskih bikova i junica iz intenzivnog uzgoja
- povezanost DGAT1 genotipova s stupnjem zamašćenosti trupa
- povezanost DGAT1 genotipova sa sastavom masnih kiselina masnog tkiva (loja)
- utjecaj spola i moguće interakcije (*DGAT1* x spol)

4. Materijali i metode rada

U radu su dijelom korišteni materijali i metode iz istraživanja Karolyi i sur. (2012.).

4.1. Životinje

Istraživanje je provedeno na 26 tovnih simentalskih goveda (13 bikova i 13 junica) u skladu s nacionalnim zakonodavstvom o zaštiti životinja (Narodne novine, 2006). Sve su životinje bile domaćeg podrijetla i uzgojene pod sličnim uvjetima držanja (unutarnji boksovi sa betonskim podovima) i hranjenja (krmna smjesa sastavljena od kukuruznog zrna i silaže kukuruzne stabljike, superkoncentrat i sijena). U vrijeme klanja sve životinje su bile oko godinu dana starosti sa prosječnom živom masom bikova od 510 kg i junica od 455 kg.

4.2. Klanje i klaonička obrada trupa

Životinje su zaklane u komercijalnoj klaonici koristeći standardne procedure koje se sastoje od mehaničkog omamljivanja, vertikalnog iskrvarenja, evisceracije i završnog pranja. Težina toplih trupova izmjerena je bez uklanjanja subkutane masti i bubrega i zdjelične šupljine. Klaonički randman (%) izračunat je kao = (masa toplog trupa / masa prije klanja) *100. Nakon toga je uklonjena je prekomjerna mast s trupa, u području prepona i unutarnjih skladišta masti (bubrezi i zdjelična mast) te izvagana kako bi se dobila vrijednost odstranjene masti. Nakon 48h hlađenja na 4°C, tkivni sastav trupa je procijenjen totalnom disekcijom desne polovice (DLG method, Scheper i Sholz, 1985). Svaki dio trupa je izvagan i razdvojen u mišiće, kosti, mast i vezivno tkivo. Ukupna težina odvojenog tkiva je iskorištena kao nazivnik za računanje udjela određenog tkiva u trupu.

4.3. Analiza tkiva

Nakon 48h *post mortem,* uzorci masnog tkiva (loja) uzeti su iz desne polovice trupa u predjelu osmog rebra i pohranjeni smrznuti na -20°C do analize sastava masnih kiselina (MK). Sastav masnih kiselina određen je pomoću plinske tekuće kromatografije koristeći *in situ* transesterifikacijsku metodu (Park i Goins, 1994.). Sadržaj metilnih estera masnih kiselina (MEMK) je određen koristeći „Agilent Technologies 6890 N“ (USA) plinski kromatograf opremljenu sa detektorom ionizacije plamena i kapilarnom kolonom „Supelco Omegawax^{TM} 320“ (dužina 30 m, unutarnji promjer 0.32 mm i debljina sloja 0.25 mm) za odvajanje MEMK. Izdvojeni MEMK su identificirani usporedbom sa vremenom njihovog zadržavanja u standardnoj smjesi (Nu-Check Prep, Inc, Elysian, USA). Ista smjesa je korištena za određivanje faktora odgovora (eng. *response factor* ili RF) za svaku masnu kiselinu. Maseni udio svake masne kiseline u uzorku je određen koristeći RF i faktor konverzije udjela masnih kiselina iz MEMK. Indeksi desaturacije masnih kiselina su izračunati kao: C14 indeks = C14:1 / (C14:0 + C14:1) * 100, C16 indeks = C16:1 / (C16:0 + C16:1) * 100 i C18 indeks = C18:1 / (C18:0 + C18:1) * 100.

4.4. Genotipiziranje *DGAT1*

Mišićno tkivo (*m. longissimus dorsi* ili MLD) svakog trupa (desne polovice) uzorkovano je 48h *post mortem* u visini 8. rebra i pohranjeno na -80°C. DNA je ekstrahirana sa „DNeasy Blood & Tissue Kit“ (Qiagen GmbH, Germany) prema preporukama proizvođača. „Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism“ (PCR-RFLP) analize su napravljene prema Winter i sur. (2002.). Tako je fragment veličine 411 bp proširen (od *DGAT1* gena) koristeći „forward“: (5'- GCACCATCCTCTTCCTCAAG -3') i „reverse“: (5'- GGAAGCGCTTTCGGATG -3') (Invitrogen) primere i proveden na restrikcijske analize sa enzimom „Cfrl“ (Fermentas). PCR protokol je izvođen u 50 µL restrikcijskom miksu koji sadrži približno 50 ng ukupne DNA, 0.2 µM svakog „forward“ i „reverse“ primera i „Qiagen HotStarTaq®Plus Master mix Kit (Qiagen, GmbH, Germany). PCR je proveden u „iCycler“ (Biorad, USA) i sastoji se od: početnog denaturacijskog koraka na 95°C / 15 min praćen sa 38 ciklusa na 95°C / 60 s, žarenja na 6°C / 60 s i elongacije na 72°C / 60 s sa završnim elongacijskim korakom od 7 min na 72°C. Restrikcijske analize su napravljene u smjesi 18 µL PCR produkta, 2 µL pufera i 0.8 µL restrikcijskog enzima „Cfrl“ (Fermentas) na 37°C / 1 h.

4.5. Statističke analize

Frekvencije genotipova *DGAT1* polimorfizma su testirane na odstupanje od Hardy-Weinberg equilibrium-a (HWE) pomoću Hi-kvadrat testa. Razlike između utjecaja analizirane su analizom varijance kao opći linearni model (eng. General Linear Model ili GLM) koristeći GLM proceduru u (SAS, 2012). Model je uključivao spol i DGAT1 genotip kao glavne efekte i također njihove interakcije, koje su uvijek bile nesignifikantne te su zbog toga uklonjene iz završne analize. Kada je bilo koji od glavnih efekata bio značajan ($p \leq 0.05$), razlike između grupa su analizirane pomoću „Tukey“ provjere. U tablicama su prikazane srednje vrijednosti dobivene metodom najmanjih kvadrata (eng. *Least Square Means* ili LSM) i standardne greške.

5. Rezultati i rasprava

Frekvencije DGAT1 alela i genotipova pokazane su u Tablici 5.1. Kod junica je K alel bio manje učestao (8%) nego kod bikova (27%), sa ukupnom frekvencijom K alela od 17%. Genotipovi su dodijeljeni kao što je definirano u literaturi: AA, KA, KK (Winter i sur. 2002.). Za DGAT1 gen nakon sekvenciranja i kloniranja je otkriveno da nema kombinacije dva alela lizina (KK genotip). Distribucije genotipova za bikove, junice i ukupno nisu odstupale ($p > 0,05$) za HWE očekivanja ($X^2 = 1,49$, 0,12 i 1,028).

Tablica 5.1. Frekvencije genotipova i alela *DGAT1* polimorfizma kod simentalskog goveda

Gen/Spol	Genotipovi i frekvencije[a]			Aleli i frekvencije alela	
DGAT1	KK	KA	AA	K	A
Bikovi	0	6	5	0,27	0,73
Junice	0	2	10	0,08	0,92
Sve životinje	0	8	15	0,17	0,83

[a]Aleli „K“ i „A“ *DGAT1* gena predstavljaju lizin i alanin.
Analiza triju uzoraka nije uspjela

Svojstva i sastav trupa, te svojstva taloženja masti kod bikova i junica i različitih genotipova *DGAT1* polimorfizma su prikazana u Tablici 5.2.

U ovom istraživanju, bikovi su imali veću ($p \leq 0,05$) težinu trupa od junica. Kod mladih zaklanih životinja normalno je da se težina trupa kreće bik > junac > junica (De Smet i sur. 2004.). Jedno od glavnih kvantitativnih svojstava koje utječe na kvalitetu trupa kod goveda je debljina potkožnog masnog tkiva (Moore i sur.2003.). Postotak odstranjene masti s trupa bio je veći ($p \leq 0,05$) kod junica koje su također imale veći udio izdvojenog masnog tkiva u nogama, ramenima,rebrima, vratu, prsima i trbušnom dijelu. Udio masti na stražnjem i prednjem dijelu plećke bio je sličan ($p \leq 0.05$) između spolova, dok u je u gornjem dijelu unutar ramena težio ($p < 0,10$) biti viši kod junica. Uzimajući u obzir sastav trupa, disekcija je pokazala viši ($p \leq 0,05$) udio mišićnog tkiva kod bikova i masnog tkiva kod junica, dok udio kosti i vezivnog tkiva nije bio različit između spolova. Utjecaj *DGAT1* polimorfizma nije bio značajan ($p > 0,05$) niti za jedno od prikazanih svojstava. U istraživanju Kelava i sur. (2013.) prikazano je da DGAT1 polimorfizam nema značajan utjecaj na debljinu potkožnog masnog tkiva, ali KK genotip rezultira većom debljinom loja (0,53 cm). Isti rezultati dobiveni su i od drugih autora analizirajući *Bos taurus* i *Bos indicus* populacije goveda (Casas i sur. 2007.; Fortes i sur. 2009.).

Generalno, nije bilo interakcija između efekata spola i DGAT1 lokusa. Frekvencija K alela (lizin) *DGAT1* gena bila je preniska u istraživanoj populaciji da bi proizvela dovoljan broj KK genotipa i usporedba je napravljena za KA i AA genotipove.

Tablica 5.2. Utjecaj spola i *DGAT1* genskog polimorfizmana na svojstva zamašćenosti trupa kod simentalskog goveda

Varijable	Spol		p	*DGAT1*		p
	Bikovi (n=13)	Junice (n=13)		AA (n=15)	KA (n=8)	
Težina trupa (kg)	278,1 ±6,7	244,9 ±7,3	*	265,4 ±5,9	257,6 ±8,2	ns
Odstranjena mast (kg)	12,30 ±1,02	17,50 ±1,30	*	14,30 ±0,92	15,50 ±1,37	ns
Odstranjena mast (%)	4,02 ±0,28	6,21 ±0,30	*	5,07 ±0,25	5,16 ±0,34	ns
Masno tkivo (%) u:						
Stražnji dio plećke	6,22 ±0,51	6,35 ±0,56	ns	6,16 ±0,46	6,41 ±0,63	ns
Noga	4,37 ±0,45	5,95 ±0,49	*	5,31 ±0,40	5,00 ±0,55	ns
Leđa	4,67 ±0,74	6,42 ±0,81	ns	5,62 ±0,66	5,47 ±0,91	ns
Trbuh	16,67 ±1,65	22,21 ±1,80	*	20,97 ±1,47	17,91 ±2,02	ns
Rebra	18,77 ±1,90	24,90 ±2,07	*	20,37 ±1,69	23,29 ±2,33	ns
Gornji dio unutar ramena	6,11 ±0,61	7,94 ±0,66	t	7,67 ±0,54	6,37 ±0,74	ns
Vrat	4,36 ±0,66	7,69 ±0,72	*	6,33 ±0,59	5,71 ±0,81	ns
Donji dio unutar ramena	15,13 ±1,31	23,80 ±1,43	*	19,28 ±1,17	19,65 ±1,61	ns
Prsa	16,97 ±1,34	22,77 ±1,46	*	19,15 ±1,19	20,59 ±1,64	ns
Rame	7,24 ±0,71	10,66 ±0,77	*	9,25 ±0,63	8,66 ±0,87	ns
Prednji dio plećke	1,45 ±0,14	1,51 ±0,15	ns	1,56 ±0,12	1,39 ±0,17	ns
Sastav trupa (%):						
Mišićno tkivo	70,38 ±0,58	66,93 ±0,63	*	68,65 ±0,51	68,67 ±0,70	ns
Masno tkivo	7,53 ±0,62	10,79 ±0,67	*	9,23 ±0,55	9,10 ±0,76	ns
Koštano tkivo	16,33 ±0,2	15,97 ±0,26	ns	16,39 ±0,22	15,92 ±0,30	ns
Vezivno tkivo	5,73 ±0,32	6,37 ±0,35	ns	5,75 ±0,29	6,34 ±0,40	ns

ns= p>0,05; t = p ≤0,10; * = p ≤0,05

Izvor: Karolyi i sur. (2012.)

Utjecaj spola i *DGAT1* genskog polimorfizma na sastav masnih kiselina loja prikazan je u Tablici 5.3.

Tablica 5.3. Utjecaj spola i *DGAT1* genskog polimorfizma na sastav masnih kiselina loja (g/100g MK) kod simentalskog goveda

Varijable	Spol		p	*DGAT1*		p
	Bikovi (n=13)	Junice (n=13)		AA (n=15)	KA (n=8)	
C10:0	0,05 ±0,002	0,04 ±0,003	ns	0,04 ±0,002	0,04 ±0,003	ns
C12:0	0,08 ±0,003	0,07 ±0,004	ns	0,07 ±0,003	0,07 ±0,005	ns
C14:0	3,57 ±0,16	3,07 ±0,20	t	3,33 ±0,14	3,31 ±0,21	ns
C14:1	0,46 ±0,06	0,62 ±0,08	ns	0,49 ±0,05	0,58 ±0,08	ns
C15:0	0,76 ±0,23	0,69 ±0,29	ns	0,85 ±0,21	0,60 ± 0,30	ns
C16:0	24,04 ±0,56	23,09 ±0,71	ns	23,64 ±0,50	23,49 ±0,75	ns
C16:1	2,55 ±0,26	3,29 ±0,33	t	2,88 ±0,23	2,96 ±0,35	ns
C17:0	2,30 ±0,09	1,76 ±0,12	*	2,15 ±0,08	1,91 ±0,12	ns
C18:0	21,75 ±1,02	16,94 ±1,31	*	19,50 ±0,93	19,21 ±1,39	ns
C18:1	39,95 ±0,84	46,96 ±1,08	*	43,15 ±0,76	43,25 ±1,39	ns
C18:2n-6	3,42 ±0,11	2,49 ±0,14	*	2,96 ±0,10	2,95 ±0,15	ns
C18:3n-6	0,009 ±0,0007	0,01 ±0,0009	*	0,01 ±0,0006	0,01 ±0,001	ns
C18:3n-3	0,24 ±0,007	0,18 ±0,009	*	0,21 ±0,006	0,21 ±0,009	ns
C20:0	0,15 ±0,008	0,10 ±0,01	*	0,13 ±0,007	0,12 ±0,01	ns
C20:1	0,30 ±0,03	0,43 ±0,03	*	0,37 ±0,03	0,37 ±0,4	ns
C20:2n-6	0,04 ±0,002	0,04 ±0,002	ns	0,04 ±0,002	0,04 ±0,003	ns
C20:3n-6	0,03 ±0,005	0,08 ±0,006	*	0,05 ±0,004	0,06 ±0,007	ns
C20:4n-6	0,03 ±0,003	0,06 ±0,004	*	0,05 ±0,002	0,05 ±0,004	ns
C22:2n-6	0,04 ±0,004	0,03 ±0,005	*	0,04 ±0,004	0,04 ±0,006	ns
C22:4n-6	0,01 ±0,003	0,04 ±0,004	*	0,02 ±0,002	0,03 ±0,004	ns
C22:5n-3	0,01 ±0,002	0,03 ±0,003	*	0,02 ±0,002	0,02 ±0,003	ns
ΣZMK	52,69 ±1,01	45,76 ±1,30	*	49,71 ±0,91	48,76 ±1,37	ns
ΣMNMK	43,27 ±0,99	51,30 ±1,27	*	46,91 ±0,90	47,67 ±1,34	ns
ΣPNMK	3,85 ±0,11	2,97 ±0,15	*	3,40 ±0,11	3,42 ±0,16	ns
C 14 indeks	11,22 ±1,25	16,75 ±1,60	*	12,99 ±1,13	14,99 ±1,69	ns
C 16 indeks	9,54 ±0,70	12,33 ±0,90	*	10,73 ±0,64	11,14 ±0,94	ns
C 18 indeks	64,81 ±1,40	73,56 ±1,79	*	68,92 ±1,26	69,45 ±1,88	ns

ns= p>0,05; t = p ≤0,10; * = p ≤0,05.

Junice su imale viši (p ≤0,05) udio ukupnih i individualnih mononezasićenim masnim kiselinama (MNMK) u loju i više (p ≤0,05) indekse desaturacije: C14, C16 i C18. Bikovi su u sastavu loja imali više (p ≤0,05) ukupnih i neke individualne zasićene masne kiseline (ZMK) (C10:0, C12:0, C15:0, C18:0 i C20:0) i viši (p ≤0,05) udio ukupnih polinezasićenih masnih kiselina (PNMK).

Simentalska pasmina znana je kao kombinirani pasminski tip koji se koristi za dvojne proizvodne svrhe (meso i mlijeko) u Hrvatskoj se mijenjala tijekom godina u skladu s promjenom uzgojnih ciljeva (Štoković i sur. 2009.). Frekvencije alela i genotipova *DGAT1* genskog polimorfizma dobivene u ovom istraživanju na 26 simentalskih bikova i junica podudaraju se s naznakama opisanim u literaturi (Kaupe i sur. 2004.; Hanusova i sur. 2014.).

U ovom istraživanju, genotip AA, K232A polimorfizma, značajno je prevladao nad KA, dok homozigotan genotip KK nije pronađen. Isti rezultati dobiveni su od strane Hanusova i sur. (2014.) u istraživanju provedenom u Češkoj na simentalskoj populaciji bikova. U istom istraživanju, frekvencija A alela (0,945) predominira nad K alelom (0,055) što je u suglasju s rezultatima dobivenim i u ovom istraživanju u kojem je analizirana grupa imala frekvenciju A alela višu (0,73) od frekvencije K alela (0,27). Rezultate koji se slažu s ovim i prijašnjim istraživanjima dali su Ardecli i sur. (2016.), dobivši u svome istraživanju na simentalskim bikovima frekvenciju AA genotipa 82,71%, koji je znatno prevladavao nad KA, dok homozigotni genotip KK nije pronađen.To je drugačije od frekvencija pronađenih u njemaškom Holsteinu (Hradecka i sur. 2008.), gdje su pronađene frekvencije 0,660 i 0,340, ali spomenuta pasmina je križana sa Jersey pasminom. Thaller i sur. (2003.) dobili su frekvencije alelnih varijanti kodiranih za K alel u njemačkom Holsteinu od 0,548. Cjelokupna frekvencija promotrenog K alela od 17% u ovom istraživanju viša je nego one dobivene za simentalsku populaciju goveda u drugim zemljama, u rasponu od 1% u Italiji (Scotti i sur. 2010.) do 6% u Irskoj (Pannier i sur. 2002.).

Kako navode Grisart i sur (2002.) K je vjerojatno ancstralni oblik alela te je njegova frekvencija indirektno pod utjecajem selekcije i pada kod selekcije za viši prinos mlijeka. Niska frekvencija K alela pronađena u istraživanju Hanusova i sur. (2014.) podrazumijeva indirektnu selekciju kao posljedicu svojstava prinosa proteina u mlijeku u češkom simentalskom govedu u zadnjim desetljećima. Povrh toga, češki simentalac je oplemenjen koristeći Ayrshire i Red Holstein goveda s ciljem poboljšanja sastava mlijeka i provedeno križanje može imati utjecaj na frekvencije u DGAT1 polimorfnom lokusu (Hanusova i sur. 2014.). Isto navode i Winter i sur. (2002.) koji ukazuju da je moguće da je neka viša frekvencija DGAT1 K alela, promotrenih u prijašnjim istraživanjima, rezultat čestog uvoza uzgojnih životinja iz Njemačke, a u njemačkom Fleckvieh simentalcu lizin (K) kodirajući alel je povezan s visokim uzgojnim vrijednostima za udio mliječne masti.

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju da je količina potkožne masti, diseciranog masnog tkiva u trupu i većini njegovih djelova značajno viša kod junica nego kod bikova. Junice imaju više nakupljenog masnog tkiva (loja) sa većim udjelom mononezasićenih masnih kiselina (MNMK), dok bikovi imaju više zasićenih (ZMK) i polinezasićenih masnih kiselina (PNMK). U istraživanju Karolyi i sur. (2012.) na istim životinjama utvrđeni su vrlo slični masno-kiselinski profili za intramuskularnu mast MLD-a kod bikova i junica. Veća mišićna zamašćenost kod junica također je bila povezana sa značajno višim indeksom desaturacije masnih kiselina i udjelom MNMK i nižim udjelom ZMK u usporedbi s bikovima (Karolyi i sur. 2012.).

U ovom istraživanju nije pronađen utjecaj DGAT1 lokusa na taloženje masti i sastav masnih kiselina masnog tkiva (loj). Nedostatak povezanosti između goveđeg DGAT1 polimorfizma, ali s nakupljanjem intramuskularne masti, već je objavljen (Fortes i sur. 2009.; Pannier i sur. 2010.; Karolyi i sur. 2012.). U slučaju *DGAT1* gena, A alel je predstavljan u jednom od haplotipova povezanih s nižim procjenjenim uzgojnim vrijednostima (PUV) za potkožno masno tkivo. Nije pronađena značajna povezanost između DGAT1 alela i PUV potkožnog masnog tkiva (Moore i sur. 2003.). Nedostatak značajne povezanosti između alela *DGAT1* gena i PUV potkožnog masnog tkiva i niska frekvencija K alela kod goveda može biti pokazatelj bitne

uloge za druge gene u metabolizmu masti goveda (Cases i sur. 2001.). Također, u istraživanju Casas i sur. (2005.) DGAT1 polimorfizam nije pokazao utjecaj na debljinu potkožnog masnog tkiva.

6. Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja goveđeg *DGAT1* genskog polimorfizma u Hrvatskoj populaciji simentalskih bikova i junica, potvrđena je niska varijabilnost u DGAT1 lokusima sa niskom frekvencijom lizin (K) alela. Nije pronađen KK genotip u istraživanoj populaciji što je već opisano za simentalsku pasminu u literaturi u kojoj, ili nije pronađen, ili se pojavljuje u jako niskoj frekvenciji. Očekivano, junice su imale veći stupanj zamašćenosti trupa sa više mononezasićenih masnih kiselina (MNMK) u loju, dok su bikovi imali više zasićenih (ZMK) i polinezasićenih masnih kiselina (PNMK). Nije utvrđena interakcija između spola i DGAT1 genskog polimorfizma. Slični (P>0,05) masno-kiselinski profili i C14:0, C16:0 i C18:0 indeksi desaturacije masnih kiselina u KA heterozigota i AA homozigota ne ukazuju na povezanost *DGAT1* polimorfizma sa svojstvima taloženja tjelesne masti i sastavom masnih kiselina u istraživanom uzorku simantalske pasmine goveda. Treba uzeti u obzir da je ovo istraživanje provedeno na malom populacijskom uzorku (n=26) bez testiranih nositelja lizin homozigota, što ukazuje na potrebu daljnjih istraživanja.

7. Popis Literature

1. Aass L., Fristed C. G., J. D. Gresham. (2009). Ultrasound prediction of intramuscular fat content in lean cattle. Livest. Sci. 125: 177–186

2. Ailhaud G., Grimaldi R., Negrel R. (1992). Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. Annu. Rev. Nutr. 12: 207-33

3. Ardicli S., Dincel D., Samli H., Balci F. (2016). Effects of polymorphisms at LEP, CAST, CAPN1, GHR, FABP4 and DGAT1 genes on fattening performance and carcass traits in Simmental bulls. Arch. Anim. Breed. 60: 61–70

4. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. http://atvb.ahajournals.org/content/25/3/482 → https://goo.gl/kMqxme Pristupljeno: 28. kolovoza 2017.

5. Avilйs C., Polvillo O., Pena F., Juarez M., Martinez A. L., Molina A. (2015). Associations between DGAT1, FABP4, LEP, RORC, and SCD1 gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. Animal Biotechnology. 26(1): 40-44

6. Barendse W. (1997). Assessing lipid metabolism, Australia Patent Application WO9923248 PCT/AU98/00882

7. Barendse W. J. (1999). Assessing lipid metabolism. International Patent Application PCT/AU98/00882. International Patent Publication Number WO 99/23248

8. Buchanan F. C., Fitzsimmons C. J., A. G. Van Kessel, T. D. Thue, D. C. Winkelman-Sim., Schmutz S. M.. (2002). Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. Genet. Sel. Evol. 34: 105‑116

9. Buchanan F. C., Van Kessel A. G., Waldner C., Christensen D. A., Laarveld B., Schmutz S. M. (2003). Hot Topic: An association between a leptin single nucleotide polymorphism and milk and protein yield. J. Dairy. Sci. 86: 3164-3166

10. Casas E., Shackelford S. D., Keele J.W., Koohmaraie M., Smith, T. P., Stone, R. T. (2003). Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. J. Anim. Sci. 81: 2976–2983

11. 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 Jr. C. C. (2005). Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for

association with carcass composition traits in Bos indicus cattle. J. Anim. Sci. 83: 13-19

12. Cases S., Smith S. J., Zheng Y. W., Myers H. M. (1998). Identification of a gene encoding an acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 13018-13023

13. Cheong H. S., Yoon D. H., Park B. L., Kim L. H., Bae J. S., Namgoong S., Lee H.W., Han C. S., Kim J. O., Cheong I. C., Shin H. D. (2008). A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. BMC Genet. 9: 33–39

14. Coppieters W., Riquet J., Arranz J., Berzi P., Cambisano N., Grisart B., Karim L., Marcq F, Moreau L., Nezer C., Simon P., Vanmanshoven P., Wagenaar D., Georges M. (1998). A QTL with major effect on milk yield and composition maps to the bovine chromosome 14. Mamm. Genome. 9: 540-544

15. Corva P., Soria L., Schor A., Villarreal E., Cenci M. P., Motter M., Mezzadra C., Melucci L., Miquel C., Paván E. (2007.) Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in Bos taurus beef cattle from Argentina. Genet. Mol. Biol. 30: 1064–1069

16. Crouse J. D., Cundiff L. V., Koch R. M., Koomaraie M., Seidman S. C. (1989). Comparisons of Bos indicus and Bos taurus inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. J. Anim. Sci. 67: 2661-2668

17. Curi R., Chardulo L., Mason M., Arrigoni M., Silveira A., De Oliveira H. (2009). Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nellore beef cattle (Bos indicus) and in their crosses with Bos taurus. Anim. Genet. 40: 456–462

18. Curi R. A., Chardulo L. A. L., Arrigoni M. D. B., Silveira A. C., de Oliveira H. N. (2011). Associations between LEP, DGAT1 and FABP4 gene polymorphisms and carcass and meat traits in Nelore and crossbred beef cattle. Livestock Science. 135: 244–250

19. De Smet S., Raes K., Demeyer D. (2004). Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors. Anim. Res. 53: 81-98

20. Di Stasio L., A. Brugiapaglia M. Galloni G. Destefanis i C. Lisa. (2007). Effect of the leptin c.73T>C mutation on carcass traits in beef cattle. Anim. Genet. 38: 316‑317

21. Folley S. J. i Malpress F. H. (1948). Hormonal control on mammary growth. In: Pincuss G and Thimamm KV (eds) The Hormones. 1st edition. Academic Press. New York. pp 695-743

22. Fortes M. R. S., Curi R. A., Chardulo L. A. L, Silveira A. C., Assumpção MEOD, Visintin J. A. i sur. (2009). Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. Genet. Mol. Biol. 32: 75-82

23. Gerbens F., Jansen A., Van Erp A. J. M., Harders F., Meuwissen T. H. E., Rettenberger G. i sur. (1998). The adipocyte fatty acid-binding protein locus: Characterisation and association with intramuscular fat content in pigs. Mammalian Genome. 9: 1022–1026

24. Gerbens F., D. J. de Koning, Harders F. L., Meuwissen T. H. E., Janss L. L.. G., Groenen M. A. M., Veerkamp J. H., J. A. M. Van Arendonk i M. F. W. te Pas. (2000). The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs. J. Anim. Sci. 78: 552–559

25. Gill J. L., Bishop S. C., McCorquodale C., Williams J. L., Wiener P. (2009). Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. Genet. Sel. Evol. 41: 36–47

26. Grisart B., Coppieters W., Farnir F., Karim L., Ford C., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Richard Spelman, Georges M., Snell R. (2001). 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. 12: 222-231.doi:10.1101/gr.224202[online] <http://genome.cshlp.org/content/12/2/222.full?sid=d3318f60-1d8a-436d-9dc6-7c8d07c4c379>.Pristupljeno 25. srpnja 2017.

27. Grisart B., Farnir F., Karim L., Cambisano N., Kim J. J., Kvasz A., Mni M., Simon P., Frere J. M., Coppieters W., Georges M. (2004). Genetic and functional confirmation of the causality of the *DGAT1 K232A* quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 101: 2398–2403

28. Hanusová L., Míková A., Večerek L., Schroeffelová D., Řehout V., Tothová L., Vernerová K., Hosnedlová B., Čítek J. (2014). Effect of DGAT1 polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires. Czech J. Anim. Sci. 59(8): 365–373

29. Hradecka E., Citek J., Panicke L., Rehout V., Hanusova L. (2008). The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. Czech Journal of Animal Science. 53: 238‑245

30. Hrvatska poljoprivredna agencija (HPA). (2016). Govedarstvo. Izvješće za 2016. godinu. http://www.hpa.hr/godisnja-izvjesca/ Pristupljeno: 14. rujna 2017.

31. Ivanković A. (2014). Uzgoj i korištenje goveda- radni materijal. Agronomski fakultet u Zagrebu

32. István A., Kovacs K, Hollo G., Farkas V., Lehel L., Hajda Z., Zsolnai A. (2011). Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. Livestock Science. 135: 300–303

33. István A., Kovács K., Holló G., Farkas V., Szabó F., István E., f Rátky J., Zsolnai A. i Brüssow K. P. (2012). Effect of *DGAT1*, *leptin* and *TG* gene polymorphisms on some milk production traits in different dairy cattle breeds in Hungary. Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany. 55(4): 307-314

34. Jakopović I. (2007). Uzgoj simentalaca u Hrvatskoj. 27th Congress European Simmental Federation. Stočarstvo. 61(5): 379-394

35. Ji S., Willis G. M., Scott R. R., Spurlock M. E. (1998). Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. Anim. Biotechnol. 9: 1-4

36. Jeremiah L. E. (1996). The influence of subcutaneous fat thickness and marbling on beef: Palatability and consumer acceptability. Food Res. Int. 29: 513–520

37. Juszczuk-Kubiak E., Rosochacki S. J., Wicinska K., Szreder T. S. (2004). A novel RFLP/AluI polymorphism of the bovine calpastatin (CAST) gene and its association with selected traits of beef. Anim. Sci. Pap. Rep. 22: 195–204

38. Karolyi D., Čubrić-Čurik V., Salajpal K., Đikić M. (2012). The effect of sex and DGAT1 gene polimorphism on fat deposition traits in Simmental beef cattle. Acta Veterinaria (Beograd). 62: 91-100

39. Kaupe B., Winter A., Fries R., Erhardt R. (2004). DGAT1 polymorphism in Bos indicus and Bos taurus cattle breeds. J. Dairy. Res. 71(2): 182-7

40. Komisarek J., Waskowicz K., Arkadiusz Michalak A., Dorynek Z. (2004). Effects of DGAT1 variants on milk production traits in Jersey cattle. Department of Cattle Breeding. 22(3): 307-313

41. Kelava Nikolina., Konjačić M., Ivanković A. (2013). Effect of TG and DGAT1 polymorphisms on beef carcass traits and fatty acid profile. Acta Veterinaria (Beograd). 63: 89-99

42. Koohmaraie M. (1994). Muscle proteinases and meat aging. Meat Sci. 36: 93–104

43. 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. (2006). *DGAT1 K232A* polymorphism in Brazilian cattle breeds. Genet. Mol. Res. 5: 475-482

44. Li X., Ekerljung M., Lundstrom K., Lunden A. (2013). Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. Meat Science. 94: 153–158

45. Liefers S. C., te Pas M. F. W., Veerkamp R. F., van der Lende T. (2002). Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. J. Dairy. Sci. 85: 1633-1638

46. Lien S., H. Sundvold, H. Klungland i D. I. Vage. (1997). Two novel polymorphisms in the bovine obesity gene (OBS) . Anim. Genet. 28: 238‑246

47. Looft C., Reinsch N., Karall-Albrecht C., Paul S., Brink M., Thomsen H., Brockmann G., Kuhn C., Schwerin M., Kalm E. (2001). A mammary gland EST showing linkage disequilibrium to a milk production QTL on bovine chromosome 14. Mammalian Genome. 12: 646–650

48. Matarese V. i Bernlohr D. A. (1988). Purification of murine adipocyte lipid-binding protein: Characterisation as a fatty acid-and retinoic acid-binding protein. Journal of Biological Chemistry. 263: 14544–14551

49. McPeake C. A. (2003). Marker assisted selection for beef palatability characteristics. Proceedings of Beef Improvement Federation. 35th Annu. Res. Symp. Annu Meeting. Lexington. KY 67-73

50. Michal J. J., Zhang Z. W., Gaskins C. T. i Jiang Z. (2006). The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. Animal Genetics. 37: 400–402

51. Miquel M. C., Villarreal E., Mezzadra C., Melucci L., Soria L., Corva P. i Schor A. (2009). The association of CAPN1 316 marker genotypes with growth and meat quality traits of steers finished on pasture. Genet. Mol. Biol. 32: 491–496

52. Moore S. S., Li C., Basarab J., Snelling W. M., Kneeland J., Murdoch B. et al. (2003). Fine mapping of quantitative trait loci and assessment of positional candidate genes for backfat on bovine chromosome 14 in a commercial line of Bos Taurus. J. Anim. Sci. 81: 1919-25

53. Narodne Novine. (2006). Zakon o zaštiti životinja. NN br. 135/2006

54. Nature reviews endocrinology. http://www.nature.com/nrendo/journal/v11/n10/abs/nrendo.2015.122.html?foxtrotcallback=true → < https://goo.gl/6H2WHB > Pristupljeno: 25. srpnja 2017.

55. Nkrumah J. D., Li C., Yu J., Hansen C., Keisler D. H., Moore S. S. (2005). Polymorphisms in the bovine *leptin* promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. J. Anim. Sci. 83: 20-28

56. Page B. T., Casas E., Quaas, R. L., Thallman R. M., Wheeler T. L., Shackelford S. D., Koohmaraie M., White, S. N., Bennett G. L., Keele J.W., Dikeman M. E. i Smith T. P. (2004). Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. J. Anim. Sci. 82: 3474–3481

57. Pannier L., Mullen A. M., Hamill R. M., Stapleton P. C., Sweeney T. (2010). Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred Bos taurus cattle. Meat Sci. 85: 515-8

58. Park P. W., Goins R. E. (1994). In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. J. Food Sci. 59: 1262-6

59. Pinto L. F., Ferra, J. B., Meirelles F. V., Eler J. P., Rezende F. M., Carvalho M. E., Almeida H. B. i Silva R. C. (2010). Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. Genet. Mol. Res. 9: 1431–1442

60. Pintos D. i Corva P. M. (2011). Association between molecular markers for beef tenderness and growth traits in Argentinian angus cattle. Anim. Genet. 42: 329–332

61. Riquet J., Coppieters W., Cambisano N., Arranz J. J., Berzi P., Davis S. K., Grisart B., Farnir F., Karim L., Mni M., Simon P., Taylor J. F., Vanmanshoven P., Wagenaar D., Womack J. E., Georges M. (1999). Fine-mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbred populations: application to milk production in dairy cattle. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 96: 9252–9257

62. Sanders K., Bennewitz J., Reinsch N., Thaller G., Prinzenberg E. M., Kuhn C., Kalm E. (2006). Characterization of the *DGAT1* mutations and the *CSN1S1* promoter in the German Angeln dairy cattle population. Journal of Dairy Science. 89: 3164–3174

63. SAS, 2012, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

64. Schenkel F., Miller S., Jiang, Z., Mandell I., Ye X., Li H. i Wilton J. (2006). Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. J. Anim. Sci. 84: 291–299

65. Scheper J., Scholz W. (1985). DLG-Schnittführung für die Zerlegung der Schlachtkörper von Rind, Kalb, Schwein und Schaf, Arbeitsunterlagen DLG, DLG-Verlag, Frankfurt/Main

66. Scotti E., Fontanesi L., Schiavini F., La Mattina V., Bagnato A., Russo V. (2010). DGAT1 p.K232A polymorphism in dairy and dual purpose Italian cattle breeds. Ital. J. Anim. Sci. 9: 79-82

67. Shin S. C., Heo J. P. i Chung, E. R.(2012). Genetic variants of the FABP4 gene are associated with marbling scores and meat quality grades in Hanwoo (Korean cattle). Mol. Biol. 39: 23–30

68. Sillence M.N. (2004). Technologies for the control of fat and lean deposition in livestock. Vet J. 167: 242-257

69. Soria L. A., Corva P., Huguet M., Mino S. i Miquel M. (2010). Bovine μ -calpain (CAPN1) gene polymorphisms in Brangus and Brahman bulls. J. Basic Appl. Sci. 21: 61–69

70. Souza F. R. P., Mercadante M. E. Z., Fonseca L. F. S., Ferreira L. M. S., Regatieri I. C., Ayres D. R. et al. (2010). Assessment of DGAT1 and LEP gene polymorphisms in three Nelore (Bos indicus) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. J. Anim. Sci. 88: 435 41

71. Spelman R. J., Ford C. A., McElhinney P., Gregory G. C., et al. (2002). Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. J. Dairy Sci. 85: 3514-3517

72. Stone R. T., Kappes S. M., Beattie C. W. (1996). The bovine homolog of the obese gene maps to chromosome 4. Mamm. Genome. 7: 399-400

73. Štoković I., Karadjole I., Križanović D., Boži P., Ekert Kabalin A., Karolyi D. (2009). The trend of body tissues share of Simmental cattle in about twenty years period. Ital. J. Anim. Sci. 8: 3- 116-8

74. Tait R. G., Shackelford S. D., Wheeler T. L., King D. A., Keele J.W., Casas E., Smith T. P. i Bennett G. L. (2014). CAPN1, CAST, and DGAT1 genetic effects on preweaning performance, carcass quality traits, and residual variance of tenderness in a beef cattle population selected for haplotype and allele equalization. J. Anim. Sci. 92: 5382–5393

75. Tantia M. S., Vijh R. K., Mishra B. P., Mishra B., Bharani Kumar S. T., Sodhi M. (2006). DGAT1 and ABCG2 polymorphism in Indian cattle (Bos indicus) and buffalo (Bubalus bubalis) breeds. Bio-Med Central Vet. Res. 2: e32

76. Thaller G., Kuhn C., Winter A., Ewald G., Bellmann O., Wegner J. et al. (2003). DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. Anim. Genet. 34: 354-7

77. Weller J. I., Golik M., Seroussi E., Ezra E., et al. (2003). Population-wide analysis of a QTL affecting milk-fat production in the Israeli Holstein population. *J*. *Dairy Sci*. 86: 2219-2227

78. Winter A., Alzinger A., Fries R. (2004). Assessment of the gene content of the chromosomal regions flanking bovine DGAT1. Genomics. 83: 172–180

79. Winter A., Kramer W., Werner F. A. O., Kollers S., Kata S., Durstewitz G., Buitkamp J., Womack J. E., Thaller G., Fries R. (2002). Association of lysine 232 alanine polymorphism in bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 99: 9300–9305

80. Wu X. X,. Yang Z. P., Shi X. K., Li J. Y., Ji D. J., Mao Y. J., Chang L. L., Gao H. J. (2012). Association of SCD1 and DGAT1 SNPs with the intramuscular fat traits in Chinese Simmental cattle and their distribution in eight Chinese cattle breeds. Mol. Biol. Rep. 39: 1065–1071

81. Yousefi S. i Azari, M. A. (2012). Study of Calpastatin Gene Polymorphism in Holstein Cattle and Buffalo. Anim. Sci. Biotech., 45: 285–288

82. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 372: 425-432

83. Zhihua J., Jennifer J. M. , David J. T., Tyler F. D., Daniel C. R. i M. Zhihua Jiang. (2008). Significant associations of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) gene with fat deposition and composition in skeletal muscle. Int. J. Biol. Sci. 4(6): 345-351

84. http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/bodyweight/leptin.html → https://goo.gl/bYG5sT Pristupljeno: 25. srpnja 2017.

Životopis

Valentina Vrančić rođena je 30. ožujka 1994. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završava 2008. godine, a opću gimnaziju Lucijana Vranjanina u Zagrebu završava 2012. godine. Godine 2012. upisuje preddiplomski studij „Animalne znanosti“ na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Studij Animalnih znanosti završava 2015. godine čime je stekla akademski naziv sveučilišna prvostupnica (baccalaurea) inženjerka animalnih znanosti. Diplomski studij „Genetika i oplemenjivanje životinja“ upisuje 2015. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Služi se računalnim operativnim sustavom „Microsoft Windows“ i programskim paketom „Microsoft Office“. Pasivno se služi engleskim jezikom u govoru i pismu.