

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

Amanda Silva de Azevedo

ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DOS GENES DA MIOSTATINA E DA LEPTINA E
SUA ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DE CARÇA DE ANIMAIS SANTA
INÊS E CRUZADOS COM DORPER

Campos dos Goytacazes - RJ

2014

Amanda Silva de Azevedo

ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DOS GENES DA MIOSTATINA E DA LEPTINA E
SUA ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA DE ANIMAIS SANTA
INÊS E CRUZADOS COM DORPER

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração de Melhoramento Animal e Biotecnologia da Reprodução”.

Orientadora: Prof^a Celia Raquel Quirino

Campos dos Goytacazes - RJ

2014

ii

Amanda Silva de Azevedo

ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DOS GENES DA MIOSTATINA E DA LEPTINA E
SUA ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA DE ANIMAIS SANTA
INÊS E CRUZADOS COM DORPER

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração de Melhoramento Animal e Biotecnologia da Reprodução”.

Aprovada em 21 de fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

Aline Pacheco (Dr^a. Ciência Animal)

Prof. Álvaro Fabrício Lopes Rios (Dr. Ciências Biológicas – Genética)

Prof^a. Aparecida de Fátima Madella de Oliveira (Dr^a. Ciência Animal)

Prof^a. Celia Raquel Quirino (Dr^a Ciência Animal)

Campos dos Goytacazes - RJ

2014

Dedico aos meus pais Álvaro e Jocila e às minhas irmãs Livia e Hellen.

AGRADECIMENTOS

A Deus;

Aos meus pais, Álvaro e Jocila, que em cada palavra e gesto de carinho me deram força e equilíbrio necessários para concluir esta etapa;

À minha irmã Lívia, por me mostrar que a vida é muito mais do que qualquer problema passageiro; à minha irmã Hellen, com quem pude exercer minha grande terapia: a maquiagem;

A todos da minha família, que sempre torceram por mim, em especial aos meus tios e padrinhos Josete, Joceli e Geraldo;

A Uilian, por fazer os meus dias mais contentes e por diariamente me falar palavras de carinho diante das dificuldades encontradas, permitindo que eu não esmorecesse;

À Prof^a Celia, por toda atenção, incentivo, orientação e por me ter dado a oportunidade de desbravar novos conhecimentos;

À Prof^a Aparecida, pela contribuição e parceria no trabalho;

Ao Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre, onde parte da pesquisa teve início;

Ao Prof. Álvaro, pela grande ajuda fornecida e por ter esclarecido muitas das minhas dúvidas;

Ao Professor Renato, por atender a algumas necessidades essenciais de pesquisa;

A todos os colegas de Laboratório, pelo convívio diário e auxílio no trabalho realizado;

Aos meus amigos de longas datas Ettory, Larissa e Vitor, os quais tive a sorte de encontrar;

À minha amiga Paula, que sempre estendeu a mão quando precisei;

À FAPERJ/UENF, pelo apoio à pesquisa.



Autor: Quino

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 Objetivos gerais	4
2.2 Objetivos específicos	4
3 REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 A ovinocultura no Brasil e no mundo.....	5
3.2 Melhoramento Genético aplicado à produção animal	8
3.3 Características quantitativas de carcaça.....	10
3.4 Marcadores moleculares.....	12
3.5 Genes relacionados com características de carcaça.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
4 TRABALHOS	29
4.1 Avaliação dos efeitos do grupo genético, sexo e ano sobre as características da carcaça de ovinos Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper	29
4.1.1 RESUMO	29
4.1.2 ABSTRACT.....	30
4.1.3 Introdução.....	31
4.1.4 Material e Métodos	32
4.1.4.1 Amostras utilizadas.....	32
4.1.4.2 Abate e coleta dos dados de carcaça.....	32
4.1.4.3 Análise estatística dos dados	33
4.1.5 Resultados e discussão	34
4.1.6 Conclusão.....	40
4.1.7 Referência bibliográfica	41
4.2 Identificação de polimorfismos nos genes da miostatina e leptina e associação de seus efeitos com características de carcaça de ovinos.	44
4.2.1 RESUMO	44
4.2.2 ABSTRACT.....	45
4.2.3 Introdução.....	46
4.2.4 Material e métodos	47

4.2.4.1 Amostras utilizadas.....	47
4.2.4.2 Extração do DNA	48
4.2.4.3 Genotipagem dos indivíduos para o gene da leptina e miostatina.....	48
4.2.4.4 Análise estatística	52
4.2.5 Resultado e discussão.....	53
4.2.6 Conclusão	58
4.2.7 Referência bibliográfica	59
5 CONCLUSÃO	61
GLOSSÁRIO	62
ANEXO	64

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do sexo, grupo genético e ano sobre as características de carcaça de ovinos, assim como identificar polimorfismos no gene da miostatina e leptina em ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper, no intuito de verificar o efeito desses polimorfismos sobre as características de carcaça. Os animais utilizados foram provenientes do Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Alegre, desmamados aos três meses de idade e aos oito meses encaminhados ao abate. Antes do abate os indivíduos permaneceram em jejum de dezoito horas, sendo posteriormente encaminhados à pesagem para obtenção do peso de animais vivos (PA). Para realização do abate os animais foram previamente insensibilizados para posterior sangria e evisceração. Após evisceração e limpeza de carcaça, foi registrado o peso de carcaça quente (PCQ). Em seguida, as carcaças permaneceram em câmara frigorífica por 24h e então foram registrados os pesos de carcaça fria (PCF), do lombo, do lombinho e a medida da espessura de gordura de cobertura (EGC). O rendimento de carcaça quente (RCQ) foi calculado com a fórmula $(PCQ/PA) \times 100$. Foram coletados pelos de cada animal antes do abate e este material foi usado para extração de DNA por protocolo alcalino. Os indivíduos foram genotipados para a mutação G>A no nucleotídeo 9827 do gene da miostatina e para um polimorfismo no *exon 3* do gene da leptina, através da técnica PCR-RFLP. Para isso, a PCR foi realizada para amplificação de parte da região 3'UTR do gene da miostatina e do *exon 3* do gene da leptina. O produto da PCR foi submetido à eletroforese de poliacrilamida a 8% para confirmação da amplificação dos fragmentos de DNA. Os *amplicons* do gene da miostatina foram submetidos à clivagem com enzimas de restrição *HpyCH4IV* e os da leptina foram clivados com a enzima *AleI*. O produto da clivagem de DNA com enzima de restrição foi submetido à eletroforese de poliacrilamida a 8% para visualização do resultado final. Os alelos encontrados foram registrados para cada indivíduo e então foi realizada a análise de variância para verificar todos os efeitos do ano, sexo, grupo genético e mutações sobre as características de carcaça pelo procedimento GLM do SAS. As médias entre os anos foram diferentes estatisticamente para as características PCQ, PCF, peso do lombo, peso do lombinho, EGC e RCQ; no entanto, não foi encontrada diferença nas médias entre os anos sobre PA. As médias entre os grupos genéticos foram diferentes estatisticamente para o peso do lombinho, PA e EGC, com maiores

médias para os animais Santa Inês cruzados com Dorper, e peso do lombo com maiores médias para os Santa Inês. Apenas as médias de EGC e o peso do lombo apresentaram diferença estatística entre os sexos. O alelo mutante do gene da miostatina mostrou associação com o aumento das médias PCF e EGC e com a redução do RCQ. O alelo mutante do gene da leptina não apresentou associação entre as características avaliadas.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the gender, genetic group and year effects on carcass traits and to identify polymorphisms in the myostatin and leptin genes in Santa Inês and Santa Inês crossed with Dorper, in order to verify the effect of these polymorphisms on carcass traits. The animals of this study were from the Instituto Federal do Espírito Santo- Campus Alegre, which were weaned at three months of age. The animal at eight months of age were sent to slaughter. Initially the subjects remained fasting for eighteen hours and the live weight (LW) was recorded. Subsequently, the animals were stunned to realize the bleeding and the hot carcass weight (HCW) was recorded after slaughter. The carcasses remained in cold storage chamber for 24 hours and the characteristics of cold carcass weight (CCW), loin weight, tenderloin weight and the fat thickness were recorded. The carcass yield (CY) was calculated with $(HCW/LW) \times 100$. Hair were collected for each animal and this material was used for DNA extraction by alkaline protocol. The animals were genotyped for the mutation G>A in nucleotide 9827 of myostatin gene and one polymorphism in *exon 3* of the leptin gene by PCR-RFLP. The PCR was performed for amplification of the 3'UTR region of the myostatin and *exon 3* of the leptin gene. The polyacrylamide electrophoresis 8% was carried out to confirm the amplification by PCR. The amplicons of the myostatin gene were cleaved with restriction enzyme *HpyCH4IV* and the amplicons of leptin were cleaved with *AleI* enzyme. The polyacrylamide electrophoresis 8% was carried out to display the final result. The alleles found were recorded for each animal. The variance analysis was performed to verify the effect of sex, genetic group, year and mutations on carcass traits using the procedure GLM of SAS. The averages were statistically different between years for the HCW, CCW, loin weight, tenderloin weight, fat thickness traits and CY. However, the average was not statistically different for LW between years. The averages were statistically different between genetic group for tenderloin weight, LW and fat thickness, with higher averages for the animals crossed with Dorper, and loin weight, with higher averages for the animals Santa Inês. Only the averages of EGC and the loin weight showed statistical differences between the gender. The mutant allele of the myostatin gene was associated with greater mean CCW and fat thickness, but

lower carcass yield. The mutant allele of the leptin gene did not show association between the traits.

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura está disseminada em quase todos os continentes. Rebanhos de raças mistas são produzidos na América Latina para obtenção de lã e carne com potencial de comercialização internacional (VIANA, 2008). A produção de ovinos no Brasil caracterizou-se como uma atividade pecuária de categoria inferior, pois questões socioculturais, durante longo período, levaram esta atividade a ser realizada somente para suprir o próprio consumo das fazendas (MORAIS, 2008).

Embora a ovinocultura não seja valorizada no Brasil como deveria, observa-se cada vez mais que esta atividade pode ter maior êxito na produção animal. Isto pode ser observado principalmente quando grandes ruminantes não se adaptam em determinadas áreas, sendo a produção de ovinos uma opção, pois estes são altamente versáteis e capazes de se adaptarem a ambientes totalmente distintos. Além disso, atualmente, o país sofre exigências para interromper o desmatamento e o aumento de áreas agrícolas, tornando cada vez mais inviável a manutenção de pastagens para grandes ruminantes. Desta forma, a ovinocultura poderá ter uma grande importância no futuro da pecuária brasileira (MORAIS, 2012).

A crise internacional de lã, agravada nos anos 90, teve como uma das consequências a substituição das raças de produção de lã pelas raças de corte (MORAIS, 2012). No entanto, existe uma irregularidade de oferta, e muitas vezes as carcaças comercializadas são de baixa qualidade. Tais fatores tornam o consumo da carne ovina no Brasil ainda muito limitado (LEÃO, et al. 2012). Segundo Pereira et al. (2010), diversas questões relacionadas ao animal, ao ambiente e à nutrição contribuem para este contexto.

Determinadas ações permitem o progresso de uma atividade pecuária, mas, dentre todas, o melhoramento genético é uma das principais ferramentas para conseguir êxito neste aspecto. Atividades referentes à sanidade, à reprodução, à alimentação-nutrição e ao manejo são fundamentais, mas ao se satisfazer todas as necessidades biológicas e produtivas não se obtém grandes avanços na produção. Entretanto, a prática do melhoramento genético possibilita o progresso na produção (LÔBO e LÔBO, 2007). O aumento da produtividade e rentabilidade das explorações

pecuárias pode ser alcançado fazendo uso do melhoramento genético animal, o qual tem como base a seleção e os sistemas de acasalamento. Esta ciência torna possível alterar a frequência de determinados genes em uma população (FERRAZ e REZENDE, 2012).

Avanços na biologia molecular, como a tecnologia do DNA recombinante e os marcadores moleculares, possibilitaram aliar a informação provinda do fenótipo com aquela de origem direta do DNA. As informações obtidas da associação entre fenótipo e genótipo permitiram maior acurácia nos processos de identificação e seleção dos animais com genótipos superiores. É importante ressaltar que a manifestação de uma determinada característica em um indivíduo é o resultado da interação entre o genótipo e o ambiente. Sendo assim, variações na sequência de DNA, localizadas próximas aos genes que determinam uma característica de interesse, permitem monitorar a segregação de alelos por gerações. Com estes marcadores, a seleção de animais com base no genótipo passa a ser possível, antes mesmo da expressão do fenótipo. Como resultado, a seleção torna-se mais rápida e eficiente (COUTINHO e ROSÁRIO, 2010).

Muitas das características de importância econômica são determinadas não por um ou poucos genes, mas sim por vários, sendo então denominadas características poligênicas, que sofrem grande influência do ambiente. Com o advento dos marcadores moleculares tornou-se possível detectar os alelos que determinam essas características de importância econômica, principalmente pelos polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) e microssatélites. A descoberta de mais informações sobre os genes que estão relacionados às características econômicas (quantitativas) poderá ser conduzida com os resultados obtidos do mapeamento de QTL, além das informações obtidas pelas estratégias de genes candidatos, estudos relacionados à expressão gênica envolvendo técnicas de PCR quantitativa, microarranjos e sequenciamento. Além disso, em alguns genes que controlam uma característica produtiva podem estar presentes mutações que conseqüentemente influenciam sobre a característica a ser manifestada. Estas mutações podem ser identificadas nos indivíduos através da genotipagem com marcadores moleculares. Isso já tem sido implementado no melhoramento genético para algumas características (COUTINHO et al., 2010, apud COUTINHO e ROSÁRIO, 2010).

Tendo em vista a baixa qualidade da produção de carne ovina no Brasil e considerando as biotecnologias atuais aliadas às técnicas de melhoramento genético, observa-se a possibilidade de alavancar o potencial da ovinocultura brasileira. Sendo assim, estudos relacionados com mutações associadas às características de carcaça são contribuintes importantes para que a trajetória da ovinocultura brasileira chegue a um patamar eminente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Verificar quais efeitos fixos influenciam as características quantitativas de carcaça, assim como identificar SNP's nos genes da miostatina e leptina, através da técnica PCR-RFLP, em ovinos Santa Inês e $\frac{1}{4}$ Santa Inês x $\frac{3}{4}$ Dorper, além de analisar o efeito de tais polimorfismos sobre estas características.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar o efeito do ano, sexo e grupo genético sobre as características quantitativas de carcaça em ovinos Santa Inês e $\frac{1}{4}$ Santa Inês x $\frac{3}{4}$ Dorper;
- Genotipar ovinos Santa Inês e $\frac{1}{4}$ Santa Inês x $\frac{3}{4}$ Dorper para SNP na região 3'UTR do gene da miostatina;
- Genotipar ovinos Santa Inês e $\frac{1}{4}$ Santa Inês x $\frac{3}{4}$ Dorper para um SNP no *exon* 3 do gene da leptina;
- Estimar a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos nos genes referidos;
- Verificar o efeito dos polimorfismos supracitados nas características quantitativas de carcaça.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A ovinocultura no Brasil e no mundo

A ovinocultura no século passado teve sua exploração estimulada principalmente para obtenção de lã, tanto com a produção das raças laneiras quanto das raças mistas. Sendo este o principal foco, a criação de animais voltados para a produção de carne tinha apenas o intuito de atender às necessidades dos próprios locais de criação, sendo o objetivo principal, na época, obter máxima produção de lã nos rebanhos (VIANA e SILVEIRA, 2009).

Nos anos de 1990, a crise da produção de lã se instalou internacionalmente, resultado da introdução de outros tipos de tecido no mercado e devido aos grandes estoques que a Austrália detinha. Conseqüentemente, os rebanhos laneiros foram reduzidos em razão de sua substituição por rebanhos de corte (VIANA e SOUZA, 2007).

Um fator contribuinte para o estabelecimento da ovinocultura de corte foi a demanda mundial por carne ovina. Entretanto, as habilidades e exigências necessárias para que esta atividade fosse instalada com sucesso eram outras. Era preciso produzir os cordeiros para abate, forçando mudanças e adaptações de todo um sistema produtivo para promover o engate na ovinocultura de corte (VIANA, 2012).

Atualmente, Ásia, Oceania e África são continentes pioneiros em quantidades de animais. Em relação aos países que se destacam com maiores produções de carne ovina, a China vem em primeiro lugar, sendo outros países como Austrália, Índia, Irã, Sudão e Nova Zelândia também importantes referências (VIANA, 2008). A figura seguinte (Figura 1), baseada nos dados da FAOSTAT, 2011, ilustra essa realidade.

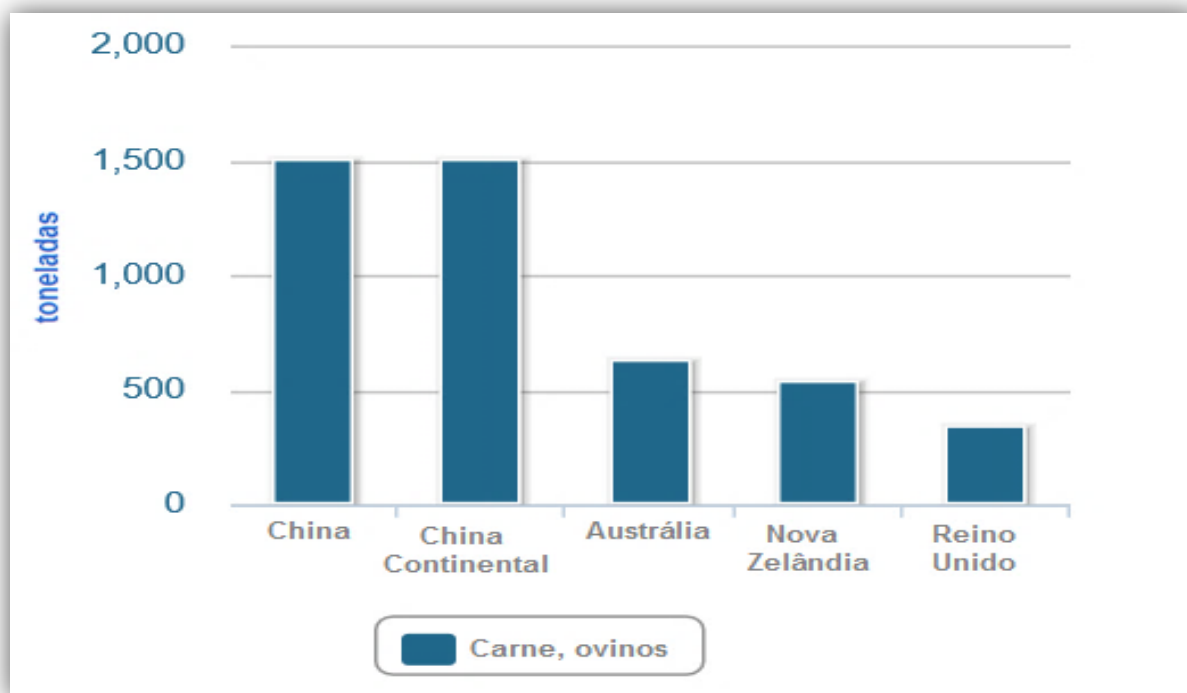


Figura 1- Média da produção de carne ovina dos cinco primeiros países no ranking mundial (valores em milhares). Fonte: adaptada de FAOSTAT 2011.

Os ovinos têm estado presentes no Brasil há quase 500 anos, entretanto outras produções da pecuária tiveram um aumento no número de animais, o que não foi observado na ovinocultura. Os fatores que acarretaram este quadro foram a criação por pequenos agricultores e o caráter secundário desta atividade, além da falta de interesse de alguns grupos de pesquisa (McMANUS et al., 2010).

A produção de ovinos, nos últimos anos, apresenta um histórico com mudanças consideráveis. Segundo Moraes, 2012, até a década de 1970 o país importava animais com foco na produção de lã. No período de 1977 a 1995 foram realizados trabalhos para análise de milhares de reprodutores, em diversas fazendas, dando início aos processos de seleção dos animais para produção de lã e carne. Entretanto, estes dados não geraram ganhos genéticos na produção nacional. A partir do momento em que o prelúdio da crise laneira apareceu, os abandonos dos programas tornaram-se mais frequentes. Em 2000, o Centro-oeste e o Sudeste se destacaram inicialmente na ovinocultura de corte (iniciada com intuito de substituir a criação de ovinos voltados para produção de lã). As raças de corte deslanadas foram as mais requisitadas, pois apresentavam as vantagens de

ausência de tosquia, disponibilidade e preço, além de praticamente não possuírem estacionalidade reprodutiva.

De acordo com IBGE, 2012, o Brasil concentra cerca de 16.789.492 de cabeças no total de rebanhos ovinos. Dados de FAOSTAT, 2011, mostram uma produção de carne ovina brasileira ultrapassando 80.000 toneladas. A figura abaixo (Figura 2) ilustra a trajetória da produção da carne ovina no país.

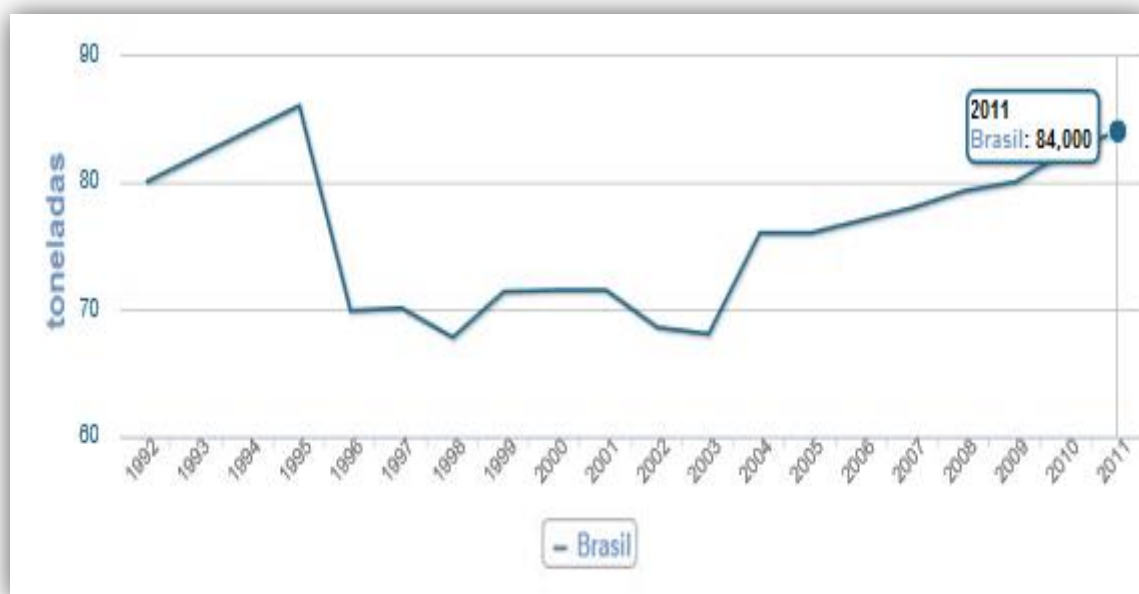


Figura 2- Produção de carne ovina no Brasil de 1992 a 2011 (unidade em milhares). Fonte: adaptada de FAOSTAT, 2011.

As raças ovinas criadas no Brasil podem ser consideradas como raças naturalizadas ou como exóticas. Algumas raças naturalizadas são: Bergamácia - utilizada na produção de leite, carne e lã grossa, Crioula Lanada- capaz de produzir lã muito grossa, Santa Inês – raça deslanada, importante na produção de carne. Algumas raças de origem e desenvolvimento em outros países destacam-se também na produção. Dentre elas, a Dorper caracteriza-se como raça voltada para alta produção de carne, devido à excelente cobertura muscular e por ser bem adaptada aos climas quentes (MORAIS, 2012).

Uma raça que apresenta características vantajosas para criação no Nordeste do Brasil é a Santa Inês (SOUSA et al., 2003). A raça Santa Inês, que

vinha sendo criada na região Nordeste brasileira para subsistência, serviu como fonte para início da ovinocultura de corte brasileira. Com isso, o Nordeste se tornou a principal região da ovinocultura nacional. As criações nordestinas sempre foram voltadas para a produção de carne e, tendo esta modalidade se tornado economicamente mais interessante que a lã, a adequação à nova realidade foi muito mais fácil nessa região (MORAIS, 2008 e MORAIS, 2012).

Para Moraes (2012), a raça Santa Inês já está perdendo destaque e sendo substituída em muitos lugares por outras raças de corte. Além disso, o autor afirma que esta raça precisava ter sido submetida a um sério programa de melhoramento genético, o que permitiria seleções orientadas evitando, atualmente, o declínio em sua produção. Segundo Benitez et al. (2008), o Brasil tem capacidade fazer-se um produtor internacionalmente competitivo e mudar o quadro atual, tornando a carne ovina tão comercializada quanto as outras carnes de outras espécies. Para alcançar este objetivo, pode-se utilizar as ferramentas do melhoramento genético. Porém, conhecer os genótipos que se detém e detectar quais têm maior distribuição no país são necessidades a serem atendidas, além de observar os resultados da produção desses genótipos e quais podem ser as produções futuras a serem obtidas.

Nota-se, atualmente, que a produção de pequenos ruminantes, como caprinos e ovinos, destaca-se como uma atividade de grande importância cultural, social e econômica, principalmente na região Nordeste (COSTA et al., 2007). Entretanto, pesquisas e estudos voltados para otimizar a produtividade da ovinocultura no país, especialmente os situados na área de melhoramento genético, podem ser realizados e incentivados para reverter muitos aspectos negativos que ainda estão incrustados nesta vertente da pecuária nacional.

3.2 Melhoramento Genético aplicado à produção animal

Melhoramento genético animal pode ser entendido como um conjunto de processos seletivos e de direcionamento dos acasalamentos, cujo objetivo é aumentar a frequência dos genes de efeitos desejáveis ou das combinações genéticas boas em uma população. O resultado deste processo é o aperfeiçoamento

da capacidade de produção dos animais que apresentam interesse econômico para o homem em um dado ambiente. A seleção de progenitores e a escolha de métodos métodos de acasalamento são ferramentas básicas utilizadas pelo homem para alcançar estes objetivos (FACÓ e VILLELA, 2005). Fenômenos genéticos levam à alteração das frequências dos genes na população. Estes fenômenos podem ser mutação, seleção, migração e oscilação gênica (FERRAZ e REZENDE, 2012).

Quando a escolha dos indivíduos é realizada pelo homem, tendo em vista a concepção particular do que se acredita ser importante, chamamos esta seleção de artificial. Por ter o racionalismo como principal orientador, este é o tipo de seleção promotora para um avanço genético em um espaço de tempo menor. A seleção é denominada fenotípica quando, na seleção artificial, o processo de escolha do animal é baseado no seu fenótipo, no que o animal representa ou pelo seu desempenho. A seleção artificial também pode ser realizada através da seleção genotípica, em que o animal é selecionado com base nas medidas do seu potencial genético. A mensuração deste potencial é realizada matematicamente, com auxílio das técnicas de genética quantitativa, utilizando informações de ancestrais, descendentes e parentes colaterais, ou pela identificação de genes favoráveis, através das técnicas de genética molecular (LÔBO e LÔBO, 2007). Estes mesmos autores afirmam que o método de acasalamento altera as frequências gênicas e, quando bem planejado e orientado, pode levar a um bom melhoramento genético dos animais.

Mesmo sem o conhecimento das funções individuais dos genes e dos mecanismos moleculares, foi possível, através do melhoramento genético, aperfeiçoar os índices de produtividade nas espécies economicamente importantes. A sofisticação dos *softwares*, modelos de seleção mais aperfeiçoados e avanços na computação são fatores que vêm tornando o melhoramento genético cada vez mais avançado (COUTINHO e ROSÁRIO, 2010).

Segundo Moraes, 2012, nos últimos anos o melhoramento clássico, com planejamento e organização, passou a ser desenvolvido através de várias técnicas, como a biologia molecular e a reprodução, as quais vêm sofrendo grandes avanços tecnológicos. As técnicas de diagnóstico por imagem também têm colaborado com esta ciência em ovinos. Entretanto, dificilmente bons resultados serão obtidos sem uma escrituração zootécnica. Este ainda é um fator que deve ser revertido no

Brasil. A Nova Zelândia é um exemplo disto. Com os dados de produção colhidos anualmente, o país conseguiu implantar o melhoramento genético em ovinos com êxito. A evidência disto é que esse país conseguiu manter a produtividade, nos últimos anos, com quase metade do número de animais que tinha na década de 80.

O objetivo central dentro de um programa de melhoramento genético voltado para caprinovinocultura de corte deve ter enfoque para características produtivas de carne e também ser voltado para reprodutores (SOUSA et al., 2008). Dentre as raças mais inseridas em programas de melhoramento, a Santa Inês tem grande potencial na ascensão da indústria da carne ovina nacional, mas isso se for selecionada corretamente e se os objetivos e critérios de seleção forem definidos de maneira adequada (MORAIS, 2012)

De acordo com Lôbo e Lôbo, 2007, diversas tecnologias que são voltadas para o progresso da produção de ovinos são válidas e têm sua relevância. Entretanto, com uma maior atenção voltada ao melhoramento genético, a ovinocultura brasileira poderá atingir resultados econômicos superiores aos atuais, tornando esta atividade nacional mais competitiva em relação aos outros países. Para a produção de carne, os importantes indicadores dos atributos do produto final são as características quantitativas e qualitativas da carcaça (SILVA et al., 2008).

3.3 Características quantitativas de carcaça

O peso da carcaça se refere ao corpo do animal que sofreu o sacrifício, a sangria e foi morto com a retirada da cabeça, vísceras, patas, cauda, rins, e gordura pélvica e perirrenal (OSÓRIO et al., 1996). Os principais tecidos que compõem a carcaça, no que se refere à produção zootécnica, são: tecido muscular, adiposo e ósseo, entre outros. Máxima quantidade de músculo, mínima quantidade de osso e proporção de gordura adequada são fatores desejáveis na carcaça, obtendo-se maiores preços em sua comercialização (CÉZAR e SOUSA 2010).

Para considerar uma carne de boa qualidade, alguns fatores como peso do animal vivo e acabamento são importantes (VAZ et al., 2013). O peso vivo é

determinado pelo conjunto de estruturas corporais que integram o animal (PEREIRA et al., 2002); já o acabamento, também chamado de terminação, é o quanto de gordura subcutânea o animal possui, além de sua distribuição na carcaça, cujos métodos de avaliação podem ser de forma objetiva ou subjetiva (CÉZAR e SOUSA 2010). Outra avaliação importante a ser feita é o rendimento de carcaça, dado em porcentagem e calculado através da razão entre peso da carcaça e peso do animal vivo. Este parâmetro está relacionado com o valor comercial dos animais (ZUNDT et al., 2006) e estes, quando suplementados com dietas de maior valor energético, obtêm maiores rendimentos de carcaça (ARAÚJO FILHO et al., 2010).

O lombo é o corte referente ao contorno ao longo da costela, definido por um corte em ângulo reto através da vértebra torácica cortando a espinha dorsal. A costela e a parte ventral são cortadas em paralelo a uma distância que vai do músculo *Longissimus dorsi* à extremidade craniana. O lombinho é o corte em que se remove os músculos em uma única peça da superfície ventral da coluna lombar e da superfície lateral do ílio, a partir da meia carcaça (Figura 3) (UNECE, 2013).

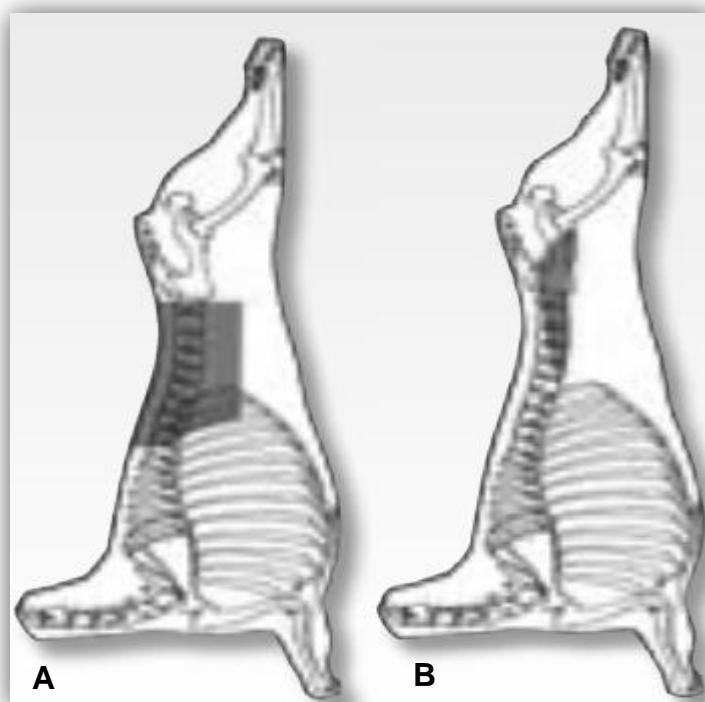


Figura 3 – Demarcações em tom mais escuro ilustram alguns cortes comerciais em ovinos. A) Ilustração do corte do lombo. B) Ilustração do corte do lombinho. Fonte: adaptada de UNECE, 2013.

Dentro de um programa de melhoramento genético voltado para um sistema eficiente de produção de carne, é fundamental implementar características de produção (PEREZ et al., 2008). É importante ressaltar que estudos para identificação de regiões genômicas importantes, no controle de características de crescimento e de composição de carcaça, são pouco realizados em ovinos, ao contrário de bovinos e suínos. Algumas características de importância econômica, em ovinos são submetidas a estudos moleculares visando identificar as regiões cromossômicas que as definem; entretanto, muitos desses estudos estão voltados à resistência a parasitas gastrintestinais (GOUVEIA et al., 2008).

O melhoramento tradicional limita o ganho genético em determinadas características. Avaliações exclusivamente pelo fenótipo são dificultadas quando, por exemplo, se trata de características relacionadas à carcaça, pois é necessário o abate do animal (COUTINHO e ROSÁRIO, 2010). Segundo Sousa et al. (2008), o uso da seleção assistida por marcadores tende a aumentar a eficiência da seleção, pois nestes casos são utilizadas as ferramentas tradicionais do melhoramento genético, incrementando-se o procedimento com as informações dos genes de efeito maior sobre as características produtivas, através do uso de marcadores moleculares. Isto mostra a necessidade de aliar esta ciência às novas biotecnologias moleculares.

3.4 Marcadores moleculares

A biologia molecular foi revolucionada pela técnica de PCR (reação de cadeia em polimerase). Esta técnica, desenvolvida por Kary Mullis, consiste na amplificação de segmentos de DNA utilizando oligonucleotídeos comumente chamados de *primers*. Para que a reação ocorra com eficiência são necessários três estágios: desnaturação, anelamento e extensão. No primeiro, ocorre a desnaturação das fitas de DNA através do aumento da temperatura. Com isso, é possível seguir para o segundo estágio, no qual os *primers* se anelam com a fita de DNA, orientando, no estágio de extensão, a DNA polimerase na sintetização do segmento alvo de DNA. Por fim, obtém-se milhares de cópias de um segmento de

DNA específico (Figura 4). O produto da PCR pode ser visualizado através da técnica de eletroforese, na qual fragmentos de DNA se deslocam em um gel poroso sob um campo elétrico. Os fragmentos menores se deslocam mais rapidamente que os fragmentos maiores e a avaliação do gel se dá comparando o tamanho dos fragmentos da PCR com um marcador padrão (Figura 5) (RAHMAN et al., 2013).

As técnicas de biologia molecular foram se aperfeiçoando e outras foram sendo descobertas. Tais fatores contribuíram para o surgimento dos marcadores moleculares e estes então tiveram grandes aplicações inclusive no melhoramento (GUIMARÃES et al., 2009).

Marcadores moleculares são definidos como segmentos de DNA polimórficos. Existem outros tipos de marcadores como os morfológicos, definidos como uma característica fenotípica que diferencie um indivíduo, e também os bioquímicos como as isoenzimas – formas moleculares de uma mesma enzima que é resultado da expressão de um ou mais genes na mesma espécie (OLIVEIRA, 2012, e GUIMARÃES, 2012). De acordo com Borém e Caixeta (2006), a análise genética passa a ter maior acurácia usando-se as ferramentas dos marcadores moleculares para detectar variações no genoma.

Os marcadores morfológicos foram os primeiros a serem utilizados e exerceram um grande papel no início dos mapas de ligação gênica. Mas na década de 50 os marcadores isoenzimáticos foram desenvolvidos. Embora as isoenzimas identifiquem genótipos heterozigotos e homozigotos, e ainda apresentem baixo custo, têm como uma das desvantagens analisar pequenas quantidades de *loci*. As técnicas por análise de DNA começaram a surgir e a utilização das isoenzimas deixou de ser a técnica principal. Os RFLPs (polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição), os quais se baseiam no uso de enzima de restrição e hibridização com moléculas de cDNA marcadas com radioatividade ou quimiluminescência, tiveram seu desenvolvimento e utilização para caracterização individual nos anos de 1980, e foram de grande importância na genômica. As vantagens deste marcador é a capacidade de cobrir praticamente todo o genoma. Entretanto, a manipulação é difícil, consome um grande tempo e não é automatizada. Estes fatores impossibilitaram o uso comercial desta técnica no melhoramento genético. Contudo, novos marcadores moleculares foram desenvolvidos devido ao advento da técnica de PCR. Estas novas classes de

marcadores se mostraram mais polimórficos e de fácil manuseio (GUIMARÃES, 2012). A combinação da técnica de PCR e técnica de RFLP deu origem à técnica de PCR-RFLP (YANG et al., 2013).

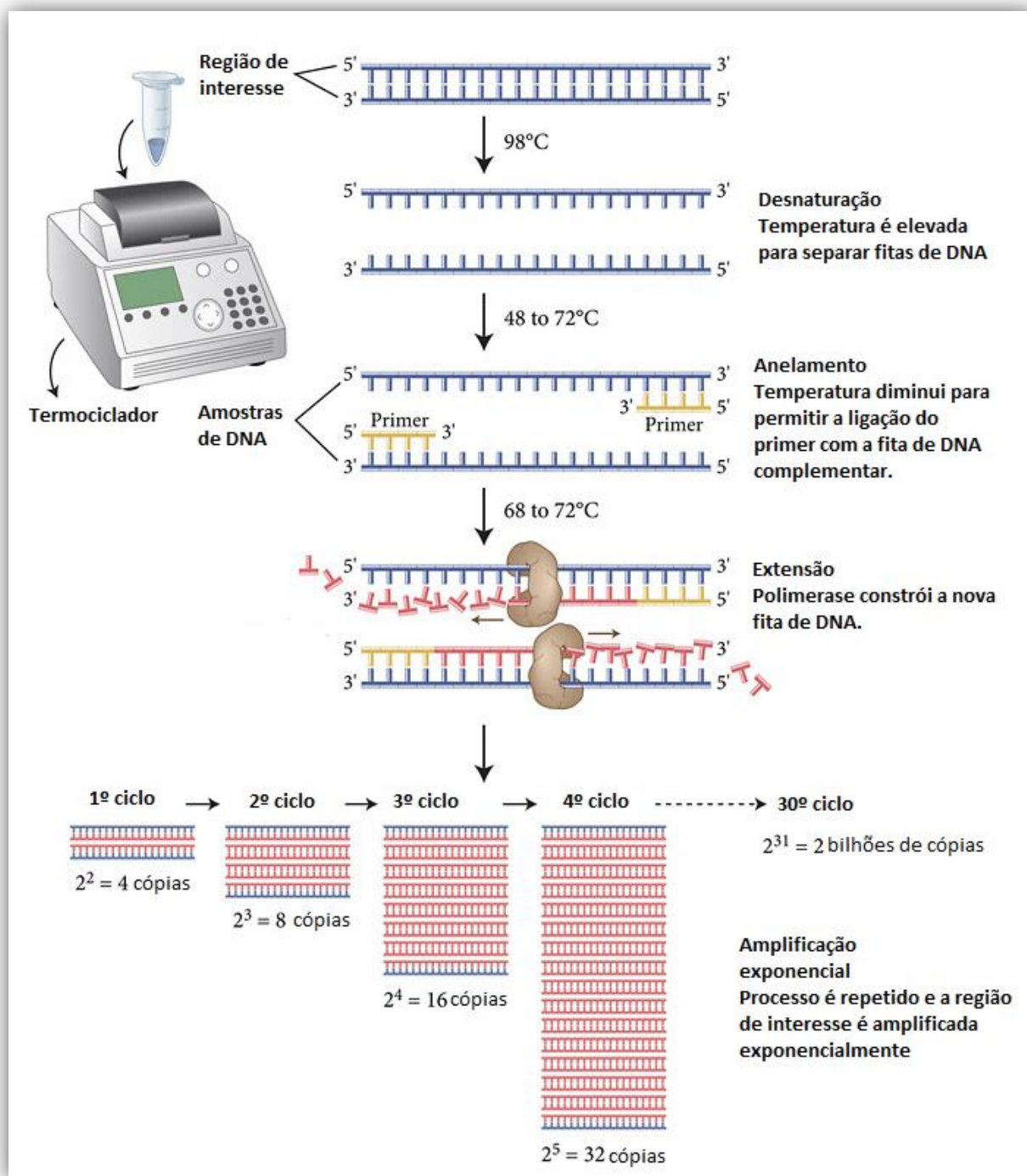


Figura 4 – Esquematização da técnica de PCR. Fonte: adaptada New England BioLabs.

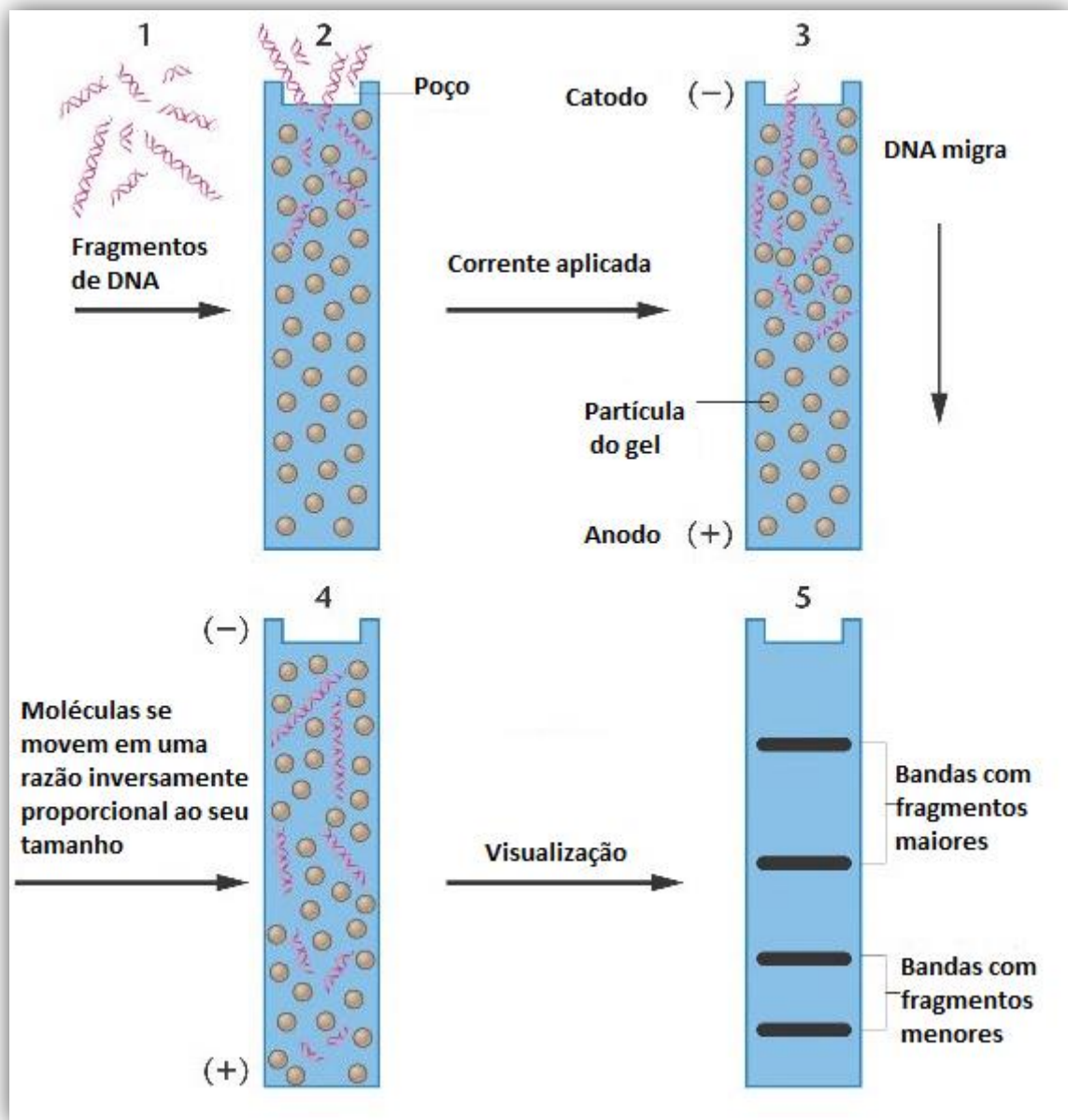


Figura 5 – Esquemática da técnica de eletroforese. Fonte: adaptada de Biology Nicer Web.

Os diferentes tipos de marcadores moleculares podem ter diferentes grupos de classificação, sendo estes: 1) modo de transmissão; 2) modo de ação do gene – dominante ou co-dominante; 3) modo de análise – por hibridação ou por PCR (SEMAGN et al., 2006).

Alguns tipos de marcadores em ovinos são as inserções e deleções,

também denominadas *Indels*; as regiões repetitivas (GUIMARÃES et al., 2009) e os SNPs, que são variações de uma única base nitrogenada (CAETANO, 2009).

Dentre as regiões repetitivas podem ser citados os microssatélites. Segundo Guimarães (2012), estes tipos de marcadores são definidos como sequências em torno de 300 pares de base, ou seja, são sequências curtas e ocorrem em *tandem* de um a seis nucleotídeos. Em muitos animais e plantas, estas repetições encontram-se em abundância. Este mesmo autor afirma que a análise destes marcadores é feita com a amplificação destas regiões por PCR e o gel de poliacrilamida é utilizado para separar as bandas geradas através das diferenças no número de repetições das regiões amplificadas. Conforme Oliveira et al. (2006) os microssatélites, também chamados de SSR, são marcadores muito utilizados em estudos genéticos, assim como em assuntos que tratam de conservação genética, melhoramento molecular e testes de paternidade. Estes marcadores são codominantes e multialélicos, altamente reprodutíveis e apresentam ampla resolução.

Outro marcador amplamente utilizado é o SNP. Este tipo de marcador está em qualquer região do genoma, podendo situar-se em regiões codificantes, e, como consequência, pode alterar funções de proteínas. Eles têm uma boa estabilidade e podem ser automatizados (REGITANO e VERONI, 2009).

Segundo McManus (2010), programas para a caracterização genética de ovinos no Brasil têm utilizado mais amplamente, nos últimos anos, os SNPs, além dos SSR, que vêm sendo utilizados desde 2004.

Os marcadores SNP se baseiam em alterações de uma única base do nucleotídeo (Adenina, Timina, Citosina ou Guanina). Quando as alterações ocorrem com a troca de uma pirimidina por uma pirimidina, ou uma purina é trocada por outra purina, a mutação é definida como transição e é mais frequente de acontecer. A troca de uma pirimidina por uma purina, ou vice-versa, é definida como transversão. Estas alterações podem ocorrer tanto em diferentes regiões do genoma como em regiões codificantes, regulatórias, ou, muitas vezes, em espaços intergênicos, sem uma função determinada. Estes marcadores SNP podem ser utilizados em diversos estudos, como associação e mapeamento genético, ensaios diagnósticos para confirmação de paternidade, identificação individual (rastreadibilidade), detecção de doenças genéticas e/ou polimorfismos associados às

características de produção. Entretanto, muitas destas utilidades estiveram limitadas por muito tempo devido às restrições tecnológicas. Contudo, novas tecnologias atuais reverteram este quadro (CAETANO, 2009).

A pecuária tem recebido os resultados dessas novas tecnologias. As áreas onde estes marcadores moleculares têm sido utilizados são: identificação de paternidade, sexagem de embriões, origem dos animais, seleção assistida por marcadores, entre outras aplicações (OLIVEIRA, 2012).

Muitos marcadores podem ser utilizados para colaborar em programas de seleção. Isto permite a introgressão de genes candidatos e auxilia no aumento da frequência de alelos favoráveis. Esta seleção assistida por marcadores, sigla em inglês definida como MAS, é uma ferramenta no melhoramento, mas não deve ser feita a seleção exclusivamente por este método (GUIMARÃES, 2012).

É possível utilizar como marcadores moleculares os polimorfismos presentes nos genes que controlam características de importância comercial. Com a avaliação destes genes, pode-se identificar alelos que tenham associação com as características de interesse a serem estudadas (SIQUEIRA et al., 2007).

3.5 Genes relacionados com características de carcaça

Muitas das características de produção são quantitativas, determinadas por vários genes e influenciadas pelo ambiente (SIQUEIRA et al., 2007).

Um importante gene relacionado com as características de carcaça é o da miostatina, que foi descoberto por McPherron et al. (1997). Estes pesquisadores utilizaram *primers* degenerados correspondentes às regiões conservadas da família TGF- β e encontraram uma sequência que designaram de *GDF8* (conhecido atualmente como gene miostatina, também referido como *MSTN*). A sequência proteica desta região apresentava as mesmas características da superfamília TGF- β , e era altamente conservada entre as espécies; verificaram ainda que sua expressão está presente nos tecidos relacionados ao desenvolvimento dos músculos. Naquele trabalho, a função biológica deste gene foi determinada através da ruptura do gene *GDF8* com a deleção da região C-terminal e substituição por um

neo cassette. Como resultados foram obtidos ratos mutantes nulos para a função do *GDF8*, os quais apresentaram músculos maiores que os selvagens. Com isso, foi possível concluir que o *GDF8* é um gene com função de regulador negativo para o crescimento do músculo esquelético.

A miostatina, expressa por este gene, ao ser sintetizada permanece em estágio latente, pois está associada a um propeptídeo. No entanto, quando ocorre um processo proteolítico esta proteína se torna ativa e pode então se ligar ao seu receptor ActRIIB. Como nos outros membros da família TGF- β , os receptores do tipo I também são ativados assim como as proteínas SMAD (Figura 6). Como resultado, ocorre a inibição da síntese do músculo. Alguns fatores como folistatina agem favorecendo o ganho de músculos no indivíduo e têm importantes aplicações (LEE e MCPHERRON, 2001).

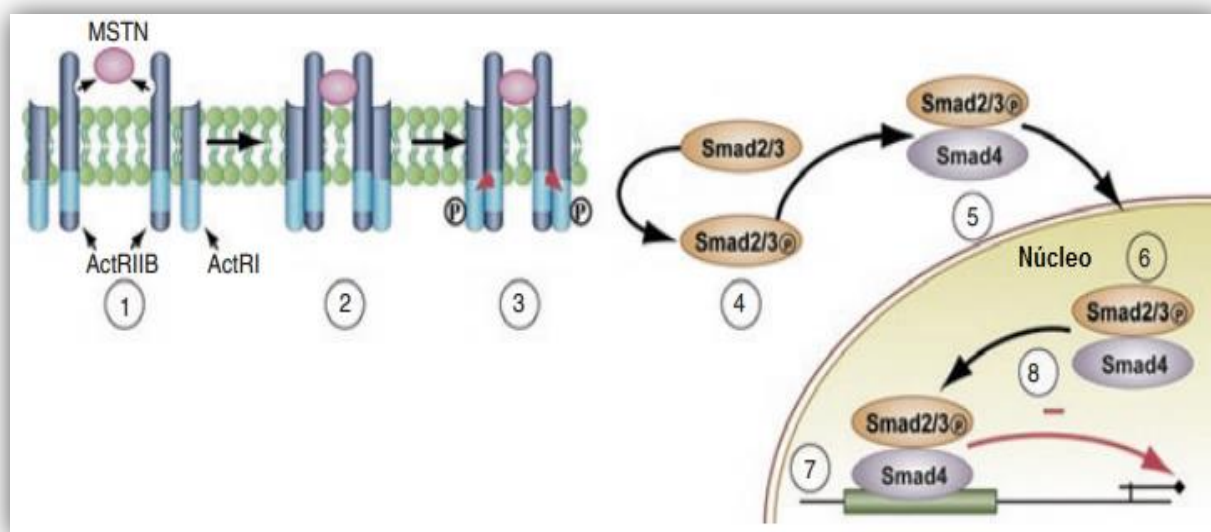


Figura 6 – Ação da miostatina. (1) Miostatina (*MSTM*) se liga ao receptor ActRIIB. (2) ActRIIB recruta o receptor tipo I (ActRI). (3) Ativação da atividade quinase de ActRI por transfosforilação. (4) SMAD2 e SMAD3 são fosforilados. (5) A SMAD4 forma um complexo heterodímero com SMAD2-SMAD3. (6) O complexo desloca ao núcleo. (7) Interações com diferentes padrões celulares a fim de regular a transcrição de alguns genes. Fonte: adaptada de Fakhfakh et al. (2011).

Conforme dados do NCBI, o gene da miostatina em ovinos está localizado no cromossomo 2, possui cerca de 10529 nucleotídeos e a proteína codificada

consiste em aproximadamente 375 aminoácidos. Clop et al. (2006) descobriram uma mutação neste gene localizada na região 3'UTR em ovinos. Esta mutação gera um sítio de ligação para miRNAs, como os *mir1* e *mir206* altamente expressos nos músculos esqueléticos. Isto inibe a expressão do gene, pois os miRNAs agem levando à clivagem ou reprimindo a tradução do RNA alvo (BARTEL, 2004); conseqüentemente, o fenótipo apresentado é de dupla musculatura. A mutação consiste na troca de uma guanina por uma adenina, sendo referida como DQ530260:g.9827G>A, como sugerido por Hickford e Zhou (2009). Outros estudos no gene da miostatina, realizados anteriormente, mostraram também a presença de mutações em bovinos (MCPHERRON e LEE, 1997) e humanos (SCHUELKE et al., 2004).

Um fator que inibe o apetite e também interfere na atividade do FSH e LH é a leptina (TORTORA e DERRICKSON, 2012). Antes mesmo de a leptina ser descoberta, Kennedy (1953) realizou experimentos com os quais concluiu que diferentes metabólitos presentes no sangue são fatores que controlam a ingestão. A quantidade de gordura depositada influencia no nível desses metabólitos, os quais interagem com o hipotálamo. Alguns anos depois, Harvey (1958) realizou experimentos com ratos parabióticos. Nesse estudo concluiu que o controle de ingestão de alimentos se dá por um sistema de *feedback*. Outro estudo com ratos parabióticos, realizado por Coleman (1973), evidenciou que existe um órgão alvo que responde a um fator circulante produzido pelo corpo e atua como um centro de saciedade.

Depois de todas essas evidências, finalmente, através de Zhang et al., (1994), este fator foi descoberto e denominado como leptina, expresso principalmente no tecido adiposo branco. Com base no banco de dados do NCBI, o gene da leptina, em ovinos, está localizado no cromossomo 4 e gera uma proteína de 167 aminoácidos ao ser codificado.

A sinalização da leptina se dá pelo sistema JAK-STAT. Primeiramente, o nível de leptina a ser secretado depende da quantidade de adipócitos, assim como o tamanho destes. Ao ser secretada, a leptina se liga ao domínio extracelular de seu receptor, que possui dois monômeros, os quais dimerizam. Em seguida, estes monômeros sofrem ação da proteína JAK, em que os resíduos Tyr são fosforilados permitindo que as proteínas STATs (transdutoras de sinais e ativadoras de

transcrição) se ancorem. As STATs também são fosforiladas pela JAK, sofrendo dimerização, e então são encaminhadas ao núcleo (Figura 7). Com isso, elas se acoplam a determinadas sequências de DNA levando à transcrição de genes como o *POMC*, precursor do α -MSH (hormônio estimulante de melanócito α), que é produzido por neurônios anorexigênicos (inibidores do apetite). Sendo assim, é enviado o sinal para cessar a ingestão de alimentos. Em um processo contrário, os neurônios orexigênicos (estimulantes do apetite) são ativados e conseqüentemente os NPY (neuropeptídeos Y) são produzidos, enviando assim sinais para estimular a ingestão de alimentos (NELSON e COX, 2011).

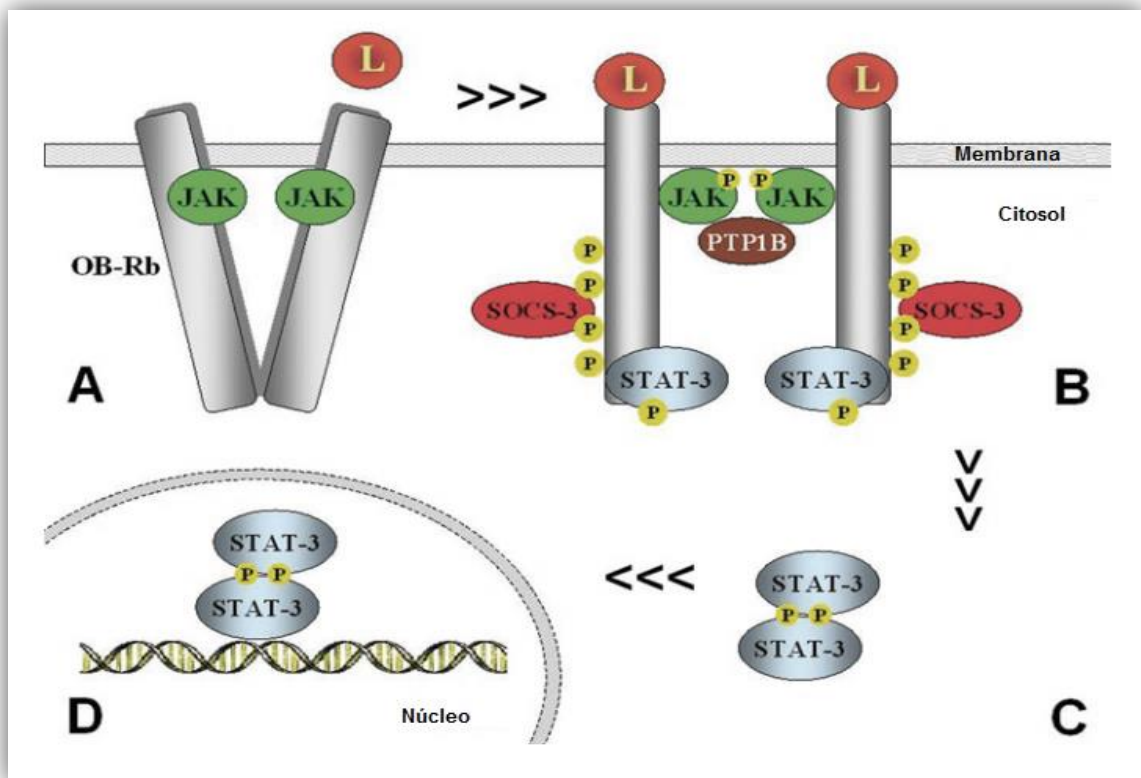


Figura 7 – Via de sinalização da leptina. A) Leptina (L) se liga ao seu receptor, o qual sofre dimerização e onde as proteínas JAK se ligam. B) Ocorre fosforilação de resíduos Tyr e associação das proteínas STAT que também são fosforiladas. C) Proteínas STAT formam dímeros que se deslocam ao núcleo. D) Após translocação ao núcleo ocorre a regulação de determinados genes. Fonte: adaptada de Frühbeck (2006).

Zhou et al. (2009) encontraram polimorfismos no *exon* 3 do gene da leptina em ovinos. Além do alelo selvagem, eles descobriram quatro polimorfismos de um único nucleotídeo neste *exon*. Dentre estes, um não altera o aminoácido codificado, mas os demais alteram a sequência proteica sintetizada. Estes alelos foram denominados como EF534370, EF534371 (387^{G/T}); EF534372 (316^{C/A}); EF534373 (271^{G/A}), EF534374 (107^{C/T}), este último sendo o alelo de mutação sinônima e o primeiro o alelo selvagem.

Alguns estudos, como o de Casas et al. (2000), mostram que outros *loci* estão relacionados com características quantitativas. Outros genes como *callipyge*, *carwell* e *double muscling* são alguns que influenciam na composição de carcaça em ovinos (COCKETT et al., 2005).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO FILHO, J.T.; COSTA, R.G.; FRAGA, A.B.; SOUSA, W.H.; CEZAR, M.F.; BATISTA, A.S.M. Desempenho e composição da carcaça de cordeiros deslanados terminados em confinamento com diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.363-371. 2010.
- BARTEL, D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. **Cell**, v.116, p. 281–297. 2004.
- BENITEZ, D.; CARDELLINO, R.A.; SOUSA, W.H. Contribuição do melhoramento genético à produção e qualidade de carne ovina no Brasil. In: **VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal**, São Carlos – SP. 2008.
- BIOLOGY NICER WEB. Disponível em
<<http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch10/electrophoresis.html>>. Acesso em janeiro de 2014.
- BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. Marcadores Moleculares. **1ª Ed. Universidade Federal de Viçosa**. p. 374. 2006.
- CAETANO, A.R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.38, p. 64-71. 2009.
- CASAS, E.; SHACKELFORD, S.D.; KEELE, J.W.; STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; KOOHMARAIE, M. Quantitative trait *loci* affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. **Journal of Animal Science**, v.78, p. 560-569. 2000.
- CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H. Proposta de avaliação e classificação de carcaças de ovinos deslanados e caprinos. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.4, p.41-51, 2010.
- CLOP, A.; MARCQ, F.; TAKEDA, H.; PIROTTIN, D.; TORDOIR, X.; BIBÉ, B.; BOUIX, J.; CAIMENT, F.; ELSÉN, J.-M.; EYCHENNE, F.; LARZUL, C.; LAVILLE, E.; MEISH, F.; MILENKOVIC, D.; TOBIN, J.; CHARLIER, C.; GEORGES, M. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. **Nature Genetics**, v.38. 2006.

- COCKETT, N.E.; SMIT, M.; BIDWELL, C.A.; SEGERS, K.; HADFIELD, T.L.; SNOWDER, G.D.; GEORGES, M.; CHARLIER, C. The callipyge mutation and other genes that affect muscle hypertrophy in sheep. **Genetics Selection Evolution**, v.37, p. 65-81. 2005.
- COLEMAN, D.L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. **Diabetologia**, v. 9, p. 294-8, 1973.
- COSTA, R.G.; ALMEIDA, C.C.; FILHO, E.C.P.; JUNIOR, E.V.H.; SANTOS, N.M. Caracterização dos rebanhos caprinos e ovinos na região semi-árida do Estado da Paraíba. **Revista Científica de Produção Animal**, v.9. 2007.
- COUTINHO, L. L. et al. A genômica na bovinocultura de corte. In: PIRES, A. V. (Ed.) Bovinocultura de corte. Piracicaba: **Fealq**, v.2, p.813-26. 2010.
- COUTINHO, L.L.; ROSARIO, M.F. Biotecnologia animal. **Estudos avançados**, v. 24. 2010.
- FACÓ, O.; VILELA L.C.V. Conceitos fundamentais do melhoramento genético animal. In: CAMPOS A.C.N. (Coord.). Do campus para o campo: tecnologias para produção de ovinos e caprinos. **Fortaleza: Gráfica Nacional**, Cap. 17, p. 197-204. 2005.
- FAKHFAKH, R.; MICHAUD, A.; TREMBLAY, J.P. Blocking the myostatin signal with a dominant negative receptor improves the success of human myoblast transplantation in dystrophic mice. **Molecular Therapy**, v. 19, p. 204–210. 2011.
- FAOSTAT - FAO STATISTICAL PROGRAMME OF WORK. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. 2011. Acesso em janeiro de 2014.
- FERRAZ, J.B.S.; REZENDE, F.M. Biologia molecular no melhoramento animal: o impacto do uso de marcadores genéticos na seleção dos animais. In: PEREIRA, J.C.C. (6ª Ed) Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal. Belo Horizonte - MG, **FEPMVZ Editora**, p. 677-710, 2012.
- FRÜHBECK, G. Intracellular signalling pathways activated by leptina. **Biochemical Journal**, v. 393, p. 7-20. 2006.

- GOUVEIA, J.J.S.; SANTIAGO, A.C.; TIZIOTO, P.C.; ESTEVES, S.N.; JÚNIOR, W.B.; REGITANO, L.C.A. Estudo da associação entre microssatélites localizados no cromossomo ovino 3 e peso ao nascimento de ovinos pertencentes a três grupos genéticos. In: **VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal**, São Carlos - SP. 2008.
- GUIMARÃES, S.E.F. Análise de marcadores genômicos e detecção de QTLs e genes candidatos em melhoramento animal. In: PEREIRA, J.C.C. (6ª Ed) **Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal**. Belo Horizonte - MG, **FEPMVZ Editora**, p. 614-647, 2012.
- GUIMARÃES, C.T.; MAGALHÃES, J.V.; LANZA, M.A.; SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.30. 2009.
- HERVEY, G.R. The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats. **Journal Physiology**, v. 145, p. 336-52, 1958.
- HICKFORD, J.G.H.; FORREST, R. H.; ZHOU, H. Letter to the editor. **Journal of Animal Science**, v.87, p. 1853. 2009.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2012. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua>>. Acesso em janeiro de 2012.
- KENNEDY, G.C. The role of depot fat in hypothalamic control of food intake in the rat. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 140, p. 578-92, 1953.
- LEÃO, A.G.; SOBRINHO, A.G.S; MORENO, G.M.B; SOUZA, H.B.A.; GIAMPIETRO, A.; ROSSI, R.C.; PEREZ, H.L. Características físico-químicas e sensoriais da carne de cordeiros terminados com dietas contendo cana-de-açúcar ou silagem de milho e dois níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.1253-1262. 2012.
- LEE, S.-J.; MCPHERRON, A. Regulation of myostatin activity and muscle growth. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 98. 2001.
- LÔBO, R.N.B.; LÔBO, A.M.B.O. Melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.247-253, Belo Horizonte. 2007.<Disponível em www.cbpa.org.br>

- MCMANUS, C.; PALVA, S.R.; ARÚJO, R.O. Genetics and breeding of sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p. 236-246. 2010.
- MCPHERRON, A.C.; LAWLER, A.M.; LEE, S.-J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. **Nature**, v.387. 1997.
- MCPHERRON, A.C.; LEE, S.-L. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.94, p. 12457–12461. 1997.
- MORAIS, O.R. Melhoramento genéticos dos ovinos. In: PEREIRA, J.C.C. (6ª Ed) Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal. Belo Horizonte - MG, **FEPMVZ Editora**, p. 444-467, 2012.
- MORAIS, O.R. O melhoramento genético de ovinos no Brasil. In: Pereira J.C.C. (5ª.ed) Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal. Belo Horizonte - MG, **FEPMVZ Editora**, p. 358-371, 2008.
- NEB - NEW ENGLAND BIOLABS. Disponível em <<http://www.neb.com>>. Acesso em janeiro de 2014.
- NCBI – National Center for Biotechnology Information. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>.
- NELSON, D.L; COX, M.M. Princípios de Bioquímica de Lehninger (5ª ed.). **Artmed Editora**. p. 930-933. 2011.
- OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCOSKY, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p. 294-307. 2006.
- OLIVEIRA, H.N. Mapeamento de QTLs e seleção assistida por marcadores. In: PEREIRA, J.C.C. (6ª Ed) Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal. Belo Horizonte - MG, **FEPMVZ Editora**, p. 648-666, 2012.
- OSÓRIO, J.C.S., AVILA, V.; JARDIM, P.O.C.; PIMENTEL, M.; POUHEY, J.L.O.F.; LUDER, W. Produção de carne em cordeiros cruza Hampshire Down com Corriedale. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.2, p. 99-104, 1996.

- PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; FONTENELE, R.M.; MEDEIROS, A.N.; FILHO, J.G.L.R.; VILLARROEL, A.B.S. Características e rendimentos de carcaça e de cortes em ovinos Santa Inês, alimentados com diferentes concentrações de energia metabolizável. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 32, p. 431-437, Maringá. 2010.
- PEREIRA, P.H.S.; OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M.; OLIVEIRA, N.M.; FARIA, H.V.; PIMENTEL, M.A. Componentes do peso vivo em cordeiros castrados e não castrados. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8 p. 57-60. 2002.
- PÉREZ, J.R.O.; CARVALHO, P.A.; PAULA, O.J. Aspectos relacionados com a produção de carne ovina. **UNESP-Grupo de estudo de nutrição de ruminantes**. 2008.
- RAHMAN, M.T.; UDDIN, M.S.; SULTANA, R; MOUE, A.; SETU, M. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. **AKMMC Journal**, v.1. 2013.
- REGITANO, L.C.A.; VENERONI, G.B. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento animal. In: **Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**. São Carlos - SP. 2009.
- SCHUELKE, M.; WAGNER, K.R.; STOLZ, L.E.; HUBNER, C.; RIEBEL, T.; KOMEN, W.; BRAUN, T.; TOBIN, J.F.; LEE, S.-J. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. **The New England Journal of Medicine**. 2004.
- SEMAGN, K.; BJØRNSTAD, Å.; NDJIONDJOP, M. N. An overview of molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology**, v.5, p. 2540-2568. 2006.
- SILVA, N.V.; SILVA, J.H.V.; COELHO, M.S.; OLIVEIRA, E.R.A.; ARAÚJO, J.A.; AMÂNCIO, A.L.L. Características de carcaça e carne ovina: uma abordagem das variáveis metodológicas e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, p.103-110. 2008.
- SIQUEIRA, F.; TORRES JÚNIOR, R.A.A; REGITANO, L.C.A.; FEIJÓ, G.L.D. Genética molecular aplicada à qualidade da carne bovina. **Embrapa Gado de Corte**, Campos Grande. 2007.

- SOUSA, W.H.; LÔBO, R.N.B.; MORAIS, O.R. Ovinos Santa Inês: Estado de Arte e Perspectivas. In: **Simpósio internacional sobre caprinos e ovinos de corte**, 2., 2003, João Pessoa. Anais... p. 501-522. João Pessoa. 2003.
- SOUSA, W.H.; OJEDA, M.D.B.; MORAIS, O.R.; ROCHA, J.L. Programa de melhoramento genético para ovinos deslanados e caprinos de corte do Brasil: uma proposta. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.2, p.41-46. 2008.
- TORTORA, G.J.; DERRICKSON, B. Corpo humano – Fundamentos de anatomia e fisiologia. **Artmed**, 8ª edição, p. 346. 2012.
- UNECE - UNITED NATIONS ECONOMIC COMMISSION FOR EUROPE. Ovine meat carcasses and cuts. **United Nations New York and Geneva**. 2013. Disponível em: <www.unece.org/trade/agr.welcome.html>. Acesso em março de 2014.
- VAZ, F.N.; RESTLE, J.; PÁDUA, J.T.; FONSECA, C.A., PACHECO, P.S. Características de carcaça e receita industrial com cortes primários da carcaça de machos nelore abatidos com diferentes pesos, **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, p. 199-207. 2013.
- VIANA, J.G.A. Evolução da produção ovina no Rio Grande do Sul e Uruguai: análise do impacto da crise da lã na configuração do setor. Tese de doutorado em Agronegócios. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. 2012.
- VIANA, J.G.A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Porto Alegre. 2008.
- VIANA, J.G.A.; SILVEIRA, V.C.P. Análise econômica da ovinocultura: estudo de caso na Metade do Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.39, p. 1187-1192, Santa Maria. 2009.
- VIANA, J.G.A.; SOUZA, R.S. Comportamento dos produtos da ovinocultura do Rio Grande do Sul no período de 1973 a 2005. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p. 191-199, Lavras. 2007.
- YANG, W.; KANG, X.; YANG, Q.; LIN, Y.; FANG, M. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.4. 2013.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEPOLD, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, p. 425-32. 1994.

ZHOU, H.; HICKFORD, J.G.H.; GONG, H. Identification os allelic polymorphism in the ovine leptina gene. **Molecular Biotechnology**, v. 41, p. 22-25. 2009.

ZUNDT, M.; MACEDO, F.A.F.; ASTOLPHI, J.L.L; MEXIA, A.A; SAKAGUTI, E.S. Desempenho e características de carcaça de cordeiros Santa Inês confinados, filhos de ovelhas submetidas à suplementação alimentar durante a gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.928-935. 2006.

4 TRABALHOS

4.1 Avaliação dos efeitos do grupo genético, sexo e ano sobre as características da carcaça de ovinos Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper ¹.

4.1.1 RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do sexo, grupo genético e ano sobre as características de carcaça de ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper criados no estado do Espírito Santo – Campus Alegre. Foram avaliados animais nascidos entre 2010 e 2013, os quais foram desmamados aos três meses de idade. Aos oito meses de idade os animais foram pesados (PA), encaminhados ao abate e foram registrados os pesos de carcaça quente (PCQ). As carcaças permaneceram em câmara frigorífica por 24h e então foram registradas as características de peso carcaça fria (PCF), peso do lombo, peso do lombinho e medida da espessura de gordura de cobertura (EGC). O rendimento de carcaça quente (RCQ) foi calculado por $(PCQ/PA) \times 100$. Foi realizada a análise de variância para verificar os efeitos do ano ao abate, sexo, grupo genético sobre as características de carcaça e as médias foram comparadas pelo teste SNK. Foram calculadas as correlações simples entre as características. As médias entre os anos de abate foram diferentes estatisticamente para as características PCQ, PCF, peso do lombo, peso do lombinho, EGC e RCQ; no entanto, não foi encontrada diferença estatística das médias de PA entre os anos. No grupo genético, as médias de peso do lombinho, PA e EGC foram estatisticamente diferentes e maiores para os animais Santa Inês cruzados com Dorper. No entanto a média do peso de lombo foi maior e diferente estatisticamente para os animais Santa Inês. As médias foram estatisticamente diferentes para EGC e o peso do lombo entre os sexos. As correlações entre as características foram de média e alta magnitude e significativas. Para uma melhor produção de carne ovina, utilizar animais Santa Inês cruzados com

¹ Artigo submetido à Revista Ciência Rural para publicação.

Dorper e fazer avaliações dentro do mesmo ano poderiam proporcionar melhores resultados.

4.1.2 ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the gender, genetic group and year effects on carcass traits in Santa Inês and Santa Inês crossed with Dorper sheep bred in Instituto Federal do Espírito Santo- Campus Alegre. Animals born between 2010 and 2012 were evaluated and at three months of age were weaned. The animal at eight months of age were weighted (live weight -LW), sent to slaughter and the hot carcass weight (HCW) was recorded. The carcasses remained in cold storage chamber for 24 hours and the characteristics of cold carcass weight (CCW), loin weight, tenderloin weight and the fat thickness were recorded. The carcass yield (CY) was calculated by $(HCW/LW) \times 100$. The variance analysis was performed to verify the effect of sex, genetic group and year on carcass traits and the means were compared by SNK test. The simple correlations between the carcass traits were calculated. The average between the years of slaughter were statistically different for the traits HCW, CCW, loin weight, tenderloin weight, fat thickness and CY. However, was not found statistical difference in the mean LW between years. In the genetic group, the average tenderloin weight, LW and fat thickness were statistically different and higher for the Santa Inês crossed with Dorper. However the average loin weight was higher and statistically different for animals Santa Inês. The means were statistically different for fat thickness and the loin weight between the gender. The correlations between the traits were medium and high magnitude and significant. In meat sheep production to use lamb Santa Inês crossed with Dorper and make evaluations within the same year may obtain best results.

4.1.3 Introdução

A ovinocultura vem sendo impulsionada a melhorar suas condições de produção, devido a uma ascensão do crescimento da demanda dos consumidores por carne ovina (SILVA et al., 2013). Dados da FAOSTAT (2011) revelam que, no Brasil, após meados da década de 90, a maior produção de carne ovina foi obtida no ano de 2011.

No Brasil, a raça Santa Inês é uma das melhores opções de ovinos deslanados para serem utilizados na produção de carne, pois apresentam características muito vantajosas para sua criação na região tropical brasileira (SOUSA et al., 2003). Entretanto, segundo Biagiotti et al. (2013), esta raça requer um melhoramento genético para algumas de suas características, como qualidade da carne, eficiência reprodutiva e resistência a endoparasitas.

A análise do desempenho do animal pode ser complementar aos estudos dos aspectos quantitativos de carcaça, pois estes são de maior importância no sistema de produção de carne ovina (VIEIRA et al., 2010). Segundo Vaz et al. (2013), a avaliação da qualidade da carne pode ser realizada através das características quantitativas como peso ao abate e acabamento.

Estudos realizados em ovinos evidenciam que fatores como sexo dos animais influenciam em algumas características de produção (OSÓRIO et al., 1996). Machos abatidos em mesma idade que fêmeas podem apresentar melhores características de carcaça, como relatado por Garcia et al. (2000).

O peso do animal vivo e o rendimento de carcaça são características de referência no comércio de ovinos do Brasil (PILAR et al., 2005). É comum entre os produtores a utilização de diferentes cruzamentos, entre raças nativas e de corte, para conseguir animais aptos para o abate, pois os diferentes grupos genéticos intervêm em determinadas características quantitativas de carcaça (AMARAL et al., 2011). Exemplos de grupos genéticos que podem proporcionar melhores características de carcaça são Santa Inês cruzados com Dorper e também com Dorset, como relata Yamamoto et al. (2005).

No estado do Espírito Santo são escassos estudos sobre desempenho e acabamento em ovinos, especialmente no que se refere a informações sobre características e rendimento de carcaça dos animais.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do ano de abate, grupo genético e sexo sobre as características quantitativas de carcaça em cordeiros Santa Inês e $\frac{1}{4}$ Santa Inês x $\frac{3}{4}$ Dorper.

4.1.4 Material e Métodos

4.1.4.1 Amostras utilizadas

Foram utilizados 85 ovinos provenientes de famílias de meio-irmãos de dois grupos genéticos (49 Santa Inês x Santa Inês e 36 Dorper x Santa Inês), pertencentes ao Setor de Ovinos do Instituto Federal do Espírito Santo (IFes - Campus de Alegre), localizado no Município de Alegre-ES (latitude 20°45'S, longitude 41°28'O, altitude 120m). As avaliações foram realizadas durante o abate dos anos de 2010, 2011, 2012 e 2013.

Os cordeiros foram criados em sistema intensivo, sendo desmamados aos três meses de idade e alimentados com concentrado comercial com 22% de PB (proteína bruta), sal mineral e capim *tifton-85* (*Cynodum spp.*) “*ad libitum*” até os oito meses de idade, quando se realizou o abate dos animais.

De todos esses animais também foram registradas informações de grupo genético, sexo (48 machos, castrados e não castrados, e 37 fêmeas) e ano de abate.

4.1.4.2 Abate e coleta dos dados de carcaça

Todos os animais foram abatidos aos oito meses de idade. Inicialmente os animais foram submetidos a um jejum de 18 horas, sendo realizada em seguida a

pesagem do animal vivo (PA).

Posteriormente, cada indivíduo foi insensibilizado, abatido e logo após foi efetuada a sangria, a esfolagem e a evisceração. Também foram retiradas a cabeça, as patas dianteiras e as patas traseiras. Todo procedimento de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, protocolo nº 244.

As carcaças foram pesadas imediatamente após estes processos, obtendo-se assim, o peso de carcaça quente (PCQ). Após o resfriamento em câmara frigorífica, a 2°C por 24 horas, foi feita a pesagem da carcaça fria (PCF) e imediatamente se procedeu à realização dos cortes comerciais, registrando-se o peso do lombo e do lombinho.

A espessura de gordura de cobertura (EGC) foi medida com um paquímetro em milímetros.

O rendimento de carcaça quente (RCQ) foi calculado pela fórmula $(PCQ/PA) \times 100$.

4.1.4.3 Análise estatística dos dados

Os resultados foram analisados pelo procedimento GLM do SAS (2009). A análise de variância (para verificar o efeito do grupo genético, sexo e ano de abate nas características de PA, PCQ, PCF, RCQ, EGC, lombo e lombinho) foi realizada de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + GG_i + A_j + S_k + e_{ijkl}$$

onde:

Y_{ijkl} = característica de produção e de carcaça

μ = média geral,

GG_i = efeito fixo do i-ésimo grupo genético,

A_j = efeito fixo do j-ésimo ano,

S_k = efeito fixo do k-ésimo sexo;

e_{ijkl} = erro aleatório.

As médias foram comparadas pelo teste SNK a 5% de probabilidade. As correlações entre as características foram calculadas pelo PROC CORR (SAS 2009).

4.1.5 Resultados e discussão

O sexo apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) somente no RCQ. As demais características não diferiram ($P > 0,05$) entre os sexos.

As médias das características de carcaça entre os sexos são apresentadas na tabela 1. Pode-se observar que, em geral, as médias de PA, PCQ, PCF, RCQ e lombinho não diferiram entre machos e fêmeas.

Os machos apresentaram maior média no peso do lombo e as fêmeas na EGC (Tabela 1).

Tabela 1 - Efeito do sexo sobre características de carcaça em ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper no estado do Espírito Santo.

	SEXO	
	F	M
PA (kg)	34.03±5.20 ^a	33.98±6.58 ^a
PCQ (kg)	16.88±2.58 ^a	17.24±4.23 ^a
PCF (kg)	15.44±2.84 ^a	15.15±3.44 ^a
RCQ (%)	47.47± 3.15 ^a	47.09± 6.16 ^a
EGC (mm)	2.23±1.53 ^a	1.61±0.99 ^b
Lombo (kg)	1.18±0.33 ^b	1.76±0.57 ^a
Lombinho (kg)	0.13±0.03 ^a	0.13±0.05 ^a

PA- peso do animal ao abate, PCQ- peso de carcaça quente, PCF- peso da carcaça fria, RCQ- rendimento de carcaça quente, EGC- espessura de gordura de cobertura, M- machos, F- fêmeas. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste SNK.

Osório et al. (1996) não encontraram efeito do sexo sobre as características de peso do animal ao abate, peso de carcaça quente e peso de carcaça fria em ovinos provenientes do cruzamento de Hampshire Down e Corridale, utilizando animais abatidos aos sete meses de idade, todos machos castrados. No entanto, nesse mesmo estudo, os machos mostraram maior espessura de gordura de cobertura. Este resultado é discordante do presente estudo, no qual as fêmeas mostraram ter médias maiores que os machos para esta característica com valores de 2,23mm e 1,60mm, respectivamente. Esta diferença pode ter ocorrido pela utilização de machos não castrados no presente estudo e de machos castrados no estudo supracitado, e também porque foram avaliadas raças diferentes.

Os resultados de maior média de lombo entre os machos, no atual estudo, podem ocorrer pelo fato de os machos possivelmente consumirem mais alimentos e conseguirem fazer maior conversão alimentar que as fêmeas, como relatam Hammell e Laforest (2000). Além disso, as fêmeas geralmente produzem menor quantidade de carne em comparação com os machos (CÉZAR e SOUSA, 2010).

Vilarinho (2013) avaliou o efeito do sexo sobre algumas características de carcaça em ovinos da raça Merino Australiano abatidos aos 12 meses de idade e criados em condições extensivas. Observou-se diferença entre os sexos para as características de peso de carcaça quente e fria, com médias maiores para os machos em ambas as características. Para a característica de espessura de gordura de cobertura não foram encontradas diferenças entre os sexos.

Hashimoto et al. (2012) encontraram efeito do sexo sobre característica de peso corporal ao abate; peso de carcaça quente, peso de carcaça fria em ovinos Texel x Corridale terminados em três sistemas diferentes. Os machos, os quais não eram castrados, apresentaram médias superiores em relação às fêmeas para as características supracitadas. No entanto, os mesmos autores não encontraram diferenças nas médias de rendimento de carcaça entre os sexos.

No presente estudo, as médias das demais características não apresentaram diferenças, provavelmente devido à criação dos animais em confinamento com a mesma quantidade de alimento fornecido.

Observa-se, no presente estudo, o bom rendimento de carcaça dos animais (47%) visto que a média esperada para ovinos varia de 40 a 50% entre os sexos (SIQUEIRA et al., 2001; OSÓRIO et al., 1999).

Em geral, os valores das médias das características dos animais são superiores aos apresentados na literatura para animais criados em confinamento e a pasto (HASHIMOTO et al., 2012; OSÓRIO et al., 1996).

O efeito do ano de abate teve influência ($P < 0,05$) sobre todas as características de carcaça.

As médias para todas as características de carcaça no ano de 2011, exceto espessura de gordura de cobertura, foram menores comparadas às médias dos outros três anos avaliados. Por outro lado, as médias dos anos de 2010 e 2013 foram maiores para quase todas as características (Tabela 2).

A maior média de rendimento de carcaça foi no ano de 2012 (Tabela 2). Isso provavelmente ocorreu devido ao fato de o peso da carcaça quente ter sido maior neste ano e pelo peso do animal ao abate ter apresentado uma das menores médias. O peso dos animais ao abate e PCQ apresentaram a menor média no ano de 2011 e conseqüentemente o rendimento de carcaça também foi menor neste ano.

Os baixos valores das médias no ano de 2011 podem ter ocorrido devido aos animais deste ano terem sido filhos de outro reprodutor introduzido no rebanho, o qual provavelmente era de menor capacidade de crescimento e de acabamento.

O ano também pode ter influenciado as características devido às variações ambientais de temperatura e umidade durante o confinamento ao longo dos anos. Fernandes et al. (2001) estudaram o efeito do ano sobre as características de desenvolvimento corporal (peso ao nascimento, peso a desmama, peso aos seis meses e peso a um ano) em ovinos da raça Morada Nova. Nesse estudo, os autores observaram que o ano foi um importante fator que influenciou estas características, afirmando ainda que a influência do ano pode ocorrer devido às variações de pluviosidade entre os anos, disponibilidade e qualidade das forragens, entre outros fatores.

No estudo realizado por Quirino et al. (2011) avaliando o efeito de ano (2007 a 2010) em ovinos da raça Santa Inês abatidos aos oito meses de idade, não

houve efeito do ano sobre o peso ao abate e peso da carcaça quente. No entanto, houve efeito do ano sobre o peso do lombo.

As diferenças das características de carcaça entre os anos, observadas no presente estudo, também podem ser justificadas pela variação da genética dos indivíduos em diferentes anos.

Em geral, os valores das médias para as características estudadas foram superiores, em relação às médias encontradas em outros trabalhos, para ovinos abatidos em idades próximas à do presente estudo (AZEREDO et al., 2006; COSTA et al., 2009).

Tabela 2 - Efeito do ano sobre características de carcaça em ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper no estado do Espírito Santo.

	ANO			
	2010	2011	2012	2013
PA (kg)	36.10±5.52 ^a	31.17±6.63 ^a	32.63±5.35 ^a	36.40±6.95 ^a
PCQ (kg)	16.85±3.36 ^a	13.42±3.52 ^b	19.23±2.92 ^a	18.40±2.19 ^a
PCF (kg)	16.65±3.08 ^a	13.16±3.46 ^b	14.15±2.50 ^{ab}	15.74±2.22 ^{ab}
RCQ (%)	46.47±4.02 ^{bc}	43.30±2.88 ^c	57.22± 1.24 ^a	47.77±2.76 ^b
EGC(mm)	2.35±1.40 ^a	-*	1.09±0.60 ^b	2.20±1.09 ^a
Lombo (kg)	1.08±0.26 ^c	2.12±0.41 ^a	1.79±0.41 ^b	2.30±0.32 ^a
Lombinho (kg)	0.14±0.03 ^a	0.07±0.01 ^b	0.13±0.04 ^a	0.15±0.03 ^a

PA- peso do animal ao abate, PCQ- peso de carcaça quente, PCF- peso da carcaça fria, RCQ- rendimento de carcaça quente, EGC espessura de gordura de cobertura. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05) pelo teste SNK. * Dado de EGC não estimado em 2011.

As características avaliadas não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) no grupo genético. Os animais Santa Inês cruzados com Dorper apresentaram maiores médias para PA, EGC e peso do lombinho. Estas diferenças podem ter sido devidas à maior robustez e musculabilidade presentes na raça Dorper. No entanto, a média para peso do lombo foi menor nos animais cruzados com Dorper (Tabela 3). Isto pode ser justificado devido ao fato de a raça Santa Inês ser

de maior tamanho que a raça Dorper; conseqüentemente, os lombos dos animais cruzados podem apresentar menores tamanhos e pesos.

Cartaxo et al. (2009), em ovinos Santa Inês (SI) e ½ Santa Inês x ½ Dorper (D) criados na Paraíba em confinamento até o período de abate (aproximadamente seis meses de idade), também não encontraram médias superiores para as características de peso de carcaça quente, peso de carcaça fria e rendimento de carcaça entre os grupos genéticos. No entanto, as características de PCQ e PCF analisadas por estes autores tiveram médias de PCQ de 12,43 kg (SIxSI) e 12,09 kg (SIxD) e PCF de 12,20 kg (SIxSI) e 11,86kg (SIxD), as quais foram menores do que as médias encontradas no presente estudo (Tabela 3). Esta diferença pode ter ocorrido devido às idades ao abate dos animais.

O rendimento de carcaça encontrado por Cartaxo et al. (2009) foi de 46,82% para animais Santa Inês e 46,53% para os animais Santa Inês cruzados com Dorper, médias similares às encontradas no atual estudo (47%).

Tabela 3 - Efeito do grupo genético sobre características de carcaça em ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper no estado do Espírito Santo.

GRUPO GENÉTICO		
	SIxSI	SIxD
PA (kg)	32.89±6.47 ^b	35.52±4.93 ^a
PCQ (kg)	16.99±4.01 ^a	17.29±3.20 ^a
PCF (kg)	14.72±3.39 ^a	16.08±2.79 ^a
RCQ (%)	46.98± 5.84 ^a	47.52± 4.49 ^a
EGC (mm)	1.49±0.93 ^b	2.35±1.48 ^a
Lombo (kg)	1.75±0.56 ^a	1.24±0.42 ^b
Lombinho (kg)	0.12±0.04 ^b	0.14±0.04 ^a

PA- peso do animal ao abate, PCQ- peso de carcaça quente, PCF- peso da carcaça fria, RCQ- rendimento de carcaça quente, EGC- espessura de gordura de cobertura, SI- Santa Inês, D- Dorper. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05) pelo teste SNK.

Barbosa (2009) avaliou o efeito do grupo genético sobre algumas características de carcaça em ovinos Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper

criados na Bahia em manejo extensivo com animais entre 4,5 a 5,5 meses de idade. Esta autora não observou efeito do grupo genético sobre o peso vivo e espessura de gordura subcutânea (medida por ultrassom). Estes resultados são diferentes dos encontrados no presente estudo, no qual foi observado efeito do grupo genético sobre o peso vivo e EGC. É importante ressaltar que o presente estudo foi realizado em condições de confinamento, um dos possíveis motivos que justificam essa diferença.

O resultado de médias superiores para algumas características de animais S1xD pode ocorrer devido ao vigor híbrido e heterose entre os animais cruzados. Além disso, Yamamoto et al. (2005) relatam que animais Santa Inês cruzados com Dorper apresentam descendentes com melhor conformação de carcaça.

Carneiro et al. (2007) analisaram características de carcaça de ovinos criados na Bahia em um sistema semi-intensivo, abatidos aos 150 dias de idade. O cruzamento de Dorper x Santa Inês, comparado com outros dois grupos genéticos (Dorper x Morada Nova e Dorper x Rabo Largo), apresentou médias ligeiramente superiores para peso de carcaça fria e lombo. No entanto, as médias foram similares comparadas aos outros grupos genéticos para espessura de gordura de cobertura. Estes autores apresentaram resultados de PA para SxDI de 26,51kg e o presente estudo foi de 35,52kg. A diferença nos resultados destes estudos seria devida à linhagem genética e ao sistema de produção empregado.

Em geral as médias das características do peso ao abate e peso de carcaça fria entre os grupos genéticos Santa Inês e Santa Inês x Dorper foram superiores no presente estudo em relação às médias referenciadas para essas características em outros trabalhos (AMARAL et al., 2011; CARTAXO et al., 2008 e SOUSA JÚNIOR et al., 2009).

Os coeficientes de correlação foram altos e significativos ($P < 0,001$) entre as características de PA e PCQ; PA e PCF; PA e lombinho; PCQ e PCF; PCQ e lombinho; PCF e lombinho. A correlação entre PCQ e RCQ foi média com um valor de 0,56 (Tabela 4).

Em relação ao peso do animal vivo e espessura de gordura de cobertura, a correlação foi de média-alta magnitude e favorável, igual à relatada por Barbosa

(2009). Com isso, espera-se que os animais com maior peso ao abate apresentem maior espessura de gordura de cobertura.

Tabela 4 - Correlações entre características de carcaça em ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper no estado do Espírito Santo.

	PA	PCQ	RCQ	PCF	Lombo	Lombinho
PA						
PCQ	0.70**					
RCQ	-0.16	0.56**				
PCF	0.89**	0.71**	-0.06			
LOMBO	0.23	0.43	0.25	0.18		
LOMBINHO	0.67**	0.72**	0.14	0.72**	0.02	
EGC	0.42	0.06	-0.39	0.43	-0.11	0.17

PA- peso do animal ao abate, PCQ- peso de carcaça quente, RCQ- rendimento da carcaça quente, PCF - peso da carcaça fria, EGC – espessura de gordura de cobertura **P<0,001.

Assim como no presente estudo, Landin et al. (2007) encontraram correlações de alta e média magnitude para a maioria das características de carcaça. No entanto, Cardoso (2008) encontrou correlações entre PCF com PCQ e lombo com PCQ incomuns, com valores de -0,236 e -0,627, respectivamente. Estas correlações foram muito inferiores aos valores encontrados no presente estudo, de 0,71 e 0,43 respectivamente.

4.1.6 Conclusão

Os animais cruzados foram superiores para algumas características de carcaça avaliadas. Isto levaria a sugerir aos produtores a criação deste grupo genético quando o objetivo for a produção de carcaça e de carne.

É importante fazer sempre a avaliação dos animais dentro do mesmo ano, face às diferenças encontradas entre os anos avaliados.

4.1.7 Referência bibliográfica

- AMARAL, R.M.; MACEDO, F.A.F.; MACEDO, F.G.; LINO, D.A.; ALCALDE, C.R.; DIAS, F.B.; GUALDA, T.P. Deposição tecidual em cordeiros Santa Inês, ½ Dorper-Santa Inês e ½ White Dorper-Santa Inês avaliados por ultrassonografia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, p. 658-669. 2011.
- AZEREDO, D.M.; OSÓRIO, M.T.M.; OSÓRIO, J.C.S.; MENDONÇA, G.; ESTEVES, R.M.; ROTA, E.L.; JARDIM, R.D.; PRADIÉE, J. Morfologia *in vivo* e da carcaça e características produtivas e comerciais em ovinos Corriedale não castrados, castrados e criptorquidas abatidos em diferentes idades. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, p.199-204. 2006.
- BARBOSA, C.M.P. Influência do cruzamento de ovinos Dorper com Santa Inês sobre o desenvolvimento do músculo *Longissimus dorsi* e sua cobertura de gordura. **Dissertação em Ciências Animais, Universidade de Brasília**, Brasília. 2009.
- BIAGIOTTI, D.; SARMENTO, J.L.R.; Ó, A.O.; RÊGO NETO, A.A.; SANTOS, G.V.; SANTOS, N.P.S.; TORRES, T.S.; NERI, V.S. Caracterização fenotípica de ovinos da raça Santa Inês no Estado do Piauí. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.14, p.29-42. 2013.
- CARDOSO, M.T.M. Desempenho e características de carcaça de ovinos da raça Santa Inês e seus cruzamentos em sistema intensivo de produção. **Dissertação de mestrado em Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília**, Brasília. 2009.
- CARNEIRO, P.L.S.; MALHADO, C.H.M.; SOUZA JÚNIOR, A.A.O.; SILVA, A.G.S.; SANTOS, F.N.; SANTOS, P.F.; PAIVA, S.R. Desenvolvimento ponderal e diversidade fenotípica entre cruzamentos de ovinos Dorper com raças locais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, p.991-998. 2007.
- CARTAXO, F.Q.; CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H.; NETO, S.G.; PEREIRA FILHO, J.M.; CUNHA, M.G.G. Características quantitativas da carcaça de cordeiros terminados em confinamento e abatidos em diferentes condições corporais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.697-704. 2009.

- CARTAXO, F.Q.; SOUSA, W.H.; CEZAR, M.F.; NETO, S.G.; CUNHA, M.G.G. Efeitos do genótipo e da condição corporal sobre o desempenho de cordeiros terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1483-1489. 2008.
- CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H. Proposta de avaliação e classificação de carcaças de ovinos deslanados e caprinos. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.4, p.41-51, 2010.
- COSTA, J.C.C.; OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M.; FARIA, H.V.; MENDONÇA, G.; ESTEVES, R.M. Produção de carne de ovinos corriedale terminados em três sistemas de alimentação. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.15, p.83-87. 2009.
- FAOSTAT - FAO Statistical Programme of Work. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. 2011. Acesso em Janeiro de 2014.
- FERNANDES, A.A.O.; BUCHANAN, D.; SELAIVE-VILLARROEL, A.B. Avaliação dos fatores ambientais no desenvolvimento corporal de cordeiros deslanados da raça Morada Nova. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p.1460-1465. 2001.
- GARCIA, I.F.F.; PEREZ, J.R.O; OLIVEIRA, M.V. Características de Carcaça de Cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês Puros, Terminados em Confinamento, com Casca de Café como Parte da Dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.253-260. 2000.
- HAMMELL, K.L.; LAFOREST, J.P. Evaluation of the growth performance and carcass characteristics of lambs produced in Quebec. **Canadian Journal of Animal Sciences**. 2000.
- HASHIMOTO, J.H.; OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M.; BONACINA, M.S.; LEHMEN, R.I.; PEDROSO, C.E.S. Qualidade de carcaça, desenvolvimento regional e tecidual de cordeiros terminados em três sistemas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.438-448. 2012.
- LANDIM, A.V.; MARIANTE, A.S.; MCMANUS, C.; GUGEL, R.; PAIVA, S.R. Características quantitativas da carcaça, medidas morfométricas e suas correlações em diferentes genótipos de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, p.665-676. 2007.

OSÓRIO, M.T.M.; SIERRA, I.; SAÑUDO, C.; OSÓRIO, J.C. Influência da raça, sexo e peso/idade sobre o rendimento da carcaça em cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, p. 139-142. 1999

OSÓRIO, J.C.S., AVILA, V.; JARDIM, P.O.C.; PIMENTEL, M.; POUHEY, J.L.O.F.; LUDER W. Produção de carne em cordeiros cruza Hampshire Down com Corriedale. **Revista Brasileira De Agrociência**, v.2, p. 99-104, 1996.

PILAR, R.C.; PÉREZ, J.R.O.; NUNES, F.M. RENDIMENTO E CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS DE CARÇAÇA EM CORDEIROS MERINO AUSTRALIANO E CRUZA ILE DE FRANCE x MERINO AUSTRALIANO. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, p. 351-359. 2005.

QUIRINO, C.R.; MADELLA-OLIVEIRA, A.F.; COSTA, W.M.; SANTOS, R.P.; RODRIGUES, Y.M. Efecto del año sobre el peso al sacrificio y peso de los cortes de la canal de ovinos Santa Inês de Brasil. **Anais Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia**, p. 147-149. 2011.

SAS Institute, INC. Carry, N.C. 2009.

SILVA, M.G.B., COSTA C., HADLICH J.C., FACTORI M.A., LIMA V.L.F. Rendimento de carcaça de cordeiros terminados em confinamento com associações de grãos secos e ensilados. **Synergismus scyentifica UTFPR**, Pato Branco. 2013.

SIQUEIRA, E.R.; SIMÕES, C.D.; FERNANDES, S. Efeito do Sexo e do Peso ao Abate sobre a Produção de Carne de Cordeiro. I. Velocidade de Crescimento, Caracteres Quantitativos da Carcaça, pH da Carne e Resultado Econômico. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.30, p.844-848. 2001.

SOUSA, W.H.; LÔBO, R.N.B.; MORAIS, O.R. Ovinos Santa Inês: Estado de Arte e Perspectivas. In: **Simpósio internacional sobre caprinos e ovinos de corte**, 2., 2003, João Pessoa. Anais... p. 501-522. João Pessoa. 2003.

SOUZA JÚNIOR, A.A.O., SANTOS, C.L., CARNEIRO, P.L.S., MALHADO, C.H.M., SUZART, J.C.C., RIBEIRO JÚNIOR, M. Estudo alométrico dos cortes da carcaça de cordeiros cruzados Dorper com as raças Rabo Largo e Santa Inês. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, p.423-433. 2009.

VAZ, F.N.; RESTLE, J.; PÁDUA, J.T.; FONSECA, C.A., PACHECO, P.S. Características de carcaça e receita industrial com cortes primários da carcaça de

machos nelore abatidos com diferentes pesos, **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, p. 199-207. 2013.

VIEIRA, M.M.M.; CÂNDIDO, M.J.D.; BOMFIM, M.A.D.; SEVERINO, L.S.; ZAPATA, J.F.F.; BESERRA, L.T.; MENESES, A.J.G.; FERNANDES, J.P.B. Características da carcaça e dos componentes não-carcaça em ovinos alimentados com rações à base de farelo de mamona. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, p. 140-149. 2010.

VILARINHO, R.C. Características de carne de cordeiros criados em campo natural do bioma Pampa. **Dissertação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre. 2013.

YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, F.A.F.; ZUNDT, M.; MEXIA, A.A.; SAKAGUTI, E.S.; ROCHA, G.B.L.; REGAÇONI, K.C.T.; MACEDO, R.M.G. Fontes de óleo vegetal na dieta de cordeiros em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.703-710. 2005.

4.2 Identificação de polimorfismos nos genes da miostatina e leptina e associação de seus efeitos com características de carcaça de ovinos.

4.2.1 RESUMO

O objetivo do estudo foi identificar polimorfismos no gene da miostatina e no gene da leptina em ovinos da raça Santa Inês e Santa Inês cruzados com Dorper, no intuito de verificar o efeito desses polimorfismos sobre as características de carcaça. Os animais foram criados em confinamento, no Estado do Espírito Santo. Aos oito meses de idade os animais foram pesados e abatidos. Foi registrado o peso da carcaça quente (PCQ) e o peso de carcaça fria (PCF), do lombo, do lombinho e a medida da espessura de gordura de cobertura (EGC). O rendimento de carcaça quente (RCQ) foi calculado. Foram coletados pelos de cada animal antes do abate e este material foi usado para extração de DNA por protocolo alcalino. Os animais foram genotipados para a mutação G>A no nucleotídeo 9827 do gene da miostatina e para um polimorfismo no *exon* 3 do gene da leptina, através da técnica PCR-

RFLP. Para isso, a PCR foi realizada para amplificação de parte da região 3'UTR do gene da miostatina e do *exon 3* do gene da leptina. O produto da PCR foi submetido à eletroforese de poliacrilamida a 8% para confirmação da amplificação dos fragmentos de DNA. Os *amplicons* do gene da miostatina foram submetidos à clivagem com enzima de restrição *HpyCH4IV* e os da leptina foram clivados com a enzima *AleI*. O produto da clivagem de DNA com enzima de restrição foi submetido à eletroforese de poliacrilamida a 8% para visualização do resultado final. Os alelos encontrados foram registrados para cada indivíduo, sendo realizada a análise de variância para verificar os efeitos das mutações sobre as características de carcaça. O alelo mutante do gene da miostatina mostrou associação com o aumento das médias de PCF e EGC e com a redução do RCQ. O alelo mutante do gene da leptina não apresentou associação com as características de carcaça avaliadas. O alelo estudado no gene da miostatina poderia ser usado dentro de programas de melhoramento genético para evitar perdas na carcaça por resfriamento. Mais estudos analisando polimorfismos no gene da leptina devem ser realizados para verificar a influência destes sobre as características de carcaça.

4.2.2 ABSTRACT

The aim of this study was to identify polymorphisms in the myostatin and leptin genes in Santa Inês and Santa Inês crossed with Dorper, in order to verify the effect of these polymorphisms on carcass trait. The animals of this study were bred in feedlot in Espírito Santo. The animal at eight months of age were weighted and slaughtered. The hot carcass weight (HCW), the cold carcass weight (CCW), loin weight, tenderloin weight and the fat thickness were recorded. The carcass yield was calculated. Hair were collected for each animal and this material was used for DNA extraction by alkaline protocol. The animals were genotyped for the mutation G>A at nucleotide 9827 of myostatin gene and one polymorphism in *exon 3* of the leptin gene by PCR-RFLP. The PCR was performed for amplification of the 3'UTR region of the myostatin and *exon 3* of the leptin gene. The electrophoresis of polyacrylamide 8% was carried out to confirm the amplification by PCR. The amplicons of the

myostatin gene were cleaved with restriction enzyme *HpyCH4IV* and the amplicons of leptin were cleaved with *AleI* enzyme. The electrophoresis of polyacrylamide 8% was carried out to display the final result. The alleles found were recorded for each animal. The variance analysis was performed to verify the effect mutations on carcass traits. The mutant allele of the myostatin gene was associated with greater mean of CCW and fat thickness, but lower carcass yield. The mutant allele of leptin gene was not associated with the carcass traits. The allele studied in the myostatin gene can be used in breeding programs to avoid losses in carcass by cooling. Most studies analyzing polymorphisms in leptin gene should be performed to evaluate their influence on carcass characteristics.

4.2.3 Introdução

O SNP (Polimorfismo de único nucleotídeo) é uma alteração que pode ser utilizada na seleção de indivíduos como um tipo de marcador molecular. Essa alteração consiste na troca pontual de um único nucleotídeo na sequência de DNA que pode ocorrer em regiões não transcritas, intergênicas e regiões codificantes, sendo que neste último caso pode alterar a proteína devido à troca de um aminoácido (PFEIFER et al., 2008).

Alguns polimorfismos em genes como o da miostatina têm sido encontrados e associados com alguns efeitos nas características de carcaça (MIRHOSEINI e ZARE, 2012). Isto porque o crescimento muscular é regulado por alguns membros da família TGF- β , entre os quais a miostatina se destaca como um dos principais membros desta família em termos de efeito no músculo esquelético (BURKS e COHN, 2011).

O gene da miostatina foi descoberto por McPherron et al. (1997) e identificado como um gene regulador negativo para produção de músculo. Em ovinos, foi descoberto um polimorfismo com base na troca de uma guanina por uma adenina na região 3'UTR da miostatina. Esta mutação gera um sítio de miRNA que inibe a tradução do gene; conseqüentemente, os animais portadores dessa mutação podem apresentar hipertrofia muscular (CLOP et al., 2006).

Outro gene que pode apresentar evidências de sua influência sobre características de carcaça é o gene da leptina. Com base em Nelson e Cox (2011), a presença de leptina restringe a ingestão de alimentos, pois estimula os neurônios anorexígenos a produzirem hormônios que inibem o apetite. Zhou et al. (2009) descobriram, no *exon 3* do gene da leptina, de ovinos, quatro mutações que conseqüentemente geram 5 alelos diferentes, incluindo o selvagem. Este estudo mostrou que, dentre essas quatro mutações, três alteram a sequência de aminoácidos, e os autores sugeriram que estas variações podem ter impacto na função e atividade da leptina.

O objetivo do presente estudo foi identificar a presença da mutação DQ530260:g.9827G>A no gene da miostatina e também identificar uma mutação no *exon 3* no gene da leptina pela técnica PCR-RFLP em ovinos Santa Inês e ¼ Santa Inês x ¾ Dorper, além de estudar a associação destas mutações com características quantitativas de carcaça.

4.2.4 Material e métodos

4.2.4.1 Amostras utilizadas

Foram utilizados 70 ovinos meio-irmãos de dois grupos genéticos (Santa Inês x Santa Inês e Dorper x Santa Inês), do Setor de Ovinos do Instituto Federal do Espírito Santo (IFes - Campus Alegre), (latitude 20°45'S, longitude 41°28'O, altitude 120m).

Aos três meses os cordeiros foram desmamados e alimentados com concentrado comercial de 22% de PB (proteína bruta); sal mineral e capim *tifton-85* (*Cynodum spp.*) “*ad libitum*” até os oito meses de idade, quando foram abatidos.

Foram coletadas as informações fenotípicas de peso do animal ao abate (PA); peso de carcaça quente (PCQ), peso de carcaça fria (PCF), rendimento de carcaça (RCQ), peso de lombo, peso de lombinho e espessura de gordura de cobertura (EGC) de cada animal conforme descrito no item 4.1.4.2 deste estudo.

4.2.4.2 Extração do DNA

As amostras de DNA foram provenientes de pelos coletados da porção final da cauda dos animais, sendo estes avaliados em microscópio óptico com aumento de 40x para selecionar pelos com os bulbos pilosos íntegros.

A extração de DNA das amostras de pelo foi realizada utilizando 10 bulbos dos pelos coletados de cada animal. Estes bulbos foram cortados e colocados em microtubos, onde ocorreu a reação de extração de DNA.

Foi utilizado protocolo alcalino para a reação de extração de DNA dos pelos, a qual teve início com uma solução de lise (200mM de NaOH) adicionada em cada tubo contendo os bulbos. Para separar as possíveis células ainda presas ao pelo, esta mistura foi levemente agitada com auxílio da pipeta. Um aquecimento de 96°C por 15 minutos sucedeu esta etapa, e com isso as membranas celulares foram desnaturadas. Posteriormente, foi efetuada uma centrifugação a 13000 RPM por 2 minutos, a qual permitiu a separação do DNA das organelas e proteínas presentes no interior das células que, após a lise celular, ficaram dispersas na solução. Finalmente, para que a atividade da primeira solução não continuasse em ação, foi necessário adicionar uma solução neutralizante (200mM de HCL e 100mM de Tris HCL). Como consequência, também foi reduzido o pH de toda a reação, aproximando-se ao pH neutro.

A quantificação do DNA foi realizada no aparelho NanoDrop® e para cada amostra o DNA extraído foi diluído para uma concentração final de 10 ng.

4.2.4.3 Genotipagem dos indivíduos para o gene da leptina e miostatina

Foi realizada PCR para o gene da miostatina com um volume final de 20µl por reação, utilizando 1x tampão para PCR [10 mM Tris-HCl (incluindo Mg⁺²)], 0.5mM mix de dNTPs PROMEGA®, 1U *Taq* DNA polimerase PROMEGA®, 0.5 µM de cada *primer* - INVITROGEN® (tabela 1), água deionizada e 50 ng do conteúdo obtido da extração do DNA. Em cada reação de PCR foi feito um controle negativo.

A reação de PCR, para o gene da miostatina, foi realizada em um termociclador Applied Veriti® 96-Well com desnaturação a 95°C por 1 minuto, 40 ciclos de amplificação, com desnaturação a 95°C por 30 segundos; anelamento dos *primers* a 57°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto. Após o último ciclo, as reações foram submetidas a uma etapa final de 7 minutos a 72°C para a extensão final das fitas.

A reação de PCR para o gene da leptina foi realizada com um volume final de 20µl por reação, com 0.15mM mix de dNTPs PROMEGA®, 0.5U *Taq* DNA polimerase PROMEGA® e seu respectivo tampão para PCR em 1x [10 mM Tris-HCl (com Mg⁺²)], 0.25 µM de cada *primer* - INVITROGEN® (tabela 1), água deionizada e 100 ng do conteúdo obtido da extração do DNA. Todas as reações foram feitas junto a um controle negativo.

Posteriormente, as mostras para o genes da leptina foram colocadas em um termociclador Applied Veriti® 96-Well, onde a reação de PCR ocorreu sob as seguintes condições: um ciclo de desnaturação a 94°C por 2 minutos, seguido por 35 ciclos de amplificação, com desnaturação a 94°C por 30 segundos; anelamento dos *primers* a 57°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. Após o último ciclo, as reações foram submetidas a uma etapa final de 5 minutos a 72°C para a extensão final das fitas.

Alíquotas de 3µl das amostras amplificadas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante a 8% com 20 centímetros de tamanho. Juntamente com as amostras, foram aplicados padrões de peso molecular 100bp DNA Ladder PROMEGA® para a confirmação dos fragmentos amplificados. A coloração dos géis de poliacrilamida foi executada mergulhando-os por 5 minutos em uma solução fixadora, composta de álcool, ácido acético e água. Depois, foi adicionada uma solução de nitrato de prata por 10 minutos. As soluções foram descartadas e o gel lavado com água destilada. Por fim, os géis foram mergulhados na solução reveladora, composta de hidróxido de sódio, formol e água, até que as bandas do gel correspondentes aos fragmentos de DNA amplificados aparecessem, com fragmentos de 129pb para o gene da miostatina e de 471pb para o gene da leptina. Após a confirmação da amplificação pela visualização em gel de poliacrilamida, as amostras foram submetidas à clivagem por enzima de restrição.

Tabela 1- Informações sobre os *primers* referentes aos genes da miostatina e leptina.

Gene	Sequência do <i>primer</i>	Ta	Pb	Referência
Miostatina	F 5'-TTATGGGTTTCGTGATGGCTGT-3' R 5' AGAGTTAAATCATTTTGGTTTGCTT-3'	57°C	129pb	Desenhado no <i>Primer Express 3.0</i>
Leptina	F 5'-AGGAAGCACCTCTACGCTC-3' R 5'-CTTCAAGGCTTCAGCACC-3'	57°C	471pb	Zhou et al., 2009

Ta- temperatura de anelamento, pb -tamanho do fragmento amplificado em pares de bases.

As reações de clivagem por enzima de restrição foram realizadas para identificar os diferentes alelos nos genes estudados. No gene da miostatina foi genotipada uma mutação localizada na região 3'UTR, referida como DQ530260:g.9827G>A.

No gene da leptina foi genotipada a mutação EF534371 (387^{G/T}); localizada no *exon* 3 deste gene.

As enzimas de restrição foram escolhidas pela ferramenta NEBcutter V2.0 (New England BioLabs), à qual foi submetida parte das sequências onde as mutações estão localizadas. Foram escolhidas as enzimas que reconhecem e clivam a sequência quando esta não apresenta o alelo mutante. Sendo assim, as amostras clivadas indicam indivíduos não portadores da mutação; já as amostras não clivadas indicam indivíduos portadores da mutação.

Para o gene da miostatina foi utilizada a enzima *Hpy*CH4IV da NewEngland BioLabs®, que reconhece e cliva a sequência A[~]CGT. No fragmento amplificado para o gene da miostatina, esta enzima reconhece apenas um sítio de clivagem, sendo o produto da reação dois fragmentos com tamanhos de 74pb e 55pb (tabela 2).

A enzima *AleI* da NewEngland BioLabs® foi escolhida para discriminar o alelo EF534371 do gene da leptina. Esta enzima identifica e cliva a sequência CACNN[~]NGTG. O produto da reação gera dois fragmentos de tamanhos de 384pb e 87pb, pois reconhece apenas um sítio de clivagem no fragmento de 471pb do gene da leptina (tabela 3).

Tabela 2- Sequência amplificada no gene da miostatina, com mutação genotipada por enzima de restrição *HpyCh4IV* e os respectivos fragmentos clivados.

Miostatina		
Mutação	Posição	Efeito
G>A	g:9827	Sítio miRNA
Sequência Amplificada		
Produto da PCR: 129 bp Posição: 9752-9880		
TTATGGGTTTCGTGATGGCTGTATAATGTGAATGTGAAATTTCAATGGTTTACTGT CATTGTATTCAAATCTCAAC(AG)TTCCATTATTTAATACTTATAAATATTAAGCA AACCAAATGATTAACTCT		
Enzima	Sítio de Clivagem	Fragmentos Clivados
<i>HpyCH4IV</i>	ACGT	74pb e 55pb

Tabela 3 Sequência amplificada no gene da leptina, com mutação EF534371 genotipada por enzima de restrição *AleI* e os respectivos fragmentos clivados.

Leptina		
Mutação	Posição	
G>T	Nucleotídeo 387 do <i>exon 3</i>	
Sequência Amplificada		
Produto da PCR: 471 bp		
AGGAAGCACCTCTACGCTCGAGGGAAAGGCGGAGTTGGGGGAGCTCTGAGGA GCTGCCCTCTCTCCACTGAGCTCTTGATGTCCCCTTCCTCCTGCATAGCAGTC CGTCTCCTCCAAACAGAGGGTCACTGGTTTGGACTTCATCCCTGGGCTCCACC CTCTCCTGAGTTTGTCCAAGATGGACCAGACATTGGCAATCTACCAACAGATCC TCGCCAGTCTGCCTTCCAGAAATGTGATCCAAATATCTAATGACCTGGAGAACC TCCGGGACCTTCTCCACCTGCTGGCCGCTCCAAGAGCTGCCCTTGCCGCA GGTCAGGGCCCTGGAGAGCTTGGAGAGCCTGGGCGTCGTCCTGGAAGCCTCC CTCTACTCCACCGAG(G/T)TGGTGGCCCTGAGCCGGCTACAGGGGTCTCTACA GGACATGTTGCGGCAGCTGGACCTCAGCCCTGGGTGCTGAAGCCTTGAAG		
Enzima	Sítio de Clivagem	Fragmentos Clivados
<i>AleI</i>	CACNN^NNGTG	384pb e 87pb

Todas as reações de clivagem com enzima de restrição foram realizadas para um volume final de 20µl, sendo utilizado 1x de tampão específico para cada enzima de restrição, 5U de enzima de restrição, 4µl do produto da PCR e água deionizada. Para todas as reações foi feito um controle negativo. As amostras foram colocadas no termociclador Applied Veriti® 96-Well a 37°C, temperatura ótima de funcionamento de todas as enzimas, durante seis horas.

Para as reações realizadas com a enzima *Hpy*CH4IV as amostras permaneceram vinte minutos a uma temperatura de inativação de 65°C. Para as reações realizadas com a enzima *A*/el, a temperatura de inativação utilizada foi de 80°C por vinte minutos.

O produto das reações com as enzimas de restrição supracitadas, foi submetido à eletroforese de poliacrilamida a 8%. As amostras e um padrão de peso molecular de 100bp DNA Ladder PROMEGA® foram aplicados nos poços do gel para a confirmação dos fragmentos clivados. Os géis foram corados com solução de nitrato de prata e revelados com solução de hidróxido de sódio e formol. Os géis foram fotodocumentados no aparelho DNR - MiniBis Pro®.

Foram repetidas as reações de clivagem com enzima de restrição apenas para o alelo do gene da miostatina.

A frequência alélica e a frequência genotípica foram calculadas pelo programa Power Marker V3.25.

4.2.4.4 Análise estatística

A análise de variância para verificar o efeito dos polimorfismos sobre as características de produção foi realizada pelo procedimento GLM do SAS (2009) de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$$

onde:

Y_{ij} = característica de produção e de carcaça

μ = média geral,

A_i = efeito fixo do i -ésimo genótipo,

e_{ij} = erro aleatório.

A análise estatística foi realizada para verificar o efeito de cada genótipo do gene da miostatina e do gene da leptina, sobre as características de peso do

animal vivo, peso de carcaça quente, peso de carcaça fria, rendimento de carcaça, peso de lombo, peso de lombinho e medida de espessura de gordura de cobertura.

4.2.5 Resultado e discussão

O polimorfismo genotipado na região 3'UTR no gene da miostatina, que consiste na troca de G>A, foi encontrado na população estudada. Dentre todos os animais genotipados, dez indivíduos mostraram ser portadores desta mutação. Os genótipos encontrados foram GG (homozigotos para ausência de mutação) e GA (heterozigotos para a mutação). O genótipo AA, o qual corresponderia a indivíduos homozigotos para mutação, não foi encontrado em nenhum indivíduo da população estudada (Anexo A e B).

A frequência do alelo A para esta mutação foi de 0,0770 e a frequência do alelo G foi de aproximadamente 0,9230. A frequência do genótipo GG foi de 0,8461, a do genótipo GA foi de 0,1538 e a do genótipo AA foi de 0 (Tabela 4).

Os animais da raça Santa Inês, do presente estudo, não apresentaram mutação para o gene da miostatina; somente os animais Santa Inês cruzados com Dorper foram portadores da mutação. Em um estudo feito por Hadjipavlou et al. (2008) observou-se que os reprodutores da raça Suffolk também não mostraram ser portadores da mutação no gene da miostatina, ao contrário dos reprodutores da raça Texel, os quais apresentaram o alelo mutante com uma frequência alélica de quase 100%. Os indivíduos da raça Charollais apresentaram uma frequência de aproximadamente 70% para o alelo não mutante e de aproximadamente 30% para o alelo mutante.

As análises estatísticas do presente estudo mostraram que somente a espessura de gordura de cobertura sofreu influência significativa ($P < 0,05$) do alelo A (mutante).

A média do peso de carcaça fria entre indivíduos heterozigotos foi de 17,91Kg, ao passo que a média dos indivíduos homozigotos (ausentes da mutação) apresentou-se em 15,73kg (Tabela 5). Com o teste de médias foi possível observar

que os animais heterozigotos para a mutação apresentaram maiores pesos de carcaça fria.

Tabela 4 Frequências alélicas e frequências genotípicas para o gene da miostatina e leptina.

	F_{Ac}	F_{Am}	F_{Gsm}	F_{Gcm}
Miostatina	0,9230±0,022	0,0770±0,022	0,8461	0,1538
L.EF534371	0,7540±0,031	0,2460±0,031	0,5079	0,4921

L.- Leptina; F_{Ac} - frequência do alelo comum; F_{Am} - frequência do alelo mutante; F_{Gsm} - frequência do genótipo sem mutação; F_{Gcm} - frequência do genótipo com mutação.

Animais portadores da mutação também apresentaram maior espessura de gordura de cobertura comparados aos animais que não continham a mutação, com médias de 3,05 mm e 1,69 mm, respectivamente (Tabela 5).

Observa-se que a presença do alelo A pode evitar perdas nas carcaças por resfriamento, provavelmente pela possibilidade de maior deposição de gordura subcutânea nos indivíduos portadores deste alelo.

A média do rendimento de carcaça foi inferior para os indivíduos que apresentaram o polimorfismo no gene da miostatina (Tabela 5).

No estudo realizado por Novianti et al. (2009), foram identificados alguns QTLs relacionados às características de carcaça em bovinos. No entanto, alguns efeitos desses QTLs desapareceram quando um genótipo F94L da miostatina foi adicionado ao modelo. Este estudo concluiu que existem outros genes que afetam as características de carcaça, mas alguns deles podem sofrer um efeito epistático com a miostatina ou interação com esse gene. Isso pode sugerir que, embora a miostatina seja um gene que influencia a composição muscular, como mostrado por estudos anteriores, o seu efeito pode depender também de outros fatores genéticos.

Hoffman et al. (2013) mostraram resultados onde alguns sítios miRNA presentes dentro de sequências Alus são evitados pela maquinaria de miRNA. Este estudo pode indicar que há outros fatores biológicos que podem impedir o efeito final da ação dos miRNAs.

Tabela 5 Médias entre os genótipos encontrados no gene da miostatina para as características de carcaça de ovinos Santa Inês e cruzados com Dorper.

Miostatina		
	GG	GA
PA (kg)	34.49± 5.47 ^a	37.65±5.15 ^a
PCQ (kg)	18.17± 3.42 ^a	17.85± 3.10 ^a
PCF (kg)	15.73± 3.09 ^b	17.91± 2.98 ^a
RCQ (%)	53.65± 8.97 ^a	47.26± 2.68 ^b
EGC (mm)	1.69± 1.22 ^b	3.05±1.30 ^a
Lombo (kg)	1.48± 0.52 ^a	1.17± 0.25 ^a
Lombinho (kg)	0.14±0.04 ^a	0.14±0.04 ^a

PA- peso do animal ao abate, PCQ- peso de carcaça quente, PCF- peso da carcaça fria, RCQ- rendimento de carcaça quente, EGC- espessura de gordura de cobertura, GG e GA- genótipos distintos entre os animais. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05) pelo teste SNK.

Os dois estudos apresentados acima mostram que outros fatores biológicos podem influenciar o resultado final a ser expresso. Sendo assim, evidências como estas, na literatura, proporcionam possíveis justificativas para que a musculatura dupla em ovinos não tenha sido observada nas demais características do presente estudo.

Han et al.(2010) analisaram, em ovinos da raça Romney da Nova Zelândia, a presença da mutação descoberta por Clop et al. (2006) no gene da miostatina com a técnica PCR-SSCP. Os autores encontraram apenas indivíduos com genótipo GG e GA para este gene, os quais foram os mesmos genótipos encontrados no presente estudo. Estes autores também avaliaram o efeito desta mutação sobre algumas características de carcaça e encontraram valores superiores para as características peso ao nascer, rendimento médio do lombo, proporção de rendimento de lombo e rendimento total do músculo nos animais heterozigotos. As características, como rendimento médio da paleta; rendimento do pernil; proporção de rendimento da paleta e proporção do rendimento de perna, não sofreram efeito significativo deste alelo.

Hadjipavlou et al. (2008), assim como no presente estudo, também não encontraram associação do genótipo mutante com o peso do animal vivo. Estes

autores, em um estudo com a raça Charollais, afirmaram que o efeito do alelo A sobre a deposição do músculo parece ser parcialmente recessivo. Animais com genótipo AA obtiveram maior deposição de músculo comparados aos animais GG e GA. Isto poderia justificar a ausência de efeito do alelo mutante para algumas características de carcaças avaliadas no presente estudo, onde foram observados apenas indivíduos heterozigotos para a mutação e não a presença de indivíduos homozigotos para o alelo A.

Outro estudo, feito por Boman et al. (2010), mostrou que a mutação no gene da miostatina em ovinos de uma raça norueguesa aumenta a massa muscular e diminui o nível da quantidade de gordura. Estes resultados divergem em relação às observações expostas no presente estudo.

Outra observação feita no presente estudo foi a identificação de mais dois fragmentos, além dos correspondentes à clivagem na ausência de mutação (Anexos A e B). Estes fragmentos apareceram em alguns indivíduos genotipados. Pelo fato da sequência que foi amplificada conter apenas um sítio de clivagem para a enzima de restrição, esses fragmentos indicariam que outros polimorfismos poderiam estar presentes neste *amplicon*. No entanto, uma análise mais detalhada deve ser realizada para confirmar esta hipótese.

Os genótipos encontrados para o polimorfismo no gene da leptina foram homozigotos sem mutação e heterozigotos. Assim como no gene da miostatina, indivíduos homozigotos para as mutações não foram encontrados na população estudada (Anexos C e D).

O alelo EF534371, com fragmentos digeridos pela enzima de restrição *AleI*, a frequência do alelo T foi de 0,2460 e do alelo G foi igual a 0,7540. As frequências dos genótipos GG, GT e TT foram 0,5079; 0,4921 e 0, respectivamente (tabela 4).

Na tabela 6 são apresentadas as médias e o desvio-padrão encontrados para cada característica, de acordo com o genótipo.

Não houve associação significativa ($P > 0,05$) desta mutação com nenhuma característica de carcaça avaliada. As médias não apresentaram diferenças estatísticas entre os diferentes alelos.

Em ovinos, poucos estudos analisando o efeito desses alelos têm sido realizados. Shojaei et al. (2010), através da técnica PCR-SSCP, caracterizaram

variações no *exon 3* do gene da leptina em ovinos do Irã. Diferentes genótipos foram encontrados, e suas associações com as características de crescimento animal foram analisadas. Os genótipos encontrados por esses autores mostraram afetar o peso corporal aos três, seis, nove e doze meses de idade.

Tabela 6 Médias e desvio-padrão das características de carcaça de acordo com o genótipo encontrado no gene da leptina no alelo EF534371 de ovinos Santa Inês e cruzados com Dorper.

Leptina		
	GG	GT
PA (kg)	34.23± 5.87 ^a	35.74± 5.15 ^a
PCQ (kg)	17.43± 2.81 ^a	18.81± 3.72 ^a
PCF (kg)	15.87± 3.21 ^a	16.50± 3.16 ^a
RCQ (%)	51.62± 8.16 ^a	53.10± 8.90 ^a
EGC (mm)	2.02± 1.46 ^a	1.92± 1.25 ^a
Lombo (kg)	1.31± 0.39 ^a	1.53± 0.57 ^a
Lombinho (kg)	0.13± 0.03 ^a	0.15± 0.04 ^a

PA- peso do animal ao abate, PCQ- peso de carcaça quente, PCF- peso da carcaça fria, RCQ- rendimento de carcaça quente, EGC- espessura de gordura de cobertura, GG e GT- genótipos distintos entre os animais. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste SNK.

Hajihosseini et al. (2012) também avaliaram o efeito das variantes alélicas encontradas no *exon 3* do gene da leptina em características de crescimento de ovinos do Irã. Estes autores também utilizaram o mesmo *primer* descrito por Zhou et al. (2009) para amplificar um fragmento de 471 pares de bases, referente ao *exon 3* da leptina, e através da técnica PCR-SSCP fizeram a discriminação alélica entre os indivíduos. Estes autores encontraram diferentes alelos e genótipos e alguns destes apresentaram efeito superior para algumas características de crescimento, como o peso a desmama, o peso aos seis e aos nove meses e o peso ao sobreano. Outros genótipos mostraram peso ao nascimento superior aos pesos dos outros genótipos.

Observa-se que variações na sequência de bases nitrogenadas no *exon 3* do gene da leptina podem influenciar as características de crescimento do animal,

como apresentado pelos estudos de Shojaei et al. (2010) e Hajihosseini et al. (2012). No entanto, com base no polimorfismo estudado no presente estudo, essa variação não teria efeito sobre as características de carcaça.

Análises do efeito de polimorfismos localizados em outras regiões do gene da leptina foram realizadas, sugerindo que polimorfismos em outras regiões desse gene podem influenciar nas características de carcaça. A respeito, uma análise do efeito de polimorfismos no gene da leptina em ovinos foi feita por Barzehkar et al. (2009). Estes autores avaliaram a associação de polimorfismos da leptina com características de crescimento, verificando associação com características da carcaça em três raças ovinas do Irã. No entanto, o *primer* utilizado nesse estudo cobria o *exon 2* e parte do *intron 2*, e a discriminação alélica foi realizada pela técnica SSCP e sequenciamento. Os autores encontraram alelos e genótipos distintos dentro deste *amplicon*, além de diferenças de alguns polimorfismos com o peso de carcaça fria, como mostrado no presente estudo para o alelo EF534372. Associações com gordura corporal, peso da carne magra e gordura da cauda também foram encontradas por Barzehkar et al. (2009).

Boucher et al. (2006), ao genotiparem ovinos da raça Dorset e Suffolk, sequenciando fragmentos de DNA que incluíam o *exon* dois e o *intron 2*; o *exon 3* e a região 3'UTR do gene da leptina, encontraram dois polimorfismos no *intron 2* e um polimorfismo na região 3'UTR. O polimorfismo encontrado no *intron 2* mostrou estar associado com a redução da espessura do músculo e da área de olho de lombo na raça Suffolk.

Mais estudos devem ser conduzidos para confirmar o efeito desses genes sobre as características de carcaça, além de verificar quais outros fatores biológicos podem interferir na expressão das características de carcaça em ovinos.

4.2.6 Conclusão

O alelo mutante da miostatina pode evitar perdas na carcaça por resfriamento. No entanto, para este alelo ser incorporado ao melhoramento genético da ovinocultura de corte são necessários estudos que avaliem também a

possibilidade de efeitos negativos em relação à sanidade e reprodução dos animais. Devem ser realizados mais estudos relacionados à associação dos efeitos dos diferentes polimorfismos no gene da leptina em ovinos, com intuito de verificar se há alguma variação nucleotídica que influencie evidentemente as características de carcaça.

4.2.7 Referência bibliográfica

BARZEHKAR, R.; SALEHI, A.; MAHJOUBI, F. Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. **Iranian Journal of Biotechnology**, v.7. 2009.

BOMAN, I.A.; KLEMETSDAL, G.; NAFSTAD, O.; BLICHFELDT, T.; VÅGE, D.I. Impact of two myostatin (MSTN) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White sheep (*Ovis aries*). **Genetics Selection Evolution**, v.42. 2010.

BOUCHER, D.; PALIN, M.F.; CASTONGUAY, F.; GARIÉPY, C.; POTHIER, F. Detection of polymorphisms in the ovine leptin (*LEP*) gene: Association of a single nucleotide polymorphism with muscle growth and meat quality traits. **Canadian Journal Of Animal Science**, v.86, p.31-35. 2006.

BURKS, T.N.; COHN, R.D. Role of TGF- β signaling in inherited and acquired Myopathies. **Skeletal Muscle**, v.1. 2011.

CLOP, A.; MARCQ, F.; TAKEDA, H.; PIROTTIN, D.; TORDOIR, X.; BIBÉ, B.; BOUIX, J.; CAIMENT, F.; ELSEN, J.-M.; EYCHENNE, F.; LARZUL, C.; LAVILLE, E.; MEISH, F.; MILENKOVIC, D.; TOBIN, J.; CHARLIER, C.; GEORGES, M. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. **Nature Genetics**, v.38. 2006.

HADJIPAVLOU, G.; MATIKA, O.; CLOP, A.; BISHOP, S.C. Two single nucleotide polymorphisms in the myostatin (GDF8) gene have significant association with muscle depth of comercial Charollais sheep. **Animal Genetics**, v.39, p. 346-353. 2008.

- HAJIHOSSEINLO, A.; HASHEMI, A.; SADEGHI, S. Association between polymorphism in *exon 3* of leptin gene and growth traits in the Makoei sheep of Iran. **Livestock Research for Rural Development**, v.24. 2012.
- HAN, J.; ZHOU, H.; FORREST, R.H.; SEDCOLE, J.R.; FRAMPTON, C.M.; HICKFORD, J.G.H. Effect of myostatin (MSTN) g+6223G>A on production and carcass traits in New Zealand Romney sheep. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 23, p.863-866. 2010.
- HOFFMAN, Y.; DAHARY, D.; BUBLIK, D.R.; OREN, M.; PILPEL, Y. The majority of endogenous microRNA targets within Alu elements avoid the microRNA machinery. **Bioinformatics Advance Access**. 2013.
- MCPHERRON, A.C.; LAWLER, A.M.; LEE, S.-J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. **Nature**, v.387. 1997.
- MIRHOSEINI, S.Z.; ZARE, J. The Role of Myostatin on Growth and Carcass Traits and its Application in Animal Breeding. **Life Science Journal**, v.9. 2012.
- NELSON, D.L, COX, M.M. Princípios De Bioquímica de Lehninger (5ª ed.). **Artmed Editora**. p. 930-933. 2011.
- NOVIANTI, I.; PITCHFORD, W.S.; BOTTEMA, C.D.K. Mapping of quantitative trait loci (QTL) for muscularity in beef cattle. **Proceedings Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics**, v.18, p.628-631. 2009.
- PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; DIONELLO, N.J.L.; CORRÊA, M.N. Marcadores moleculares associados à reprodução animal. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.14, p.05-09. 2008.
- SAS Institute, INC. Carry, N.C. 2009.
- SHOJAEI, M.; ABADI, M.M; FOZI, M.A.; DAYANI, O.; KHEZRI, A.; AKHONDI, M. Association of growth trait and *Leptin* gene polymorphism in Kermani sheep. **Journal of Cell and Molecular Research**, v.2, p. 67-73. 2010.
- ZHOU, H.; HICKFORD, J.G.H.; GONG, H. Identification os allelic polymorphism in the ovine leptina gene. **Molecular Biotechnology**, v. 41, p. 22-25. 2009.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se com o trabalho que determinadas características quantitativas de carcaça podem ser influenciadas por fatores fixos como ano, sexo e grupo genético, além de determinados polimorfismos nos genes da miostatina.

Essas informações devem ser consideradas quando se objetiva melhorar as características de carcaça em ovinos, com intuito de aumentar a qualidade e quantidade do produto disponível ao consumidor.

Dentre os polimorfismos estudados, a variação G>A no gene da miostatina mostrou ter efeitos mais evidentes em algumas características. No entanto, para ser usada em um programa de melhoramento genético, visando melhores carcaças, mais estudos devem ser realizados para avaliar se há efeitos desfavoráveis desta variação na carcaça e em outras características dos animais.

GLOSSÁRIO

Alelos – diferentes formas de manifestação de um mesmo gene.

cDNA – é um DNA complementar geralmente originado a partir de um RNA mensageiro.

Enzimas de restrição – são enzimas que reconhecem uma sequência específica do DNA e clivam as fitas de DNA em extremidades cegas (sem proeminências da fita de DNA) ou coesivas (com proeminência das fitas de DNA).

Esfola - retirada do couro com o animal suspenso de cabeça para baixo.

Eletroforese – técnica onde há migração de moléculas carregadas eletricamente através da exposição destas em um campo elétrico.

Gene – unidade fundamental da hereditariedade. Os genes são segmentos de DNA que ao serem codificados podem expressar uma determinada característica.

Introgressão – incorporação de genes em uma espécie.

Loci – plural de *locus*.

Locus – local no cromossomo que é fixo e onde estão localizados genes ou marcadores genéticos.

mRNA- é o RNA mensageiro que pode sofrer tradução para gerar uma proteína.

miRNA – é um RNA de pequeno tamanho que pode levar à inibição da expressão dos mRNAs que contêm o sítio de ligação.

Microssatélite – tipo de marcador molecular que consiste em uma sequência de DNA de um a seis nucleotídeos repetidos em *tandem*, ou seja, lado a lado. A variação no número de repetições dessa sequência pode variar de indivíduo para indivíduo, sendo um bom marcador para análise de variabilidade genética.

PCR – reação em cadeia de polimerase. É a técnica que permite a amplificação do DNA *in vitro*.

PCR-RFLP – técnica na qual se amplifica um segmento de DNA desejado; posteriormente este segmento é clivado por uma enzima de restrição.

PCR-SSCP – técnica que permite identificar mutações através da diferença de mobilidade eletroforética da fita simples de DNA.

Primers – oligonucleotídeos com sequência complementar ao DNA que permite a polimerização da fita de DNA *in vitro* através da PCR.

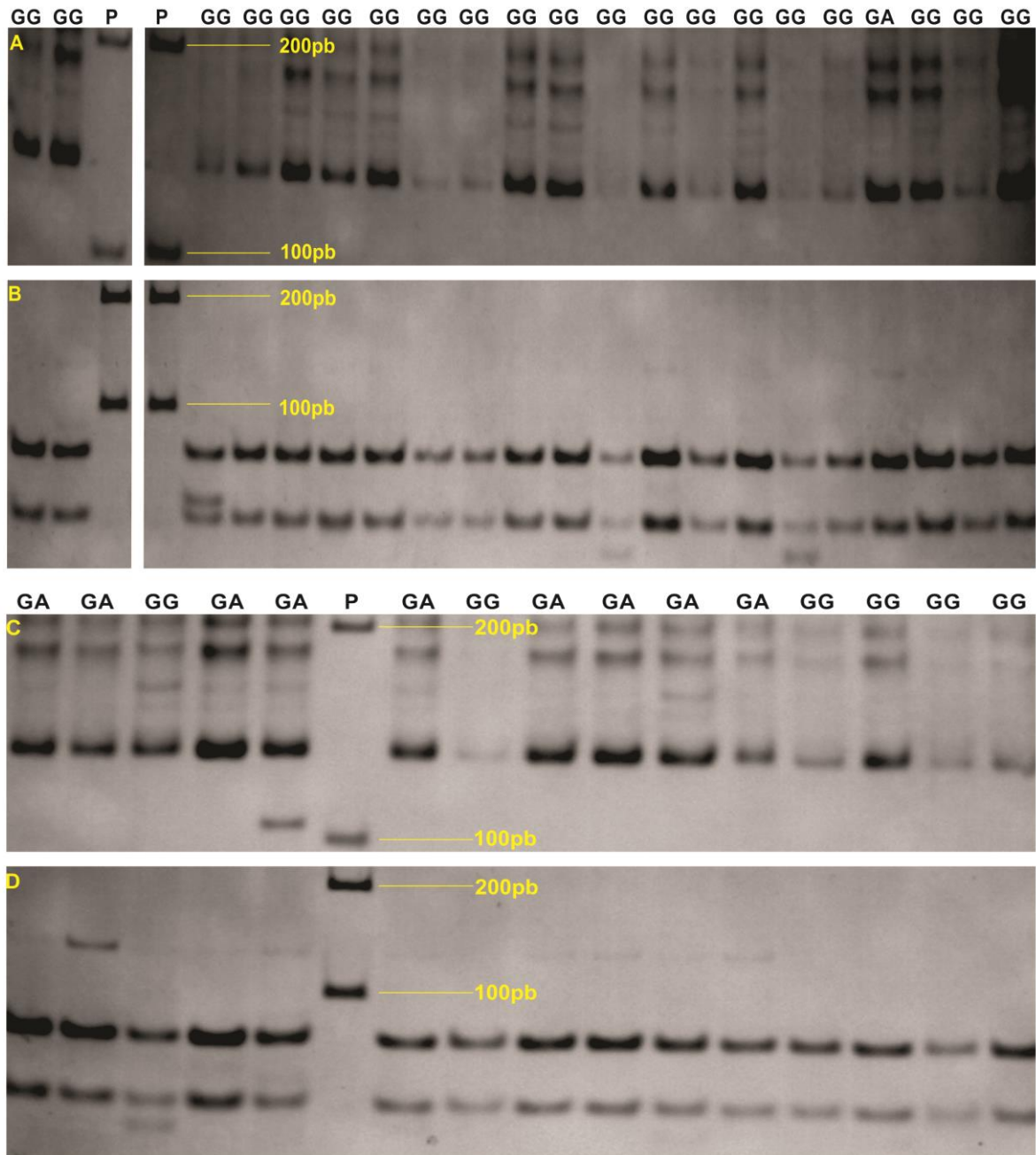
Sangria - operação de abate onde o operador corta as veias jugulares, com pouco ou nenhum contato com os ossos do pescoço.

Sítio miRNA – local de ligação do miRNA.

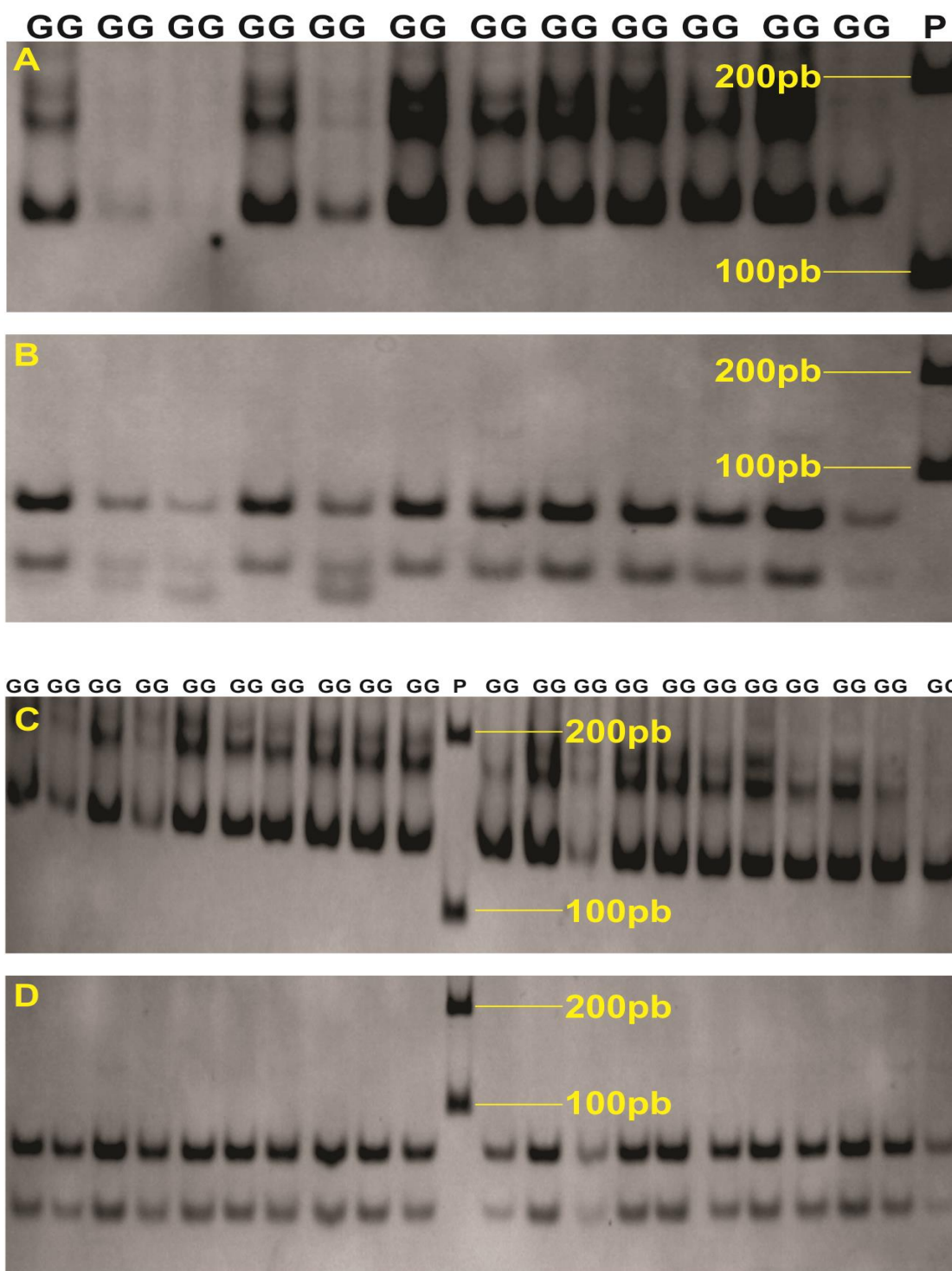
SNP – polimorfismo de único nucleotídeo. É a troca de um nucleotídeo de forma pontual, ou seja, em um local específico da sequência de DNA.

Tyr – domínios de tirosina.

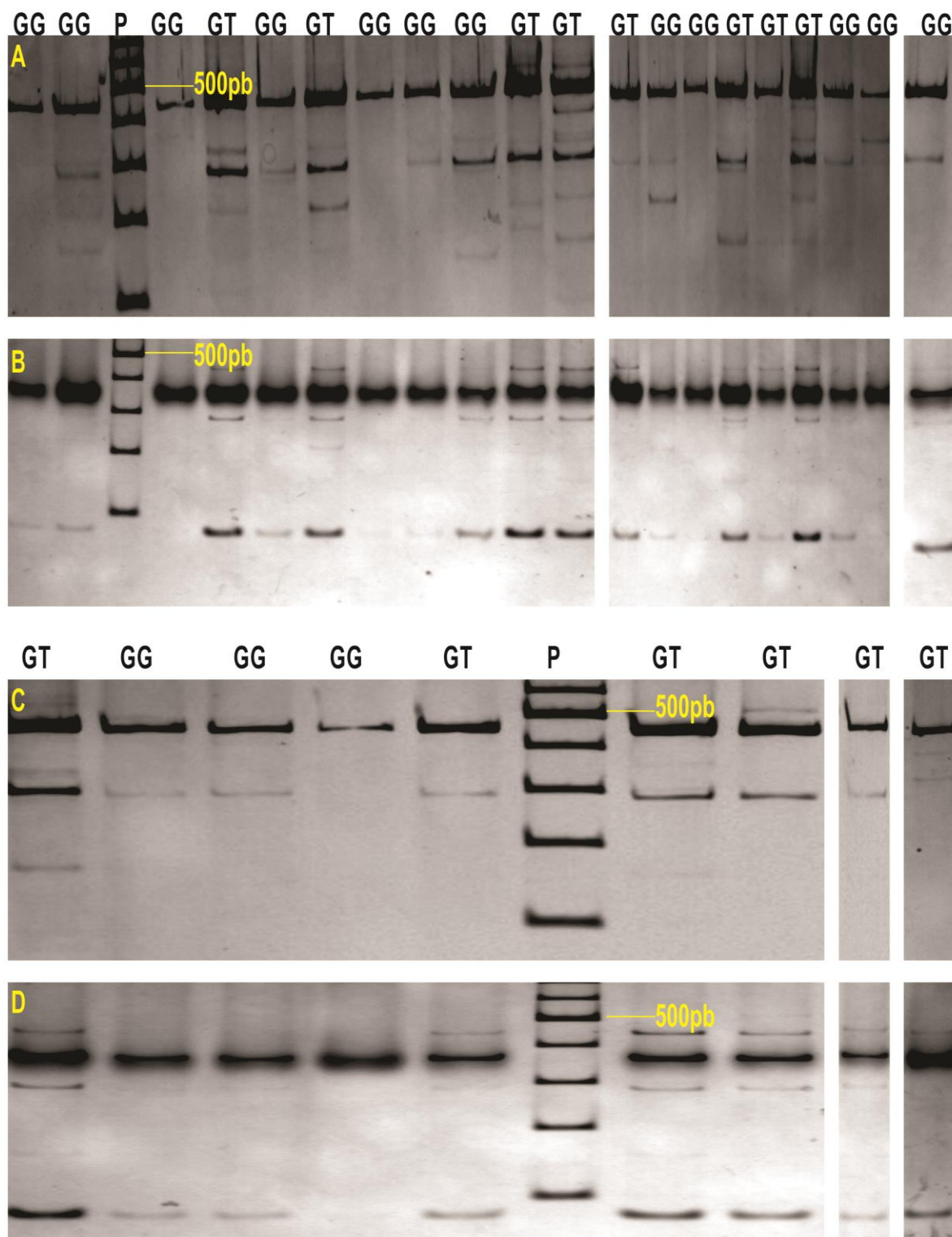
ANEXO



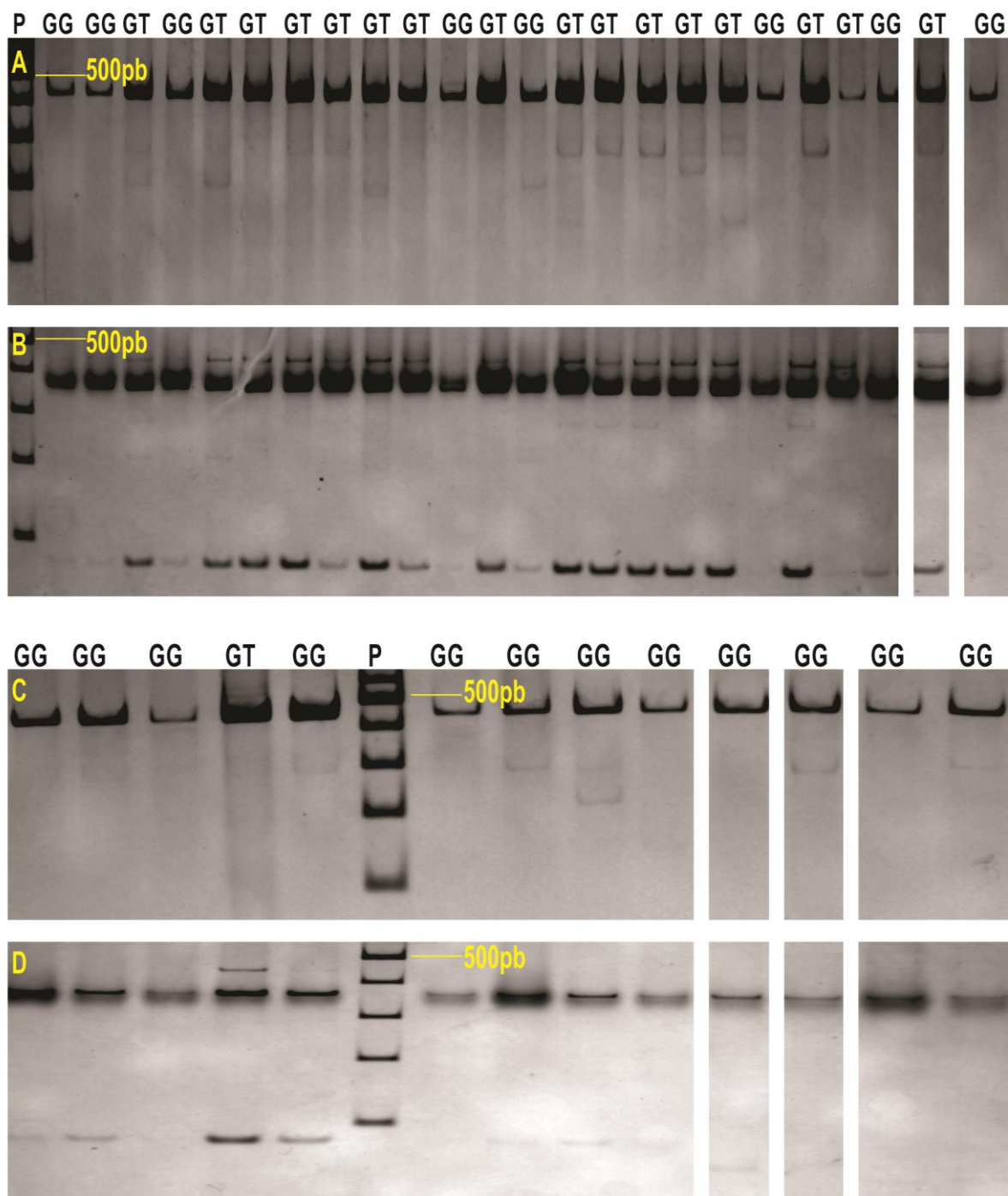
Anexo A- Géis referente à genotipagem do gene da miostatina. A e C – Géis de PCR. B e D – Géis da clivagem com enzima de restrição *HpyCH4IV*. Amostras organizadas na mesma seqüência nos géis correspondentes. GG- genótipo homozigoto sem mutação. GA – genótipo heterozigoto com mutação. P- padrão molecular. pb- pares de bases.



Anexo B- Géis referente à genotipagem do gene da miostatina. A e C – Géis de PCR. B e D – Géis da clivagem com enzima de restrição *HpyCH4IV*. Amostras organizadas na mesma sequência nos géis correspondentes. GG- genótipo homozigoto sem mutação. P- padrão molecular. pb- pares de bases.



Anexo C- Géis referente à genotipagem do gene da Leptina alelo EF534371. A e C – Géis de PCR. B e D – Géis da clivagem com enzima de restrição *A/EI*. Amostras organizadas na mesma seqüência nos géis correspondentes. GG- genótipo homozigoto sem mutação. GT- genótipo heterozigoto com mutação. P- padrão molecular. pb- pares de bases.



Anexo D- Géis referente à genotipagem do gene da Leptina alelo EF534371. A e C – Géis de PCR. B e D – Géis da clivagem com enzima de restrição *AclI*. Amostras organizadas na mesma sequência nos géis correspondentes. GG- genótipo homocigoto sem mutação. GT- genótipo heterocigoto com mutação. P- padrão molecular. pb- pares de bases.