



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GENES DA CALPASTATINA E CALPAÍNA ASSOCIADOS À QUALIDADE
DA CARNE DE OVINOS PANTANEIROS

TAUANE CATILZA LOPES FERNANDES

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia – Área de Concentração:
Produção Animal, como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre em Zootecnia.

Dourados - MS
Novembro de 2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GENES DA CALPASTATINA E CALPAÍNA ASSOCIADOS ÀS
CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS E QUALITATIVAS DA CARCAÇA E
CARNE DE OVINOS

TAUANE CATILZA LOPES FERNANDES

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior
CO-ORIENTADORES: Prof^ª. Dr^ª. Alexeia Barufatti Grisolia
Prof. Dr. Elias Alberto Gutierrez Carnelossi

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia – Área de Concentração:
Produção Animal, como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre em Zootecnia.

Dourados - MS
Novembro de 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F346g	<p>Fernandes, Tauane Catilza Lopes. Genes da calpastatina e calpaína associados às características quantitativas e qualitativas da carcaça e carne de ovinos. / Tauane Catilza Lopes Fernandes. – Dourados, MS : UFGD, 2015. 69f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Relações fenotípicas. 2. Maciez. 3. Preservação. 4. Seleção animal. I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD – 636.31</p>
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte


**GENES DA CALPASTATINA E CALPAÍNA ASSOCIADOS ÀS
CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS E QUALITATIVAS DA CARNE DE
OVINOS**

por

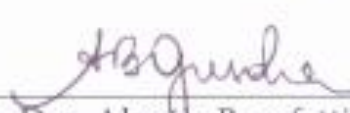
TAUANE CATILZA LOPES FERNANDES

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM ZOOTECNIA

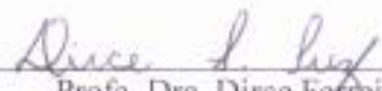
Aprovada em: 23/10/2015



Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior
Orientador – UFGD/FCA



Profa. Dra. Alexeia Barufatti Grisolia
UFGD/FCBA



Profa. Dra. Dirce Ferreira Luz
UFMS/CPAQ

DEDICATÓRIA

Á Deus, pelas graças a mim concedidas.

A minha valorosa e amada mãe Maria Aparecida pelo incentivo, amor e paciência ao longo de toda trajetória. Por ter me dado suporte quando mais precisei. Mãe só cheguei até aqui porque você me motiva a lutar e vencer. Eternamente grata. Ao meu Pai José Delvair pelo incentivo de sempre. Amo vocês infinitamente!! As minhas irmãs Shaline, Pollyanne e Luan pela parceria e ombro amigo mediante as lutas, desafios e alegrias. Ao meu cunhado Klewerson pelas piadas que alegraram meus dias. Ao meu amor José Rodolfo Borges pela cumplicidade, carinho, dedicação e paciência. Ao meu amigo Vagner pelo carinho, dedicação e companheirismo, obrigada amigo sem sua amizade a caminhada seria muito mais penosa. A minha família como um todo, que sempre torceu e acreditaram que conseguiria realizar mais um objetivo. Aos meus orientadores: Prof^o. Fernando e Prof^a. Alexeia pela paciência e dedicação para realização deste. Aos meus amigos Jéssica, Bruno, Amanda, Simone e equipe do Laboratório de Biotecnologia aplicada a Produção Animal. Dedico!

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pelo dom da vida, pela força, fé e coragem que me mantiveram durante toda minha vida, e por permitir tantas vitórias e conquistas.

À Universidade Federal da Grande Dourados, em particular ao programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade da realização do Mestrado.

Ao meu orientador Fernando Miranda de Vargas Junior pelo apoio, atenção e amizade. A ele meu carinho e eterna gratidão. A minha Co-orientadora Alexeia Barufatti Grisolia pela dedicação, amizade e carinho. Só minha gratidão não bastaria tanta dedicação e afeto. A ela meu amor e admiração pela vida.

Ao meu Co-orientador Elias Alberto Gutierrez Carnelossi pela co-orientação, apoio e incentivo a pesquisa. A todos os professores do Programa de pós-graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos e orientações no decorrer do curso.

A FUNDECT, pelos recursos concedidos indispensáveis para a condução do projeto.

A minha equipe de trabalho como um todo, pelos incentivos, ajudas e cobranças, tudo contribuiu e muito para o meu melhor. Em especial ao Bruno e Jéssica que me ajudaram com o possível e o impossível para realização deste trabalho, a vocês o meu eterno agradecimento.

À minha família pelo apoio, carinho, oportunidade e incentivo de sempre. É de vocês essa conquista. A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação e a concretização desta etapa.

GRATA

“O homem erudito é um descobridor de fatos que já existem; mas o homem sábio é um criador de valores que não existem e que ele faz existir.”

Albert Einstein

Sumário

	Pág.
Lista de Abreviatura.....	viii
Lista de Tabela.....	ix
Lista de Figuras.....	x
1. Considerações Iniciais.....	01
CAPÍTULO 1- Revisão de Literatura.....	03
1. Tecnologia para a Produção Animal.....	04
2. Potencial da ovinocultura de corte.....	05
2.1. Raças de ovinos típicas do Brasil.....	06
2.2. Ovinos pantaneiros.....	07
2.2.1. Características produtivas.....	08
2.3. Qualidade da carne: Fatores estruturais e Fisiológicos.....	10
2.3.1. Organização e estrutura da fibra muscular.....	10
2.3.2. Atuação da Calpaína e Calpastatina no músculo.....	12
2.3.3. <i>Rigor mortis</i> e maturação da carne.....	14
2.4. Marcadores moleculares.....	15
2.4.1. Genes candidatos: Calpaína e Calpastatina.....	17
2.4.2. Dados fenotípicos da carcaça e da carne.....	18
2.4.2.1. Peso e acabamento da carcaça.....	18
2.4.2.2. Perda de exsudado por cocção.....	20
2.4.2.3. Maciez (força de cisalhamento).....	21
2.4.2.4. Capacidade de retenção de água.....	21
2.4.2.5. Luminosidade e Cor.....	22
3. Objetivos.....	24
3.1. Objetivo Geral.....	24
3.2. Objetivos específicos.....	24
4. Referências Bibliográficas.....	25
CAPÍTULO 2.....	34
RESUMO.....	35
ABSTRACT.....	36
1. Introdução	37
2. Materiais e Métodos.....	38

2.1. Descrição do Grupo Amostral.....	38
2.2. Análises <i>post-mortem</i>	38
2.3. Análises moleculares.....	39
2.3.1. Quantificação do DNA.....	39
2.3.2. Seleção dos <i>Primers</i>	39
2.3.2.1. CAST (gene da Calpastatina).....	40
2.3.2.2. CAPN (gene da Calpaína).....	40
2.3.3. PCR (<i>Polimerase Chain Reaction</i>).....	40
2.3.3.1. PCR-RFLP e PCR-SSCP.....	41
2.4. Análise fenotípica.....	41
2.5. Análises estáticas.....	42
3. Resultados.....	42
3.1. Calpastatina e Calpaína.....	42
3.1.1. Calpastatina.....	42
3.1.2. Calpaína.....	44
4. Discussão.....	48
4.1. Calpastatina.....	48
4.2. Calpaína.....	49
4.3. Associação com rendimento e qualidade da carcaça e da carne.....	51
5. Conclusão.....	53
6. Agradecimentos.....	53
7. Referências Bibliográficas.....	53
8. Considerações Finais.....	57

Lista de Abreviaturas

AMAR – Pigmentos amarelos

AOL – Área de olho de Lombo

CAPN – Marcador do gene da Calpaína

CAST – Marcador do gene da Calpastatina

CRA – Capacidade de retenção de água

DNA – *Deoxyribonucleic Acid*

EGC – Espessura de gordura na carcaça.

FC – Força de cisalhamento

LO – *Longissimus dorsi*

LUM – Luminosidade

MAR – Marmoreio

mRNA – *Ribonucleic Acid messenger*

PCQ/PCF– Peso da carcaça quente e peso da carcaça fria

PCR – Polimerase Chain Reaction

pH – Potencial Hidrogeniônico

PPA – Peso pré abate

PPC – Perda de exsudado por cocção

RCQ/RCF– Rendimento da carcaça quente e rendimento da carcaça fria

RFLP –Restriction Fragment Length Polymorphism

SM – Músculo *Semi membranous*

SSCP – *Single Strand Conformation Polymorphism*

VERM – Pigmentos vermelho

Lista de Tabelas

CAPITULO 1	Pág.
Tabela 1. Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras.....	09
CAPITULO 2	
Tabela 1. Lista de <i>primers</i> utilizados para os marcadores CAST e CAPN. <i>Primers</i> : F = iniciador direto, R = iniciador inverso. As posições dos iniciadores são baseadas nas sequencias de RNAm.....	40
Tabela 2. Sitio de restrição da enzima <i>MspI</i>	41
Tabela 3. Genótipos e a frequência alélica de ovinos Sem Raça Definida (SDR) e ovina pantaneira (OP) para os marcadores CAST e CAPN.....	45
Tabela 4. Médias ajustadas e o desvio padrão das características da carcaça para os genótipos do gene CAST.....	46
Tabela 5. Médias ajustadas e o desvio padrão das características da carne para os genótipos do gene CAST.....	47
Tabela 6 . Médias ajustadas e o desvio padrão das características qualidade de carne para os genótipos do gene CAST.....	48

Lista de Figuras

CAPITULO 1	Pág.
Figura 1. Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras.....	08
Figura 2. Diagrama esquemático da fibra muscular.....	10
Figura 3. Demonstração da ligação das proteínas miosina e actina (relaxamento e contração).....	11
Figura 4. Atividade da Calpaína e da Calpastatina no músculo	13
Figura 5. Avaliação de escore- método `` <i>in vivo</i> ``	19
CAPITULO 2''	
Figura 1. Gel de Agarose a 2% de produtos de digestão enzimática (CAST).....	43
Figura 2. Genótipos observados pela técnica de PCR-SSCP por desnaturação em gel de policrilamida a 8% para o marcador (CAPN)	44

1. Considerações Iniciais

A ovinocultura faz parte do segmento de sistemas de produção animal que fazem uso desses marcadores moleculares com ênfase na produção de carne, aspectos reprodutivos e resistência a doenças.

Os marcadores moleculares favorecem análises de genes de interesse econômico como os genes da Calpaína e da Calpastatina. Esses genes atuam na regulação da degradação proteica no músculo, no crescimento muscular e na regeneração celular contínua (Paiva e Mcmaus, 2012).

A calpaína sofre a inibição da calpastatina presente no músculo e impede que a calpaína atuem sobre a ligação de actina e miosina impossibilitando a disponibilidade de outras proteínas enzimáticas atuarem na proteólise celular (Lage et al., 2009). Assim quando o músculo entra em estado de *rigor mortis* impede que os processos de contração e relaxamento muscular aconteçam promovendo ligação permanente entre actina e miosina.

Após o *rigor mortis* o músculo passa por vários processos intracelulares (Koohmaraie, 1996) que possibilita ao produto final boa aparência, maciez e suculência que desperta no consumidor o interesse na compra e consumo do produto.

Os determinados tipos de carnes que são mais atrativos aos consumidores são as carnes vermelhas. Dentre as carnes vermelhas a carne ovina tem (Osório et al., 2009) concentração de pigmentos de cor que varia consideravelmente entre os tecidos musculares (Mancini e Hunt, 2005).

Essa variação da cor como de sabor e suculência são influenciados por fatores genéticos e estes são responsáveis pela concentração de calpaínas e calpastatinas ativas no músculo e influenciam no crescimento muscular e na maior taxa de mioglobina no músculo (Bressan et al., 2011).

A maior taxa de mioglobina confere maior porcentual do grupo heme (Fe^{2+}) presente na carne conferindo cores vermelhas mais intensas (pigmentos a^*) sendo possível diferenciar entre o grupo genético (Norman, 1982; Bressan et al., 2011).

Dessa forma as características qualitativas da carne e quantitativa da carcaça podem estar associadas às proteínas que realizam a proteólise no músculo como as calpaínas e calpastatinas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar associações entre os polimorfismos do gene da Calpaína e da Calpastatina de ovinos Pantaneiros e

33 de ovinos Sem Raça Defina com características da carcaça e de qualidade da carne de
34 cordeiros. Visando obter respostas mediante este estudo foram consideradas as
35 seguintes hipóteses: a) Há diferenças entre os grupos genéticos avaliados em relação a
36 qualidade da carne e características da carcaça para o gene da Calpastatina; b) Há
37 diferenças entre os grupos genéticos avaliados em relação a qualidade da carne e
38 características da carcaça para o gene da Calpaína. Esta dissertação encontra-se dividida
39 em dois capítulos. O Capítulo I compreende a revisão de literatura sobre os assuntos que
40 darão fundamentação ao Capítulo II composto por um artigo seguindo as normas da
41 *Revista Brasileira de Zootecnia* e serão versados para o inglês antes do envio.

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

42 **1. Tecnologias para Produção Animal**

43 O melhoramento genético animal tem por principal vantagem aumentar a
44 frequência dos genes de efeitos desejáveis à população, aperfeiçoando a capacidade de
45 produção dos animais que apresentam características de interesse econômico (Facó e
46 Villela, 2005).

47 Os primeiros estudos de identificação, caracterização e utilização de marcadores
48 moleculares iniciaram no final da década de 80. Com o passar dos anos as tecnologias
49 para geração de dados moleculares passaram por vários ciclos de renovação (Caetano,
50 2009).

51 A tecnologia a base dos marcadores moleculares promovem a mudança ou
52 permanência dos genótipos existentes e permitem avanços produtivos atuando como
53 mola propulsora no desenvolvimento da exploração agropecuária (Lôbo e Lôbo, 2007).

54 O uso de genótipos especializados na produção de carne melhora o peso e estado
55 corporal dos cordeiros, permitindo maior proporção de cortes nobres (pernil e lombo) e
56 um bom acabamento de carcaça, em peso e idade homogêneos (Bianchi e Gariboto,
57 2003).

58 O uso indiscriminado de praticas de cruzamentos inter-raciais pode favorecer a
59 perda de características genéticas de um rebanho reduzindo a variabilidade genética
60 com o tempo (Lôbo e Lôbo, 2007). As identificações de polimorfismos nos genes de
61 interesse econômicos da calpaina e da calpastatina podem influenciar as características
62 produtivas ligadas a quantidade e qualidade da carcaça e da carne. O conhecimento dos
63 polimorfismos pode conferir melhores índices de produção e de conservação (Caetano,
64 2009).

65 Portanto pesquisas que avaliem a existência de polimorfismos em genes
66 candidatos associados à qualidade da carne de ovinos criados em Mato Grosso do Sul
67 apresentam grande relevância para incrementar programas de melhoramento genético
68 para valorização do produto no próprio neste Estado.

69 Dessa forma a revisão de literatura irá abordar as necessidades da cadeia
70 produtiva de ovinos, as características de interesse para a produção de carne bem como
71 os genes que atuam melhorando os aspectos produtivos de características da carcaça de
72 e qualidade da carne de ovinos.

73 2. Potencial da Ovinocultura de corte

74 A procura pela carne ovina cresce no Brasil e cada brasileiro consome em média
75 700 gramas desta carne/ano, enquanto em países como Nova Zelândia são consumidos
76 30kg/ carne/ano e na Austrália 20kg / carne/ano (Díaz et al., 2003). Porém, apesar dos
77 avanços na genética, há falta de carne para atender à demanda de consumo no país
78 (EMBRAPA, 2010).

79 O rebanho efetivo de ovinos em 2011 foi de 17.662 milhões de cabeças,
80 representando aumento de 1,6% em relação ao número registrado em 2010 (IBGE,
81 2011). Com um déficit de produção para atender o mercado interno, em 2013, o Brasil
82 importou aproximadamente nove mil toneladas de carne ovina, sendo a maior parte
83 proveniente do Uruguai, o que indica a necessidade de aumento da produção de ovinos
84 brasileiros (Zen et al., 2014).

85 Frente à falta de incentivo deste sistema de produção em outras regiões do Brasil
86 a produção se concentra nas regiões nordeste, Sul e parte do Sudeste, com
87 supervalorização dos produtos entre as regiões tornando o sistema produtivo ineficiente
88 para atender a demanda nacional (Viana, 2008).

89 É interessante salientar que cada região do Brasil apresenta uma característica
90 própria de ovinos. A criação ovina na região Sul é baseada em ovinos de raças laneiras,
91 para carne e lã, adaptadas ao clima subtropical e na região nordeste há criação de ovinos
92 de raças deslanadas, para carne e pele adaptadas ao clima tropical (Barbosa, 2005).

93 Nos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, embora não haja um rebanho
94 numeroso, a ovinocultura é mais tecnificada, com a produção voltada para atender à
95 demanda interna de cortes finos para restaurantes *gourmets* (Zen et al., 2014).

96 Voltando a atenção para o estado de Mato Grosso do Sul este possui posição
97 geográfica privilegiada para acompanhar o crescimento de produção desta cadeia
98 produtiva, pois está próximo de grandes centros consumidores do país (ANUALPEC,
99 2011).

100 Segundo o censo do IBGE (2010) o Mato Grosso do Sul tem um rebanho de
101 497.102 mil ovinos, perfazendo 2,9 % do efetivo nacional (9º no ranking nacional), e
102 esses ovinos apresentam grande potencial para a produção de carne.

103 **2.1. Raças de ovinos típicas do Brasil**

104 Os ovinos foram introduzidos no Brasil com a colonização portuguesa no século
105 XVI. Consequentemente, a maior contribuição genética, é proveniente de raças
106 originárias da Península Ibérica (Mariante et al., 1999). Há também traços genéticos de
107 ovinos africanos trazidos em navios negreiros.

108 Além de ovinos de origem portuguesa, espanhola e africana, o Brasil recebeu
109 vários outros povos que trouxeram várias de suas raças e sua tecnologia de manejo
110 reprodutivo (Porter, 1996; Anjos e Farias, 2005). Os holandeses trouxeram ainda
111 animais de lugares distantes, como Índia, ou mesmo animais cruzados (Quadros, 2005).

112 Após algumas modificações adaptativas sofridas nas várias colônias ao longo do
113 país, estes animais trazidos pelos colonizadores passaram a ser considerados locais,
114 sendo denominadas raças crioulas, localmente adaptadas ou naturalizadas (Mariante et
115 al., 1999; Da Luz, 2009). Tais grupos genéticos apresentam alto grau de adaptação ao
116 meio no qual se desenvolveram, conferindo-lhes características específicas e vantajosas
117 em relação a raças comerciais (Mariante et al., 1999).

118 No Brasil há Núcleos de Conservação dos quais são criadas e conservadas sete
119 raças nativas: Barriga Negra, Bergamácia, Crioula Lanada, Morada Nova, Santa Inês,
120 Somalis Brasileira e Rabo Largo (Mariante et al., 2011).

121 Os ovinos encontrados no Centro oeste apresentam uma predominância de
122 animais da raça Santa Inês e os de dupla aptidão Texel, Ile de Frande e Suffolk (Díaz et
123 al., 2003). Há relatos referentes a um grupo genético de ovinos no Mato Grosso do Sul
124 provenientes de cruzamentos entre raças trazidas pelos primeiros colonizadores (Da
125 Luz, 2009). Esses animais estão presentes em planícies alagadas constituem o que
126 atualmente denominamos raça localmente adaptada (Ovinos Pantaneiros) (Gomes et al.,
127 2007).

128 Os ovinos pantaneiros sofreram seleção ao longo do tempo e se adaptaram as
129 condições climáticas da região do Pantanal sul-mato-grossense demonstrando grande
130 diversidade genética, o que explica a facilidade de adaptação (Gomes et al., 2007;
131 Vargas Junior et al., 2011). Dessa forma por apresentar diversidade genética distinta das
132 raças mantidas nos núcleos de conservação indica a possibilidade de considerá-la uma
133 nova raça (Díaz et al., 2003).

134

2.2. Ovinos Pantaneiros

135 Em estudo exploratório iniciado em 2005, um grupo de pesquisadores do Centro
136 Tecnológico de Ovinocultura (CTO) da Universidade Anhaguera-UNIDERP,
137 Universidade Federal da Grande Dourados (UFDG), Universidade Federal de Mato
138 Grosso do Sul (UFMS) e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa),
139 realizaram estudos com este grupo genético da região Pantanal para junção de dados
140 que possam caracterizá-los como raça (Jacinto et al., 2011).

141 No início foram adquiridos trezentos ovinos pantaneiros de criatórios do alto e
142 baixo pantanal Sul-Mato-Grossense, estes apresentavam características fenotípicas
143 semelhantes entre si, mas distante dos padrões genotípicos das raças exóticas criadas no
144 Brasil (Jacinto et al., 2011). A maioria desses animais se encontra em fazendas isoladas
145 na região, vivendo há anos sob qualquer tipo de seleção ou melhoramento genético
146 (Vargas Junior et al., 2011a).

147 Para compreender algumas características das ovelhas pantaneiras é preciso
148 também entender o Pantanal. Seu clima é classificado como tropical de temperaturas
149 elevadas (Moraes, 2011). A região pantaneira apresenta duas estações bem definidas: o
150 verão chuvoso, de outubro a março, temperatura em torno de 32 °C e o inverno seco, de
151 abril a setembro, temperatura em torno de 21 °C (Moraes, 2011).

152 Para suportar este ambiente os animais sofreram modificações em seu organismo
153 ao longo de gerações. Uma característica visível é o fato de terem pernas longas, o que
154 facilita caminharem em terrenos inundados sem encharcarem sua lã (Da Luz, 2009). A
155 lã destes ovinos serve-lhes como protetor contra o sol, o frio e a água das chuvas,
156 mantendo-as sempre em homeostasia com o ambiente (Barbosa-Ferreira, 2011).

157 Observa-se pouca ou nenhuma lã nas pernas, barriga e pescoço, locais que
158 permanecem mais tempo molhadas quando há necessidade de se locomoverem em
159 locais repletos de água e em vegetação com muitos carrapichos e que fatalmente se
160 enroscariam nas partes baixas quando transitassem por locais muito sujos (**Figura 1**)
161 (Barbosa-Ferreira, 2011).



162 **Figura 1.** Exemplos de Ovinos Pantaneiros (Fonte: Ovinocultura-UFGD).

163 As características citadas nos parágrafos anteriores possibilitaram a
164 sobrevivência dos mesmos nesses locais, justificando assim, a conservação para a sua
165 utilização futura (Silva, 2010).

166 **2.2.1. Características produtivas**

167 Em relação às características produtivas destes ovinos a produção de lã é uma
168 das principais alternativas, apesar da mesma não apresentar a qualidade exigida pelo
169 mercado para a comercialização, sua lã é muito utilizada em trabalhos artesanais e na
170 fabricação de materiais utilizados na pecuária de corte, como baixeiros (Brauner, 2010).

171 Outro fator que merece atenção na produção de ovinos é a verminose, trata-se do
172 considerado o principal problema sanitário da ovinocultura (Bassetto et al., 2009), pode
173 levar o animal rapidamente à morte ou causar efeitos como: menor desenvolvimento
174 corporal, perda de peso, redução na produção e na qualidade de lã, má eficiência
175 reprodutiva, alta incidência de enfermidades e elevado índice de mortalidade,
176 principalmente entre os animais jovens (Sczesny-Moraes et al., 2010).

177 As ovelhas pantaneiras apresentam a capacidade de tolerar infecção por
178 helmintos sem que esta interfira em seu peso vivo e condição corporal (Pinto et al.,
179 2008a).

180 No aspecto reprodutivo, animais deste grupamento genético apresentam
181 características que merecem destaque. As fêmeas pantaneiras possuem fertilidade
182 favorável durante a época de diversidade de foto período, não deixando de se
183 reproduzir, favorecendo assim a produção de ovinos durante o ano todo (Fonseca,
184 2010).

185 Os ovinos pantaneiros podem ser utilizados como linhagem materna, já que
186 proporciona três crias a cada dois anos com intervalo de parto de oito meses,
187 semelhantes às raças nordestinas deslanadas, como a Santa Inês (Martins et al., 2008).

188 Já na pecuária de corte os ovinos pantaneiros fazem parte das principais
189 atividades econômica do Pantanal. Os cordeiros pantaneiros nascem com peso vivo
190 entre 2,5 e 3,5 kg em média, fato este associado à baixa incidência de partos distócicos
191 (Vargas Junior et al., 2011).

192 Vargas Junior et al. (2014) avaliaram o desempenho e características
193 quantitativas de carcaça de cordeiros pantaneiros e observaram ganho de peso médio
194 diário em confinamento de 0,20 a 0,35 kg/dia, com índices de rendimento de carcaça
195 entre 45 e 50% (entre 30 a 40 kg) de cordeiros abatidos entre quatro e oito meses de
196 idade. Esse fato indica que embora o peso ao nascer possa ser considerado inferior
197 comparativamente às raças exóticas, porém estes cordeiros produzem carcaças de
198 qualidade e altos índices de rendimento (Vargas Junior et al., 2011).

199 Algumas características produtivas em relação à produção de carne desses
200 animais são apresentadas na Tabela 1.

201 **Tabela 1.** Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras

Características	Valor
Peso ao nascimento (Kg)	3,7±0,82
Peso aos 50 dias (Kg)	11,55 ± 2,73
Peso aos 90 dias (Kg)	17± 3,81
Ganho médio diário do nascimento ao desmame (Kg/dia)	0,147 ± 0,023
Peso ao abate (Kg)	28-34
Idade ao abate (Dias)	110-150

Fonte: Vargas Junior, 2011.

202 2.3. Qualidade da carne: Fatores estruturais e Fisiológicos

203 O processo de conversão de músculo em carne é importante não só o que se
 204 refere a maciez da carne, mas também nas alterações estruturais e bioquímicas que
 205 interferem de forma pontual na qualidade final do produto, como a cor, a textura, o
 206 sabor e aroma. Sendo um diferencial do produto manter a qualidade em um maior
 207 intervalo de tempo.

208 2.3.1. Organização e estrutura da fibra muscular

209 O músculo esquelético é composto por vários feixes de fibras musculares
 210 (Warriss, 2010), o diagrama esquemático da organização da fibra muscular e miofibrilas
 211 podem ser observados na **Figura 2**.

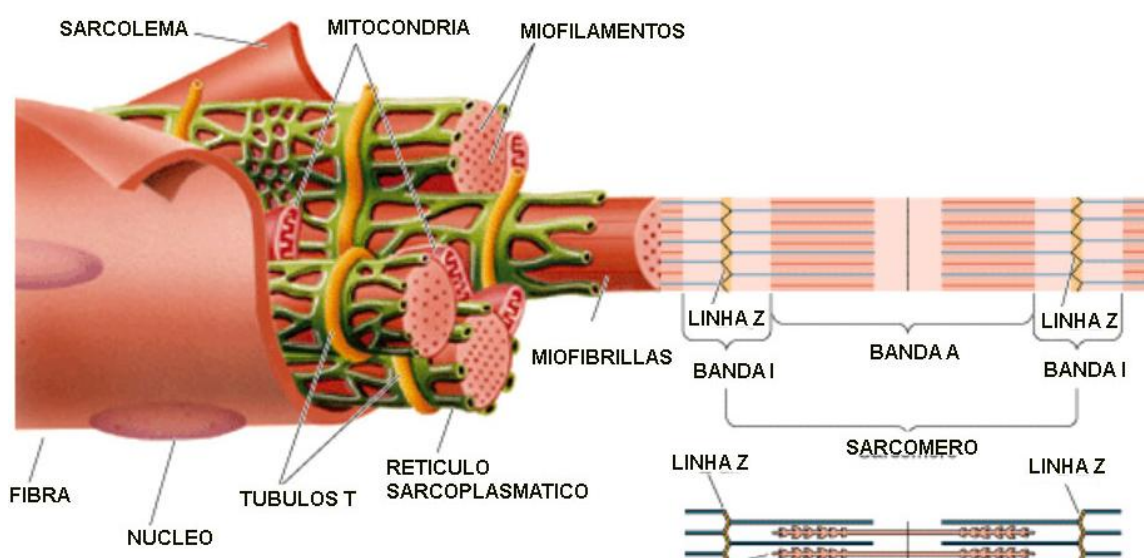


Figura 2. Diagrama esquemático da fibra muscular.

Fonte: Adaptado de Tobacman et al. (2002).

212

213 As fibras musculares são formadas pela fusão de várias células de modo que elas
 214 contêm múltiplos núcleos, com mitocôndrias e outras organelas normalmente
 215 encontrados em células animais (Otteneijm e Granzier, 2010).

216 As fibras musculares são compostas de milhares de fibras menores, miofibrilas,
 217 que ocupam cerca de 80% do volume das células musculares que por sua vez são
 218 constituídos por miofilamentos (Warriss, 2010).

219 A fina linha que atravessa a banda I- é a Linha Z. Estas estruturas contínuas são
 220 repetidas ao longo de todo o comprimento da fibra muscular e uma unidade da
 221 miofibrila entre duas linhas Z- adjacentes é chamado de sarcômero (Huxley, 1957).

222 O principal componente do filamento grosso é miosina. Uma molécula de
 223 miosina é composta por um fragmento formado de cabeça e a cauda. As longas
 224 extremidades das caudas de várias centenas de moléculas de miosina agregam-se para
 225 formar o componente principal dos filamentos grossos (Zot e Potter, 1987).

226 O principal componente do filamento fino é a actina. Estas proteínas
 227 miofibrilares estão envolvidas com a contração muscular, deslizando para dentro e para
 228 fora dos microfilamentos, processo esse que se realiza todo instante e se torna
 229 permanente com a morte do tecido (Zot e Potter, 1987).

230 Essas ligações entre a actina e miosina (**Figura 3**) sofrem ação de proteínas
 231 como as Calpaínas, Calpastatins, caspases e outras que atuam no processo de proteólise
 232 muscular e renovação celular (Da Luz, 2009).

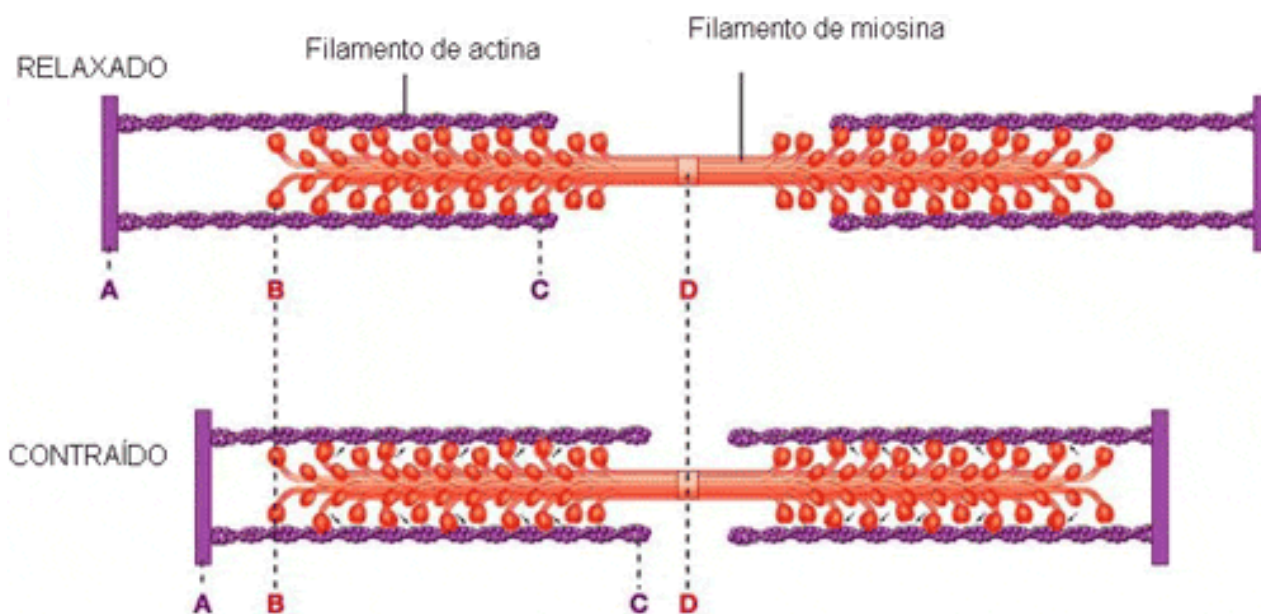


Figura 3. Demonstração da ligação das proteínas contráteis miosina e actina (relaxamento e contração). Fonte: Gallo (2006) citado por Hugo (2015).

233 **2.3.2. Atuação da Calpaína e Calpastatina no músculo**

234 As fibras musculares são responsáveis pela variação da textura de carnes, nas
235 quais são influenciadas pelos níveis variados de calpastatina entre os músculos. As
236 fibras podem ser classificadas em vermelhas, brancas e intermediárias. Cada músculo
237 diferencia-se por diferentes proporções de cada tipo de fibra (Geesing et al., 1999).

238 A taxa de degradação proteica no músculo no processo de maturação da carne,
239 não está ligado diretamente ao tipo de fibra muscular e sim com características, tais
240 como o potencial proteolítico, representado pela proporção de calpaínas e taxa de
241 declínio de pH (Christensen et al., 2004) afetam a cor, a textura e a suculência.

242 A função de proteínas miofibrilares é manter a integridade estrutural das
243 miofibrilas (Lage et al., 2009). As principais proteínas miofibrilares são: as calpaínas, as
244 calpastatinas, as capases e outras. As calpaínas são proteínas que apresentam todas as
245 características que permitem a degradação proteica miofibrilar.

246 A atividade das calpaínas no músculo durante o *rigor mortis* e durante a
247 maturação da carne é influenciada por diversos fatores, os principais são: fatores
248 genéticos (tipo de fibra muscular; maior ou menor quantidade de calpaína e
249 calpastatinas), declínio do pH, concentração de íons de cálcio, nível de concentração da
250 calpaína e calpastatina no músculo e inativação e desnaturação das calpaínas (autólise)
251 (Delbarre-Ladrat et al., 2004).

252 Há evidências que a ação das calpaínas difere entre espécies (carne bovina, de
253 cordeiro e suína) (Koochmaraie et al., 1991). Carnes mais macias ou mais rígidas entre as
254 espécies estão relacionados diretamente com a quantidade de calpastatina disponível no
255 músculo.

256 Embora enzimas proteolíticas endógenas desempenhem funções na maciez da
257 carne, ainda é considerada inferior ao sistema calpaína, especificamente μ - calpaína e
258 calpastatina (inibidor específico da calpaína) (Lage et al., 2009). Este sistema
259 proteolítico é dependente de cálcio e responsável pela proteólise *post-mortem* (Kemp et
260 al., 2009).

261 No entanto, a atividade de calpastatina pode ser aumentada no estado de
262 sarcopenia em função da idade do animal, a fim para controlar a atividade da calpaína.
263 Não há evidências dessas atividades da calpaína e calpastatina nos bovinos e ovinos
264 pela maioria ser abatida antes que possam, potencialmente, chegar um estado
265 sarcopênico (Raynaud et al., 2005; Fraysse et al., 2006).

266 Melloni et al. (2006) relataram que, na ausência de cálcio, ou em baixos níveis
 267 de cálcio fisiológico, podem resultar na ligação do domínio L da calpastatina com o
 268 sítio inativo da m-calpaína ou da μ -calpaína, formando um complexo que pode
 269 impedir que a ativação de calpaína ocorresse.

270 Quando há no meio muscular menor quantidade da proteína Calpastatina a
 271 Calpaína não sofre inibição e desta forma realiza a proteólise (**Figura 4**) da estrutura
 272 das miofibrilas que compõem o músculo resultando em amaciamento do músculo após
 273 o *rigor mortis* e conseqüentemente carnes mais macias após a maturação.

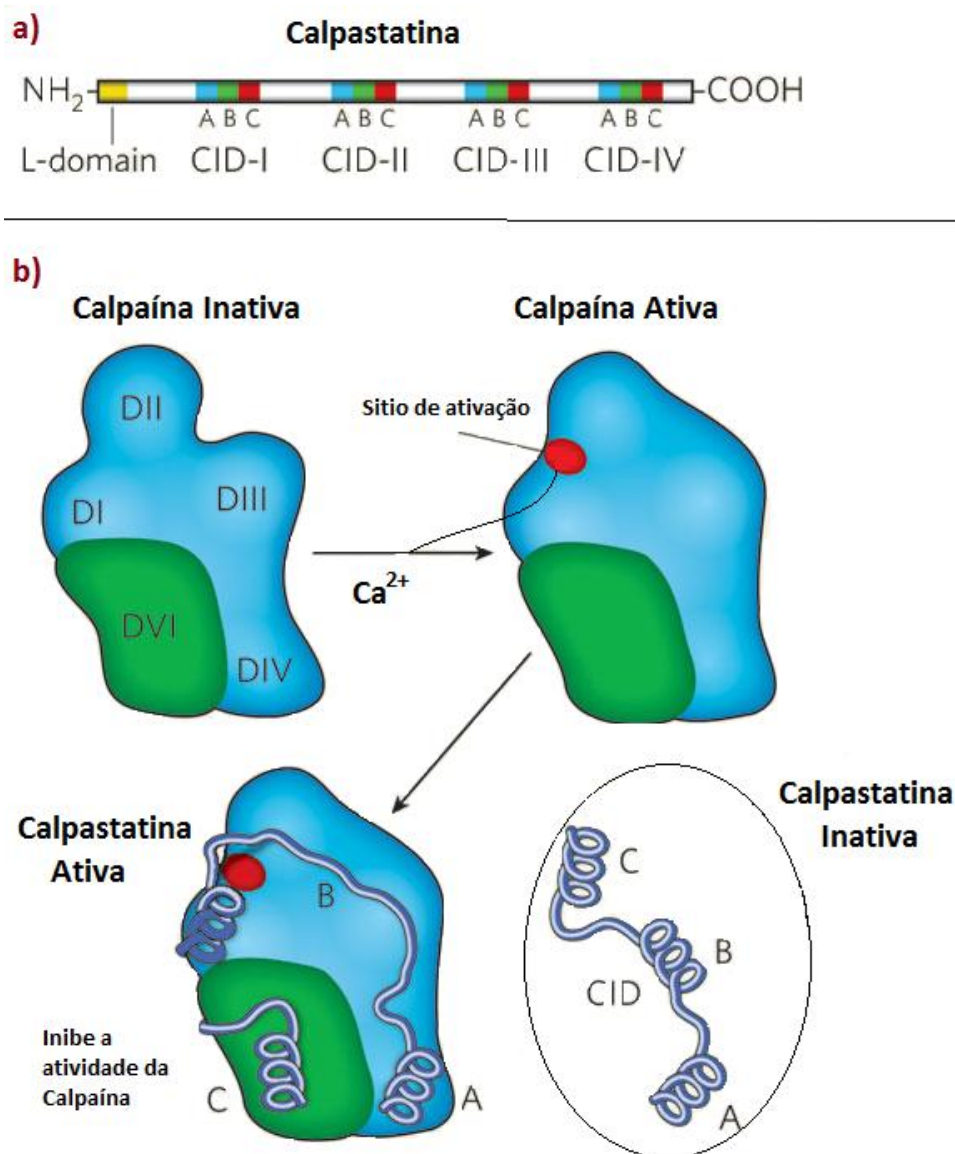


Figura 4. Atividade da Calpaína e Calpastatina no músculo. a) representa o sítio de ativação da calpastatina e b) as formas ativas e inativas da calpaína e da calpastatina. Fonte: Adaptado de Mellgren (2008).

274 A proporção entre a atividade de calpastatina e calpaínas determina, portanto, a
275 velocidade do amaciamento *post-mortem* da carne. Mais do que as calpaínas é a
276 atividade da calpastatina, determinada 24 horas após o abate, que se relaciona com a
277 maciez da carne. Por exemplo, animais que apresentam alta atividade da calpastatina
278 usualmente produzem carne menos macia, mesmo após um período de maturação de 14
279 dias (Koohmaraie, 1996).

280 Estudos realizados por Koohmaraie et. al. (1991) demonstraram diferenças na
281 atividade das enzimas entre as espécies animais, nos músculos *Longissimus dorsi*, e na
282 velocidade de amaciamento da carne. Relatando a sequencia de carnes macias para
283 diferentes isoformas. Para as calpaínas tipo 1 (CDP1), as carnes mais macias foram
284 ovino > suíno > bovino, e para calpaínas tipo 2 (CDP2) foram ovino > bovino > suíno.
285 Com relação à atividade das calpaínas (B+L), os resultados foram suíno > ovino >
286 bovino (Koohmaraie et al, 1995).

287 O aumento da atividade das calpastatinas e a diminuição da maciez vêm sendo
288 associados com o aumento da massa muscular. Uma das teorias propostas seria de que o
289 aumento da síntese protéica diminuiria a degradação das proteínas e estimularia o
290 aumento das calpastatinas (Koohmaraie et al, 1995).

291 **2.3.3. Rigor mortis e Maturação da carne**

292 Após o abate, ocorrem complexas modificações no processo de transformação
293 do músculo esquelético em carne, durante o qual a qualidade da carne se altera
294 drasticamente. O estado rígido do músculo é definido como *rigor mortis* (Warriss,
295 2010).

296 O *rigor mortis* é considerado processo de contração muscular irreversível,
297 caracterizada pela rigidez do músculo, que se mantém rígido em função da falta de
298 energia disponível no músculo pelo rompimento do aporte sanguíneo, impossibilitando
299 a quebra da ligação entre a actina e miosina. Há fatores que afetam as ligações entre a
300 actina e miosina no músculo tais como: pH e temperatura durante o *rigor mortis*
301 (Savell; Mueller e Baird, 2005).

302 Normalmente, o pH no músculo diminui de 7,0 no momento do abate para 5,8 -
303 5,3 quando o *rigor mortis* se desenvolve e têm uma grande influencia sobre a qualidade
304 da carne. Já a temperatura de arrefecimento do músculo abaixo de 15 ° C proporciona

305 encurtamento das fibras musculares antes desenvolvimento do *rigor mortis* e resultando
306 em carne mais firme e pouco macia (Marsh e Leet, 1966).

307 A maturação do músculo em carne prossegue com degradações enzimáticas e
308 desnaturação proteica (ativação da calpaína e calpastatina). A composição da carne está
309 diretamente associada às condições genética de uma população a nutrição adequada,
310 bem como capacidade de converter de forma eficiente alimento em tecido muscular
311 (Lawrie, 2005). Dessa forma o potencial de proteólise *post-mortem* no músculo pela
312 calpaína é influenciado por outras variáveis como peso, sexo e raça (Lage et al., 2009).

313 Mediante a necessidade de investigar o efeito de características de interesse de
314 uma população, existem diversas tecnologias de marcadores moleculares desenvolvidas
315 no Brasil nas áreas de reprodução, alimentação, sanidade e manejo. Para que a
316 ovinocultura de corte no Brasil possa se desenvolver, são necessárias a seleção e a
317 multiplicação de genótipos apropriados para o desenvolvimento de ovinos adaptados
318 aos diversos ecossistemas encontrados no país (Lôbo e Lôbo, 2007).

319 **2.4. Marcadores Moleculares**

320 Os marcadores moleculares são originados das variações no material genético e
321 são também denominados de marcadores genéticos. Destacam-se por serem altamente
322 polimórficos, detectados em qualquer fase da vida do indivíduo e apresentarem
323 características dominantes ou co-dominantes, além de não serem influenciados pelo
324 ambiente (Faleiro, 2007; Williams, 2008).

325 Mediante a importância comercial do setor de corte (produção de carnes),
326 estudos visando a identificação e seleção de animais precoces para características de
327 interesse por meio de marcadores surgiram como processo denominado de seleção
328 assistida por marcadores genéticos (MAS) (Wu et al., 2005).

329 Estes são determinados em função da característica em estudo sendo:
330 Identificação de locos de caracteres quantitativos (*Quantitative Trait Locus*- QTL)
331 (Lôbo e Lôbo, 2007), associados a características ou por polimorfismos de nucleotídeo
332 de base única (*Single nucleotide polymorphism* - SNP) em genes candidatos em locais
333 específicos geralmente que já foram identificados via QTL (Wu et al., 2005).

334 Alguns SNPs podem codificar proteínas, no gene da μ -calpaína (CAPN1) e da
335 calpastatina (CAST) já foram encontrados polimorfismos e estes associados a maciez da
336 carne (White et al., 2005; Schenkel et al., 2006).

337 Lande e Thompson (1990) mostraram que poucos genes poderiam explicar uma
338 proporção grande da variação genética para características quantitativas (QTLs) e que
339 atuam no controle de características de importância econômica.

340 De maneira geral, a aplicação de marcadores moleculares dentro de o
341 melhoramento animal pode focar duas vertentes principais: (1) características que são
342 controladas por poucos genes de grande efeito, ou (2) características que são
343 controladas por vários genes e de pouco efeito (Regitano e Veneroni, 2009).

344 Existem duas grandes classes de marcadores que se diferenciam pela
345 metodologia utilizada para identificá-los: hibridização ou amplificação de DNA. Entre
346 os marcadores identificados por hibridização estão os RFLP (*“Restriction Fragment*
347 *Length Polymorphism”*) e Minissatélites ou locos VNTR (*“Variable Number of*
348 *Tandem Repeats”*) (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

349 O estudo dos SNPs depende exclusivamente da Reação em Cadeia da
350 Polimerase (PCR - *Polimerase Chain Reaction*) que pode ser realizada por dois
351 métodos a RFLP com uso de enzima de restrição e a SSCP (*Polymorphisms of Single*
352 *Stranded Conformation*) com uso de gel desnaturante.

353 Os marcadores de DNA mais utilizados se baseiam em polimorfismos para
354 comprimento de fragmentos de restrição (RFLP). Estes são capazes de diferenciar
355 indivíduos através de variações individuais nos nucleotídeos que podem ou não resultar
356 em mudanças protéicas seja por mutação, deleção, inserção e inversão.

357 Recentes estudos criaram condições para que os SNPs possam auxiliar na
358 rastreabilidade e certificação racial de animais domésticos (Heaton et al., 2005; Negrini
359 et al., 2008) bem como em estudos de diversidade de ovinos (Kijas et al., 2012).

360 Quando os SNPs estão localizados em regiões codificantes dos genes, esses
361 podem influenciar em diferenças na função da proteína e conseqüente variação
362 fenotípica. Entretanto, pode haver variações em regiões não codificantes, as quais
363 podem também alterar significativamente o fenótipo (Kijas et al., 2009).

364 Os primeiros trabalhos realizados para desenvolver e caracterizar marcadores
365 moleculares para espécies de interesse zootécnico relatam resultados de estudos de
366 caracterização de marcadores RFLP bovinos (Beckmann et al., 1986, Georges et al.,
367 1987).

368 Na espécie ovina, polimorfismos de conformação de cadeia simples (SSCP), no
369 exon 3 do gene da leptina foram detectados nas raças Romney, Merino, Corriedale, Poll
370 Dorset e Suffolk por Zhou et al. (2009), e na raça Makoei, por Hashemi et al. (2011),

371 visando encontrar uma relação com características produtivas, tais quais: deposição de
372 gordura na carcaça, qualidade de carne, ganho de peso, precocidade sexual, entre outras
373 (Lara et al., 2012). Deste modo, as informações moleculares observadas pelo uso desses
374 marcadores poderão ser usadas como complemento em programas de melhoramento
375 (Bered et al., 1997).

376 **2.4.1. Genes candidatos: Calpaína e Calpastatina**

377 A estratégia de busca do gene principal está baseada no conhecimento prévio
378 dos mecanismos fisiológicos envolvidos com a manifestação das características de
379 produção em questão e na tentativa de pesquisar as variações de genes específicos
380 (enzimas, hormônios ou proteínas) entre indivíduos que apresentem fenótipos distintos
381 (Hirwa et al., 2011).

382 Os fenotípicos relacionados a características de interesse econômico são
383 analisados por métodos estatísticos, que determinam a característica herdada de forma
384 mais efetiva para seus descendentes em função do genótipo observado (Lôbo e Lôbo,
385 2007).

386 O gene candidato deve apresentar um ou mais polimorfismos nos animais
387 parentais usados; deve-se verificar se a mutação é conservativa visando identificar
388 associações com características de interesse nos programas de melhoramento
389 (Meuwissen et al., 2001).

390 Na pecuária, estudos sobre a Calpaína no exon3 (CAPN3) em ovinos têm sido
391 investigados por sua associação com a maciez da carne e características de produção em
392 ovinos (Zhou et al., 2009). Fator evidenciado também na carne bovina (Barendse et al.,
393 2008). Estudos sugerem que o gene da calpastatina (CAST) e o gene da calpaína
394 (CAPN), como genes de potenciais para a qualidade da carne em função das atividades
395 proteolíticas que desempenham (Marchetelli et al., 2005).

396 A primeira PCR-RFLP relatada em ovinos foi feita no gene calpastatina, e tendo
397 em conta o papel dos calpastatina em influenciar carne qualidade em bovinos (Palmer et
398 al., 1998). A expressão dos genes e interação, calpaína/calpastatina afetam a qualidade
399 da carne, em nível de maciez e eficiência de crescimento muscular (Mohammadi et al.,
400 2008).

401 **2.4.2. Dados fenotípicos da carcaça e da carne**

402 Sabe – se que há interação entre os genes e características fenotípicas em
403 diferentes espécies. Dessa forma a determinação objetiva das características da carcaça
404 e da carne é de extrema importância. Estas são expressas pela determinação do peso do
405 corpo do animal, do rendimento de carcaça, pela percentagem dos cortes de valor
406 comestível e pela qualidade da carne (Aguirre e Tron, 1996).

407 A composição regional da carcaça baseia-se no desmembramento em peças, o
408 que permite uma melhor comercialização ao consumidor. Já a composição tecidual a
409 fundamenta-se na quantidade de tecido muscular, tecido adiposo e ósseo existente na
410 carcaça (Oliveira et al., 1998).

411 A padronização dos cortes, ou até mesmo os nomes que lhe são atribuídos, varia
412 muito entre os países e até entre áreas próximas dentro de um mesmo país ou região, o
413 que torna essa prática muitas vezes confusa (Garcia et al., 2004). Portanto é abordado
414 atualmente o nome dos cortes e que músculos fazem partes dos mesmos.

415 O rendimento dos cortes sofre influência do sexo, idade e peso do animal, tendo
416 como precedente o estado nutricional (Santos e Perez, 2000). Outro fator de grande
417 relevância na distribuição dos pesos relativos dos cortes da carcaça é a raça, sendo que a
418 proporção dos cortes da carcaça varia em função dos diferentes estágios de maturidade
419 de cada raça (Mendonça et al., 2003).

420 O ponto chave para alterar a composição de carcaças, visando melhor atender a
421 demanda do consumidor encontra-se nos métodos de avaliação *in vivo*, sendo desejável
422 que métodos *in vivo* apliquem-se a animais jovens, viabilizando seleção precoce de
423 cordeiros com composição corporal ou de carcaça altamente desejável nos grupos
424 genéticos (Brash et al., 1992).

425 Melhorias na composição de carcaça pela seleção dos animais são possíveis para
426 características como distribuição de gordura, a qual mostra um alto grau de variação
427 entre indivíduos dentro de raça, resultando em melhores índices de qualidade da carne
428 oferecida (Stanford et al., 1998).

429

430 **2.4.2.1. Peso e acabamento da carcaça**

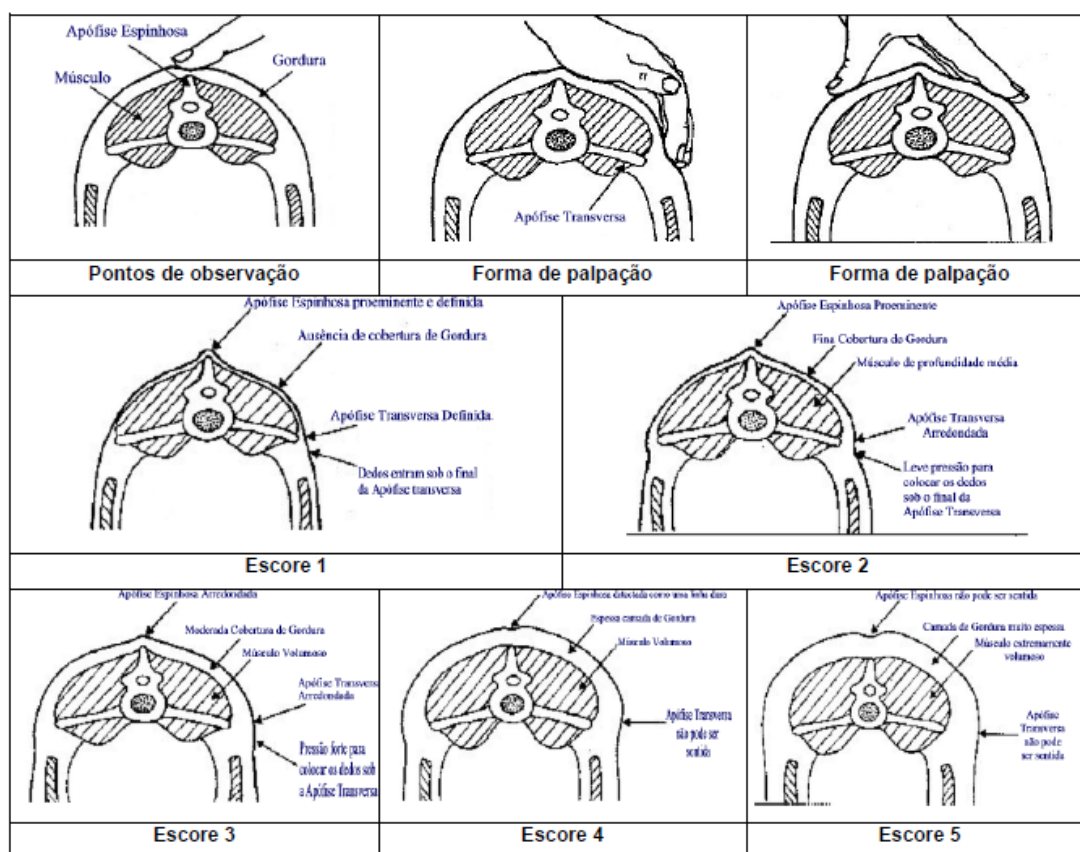
431 Os métodos de avaliação *in vivo* usam o peso pré-abate como o padrão, embora
432 possa dificultar as medidas precisas, devido à influência do enchimento do trato

433 gastrointestinal e do tamanho e umidade da lã, no caso de animais lanados (Stanford et
434 al., 1995).

435 Observações visuais em combinação com escore de condição corporal, avaliadas
436 por palpação é o mais rápido e barato método para predição da composição corporal *in*
437 *vivo* (Thompson e Meyer, 1994).

438 Porém, a grande variação entre raças na proporção de gordura depositada
439 subcutaneamente (Fahmy et al., 1992) pode limitar o uso destes métodos. Em uma
440 mesma raça, avaliadores treinados conseguiram estimar a composição da carcaça de
441 cordeiros com precisão igual ou superior a ultra-sonografia (Edwards et al., 1989).

442 A avaliação pelo escore de condição corporal faz-se mediante elaboração de uma
443 escala de pontos, variando de zero a cinco, onde zero classificaria um animal muito
444 magro e cinco um animal excessivamente gordo conforme apresentado na **Figura 5**:



445 **Figura 5.** Avaliação de escore – método “in vivo”. Fonte: Sá e Otto De Sá (2001).

446 O estudo da carcaça é uma avaliação de parâmetros objetivos e subjetivos em
447 relação à mesma, ou seja, deve estar ligados aos aspectos e atributos inerentes à porção
448 comestível (Santos e Pérez, 2000).

449 Atualmente, a meta em ovinos de corte é a obtenção de animais capazes de
450 direcionar quantidades de nutrientes para a produção de músculo, uma vez que, este
451 tecido reflete a maior parte da porção comestível da carcaça (Santos e Pérez, 2000).

452 O tecido adiposo influi sobre a maciez a partir da gordura intramuscular e
453 dependendo do tamanho do corte, também a gordura intermuscular terá importância, já
454 que o aumento desta desenvolve aparente sensação de suculência (Cañeque e Sañudo,
455 2000).

456 A gordura subcutânea (de cobertura) tem função protetora, evitando as perdas e
457 melhorando a maciez da carne (Sañudo et al., 2000). A quantidade de gordura, medida
458 pelo escore atribuído á carcaça influi sobre a composição tecidual da carcaça (Osório et
459 al., 2004), reduzindo os problemas de encurtamento pelo frio, conseqüentemente,
460 beneficia para uma maior maciez da carne (Cañeque e Sañudo, 2005),

461 Ocorrem variações em função da idade, sexo, raça e grau de acabamento (teores
462 de água e gordura). No que se refere aos animais adultos, não se detecta diferenças
463 significativas no teste de maciez de carneiros e ovelhas, exceto nos carneiros mais
464 velhos (Euclides Filho, 2003).

465 Podem ser considerados como satisfatórios os peso ao abate: 20 Kg de peso vivo
466 com 90 dias para cordeiros e 40 Kg para animais com mais de 1 ano. Já um bom
467 rendimento de carcaça deve estar próximo aos 50%, porém, mais importante que este,
468 está à composição desta carcaça (Zapata et al., 2003).

469 **2.4.2.2. Perda de exsudado por cocção**

470 A perda de exsudado no cozimento é uma medida de qualidade, que está
471 associada ao rendimento da carne no momento do consumo, sendo uma característica
472 influenciada pela capacidade de retenção de água nas estruturas da carne (Pardi et al.,
473 1993). É importante por influenciar as características de qualidade, cor, força de
474 cisalhamento e suculência da carne.

475 Esta perda de exsudado varia segundo o genótipo, condições de manejo pré e
476 pós-abate e a metodologia no preparo das amostras, tais como a remoção ou
477 padronização da capa de gordura externa e tipo de equipamento, fatores que podem
478 levar a variação da temperatura no processo de cocção (Bonagurio et al., 2003).

479

2.4.2.3. Maciez (força de cisalhamento)

480 A maciez pode ser definida como a facilidade com que a carne se deixa
481 mastigar. Pode estar composta por três sensações percebidas pelo consumidor:
482 facilidade de penetração com os dentes; a resistência que oferece a carne à ruptura ao
483 longo da mastigação e à sensação de resíduo na boca (Cañeque e Sañudo, 2005).

484 É necessário que o músculo tenha um período de maturação após o abate, para
485 que sua maciez ideal seja atingida. Alguns fatores já mencionados afetam diretamente a
486 maciez da carne como a dieta, genótipo, idade e peso de abate, condições de abate e
487 armazenamento da carne (Zapata et al., 2003).

488 Em ovinos, faltam estudos sobre o período de maturação necessário para
489 alcançar melhores parâmetros de qualidade de carne, Beltrán (1988) encontrou valores
490 de maciez (pontuação de 1 a 9) que vão da pontuação de 3,6 com um dia de maturação a
491 4°C, a 7,4 pontos aos sete dias de maturação a 0°C. Sañudo et al. (1986) observaram
492 aumento da maciez, em ovinos, desde 1 mês de idade até os 5 meses e, atribuem
493 fundamentalmente ao aumento de gordura.

494 A maciez da carne é uma das preocupações importantes para os varejistas e
495 restaurantes (Lawrie, 2005), mas esta característica é resultante da ação de várias
496 proteínas durante a maturação da carne (Lage et al., 2009), como foi mencionado
497 anteriormente. E os consumidores estão dispostos a pagar valores significativos para a
498 carne que garanta essa característica.

499 No geral a maciez é determinada por três componentes, a tenacidade do fundo,
500 em fase de endurecimento (*rigor mortis*), e a fase de maturação (proteólise)
501 (Koohmaraie e Geesink, 2006).

502

2.4.2.4. Capacidade de retenção de água

503 Esta característica se refere à capacidade que a carne tem para reter água durante
504 aplicação de forças externas, tais como: o corte, aquecimento, moagem ou pressão
505 (Zapata et al. 2003).

506 A capacidade de retenção de água (CRA) é de grande importância econômica e
507 sensorial, já que, uma carne com menor capacidade de retenção de água indica possível
508 existência de tratamento fraudulento que ocasiona maiores perdas da carcaça que
509 passaria de 2% (normal) para 5-7% (Sañudo e Osório, 2004).

510 A CRA é um parâmetro biofísico-químico que se poderia definir como o maior
511 ou menor nível de fixação de água no músculo nas cadeias de actino-miosina; que no
512 momento da mastigação se traduz em sensação de maior ou menor suculência, sendo
513 avaliada de maneira positiva ou negativa pelo consumidor (Zeola et al. 2002).

514 A quantidade exsudada irá influenciar a cor, a textura e a maciez da carne crua,
515 além do sabor e odor da carne cozida. As perdas de peso, palatabilidade e valor nutritivo
516 são problemas para a indústria porque, junto com a água, são perdidas proteínas
517 solúveis, lipídios, vitaminas e minerais (Forrest et al., 1979).

518 Em ovinos a maior capacidade de retenção de água corresponde aos músculos
519 do terço posterior e lombo. Dessa forma, quando o tecido muscular apresenta baixa
520 retenção de água, há perda de umidade e, conseqüentemente, a perda de peso durante a
521 estocagem é maior (Dabés, 2003).

522 **2.4.2.5. Luminosidade e Cor**

523 A cor da carne é uma característica que o consumidor pode apreciar no momento
524 da compra, indicando indiretamente a vida de prateleira. A cor constitui o primeiro
525 impacto sobre o consumidor, despertando neste o desejo de consumir ou de rejeitar o
526 produto, além de também fornecer uma indicação, embora nem sempre correta, sobre o
527 grau de conservação do alimento (Ramos e Gomide, 2009).

528 Os pigmentos que originam a cor pode ser determinados pela quantidade de
529 mioglobina e pelas proporções relativas desse pigmento, que pode ser encontrado na
530 forma mioglobina reduzida (Mb, cor púrpura), oximioglobina (MbO₂, cor vermelha) e
531 metamioglobina (MetMb, cor marrom). Entre esses três tipos de pigmentos formam-se
532 um equilíbrio mais ou menos estável (Lawrie, 2005).

533 O teor de hemoglobina na carne é afetado diretamente pela proporção de fibra
534 vermelhas e intermediárias no músculo, tonando as carnes mais vermelhas (Sañudo et
535 al., 1998).

536 Osório et al. (2009) relataram que carnes com pHs altos apresentam aumento da
537 atividade da citocromo-oxidase, que reduz as possibilidades de captação de oxigênio
538 portanto, há predomínio da Mb de cor vermelha púrpura. Os pHs baixos favorecem à
539 auto-oxidação do pigmento produzindo resultando em carnes mais claras.

540 Desta forma pode-se considerar três fatores como os principais responsáveis pela
541 cor da carne: a sua estrutura física; a concentração de pigmentos (mioglobina e

542 hemoglobina), variável com o tipo de músculo e a espécie animal; o estado físico destes
543 pigmentos (Choi e Kim, 2009).

544 A concentração de pigmentos de cor varia consideravelmente entre os tecidos
545 musculares, sendo influenciada pela espécie, sexo, idade e atividade física do animal e
546 dos diferentes grupos musculares (Mancini e Hunt, 2005).

547 A carne com predominância de fibras vermelhas possui maior concentração de
548 mioglobina que àquelas em que há a predominância de fibras brancas. Essa diferença
549 está relacionada com o metabolismo respiratório (oxidativo), predominante nos
550 músculos vermelhos, em que o armazenamento de oxigênio, realizado pela mioglobina,
551 é consistente com a elevada proporção de enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo
552 e a baixa quantidade de enzimas glicolíticas encontradas nessas fibras (Ramos e
553 Gomide, 2009).

554 Dependendo do tipo de músculo com predominância de fibras brancas, a
555 quantidade de mioglobina é quase indetectável (Mancini e Hunt, 2005).

556 Norman (1982) encontrou diferenças significativas nos níveis de pigmentos
557 entre as raças. Consistentemente, maior mioglobina e concentrações total de pigmentos
558 foram registrados em raças zebuínas.

559 **3. Objetivos**

560 **3.1. Objetivo Geral**

561 Avaliar possíveis associações entre polimorfismos nos genes da Calpaína e da
562 Calpastatina com características quantitativas da carcaça e qualidade de carne de ovinos
563 pantaneiros e em ovinos Sem Raça Definida.

564 **3.2. Objetivos Específicos**

- 565 i) Determinar as frequências alélicas e genotípicas dos ovinos pantaneiros e
566 dos ovinos Sem Raça Definida.
- 567 ii) Avaliar a ocorrência de associação das frequências genotípicas com
568 características da carcaça e de qualidade de carne nos grupos de ovinos
569 pantaneiros e dos ovinos Sem Raça Definida.

4. Referências Bibliográficas

- 570
571
- 572 AGUIRRE, S.I.A; TRON, J.L. **Producción de carne ovina**. México: Editores
573 Mexicanos Unidos S.A., 1996, 167p.
- 574 ANJOS, G.C.B.; FARIAS, A.S.D. "O Fortalecimento Da Cadeia Da Caprinocultura
575 Como Instrumento De Desenvolvimento E Geração De Renda: Um Estudo De Caso No
576 Município De Monteiro/Pb. ." XXV ENEGEP - Encontro Nacional de Engenharia de
577 Produção.**Anais...** Porto Alegre, 2005.
- 578 ANUALPEC. **Anuário da pecuária brasileira**. Rio Grande do Sul: GAZETA. 2011.
579 28p.
- 580 BARBOSA, J.A. **Evolução da Raça Santa Inês**: Panorama mercadológico de
581 reprodutores e matrizes. VI Simpósio Mineiro de Ovinocultura, 2005.
- 582 BARBOSA-FERREIRA, M. **Resumo histórico do ovino pantaneiro**. 2011. Disponível
583 em: <[http://www.ruralcentro.com.br/analises/2214/resumo-historico-do-ovino-](http://www.ruralcentro.com.br/analises/2214/resumo-historico-do-ovino-pantaneiro)
584 [pantaneiro](http://www.ruralcentro.com.br/analises/2214/resumo-historico-do-ovino-pantaneiro)>. Acesso: Junho, 2015.
- 585 BAREBSE, W. et al. Variation at the Calpain 3 gene is associated with meat tenderness
586 in zebu and composite breeds of cattle. **Research article – BMC Genetics**. 2008.
- 587 BASSETTO, C.C.; SILVA, B.F.; FERNANDES, S. et al. Contaminação da pastagem
588 com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas
589 resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira de Parasitologia**
590 **Veterinária**, v.18, p.63-68, 2009.
- 591 BECKMANN, J.S.; KASHI, Y.; HALLERMAN, E.M. et al. Restriction fragment
592 length polymorphism among Israeli Holstein-Friesian dairy bulls. **Animal Genetics**,
593 v.17, n.1, p.25-38, 1986.
- 594 BELTRAN, J.A. **Efecto de la temperatura sobre el desarrollo del rigor mortis y la**
595 **maduración en músculo de ternasco**. 1988. Tese (Doutorado em Tecnología de
596 Alimentos) – Facultad de Veterinária, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, 1988.
- 597 BERED, F.; BARBOSA NETO, F.J.; CARVALHO, F.I.F. Marcadores moleculares e
598 sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v.27, p.513-520,
599 1997.
- 600 BIANCHI, G.; GARIBOTTO, G. Los cruzamientos como alternativas para aumentar la
601 producción de corderos e mejorar la calidad del producto em El Uruguay. In:
602 REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003,
603 Santa Maria. **Anais...** SBZ: Santa Maria, 2003. CDROM – Palestras.
- 604 BONAGURIO, S.; PÉREZ, J.R.O.; GARCIA, I.F.F. et. al. Qualidade da carne de
605 cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel abatidos com diferentes pesos. **Revista**
606 **Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1981-1991, 2003.

- 607 BRASH, L.D., FORGARTY, N.M., GILMOUR, A.R. et al. Genetic parameters for live
608 weight and ultrasonic fat depth in Australian meat and dual-purpose sheep breeds. **Aust.**
609 **J. Agric. Res.**, v.43, p.831-841, 1992.
- 610 BRAUNER, R. A.; **Potencialidades da lâ de ovinos nativos pantaneiro**. Universidade
611 Anhanguera-Uniderp. Dissertação de Mestrado. Campo Grande – MS, 2010.
- 612 BRESSAN, M.C. ROSSATO, L.V.; RODRIGUES, E.C.; ALVES, S.P.; BESSA,
613 R.J.B.; RAMOS, E.M.. et al. Genotype x environment interactions for fatty acid profiles
614 in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on either pasture or grain. **Journal of Animal**
615 **Science**, v.89, pp. 221–232, 2011.
- 616 CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no
617 melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**,
618 v.38, n.7 p.64-71, 2009.
- 619 CAÑEQUE, V.; SAÑUDO, C. **Estandarización de lãs metodologías para evaluar la**
620 **calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes**. 2005.
- 621 CAÑEQUE, V.; SAÑUDO, C. **Metodología para el estudio de La calidad de la canal**
622 **y de la carne en rumiantes**. Madri: INIA, 2000. 255p.
- 623 CHOI, Y.M. e KIM, B.C. Review article: Muscle fiber characteristics, myofibrillar
624 protein isoforms, and meat quality. **Livestock Science**, v.122, p.105–118, 2009.
- 625
- 626 CHRISTENSEN, M.; HENCKEL, P.; PURSLOW, P.P. Effect of muscle type on the
627 rate of post-mortem proteolysis in pigs. **Meat Science**, v.66, n.3, p:595-601, 2004.
- 628 DA LUZ, J. **Ovelha pantaneira, a quase nova raça que pode revolucionar a**
629 **ovinocultura**. 2009. Disponível em:
630 <<http://www.acrissul.com.br/upload/jornal/1261145486.pdf>> Acesso: Julho, 2015.
- 631 DÁBES, A.C. Flavor da carne e de produtos cárneos – uma visão geral. **Revista**
632 **Nacional da Carne**, v.28,n.322,2003, p.35.
- 633 DELBARRE-LADRAT, C.; VERREZ-BAGNEIS V.;NOEL, J.; FLEURENCE, J.
634 Proteolytic potencial in White muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) during post
635 mortem storage on ice: time-dependent changes in the activity of the components of the
636 calpain system. **Food Chemistry**, v.64, n.3, p.441-446, 2004.
- 637 DÍAZ, M.T.; VELASCO, S.C.; PÉREZ, S. et al. Physico-chemical characteristics of
638 carcass and meat Manchego-breed suckling lambs slaughtered at different
639 weights. **Meat Science**, v.65, p.1247-1255, 2003.
- 640 EDWARD, J.W., CANNELL, R.C., GARRET, R.P. et al. Using ultrasound, linear
641 measurements and live fat tickness estimates to determine the carcass composition of
642 market lambs. **Journal Animal Science**., v.67, p.3322-3330, 1989.
- 643 EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Demanda por carne ovina**
644 **crece 25%, mas oferta é baixa**. 2010. Disponível em:
645 <http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/03320012431.20_01_2010.pdf> Acesso:
646 Julho, 2015.

- 647 EUCLIDES FILHO, K. Efeito do tamanho e peso metabólico do animal sobre a
648 eficiência reprodutiva e requerimento nutricional. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL
649 SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003. João Pessoa-PB. **Anais...**
650 SANTOS, E.S.; SOUZA, W.H. (Eds.). João Pessoa-PB: EMEPA, 2003. p.381-400.
- 651 FACÓ, O.; VILLELA, L. C. V. Conceitos fundamentais do melhoramento genético
652 animal. IN: Campos ACN. (Org.). Do campus para o campo: tecnologias para a
653 produção de ovinos e caprinos, **Anais...**Fortaleza: [s.n.], 2005.
- 654 FAHMY, M.H., BOUCHER, J.M., POSTE, L.M. et al. Feed efficiency, carcass
655 characteristics and sensory quality of lambs with or without prolific ancestry fed diets
656 with different protein supplements. **Journal Animal Science**, v.70, p.1365- 1374, 1992.
- 657 FALEIRO, F.G. **Marcadores genéticomoleculares aplicados a programas de**
658 **conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF. 2007, p.
659 102.
- 660 FERREIRA, M.E. e GRATTAPAGLIA, D. **Introdução Ao Uso De Marcadores**
661 **Moleculares Em Análise Genética**. Brasília: Embrapa, 1998.
- 662 FONSECA, B. **Ovelha rústica é adaptada ao clima do Cerrado Raça pantaneira**
663 **com alta fertilidade possibilita a criação em pequenas propriedades com baixo**
664 **custo e produção de carne magra**. 2010. Disponível em:
665 <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=23219&secao=Pa>
666 [cotes%20Tecnol%F3gicos&c2=Ovinos](http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=23219&secao=Pa)> Acesso: Julho, 2015.
- 667 FORREST, J.C.; ABERLE, E.D.; HEDRICK, H.B.; JUDGE, M.D. e MERKEL, R.A
668 **Fundamentos de ciencia de la carne**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1979. 364p.
- 669 FRAYSSE, B., J.-F. DESAPHY, J.-F. ROLLAND, S. PIERNO, A. LIANTONIO, V.
670 GIANNUZZI, C. CAMERINO, M. P. DIDONNA, D. COCCHI, A. DE LUCA, e D.
671 CONTE CAMERINO. Fiber type-related changes in rat skeletal muscle calcium
672 homeostasis during aging and restoration by growth hormone. **Neurobiology Disease**,
673 v.21, p: 372-380, 2006.
- 674 GARCIA, I.F.F.; PEREZ, J.R.O.; LIMA, A.L. e QUINTÃO, F.A. Estudo dos cortes da
675 carcaça de cordeiros Santa Inês puros e cruza Santa Inês com Texel, Ile de France e
676 Bergamácia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p:453-462, 2004.
- 677 GEESINK, G.H. e KOOHMARAIE, M. Effect of Calpastatin on degradation of
678 myofibrillar proteins by μ -calpain under post mortem conditions. **Journal of Animal**
679 **Science**, v.77, p. 26855-2692, 1999.
- 680 GEORGES, M.; LEQUARRÉ, A.S.; HANSET, R. e VASSART, G. Genetic variation
681 of the bovine thyroglobulin gene studied at the DNA level. **Animal Genetics**, v.18, n.1,
682 p.41-50, 1987. 40
- 683 GOMES, W.S.; ARAÚJO, A.R.; CAETANO, A.R.; MARTINS, C.F.; VARGAS
684 JUNIOR, F.M.; MCMANUS, C. e PAIVA, S.R. Origem e Diversidade Genética da
685 Ovelha Crioula do Pantanal, Brasil. In: **SIMPOSIO DE RECURSOS GENÉTICOS**
686 **PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE**. Universidad Autónoma Chapingo,
687 Chapingo, México. p.322, 2007.

- 688 HASHEMI, A.; MARDANI, K.; FARHADIAN, M.; ASHRAFI I.; RANJBARI M.
689 Allelic polymorphism of Makoei sheep leptin gene identified by polymerase chain
690 reaction and single strand conformation polymorphism. **African Journal of**
691 **Biotechnology**, v.10, 2011, 3p.
- 692 HEATON, M.P.; KEEN, J.E.; CLAWSON, M.L. et al. Use of bovine single nucleotide
693 polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. **Journal of the**
694 **American Veterinary Medicine Association**, v.226, n.8, p.1311-1314, 2005.
- 695 HIRWA, C.A.; WALLACE, P.; SHEN, X.; NIE, Q.; YANG, G.; ZHANG, X.. Genes
696 Related to Economically Important Traits in Beef Cattle. **Asian Journal of Animal**
697 **Sciences**, v.5, n.1, p.34-35, 2011.
- 698 HUGO, M. **Ovino nativo do Pantanal é mais produtivo e cruza bem.** 2011.
699 Disponível em: <<http://flip.siteseguro.ws/pub/correiodoestado/index.jsp?ipg=8768>>
700 Acesso: Julho, 2015.
- 701 HUXLEY, H. E. The double array of filaments in cross-striated muscle. **The Journal of**
702 **Biophysical and Biochemical Cytology**, v.3, n.5, p. 631-648, 1957.
- 703 IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Censo de consumo de carne
704 ovina. Site: www.ibge.org.br, 2010.
- 705 IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Censo de consumo de carne
706 ovina.. Site: www.ibge.org.br, 2011.
- 707 JACINTO, M.A.C.; VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F. et al. Influence of
708 genotype on the quality of sheep leather. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40,
709 p.1830-1836, 2011.
- 710 KEMP, C. M.; KING, D.A.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L. e
711 KOOHMARAIE, M. The caspase proteolytic system in callipyge and normal lambs in
712 *longissimus*, *semimembranosus*, and *infraspinatus* muscles during postmortem storage.
713 **Journal Animal Science**, v. 87, p. 2943-2951, 2009.
- 714 KIJAS, J.W.; LENSTRA, J. A.; HAYES, B.; BOITARD, S.; PORTO NETO, L.R. et al.
715 Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic
716 Mixture and Strong Recent Selection. **PLoS Biology**, v.10, n.2, p. e1001258. 2012.
- 717 KIJAS, J.W.; TOWNLEY, D.; DALRYMPLE, B.P.; HEATON, M.P.; MADDOX, J.P.;
718 MCGRATH, A.; WILSON, P.; INGERSOLL, R.G.; MCCULLOCH, R.,
719 MCWILLIAM, S. et al. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic
720 structure of sheep breeds. **PLoS ONE**, v.4, p. e4668, 2009.
- 721 KOOHMARAIE, M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization
722 process of meat. **Meat Science**, v. 43, p.193–201, 1996.
- 723 KOOHMARAIE, M. SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; LONGERRAN, T.L. e
724 DOUMIT, M.E. A muscle hypertrophy condition in lambs (callipyge): characterization
725 of effects on muscle growth and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, v.73,
726 p. 3596-3607, 1995.

- 727 KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle
728 biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the
729 calpain system. **Meat Science**, v. 74, p.34-43, 2006.
- 730 KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; MUGGLICOCKETT, N.E e STONE,
731 R.T. Effect of the beta-adrenergic agonist L644,969 on muscle growth, endogenous
732 proteinase activities, and postmortem proteolysis in wether lambs. **Journal Animal
733 Science**, v. 69, p. 4823-4835, 1991.
- 734 LAGE, J. F.; OLIVEIRA, I.M.; PAULINO, P.V.R. e RIBEIRO, F. Papel do sistema
735 calpaína calpastatina sobre a proteólise muscular e sua relação com a maciez da carne
736 em bovinos de corte. REDVET. **Revista electrónica de Veterinária**, v.10, n.12, 2009.
- 737 LANDE,R. e THOMPSON, R. 1990 Efficiency of marker-assisted selection in the
738 improvement of quantitative traits. **Genetics**, v.124, p.743-756, 1990.
- 739 LARA, M. A. C.; GUTMANIS, G.; SOARES, W. V. B.; ROCHA, L. A.; CUNHA, E.
740 A.; CAVALCANTE-NETO, A.; SILVA, R. C. B.;RIBEIRO, M. N. e HERLING, V.
741 R.Caracterização genética de raças nativas e comerciais de ovinos com base em SNPs
742 do gene Leptina. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal**, p.215 -219, 2012.
- 743 LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Trad. Jane Maria Rubensam. 6. ed. Porto Alegre:
744 Artmed, 2005. 384 p.
- 745 LÔBO, R. N. B.; LÔBO, A. M. B. O. **Evolução do melhoramento de Caprinos e
746 Ovinos no Brasil**, 2007.
- 747 MANCINI, R.A. e HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, v.71,
748 p.100–121, 2005.
- 749 MARCHITELLI, C.; CRISÀ, M. L.; CHECA, M.E; MIRANDA, S.; DUNNER, V.;;
750 ARMARGER, D. et al. Polymorphisms in genes affecting meat quality in European
751 beef breeds. **Italia Journal Animal Science.**, v.4, n.2, p. 34-36, 2005.
- 752 MARIANTE, A.D.S.; ALBUQUERQUE, M.; DO EGITO, A.A. et al., Advances in the
753 Brazilian Animal Genetic Resources Conservation Programme. **Animal Genetic
754 Resources Information** 25 (1999): 107-22.
- 755 MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M. e RAMOS, A.F. Criopreservação de
756 recursos genéticos animais brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE
757 REPRODUÇÃO ANIMAL, 19, Recife. **Anais...** Belo Horizonte: Revista Brasileira de
758 Reprodução Animal, v.35, n.2, p.64-68, 2011.
- 759 MARSH, B. B. e LEET, N. G. Meat tenderness. **Journal Food Science**, v.31, p. 450-
760 459, 1966.
- 761 MARTINS, R. R. C.; OLIVEIRA, N. M.; OSÓRIO, J. C. S. e OSÓRIO, M. T. M.
762 Efeito da interação genótipo x sistema nutricional sobre a composição regional e
763 tecidual. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 110-119, 2008.
- 764 MELLGREN, R.L. Structural biology: Enzyme knocked for a
765 loop. **Nature**. 2008;456:337 338.

- 766 MELLONI, E., M. AVERNA, R. STIFANESE, R. DE TULLIO, E. DEFRANCHI, F.
767 SALAMINO, S. e PONTREMOLI. Association of calpastatin with inactive calpain.
768 **Journal of Biological Chemistry.**, v. 281, p. 24945-24954, 2006.
- 769 MENDONÇA G.; OSÓRIO J.C.; OLIVEIRA N.M.; OSÓRIO M.T.; ESTEVES R. e
770 WIENGARD M.M. Morfologia, características e componentes do peso vivo em
771 borregos Corriedale e Ideal. **Ciência Rural**, v.33, p.351-355, 2003.
- 772 MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E. e HAYES, B. J. Prediction of total genetic
773 value using genomewide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, p. 1819-1829, 2001.
- 774 MOHAMMADI, M.; NASIRI, M.T.B.; ALAMI-SAEID, K.H.; FAYAZI, J. et al.
775 Polymorphism of calpastatin gene in Arabic sheep using PCR- RFLP. **African Journal**
776 **of Biotechnology** .v. 7, n. 15, p. 2682-2684, 2008.
- 777 MORAES, D. **Bioma Pantanal**. 2011. Disponível em:
778 <<http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=963&sid=2>> Acesso:
779 Agosto, 2015.
- 780 NEGRINI, R. ; NICOLOSO, L. ; CREPALDI, P. ; MILANESI, E. ; MARINO, R. ;
781 PERINI, D. ; PARISET, L. ; DUNNER, S. ; LEVEZIEL, H. ; WILLIAMS, J.L. e
782 AJMONE- MARSAN, P. Traceability of four European Protected Geographic
783 Indication (PGI) beef products using Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) and
784 Bayesian statistics. **Meat Science**, v. 80, n. 4, p. 1212-1217, 2008.
- 785 NORMAN, G. A. Effect of breed and nutrition on the productive traits of beef cattle in
786 southeast Brazil: part 3-Meat Quality. **Meat Science**, v.6, p.79-96, 1982.
- 787 OLIVEIRA, L. B.; SOARES, G. J. D. e ANTUNES, P.L. Influência da maturação da
788 carne bovina na solubilidade do colágeno e perdas por cozimento. **Revista Brasileira**
789 **de Agrociência**. v.4. n. 3. p. 166-171., 1998.
- 790 OSÓRIO, J.C.S; OSÓRIO, M.T.M. e SAÑUDO, C. Características sensoriais da carne
791 ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.292-300, 2009. (Suplemento Especial).
- 792 OTTENHEIJM, C. A. e GRANZIER, H. Lifting the nebula: novel insights into skeletal
793 muscle contractility. **Physiology (Bethesda)**, v.25, p.304–310, 2010.
- 794 PAIVA, S.R. e MCMANUS, C. **Utilização de marcadores moleculares na**
795 **caracterização genética de ovinos**. 9 th Biennial Symposium of the Brazilian Society
796 of Animal Breeding, p. 20-22, 2012.
- 797 PALMER, B. R.; ROBERTS, N.; HICKFORD, J.G. e BICKERSTAFFE, R. Rapid
798 communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. **Journal**
799 **Animal Science**, v.76, p. 1499-1500, 1998.
- 800 PARDI, M.C; SANTOS, I.F. SOUZA, E.R. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da** 41
801 **carne: tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: Centro Editorial e 42
802 Gráfico Universidade de Goiás, v.1, 1993. 586p.

- 803 PINTO, G.S.; MAGRIN, M.N.; SETTI, J. et al. Infestação por parasitos gastrintestinais
804 em ovinos submetidos à pastejo contínuo na gramínea aruana. In: CONGRESSO DE
805 NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, **Anais...v.5.**, 2008a.
- 806 PORTER, V. **Goats of the World**. Farming Press, 1996
- 807 QUADROS, D.G. **Caprinas Para Produção De Carne**. Barreiras: Universidade do
808 Estado da Bahia. , 2005.
- 809 RAMOS, E. M. e GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes:
810 fundamentos e metodologias**. 1ª ed, 1ª reimpressão, 599 p. Editora UFV, Viçosa MG,
811 2009.
- 812 RAYNAUD, P.; GILLARD, M.; PARR, T.; BARDSLEY, R.; AMARGER, V. e
813 LEVÉZIEL, H. Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein
814 isoforms. **Archives of biochemistry and biophysics**, New York, v.440, p-46 – 53,
815 2005.
- 816 REGITANO L.C.A. e VENERONI G.B. Marcadores Moleculares E Suas Aplicações
817 No Melhoramento Animal. In: Simpósio De Biologia Molecular Aplicada À Produção
818 Animal. São Carlos – Sp, 2009.
- 819 SÁ, J.L. e OTTO DE SÁ, C. **Produção de leite ovino: revisão**. 2001. Disponível em:
820 <http://www.crisa.vet.br/publi_2001/leite.htm>. Acesso em: julho 2015.
- 821 SANTOS, C.L. e PÉREZ, J.R.O. 2000. Cortes comercias de cordeiros Santa Inês. In: I
822 ENCONTRO MINEIRO DE OVINOCULTURA, Lavras, MG, **Anais...** Lavras, p.149-
823 168.
- 824 SAÑUDO, C.; AFONSO, M.; SÁNCHEZ, A.; DELFA, R.; TEIXEIRA, A. Carcass and
825 meat quality in light lambs from different fat classes in EU carcass classification
826 system. **Meat Science**, v.56, p.89-94, 2000.
- 827 SAÑUDO, C.; NUTE, G.R.; CAMPO, M.M. et al. Assessment of comercial lamb meat
828 quality by british and spanish taste panels. **Meat Science**, v.48, n.1/2, p.91-100, 27
829 1998.
- 830 SAÑUDO, C.; OSÓRIO, M.T.M. **Curso de analises sensorial**. Pelotas: Universidade
831 Federal de Pelotas, 2004. 150p.
- 832 SAÑUDO, C.; SIERRA, I.; LOPEZ, M. et al. **La qualité de La viande ovine**. Etude
833 des differents facteurs qui la conditionnent. Commission des C.E. Rapport EUR 11479.
834 p.67-81. 1986.
- 835 SAVELL, J. W.; MUELLER, S. L. e BAIRD, B. E. (2005). The chilling of
836 carcasses.**Meat Science**, 70, 449-459.
- 837 SCHENKEL, F. S.; MILLER,S.P.; JIANG,Z.; MANDELL,I.B.;YE,X.; LI,
838 H.;WILTON, J.W. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin
839 gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **Journal Animal Science**. v.84,
840 p. 291-299, 2006.

- 841 SCZESNY-MORAES, E.A.; I BIANCHIN, I. ; SILVA, K.F.; CATTO, J.B.; HONER,
842 M.R. e PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos,
843 Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30 , n.3,p. 229-236, 2010.
- 844 SILVA, D.B.S.; SENO, L.O.; GRISOLIA, A.B. et al. Estrutura genética dos ovinos
845 naturalizados do Pantanal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56.,
846 2010, Guarujá. **Anais...** Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 2010.
- 847 STANFORD, K.; CLARK, I. e JONES, S.D.M. Use of ultrasound in prediction of
848 carcass characteristics in lambs. **Canadian Journal Animal Science**, v.75, p.185-189,
849 1995.
- 850 STANFORD, K.; JONES, S.D.M. e PRICE, M.A. Methods of predicting lamb carcass
851 composition: A review. **Small Ruminant Research**, v.29, p.241- 254, 1998.
- 852 THOMPSON, J. e MEYER, H. **Body condition scoring sheep**. Oregon: Oregon State
853 University, 4p, 1994.
- 854 TOBACMAN, L.S.; NIHLI, M.; BUTTERS, C.; HELLER, M.; HATCH, V.; CRAIG,
855 R.; LEHMAN, W.; HOMSHER, E. The troponin tail domain promotes a
856 conformational state of the thin filament that suppresses myosin activity. **Journal of**
857 **Biological Chemistry**, n.277, p: 27636-27642. 2002.
- 858 VARGAS JUNIOR, F.M.; LONGO, M.L.; SENO, L.O. et al. Potencial produtivo de um
859 grupamento genético de ovinos nativos Sulmatogrossenses. **PUBVET**, Londrina, v.5,
860 n.30, Ed. 177, Art. 1197, 2011 a.
- 861 VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS,C.F. ;PINTO,G.S.;FERREIRA,M.B. et al. The
862 effect of sex and genotype on growth performance, feed efficiency, and carcass traits of
863 local sheep group Pantaneiro and Texel or Santa Inês crossbred finished on feedlot.
864 **Trop Anim Health Prod**, v.46, p.869–875, 2014.
- 865 VIANA, J.G.A. Panorama geral da Ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista**
866 **Ovinos**, ano 4, nº12, 2008. 9p.
- 867 WARRISS, P. D. **Meat Science: An introductory text**. In Meat Science: An
868 Introductory Text. 2nd ed. P. D. Warriss, ed. CABI Publishing, USA, p. 68-71, 2010.
- 869 WHITE, S. N.; CASAS, E.; WHEELER, S. D.; SHACKELFORD, M.;
870 KOOHMARAIE, M.; RILEY D. G.; CHASE, C. C.; JOHNSON, D. D.; KEELE, J. W.
871 e SMITH, T. P. L. A new single nucleotide polymorphism in CAPN extends the current
872 tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred
873 descent. **Journal Animal Science**, v. 83, n. 9, p.2001-2008, 2005.
- 874 WILLIAMS, J.L. **Genetic Control of Meat Quality Traits**. Chapter 2. Meat
875 Biotechnology, 2008.
- 876 WU, X.L.; MACNEIL, M.D.; DE, S., XIAO, Q.J.; MICHAL, J.J., GASKINS
877 C.T.; REEVES, J.J.;BUSBOOM, J.R.; WRIGHT, R.W. JR. e JIANG, Z. Evaluation of
878 candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection. **Genetica**, v.125,
879 p. 103-113, 2005.

- 880 ZAPATA, J.F.F.; NOGUEIRA, C.M. e SEABRA, L.M.J. Características da carne de
881 pequenos ruminantes no Nordeste do Brasil. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência**
882 **e Tecnologia de Alimentos**, v. 37, p.146-153, 2003.
- 883 ZEN, S.; SANTOS, M.C. e MONTERO, C.M. **Evolução da caprino e ovinocultura.**
884 **ATIVOS** ovinos e caprinos. Ano I, ed. 1, 2014.
- 885 ZEOLA, N.M.B.L. Conceitos e parâmetros utilizados na avaliação da qualidade da 23
886 carne ovina. **Revista Nacional da Carne**, v.26, n.304, p.36-56, 2002.
- 887 ZHOU, H., HICKFORD, J.G. e GONG, H. Identification of allelic polymorphism in the
888 ovine leptin gene. **Molecular Biotechnology**, v.41, p. 22-25, 2009.
- 889 ZOT, A. S. e POTTER, J. D. Structural aspects of troponin-tropomyosin regulation of
890 skeletal muscle contraction. **Annual Review of Biophysics and Biophysical**
891 **Chemistry**, v.16, n.1, p.535-559, 1987.

CAPÍTULO 2

POLIMORFISMOS DOS GENES DA CALPAÍNA E CALPASTATINA ASSOCIADOS ÀS CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA E QUALIDADE DA CARNE EM OVINOS PANTANEIROS

(Redigido de acordo com as normas da Revista Brasileira de Zootecnia)

Polimorfismos dos genes da Calpaína e Calpastatina associados à características de carcaça e qualidade da carne em ovinos pantaneiros

Tauane Catilza Lopes Fernandes¹, Alexeia Barufatti Grisolia², Elias Carnelossi Gutierrez¹, Alexandre Fernando Miranda de Vargas Junior¹

¹ Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 79.825-070, Brasil

² Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 79.825-070, Brasil

RESUMO - Objetivou-se verificar a presença dos polimorfismos genéticos do gene da Calpastatina (CAST) e do gene da Calpaína (CAPN) e analisar associações entre as características de carcaça e qualidade da carne de ovinos. Foram utilizados 47 ovinos pantaneiros e 40 ovinos sem raça propriamente definida. Amostras de sangue foram coletadas de 87 ovelhas e o DNA genômico foi extraído utilizando solventes orgânicos. Foi realizada reações da cadeia da Polimerase (PCR) para ambos marcadores. Para o marcador CAST foi utilizada a técnica PCR-RFLP com a enzima de restrição *MspI*, e para o Marcador CAPN foi utilizada a técnica de PCR-SSCP. Os genótipos para o CAST foram: MM, MN e NN; e para o CAPN foram: AA, AB, AC, BB. Os genótipos mais frequentes para o CAST foram MM (74%) e MN (25%) e para o CAPN foram AA (51,5%) e AB (17,5%). Para o grupo de ovinos Sem Raça Definida o genótipo AA mostrou associação significativa as seguintes características: Rendimento de carcaça quente; Rendimento de carcaça fria; Luminosidade do *Longissimus dorsi*; Força de cisalhamento do *Semimembranosus* e Força de cisalhamento do *Longissimus dorsi*. O genótipo AB apresentou associação significativa para as características de: Rendimento de carcaça quente; Rendimento de carcaça fria; Luminosidade do *Longissimus dorsi*; Capacidade de Retenção de água do *Semimembranosus* e Força de cisalhamento do *Semimembranosus*. Por fim o genótipo AC apresentou associação significativa para as características de Rendimento de carcaça quente e Capacidade de Retenção de água do *Longissimus dorsi*. Para o grupo de ovinos pantaneiros de genótipo AA mostrou associação significativa para Capacidade de Retenção de água do *Longissimus dorsi*. O genótipo AB apresentou associação significativa para as características de: Cor; Pigmentos amarelos (b) do *Longissimus dorsi* e Área de olho de lombo. Para os ovinos pantaneiros o genótipo MN apresentou associações significativas para as características de: Peso de carcaça quente e peso de carcaça fria. Essas associações indicam o potencial produtivo destes animais. Sobre este aspecto há poucas informações disponíveis novos estudos serviriam para compreender a associação do gene CAST e CAPN com características da carcaça e qualidade de carne, tornando o uso desses marcadores uma ferramenta indispensável pra seleção animal e conservação dos genes apresentados.

Palavras-chave: relações fenotípicas, maciez, preservação, seleção animal.

Polymorphisms of genes of Calpain and calpastatin associated with carcass traits and meat quality in sheep Pantanal

Tauane Catilza Lopes Fernandes¹, Alexeia Barufatti Grisolia², Elias Carneossi Gutierrez¹, Fernando Miranda Vargas Junior¹

¹ Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 79825-070, Brazil

² School of Biological and Environmental Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 79825-070, Brazil

ABSTRACT - The objective was to verify the presence of genetic polymorphisms calpastatin gene (CAST) and Calpain gene (CAPN) and analyze associations between carcass characteristics and quality of sheep meat. 47 Pantanal sheep and 40 sheep race without properly set were used. Blood samples were collected from 87 sheep and genomic DNA was extracted using organic solvents. Reactions were performed by polymerase chain reaction (PCR) for both markers. For CAST marker was used to PCR-RFLP technique with the MspI restriction enzyme, and the CAPN marker was used PCR-SSCP technique. The most frequent genotypes for the MM were cast (74%) and MN (25%) and the CAPN were AA (51.5%) and AB (17.5%). For sheep group undefined breed the AA genotype was significantly associated the following characteristics: hot carcass yield; Cold carcass yield; Brightness of the *Longissimus dorsi*; *Semimembranosus* shear strength and shear strength of the *Longissimus dorsi*, AB genotype was significantly associated to the characteristics of: hot carcass yield; Cold carcass yield; Brightness of the *Longissimus dorsi*; Water retention capacity of *Semimembranosus* and *Semimembranosus* shear force. Finally the AA genotype was significantly associated to yield hot carcass characteristics and capacity of the *Longissimus dorsi* water retention. For the Pantanal sheep Group AA genotype was significantly associated to water retention capacity of the *Longissimus dorsi*. The AB genotype was significantly associated to the characteristics of: color; Yellow pigments (b) of the *Longissimus dorsi* and ribeye area. For the Pantanal sheep MN genotype was significantly associated to the characteristics of: hot carcass weight and cold carcass weight. These associations indicate the productive potential of these animals. In this respect there is little information available serve new studies to understand the association of CAST and CAPN gene with carcass characteristics and meat quality, making the use of these markers an indispensable tool for selection and conservation of animals presented genes.

Keywords: phenotypic relationships, softness, preservation, animal selection.

44 **1 Introdução**

45

46 Características quantitativas da carcaça (CHUNG et al., 2007) e ligadas a qualidade
47 de carne (CAMPBELL e DAVIES, 2012) são associadas a fatores genéticos e podem
48 ser identificadas com base no uso de marcadores moleculares. Estes influenciam na
49 determinação da qualidade comercial da carcaça e conseqüentemente na aceitação pelos
50 consumidores (GEESINK et al., 2005).

51 Entre estes, os genes da Calpaína e da Calpastatina, desempenham papel importante
52 na qualidade da carcaça (SIMEONI et al., 2015) especificamente na formação do
53 músculo, degradação e maturação da carne após *rigor mortis* (processo de
54 transformação do músculo esquelético em carne consumível) (KIM et al., 2010;
55 SORIMACHI et al., 2012).

56 Os genótipos são formados pelos alelos observados na região alvo de DNA
57 podem ser encontrados em diferentes grupos atuando na diferenciação dos sítios ativos
58 da calpastatina no qual terá efeito sobre a calpaína, vindo a inibir ou não sua ação e
59 conseqüentemente pode afetar as características *post mortem* do animal
60 (KOOHMARAIE et al., 1991).

61 É neste sentido que os ovinos pantaneiros se encaixam como base de estudo,
62 uma vez que é considerado um grupamento genético distinto (CRISPIM et al., 2013),
63 que apresenta características fenotípico-morfológicas particulares, como ausência de lã
64 no pescoço e pernas, segundo descrição realizada por VARGAS et al., 2014, que
65 salienta também que este é um grupo interessante para a produção de carne no Mato
66 Grosso do Sul.

67 Um segundo grupo relevante para estudos polimórficos refere-se a animais de
68 características fenotípico-morfológicas variáveis, que não correspondem as
69 características que os enquadram no grupo Pantaneiro (OP) ou em outras raças, estes
70 são definidos como ovinos Sem Raça Definidas (SRD).

71 Dessa forma o presente estudo tem por objetivo verificar a presença de
72 polimorfismos nos genes da Calpaína e da Calpastatina e posteriormente verificar se há
73 associação destes polimorfismos com características quantitativas da carcaça e
74 características de qualidade de carne no grupo genético OP e no grupo genético SDR.

2 Materiais e Métodos

2.1. Descrição do Grupo Amostral

Foram utilizadas 47 amostras de Ovinos Pantaneiros com origem no rebanho da Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (FAECA/UFGD) e 40 amostras de ovinos Sem Raça Definida adquiridos em fazendas no interior do estado, com numero amostral representativo e que são destinados ao abate na região. Os ovinos Sem Raça Definidas foram utilizados como grupo controle.

O sistema de manejo para ambos os grupos avaliados foi o semi-intensivo (manejo a pasto/confinamento), até atingirem a idade de abate pré- definida. Amostras foram coletadas de cordeiros machos (idade inferior a 240 dias) de condição corporal entre 2,5 a 3,5 pontos (sem rompimento das pinças permanentes) com peso entre 26 a 45 quilogramas (Kg), intervalo de peso correspondente a períodos de abate praticados para ser comercializados.

2.2. Análises *post-mortem*

Os rendimentos da carcaça foram avaliados na carcaça quente e na carcaça resfriada tais como: peso da carcaça e rendimento da carcaça. Todas essas análises foram realizadas após evisceração, retirada da pele, patas e cabeça. A carcaça esquerda foi analisada quanto à espessura de gordura na carcaça, análise de textura, análise de rendimento e avaliação do perímetro da Área de Olho de Lombo (AOL).

A análise de força de cisalhamento foi realizada no Laboratório de Análise de qualidade de carne da Faculdade de Ciências Agrárias – UFGD. Os músculos foram descongelados em geladeira a 10^oC por 24 horas, foram cortadas em amostras de 2,5 cm e levadas ao forno elétrico pré-aquecido à temperatura de 170^oC, as amostras foram mantidas no forno elétrico até atingirem a temperatura superior a 70^oC em seu centro geométrico.

Após o resfriamento das amostras foram retirados porções de 1,3 cm de diâmetro de cada músculo avaliado no sentido longitudinal das fibras, determinou a força

105 necessária para cortar transversalmente as fibras musculares conforme metodologia
106 proposta por Sãnudo et al. (1998), sendo os valores expressos em Kg.

107

108 **2.3. Análises moleculares**

109

110 Após o abate as carcaças foram resfriadas em câmara fria por 24 horas a 4°C, em
111 seguida foi retirado da meia carcaça esquerda porções de regiões de cortes do lombo e
112 do pernil para posterior análise fenotípica da carcaça. Para o estudo dos polimorfismos
113 se faz necessária à extração do DNA genômico.

114 A extração do DNA genômico foi realizada segundo metodologia proposta por
115 SAMBROOK et al. (1989), que utiliza solventes orgânicos. Para confirmação da
116 técnica de extração do DNA as amostras foram submetidas a eletroforese em gel de
117 agarose a 1,5% contendo brometo de etideo, a 120V, 150mA por 45 minutos em
118 temperatura ambiente.

119 2.3.1. Quantificação do DNA

120 A qualidade do material genômico foi avaliada utilizando Nanophotometro. A
121 quantificação de DNA se baseia na leitura de 1µL da amostra que gera informações
122 sobre a razão e concentração da mesma. A razão é analisada considerando o
123 comprimento de ondas de 260/280, e é considerada amostra de qualidade quando
124 apresenta razões entre 1,8 a 1,9 e concentração do DNA em torno de 35ng/ µL a 75ng/
125 µL são adequadas. Dessa forma foram padronizadas estas razões e concentrações para
126 as amostras DNA utilizadas.

127 2.3.2. Seleção dos *Primers*

128

129 A escolha dos *primers* partiu da premissa da importância destes marcadores para
130 qualidade da carne aliadas as informações geradas em outros trabalhos anteriores. Com
131 base nisto foram escolhidos os jogos de *primers* (gene da Calpastatina e Calpaína II).
132 Posterior o recebimento dos *primers*, foram realizados testes em laboratório para PCR
133 para confirmação de amplificação da região.

134 2.3.2.1. CAST (gene da Calpastatina)

135

136 O gene da calpastatina em ovinos foram amplificados para produzir um fragmento
 137 de 622 pb, por meio dos iniciadores sugeridos por PALMER et al. (1998) e CHUNG et
 138 al. (2001). O numero de acesso do GenBank para o gene da Calapstatina é
 139 NM_001009788.1, as sequências de *primers* usadas para gene CAST apresenta numero
 140 de acesso: NC_019462.1 (Cromossomo 5, exon 29) referência primaria Oar_v3.1

141 2.3.2.2. CAPN (gene da Calpaína)

142 Para o estudo do gene da Calpaina foi usando o método de PCR-SSCP, utilizando
 143 dois iniciadores sugeridos por CHUNG et al. (2001). O gene ovino para Calpaína II
 144 (CAPN), regula m-calpaína na posição do exon 5 e 6 amplificados pelos primers
 145 designados de acordo com a sequência de nucleotídeos de cDNA bovino com nº de
 146 acesso J05065.1 no GenBank. Os *primers* utilizados neste trabalho estão descritos na
 147 **Tabela 1.**

Tabela 1- Lista de *primers* utilizados para os marcadores CAST e CAPN. *Primers*: F = iniciador direto, R = iniciador inverso. As posições dos iniciadores são baseadas nas sequencias de RNAm.

<i>Primers</i>		5'..... 3'	Fragmento
F	CAST F	TGG GGC CCA ATG ACG CCA TCG ATG	622pb
R	CAST R	GGT GGA GCA GCA CTT CTG ATC ACC	
F	CAPN 456 F	AAC ATT CTC AAC AAA GTG GTG	~50 a 150 pb
R	CAPN 456 R	ACA TCC ATT ACA GCC ACC AT	

Fonte: Chung et al. (2001); Palmer et al. (1998) e Dehnavi et al. (2012).

148 2.3.3. PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

149 A técnica de reação da cadeia de polimerase conhecida pela sigla PCR é
 150 amplamente utilizada para amplificar fragmentos de genes de características conhecidas
 151 que podem apresentar aspectos de interesse produtivo ou econômico de uma dada
 152 população. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese (120V/150mA)
 153 por 45 minutos em temperatura ambiente em gel de agarose a 1,5% corados com
 154 brometo de etídeo.

155

156

2.3.3.1. PCR-RFLP e PCR-SSCP

157

158 Após a PCR os produtos amplificados para o gene CAST foram submetidos a
159 protocolo de digestão com enzimas de restrições descritas por Palmer et al., (1998).

160

161 A enzima *MspI* quando realiza o corte indica o alelo M e quando não realiza o
162 corte indica o alelo N. A enzima *NcoI* realiza o processo inverso, corta para o alelo N e
163 não corta para o alelo M. A enzima *NcoI* foram utilizada para confirmação da ação da
164 enzima *MspI* somente.

164

165 Para observação dos genótipos da região alvo do gene da CAPN foi realizada a
166 metodologia descrita por Dehnavi et al., (2012). Os programas para PCR utilizados
167 estão descritos na **Tabela 2**. Os fragmentos de DNA para CAST foram visualizados
168 por método gel de agarose 2% corado com brometo de etídio (PALMER et al., 1998).
169 Já os fragmentos de DNA para CAPN foram visualizados por método de coloração
170 com nitrato de prata (BENBOUZA et al., 2006).

170

171 Para observação dos genótipos da região alvo do gene da CAPN segundo a
172 metodologia descrita por Dehnavi et al., (2012). Os programas para PCR utilizados
173 estão descritos na **Tabela 2**. Os fragmentos de DNA foram visualizados por método de
174 coloração com nitrato de prata a 10% (BENBOUZA et al., 2006).

Tabela 2 – Condições para amplificação (PCR) de polimorfismos nas regiões dos genes CAST e CAPN

Locus	Desnaturação primária	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão final	Ciclos
CAST	95°C/3min	95°C/1min	59°C/1min	72°C/5min	72°C/7min	35
CAPN	95°C/3min	95°C/3min	56°C/1min	72°C/5min	72°C/7min	35

Fonte: Chung et al. (2001); Palmer et al. (1998) e Dehnavi et al. (2012).

174

2.4. Análise fenotípica

175

176

177

178

179

180

Para verificar as associações entre os marcadores em estudo foram utilizadas
característica da carcaça (Peso da carcaça quente; Peso da carcaça fria; Rendimento da
carcaça quente; Rendimento da carcaça fria; Espessura de gordura de cobertura) e
Característica de rendimento e qualidade de carne (Capacidade de retenção de água
Semimembranosus; Capacidade de retenção de água *Longissimus dorsi* ; Perda de
exsudado pós-cozimento *Semimembranosus*; Perda de exsudado pós-cozimento

181 *Longissimus dorsi*; Força de cisalhamento *Semimembranosus*; Força de cisalhamento
182 *Longissimus dorsi* ; Área de Olho de lombo; cor, luminosidade do *Longissimus dorsi* ,
183 pigmentos vermelhos (a) do *Longissimus dorsi* e pigmentos amarelos do (b)
184 *Longissimus dorsi*) para os ovinos pantaneiros e ovinos Sem Raça Definida.

185 2.5. Análises estáticas

186 Para os parâmetros populacionais examinados foram utilizadas às frequências
187 gênicas e genótípicas, heterozigiosidade observada e heterozigiosidade esperada. Os
188 cálculos foram realizados pelo programa Cervus 3.0 (MARSHALL et al., 1998). Foi
189 realizado um estudo de associação genotípica e fenotípica em função do grupo genético.
190 As análises estatísticas para comparação entre medias e variâncias (ANOVA), posterior
191 a realização da Anova foi realizado o teste de Tukey em nível de 5% de significância,
192 efetuadas com auxílio do pacote computacional R Studio 3.0.

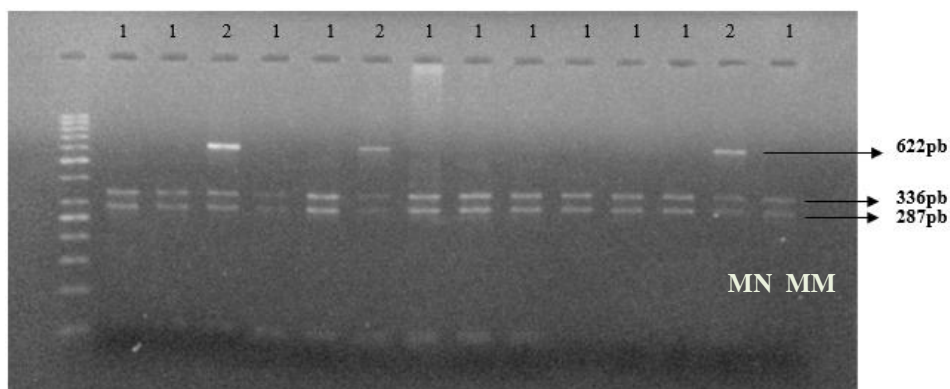
193 3 Resultados

194 3.1. Calpastatina e Calpaína

3.1.1. Calpastatina

195 As análises do gene CAST pelo método de PCR- RFLP apresentaram variáveis
196 alélicas denominadas de **M** (quando clivada pela enzima *MspI*) e **N**(quando não
197 apresentou o sitio corte da enzima *MspI*), gerando os genótipos MM, MN e NN. O
198 genótipo MM foi caracterizado pela presença de dois fragmentos de restrição nos
199 tamanhos de: 622 e 336 pares de base (pb). Indivíduos MN apresentaram fragmentos
200 com três tamanhos de 622pb, 336 e 287pb (**Figura 1**) Enquanto o genótipo NN foi
201 determinado pela presença de um único fragmento de tamanho de 622 pb.

202 O polimorfismo do gene CAST foi identificado nos ovinos pantaneiros e nos
203 ovinos Sem Raça Definida. Não foi observada diferença significativa em relação às
204 frequências dos alelos M e N. Para gene CAST foi observado frequências alélicas para
205 M de 87% para SRD e 88% OP.



206

Figura 1 – Gel de Agarose a 2% de produtos de digestão enzimática (CAST). Marcador de peso molecular de 50pb, observação dos genótipos: 1) MM (336pb e 287pb) e do genótipo 2) MN (622pb, 336pb e 287pb) a partir de produtos amplificados de 622pb do gene CAST.

207 Os ovinos Sem Raça Definida para o **genótipo MM** para o marcador CAST
 208 mostrou associação significativa para as características: Rendimento de carcaça quente
 209 ($p=0,008$); Rendimento de carcaça fria ($p=4,00 \cdot 10^{-07}$); Luminosidade do *Longissimus*
 210 *dorsi* ($p=1,21 \cdot 10^{-05}$); Espessura de gordura de cobertura ($p=0,007$); Capacidade de
 211 retenção de água do Capacidade de retenção de água *Semimembranosus* ($p=2,15 \cdot 10^{-05}$);
 212 Perda de exsudado pós-cozimento do *Longissimus dorsi* ($p=0,001$); Força de
 213 cisalhamento do *Semimembranosus* ($p=0,03$) e Força de cisalhamento do *Longissimus*
 214 *dorsi* ($p=0,03$). Para as características de Capacidade de Retenção de água do
 215 *Longissimus dorsi* ($p=4,3 \cdot 10^{-06}$) e Pigmentos vermelhos (a) ($p=0,01$) mostraram
 216 associação significativa para os ovinos pantaneiros.

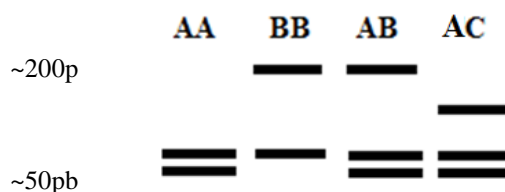
217 Os ovinos Sem Raça Definida o **genótipo MN** mostrou associação significativa
 218 para as características de: Rendimento de carcaça quente ($p=0,004$); Rendimento de
 219 carcaça fria ($p=0,002$); Perda de exsudado pós-cozimento do *Semnimembranosus*
 220 ($p=0,04$); Luminosidade do *Longissimus dorsi* ($p=1,63 \cdot 10^{-05}$) e Força de cisalhamento do
 221 *Longissimus dorsi* ($p=0,004$). Os ovinos pantaneiros para o genótipo MN apresentaram
 222 associações significativas para as características de: Peso de carcaça quente ($p=0,02$);
 223 Peso da carcaça fria ($p=0,03$); Cor ($p=0,01$); Pigmentos amarelos (b) do *Longissimus*
 224 *dorsi* ($p=2,7 \cdot 10^{-05}$); Pigmentos vermelhos (a) do *Longissimus dorsi* ($p=0,03$) e Área de
 225 olho de lombo ($p=0,03$).

226 Os valores de força de cisalhamento deram significativos para os ovinos
 227 pantaneiros assim como parâmetros que são considerados satisfatórios (menores perda
 228 de exsudado pós-cozimento do *Semnimembranosus*; Perda de exsudado pós-cozimento
 229 do *Longissimus dorsi*; Força de cisalhamento do *Semnimembranosus* e Força de

230 cisalhamento do *Longissimus dorsi*) a relação se torna ao contrario neste caso entende-
 231 se que os ovinos pantaneiros para os **genótipos MM e MN** apresentaram menores
 232 valores para estas características, indica suas carnes são mais macias, já que para
 233 ruptura das fibras musculares foi exercido menor força para romper as mesmas quando
 234 comparados ao grupo Sem Raça Definida que apresentaram valores maiores para esta
 235 ruptura (Resultados vistos nas **Tabelas: 3, 4, 5 e 6**).

3.1.2. Calpaína

236 As análises do gene CAPN mediante a PCR- SSCP apresentaram variáveis
 237 alélicas denominadas **A, B e C** foram observados. O genótipo AA foi caracterizado pela
 238 presença de dois fragmentos nos tamanhos de 100pb e 50pb. Indivíduos heterozigotos
 239 (AB e AC) apresentaram de três fragmentos de restrição nos tamanhos de 200pb, 100pb
 240 e 50pb para AB e 150, 100pb e 50pb para AC. Enquanto o genótipo BB foi
 241 caracterizado pela presença de dois fragmentos nos tamanhos de 200pb e 100pb (**Figura**
 242 **2**).



244
 245

246 **Figura 2** – Genótipos observados pela técnica de PCR-SSCP por desnaturação em gel de
 247 policrilamida a 8% para o marcador (CAPN).

248
 249

250 No presente trabalho, a frequência do alelo A foi de 72,5% para grupo genético
 251 SDR e frequência do alelo A de 57,4% para os ovinos pantaneiros referentes ao o gene
 252 CAPN. O alelo C não foi identificado nos ovinos pantaneiros, possivelmente este alelo
 253 pode estar relacionado com genes de rendimento de carne de raças comerciais, uma vez
 254 que os animais SRD tem predominância genética de ovinos: Suffolk, Bergamacia, Santa
 255 Inês e Texel.

256 Os polimorfismos do gene CAPN foram identificados em ambos os grupos
 257 estudados. Não foi observada diferença significativa entre as frequências dos alelos A,
 258 B e C distribuídos entre os grupos.

259 A frequência **alélica para A e B** para os ovinos pantaneiros e ovinos Sem Raça
 260 Definida foram similares. Este resultado indica que ovinos Sem Raça Definida apesar
 261 de apresentarem variedade genética que pode estar sendo influenciada por raças
 262 específica de corte podem apresentar herança genética do ovino pantaneiro.

263 A distribuição dos genótipos nos grupos esta relacionada á segregação observada
 264 na distribuição dos alelos. Os ovinos Sem Raça Definida apresentaram o genótipo AC,
 265 enquanto que o grupo de ovinos pantaneiros não apresentou este genótipo.

266 Os ovinos pantaneiros para o **genótipo AA** para o marcador CAPN mostrou
 267 associação significativa para as características: Rendimento de carcaça quente
 268 ($p=0,0004$); Rendimento de carcaça fria ($p=3,65^{e-05}$); Luminosidade do *Longissimus*
 269 *dorsi* ($p=3,63^{e-05}$); Força de cisalhamento do *Semnimembranosus* ($p=2,43^{e-05}$) e Força
 270 de cisalhamento do *Longissimus dorsi* ($p=0,008$). Já para os ovinos Sem Raça Definida
 271 mostrou associação significativa para a característica Capacidade de retenção de água
 272 do *Longissimus dorsi* ($P=0,0002$).

273 Os ovinos Sem Raça Definida para o **genótipo AB** mostrou associação
 274 significativa para as características de: Rendimento de carcaça quente ($p=0,0001$);
 275 Rendimento de carcaça fria ($p=0,005$); Luminosidade do *Longissimus dorsi* ($p=0,002$);
 276 Capacidade de retenção de água do *Semnimembranosus* ($p=0,025$) e Força de
 277 cisalhamento de *Semnimembranosus* ($p=0,001$). Já os ovinos pantaneiros apresentaram
 278 características significativas para as características de: Cor ($p=0,04$); Pigmentos
 279 amarelos (b) do *Longissimus dorsi* ($p=0,0001$) e Área de olho de lombo ($p=0,023$).
 280 (Resultados vistos nas **Tabelas: 3, 4, 5 e 6**).

Tabela 3 - Genótipos e a frequência alélica de ovinos Sem Raça Definida (SDR) e ovina pantaneira (OP) para os marcadores CAST e CAPN.

Locus/ Grupo	N	Genótipos %				Frequência alélica				
		MM	MN	NN		M	N		Ho	He
CAST										
SDR	40	75	25	-		0,87	0,12		0,24	0,21
OP	47	79	19	2		0,88	0,12		0,25	0,23
CAPN		AA	BB	AB	AC	A	B	C	Ho	He
SDR	40	72,5	-	15	12,5	0,86	0,07	0,06	0,24	0,21
OP	47	57,4	21,3	21,3	-	0,74	0,25	-	0,25	0,23

¹N= numero amostral; Ho- Heterozigosidade observada; He - heterozigosidade esperada

Tabela 4 - Médias ajustadas e o desvio padrão das características da carcaça para os genótipos do gene CAST e CAPN.

			Características da Carcaça					
Locus	Grupo	Genótipo	Ppa(Kg)	Pcq(Kg)	Pcf(Kg)	Rcq(Kg)	Rcf(Kg)	Egc(Kg)
CAST/ <i>MspI</i>	OP	MM	35,7±4,21 ^{NS}	17,85±3,73 ^{aB}	16,89±1,79 ^{aB}	47,0±5,94 ^b	49,11±2,70 ^b	1,7±0,69 ^b
	OP	MN	40,9±5,86 ^{NS}	20,1±1,90 ^{aA}	19,4±1,92 ^{aA}	49,6±3,11 ^a	47,8±2,98 ^a	2,7±1,76 ^a
	SRD	MM	30,6±2,39 ^{NS}	17,7±1,78 ^{aB}	17,1±1,79 ^{AB}	52,7±3,27 ^a	51,4±3,23 ^a	2,6±1,34 ^a
	SRD	MN	31,2±2,24 ^{NS}	18,3±1,22 ^{bB}	17,8±1,26 ^{bB}	53,5±1,92 ^a	51,9±1,97 ^a	2,4±0,75 ^a
CAPN456	OP	AA	36,5±5,52 ^{NS}	17,85±2,32 ^{NS}	17,3±2,24 ^{NS}	49,3±2,92 ^{bB}	47,5±2,79 ^b	2,0±1,28 ^{NS}
	OP	AB	36,7±4,98 ^{NS}	19,5±6,54 ^{NS}	16,9±1,91 ^{NS}	45,1±10,54 ^{bB}	45,8±3,47 ^b	1,5±0,76 ^{NS}
	SRD	AA	30,7±2,36 ^{NS}	17,6±1,79 ^{NS}	17,1±1,81 ^{NS}	52,4±3,33 ^{aB}	51,1±3,32 ^a	2,6±1,39 ^{NS}
	SRD	AB	30,0±2,32 ^{NS}	17,9±1,21 ^{NS}	17,4±1,07 ^{NS}	53,5±1,33 ^{AB}	51,8±1,07 ^a	2,4±0,69 ^{NS}
	SRD	AC	31,80±2,20 ^{NS}	18,70±1,24 ^{NS}	18,30±1,27 ^{NS}	54,50±1,39 ^{aA}	53,10±1,35 ^a	2,60±0,56 ^{NS}

¹ Ppa= peso pré-abate; Pcq= Peso da carcaça quente; Pcf= Peso da carcaça fria; Rcq=Rendimento da carcaça quente; Rcf= Rendimento da carcaça fria e Egc= Espessura de gordura de cobertura. ^{a,b}caráteres representam diferenças significativas na coluna (p<0,05) pelo teste de Tukey. ; ^{A,B}caráteres representam diferenças significativas entre as linhas (p<0,05) pelo teste de Tukey. ^{NS} = Não significativo.

Tabela 5 - Médias ajustadas e o desvio padrão das características da carne para os genótipos do gene CAST e CAPN.

Características da Carne									
Grupo	Grupo	Genótipo	Crasm(Kg)	Cralo(Kg)	Ppcsm(Kg)	Ppclo(Kg)	Fcsm(Kg)	Fclo(Kg)	Aol(cm ²)
CAST/ <i>MspI</i>	OP	MM	20,5±6,21 ^b	79,3±5,87 ^a	33,1±7,80 ^{NS}	34,4±9,70 ^a	3,6±1,05 ^a	3,9±1,26 ^a	14,2±1,95 ^a
	OP	MN	22,2±5,89 ^a	78,0±8,07 ^a	35,6±6,42 ^{NS}	36,6±6,61 ^a	4,0±1,16 ^b	3,5±1,02 ^a	16,1±1,79 ^a
	SRD	MM	26,6±4,25 ^a	71,8±5,31 ^b	36,7±12,10 ^{NS}	37,5±4,58 ^b	5,4±1,01 ^b	4,8±1,71 ^b	13,8±2,37 ^a
	SRD	MN	26,3±3,89 ^a	74,9±3,20 ^a	40,5±3,02 ^{NS}	38,9±9,15 ^a	5,7±1,27 ^b	4,4±1,79 ^a	12,9±2,08 ^b
CAPN	OP	AA	22,9±5,95 ^b	78,5±5,87 ^{aB}	35,2±7,45 ^{NS}	36,8±10,42 ^{NS}	3,9±1,24 ^a	3,8±1,15 ^a	14,8±2,24 ^a
	OP	AB	20,2±5,36 ^b	76,5±7,13 ^{aB}	35,6±5,33 ^{NS}	34,6±6,36 ^{NS}	3,3±0,68 ^a	3,6±1,47 ^a	15,1±1,79 ^a
	SRD	AA	25,9±4,32 ^a	72,3±5,31 ^{bB}	36,4±12,27 ^{NS}	37,3±4,55 ^{NS}	5,4±1,04 ^a	4,8±1,71 ^b	13,8±2,48 ^a
	SRD	AB	27,4±3,77 ^a	71,4±2,08 ^{aB}	40,1±3,52 ^{NS}	37,5±5,81 ^{NS}	5,5±1,28 ^b	3,6±2,01 ^a	12,7±1,38 ^b
	SRD	AC	28,2±3,13 ^{NS}	75,6±4,92 ^{aA}	41,3±2,27 ^{NS}	40,8±11,39 ^{NS}	5,8±1,19 ^{NS}	4,9±1,26 ^{NS}	13,2±2,20 ^{NS}

¹Crasm=Capacidade de retenção de água *S. membranosus* (Kg); Cralo=Capacidade de retenção de água *L. dorsi* (Kg); Ppcsm=Perda de exsudado pós-cozimento *S. membranosus*(Kg); Ppclo=Perda de exsudado pós-cozimento *L. dorsi* (Kg); Fcsm=Força de cisalhamento *S. membranosus* (Kg); Fclo=Força de cisalhamento *L. dorsi* (Kg); Aol=Área de Olho de lombo (cm²).^{a,b}carâteres representam diferenças significativas na coluna (p<0,05) pelo teste de Tukey. ; ^{A,B}carâteres representam diferenças significativas entre as linhas (p<0,05) pelo teste de Tukey. ^{NS} = Não significativo

Tabela 6 - Médias ajustadas e o desvio padrão das características qualidade de carne para os genótipos do gene CAST.

Qualidade da Carne						
Locus	Grupo	Genótipo	Cor	Lumilo	Vermlo	Amarlo
CAST/ <i>MspI</i>	OP	MM	3,5±0,51 ^a	42,0±3,99 ^b	22,4±1,67 ^b	6,9±2,20 ^a
	OP	MN	3,7±0,41 ^a	40,1±2,51 ^b	23,0±2,22 ^a	7,7±2,59 ^a
	SRD	MM	3,4±0,37 ^a	46,4±2,23 ^a	20,8±2,47 ^a	2,6±1,59 ^a
	SRD	MN	3,2±0,26 ^a	46,3±2,34 ^a	20,9±1,84 ^b	2,7±1,67 ^b
Locus	Grupo	Genótipo	Cor	Lumilo	Vermlo	Amarlo
CAPN	OP	AA	3,39±0,45 ^a	42,2±4,08 ^b	22,1±2,17 ^{aB}	6,9±2,65 ^a
	OP	AB	3,7±0,47 ^a	40,1±3,23 ^b	23,1±0,94 ^{aA}	8,1±1,36 ^a
	SRD	AA	3,4±0,36 ^a	46,3±2,20 ^a	20,7±2,50 ^{aB}	2,5±1,64 ^a
	SRD	AB	3,1±0,20 ^b	46,6±2,56 ^a	21,6±2,28 ^{bB}	2,9±1,52 ^b

¹Lumilo=Luminosidade *L. dorsi*; Vermilo= Pigmentos vermelhos *L. dorsi* (a); Amarlo=Pigmentos amarelos *L. dorsi* (b).^{a,b} caracteres diferentes representam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

4 Discussão

4.1. Calpastatina

As frequências genótípicas, para o genótipo MM foi de 75% para SRD e 79 % OP. No presente estudo, bem como na literatura (PALMER et al., 1997; PALMER et al., 1998; YILMAZ et al., 2014) a frequência de genótipos NN foi nula. É possível que o genótipo NN possa estar associado com um crescimento deficiente e, portanto, podem ter sido eliminados da população por qualquer seleção natural ou pela seleção contra este genótipo.

Em ovinos, Palmer et al., (1997), relatam pela primeira vez, a presença de dois alelos (M e N) em ovinos Dorset Down, com frequências diferentes de indivíduos heterozigotos e homozigotos. Porém Palmer et al. (1998) observaram que não houve presença do genótipo homozigoto NN em ovinos Corriedale.

Chung et al.(2001) com o método de PCR-RFLP, observou frequência do alelo A de 69% e a do alelo B foi de 31% em diferentes raças de bovinos.

Elyasi et al.,(2005) relatou que frequências alélicas de ambos os alelos (M e N) foram 0,50 para o gene CAST em ovelhas merino Ghezel X Arkharo. O genótipo MN

17 foi observado frequência de 47,62% em ovelhas merinos Arkharo e Ghezel X merino
18 Arkharo frequência de 46,67%. Também não detectaram genótipo NN.

19 Casas et al. (2006) observaram transição de guanina (G) para adenina (A) (C para
20 T) na direção 3' região não traduzida do gene CAST.

21 Bovinos com o genótipo CC (NN) ou CT (MN) apresentaram carne mais
22 resistentes do que as com o genótipo TT (MM). Outras variações no gene CAST em
23 bovinos de corte têm sido relatados como uma substituição C / G no intron 5 e C / T
24 substituição no exon 3 (SCHENKEL et al, 2006; GÁBOR et al, 2012).

25 Chung e Davis (2012) relataram que o gene da calpastatina (CAST) tem um
26 efeito sobre o peso de nascimento e ganho de peso médio diário em ovinos. Da mesma
27 forma, Khan et al. (2012) relataram que os animais que têm o genótipo NN têm menor
28 médias de peso vivo comparado com animais com os genótipos MM e MN. Há suspeita
29 de que a seleção do genótipo NN sobre o efeito desfavorável sobre o peso vivo.

30 Sunilkumar et al. (2014) as frequências alélicas de 88 % e 12 % para M e N,
31 respectivamente, em ovelhas iraniana Kurdi com as frequências genotípicas 76 e 24 %
32 para MM e MN, respectivamente.

33 De maneira similar, Yilmaz et al., (2014), verificaram a frequência alélica de M
34 e N do gene CAST em 720 animais nas raças Kivircik, Sakiz, Karacabey Merino e
35 Gokçeada, sendo relatado as seguintes frequências para cada raça respectivamente
36 M=0,85 e N=0,15, M=0,80 e N=0,20; M=0,99 e N=0,01 e M=0,34 e N=0,66, resultando
37 em frequência genotípica NN relativamente menor que os genótipos MM e MN.

38 As frequências alélicas foram de 0,92 e 0,08 para M e N, respectivamente . As
39 frequências genotípicas foram 0,84 , 0,15 e 0,01 para MM , MN e NN , respectivamente
40 (Georgieva et al., 2015).

41 E Asadi et al. (2015) observaram frequências dos alelos M de 0,63 e N de 0,36.
42 Já as frequências genotípicas de MM, MN e NN foram de 0,33 0,63 e 0,04
43 respectivamente. O polimorfismo do gene CAST relatados pelas pesquisas consultadas
44 corroboram com os dados encontrados neste trabalho.

45 **4.2. Calpaína**

46 Frequências alélicas superiores para o gene CAPN foram observadas no
47 trabalho de Page et al. (2002), 30% do alelo A em bovinos. Trabalhos com este gene
48 em ovinos ainda somam uma pequena quantidade, nos quais ainda não se sabe o certo a

49 ação desses alelos encontrados (A, B e C). Há indicações que o alelo A pode estar
50 associado a menor maciez da carne (valores maiores para força de cisalhamento).

51 Embora haja semelhanças entre as frequências alélicas encontradas no presente
52 trabalho com relatos na literatura que associam a presença do genótipo AA com a
53 maciez da carne, Chung et al. (2001), constatou diferença nos padrões de distribuição
54 deste alelo não ficando claro o papel deste na influencia da maciez da carne e ou
55 características da carcaça.

56 Dehnavi et al. (2012) pelo método de análise SSCP, observaram diferentes
57 conformações dos fragmentos quando submetidas a eletroforese em gel desnaturante de
58 policrilamida 10%. Os alelos foram denominados de A, B e C com frequências alélicas
59 de 0,83; 0,14 e 0,02 respectivamente. As frequências genótípicas para AA AB e BB
60 foram de 0,71; 0,21 e 0,04.

61 Azari et al. (2012) observaram padrões diferentes de 3 (G1, G2 e G3) com a
62 frequência genotípica de 0,082 ; 0,892 e 0,027 , respectivamente, em Dalagh de ovelhas
63 Irã e os resultados estavam de acordo com os relatórios anteriores do Tahmoorespour
64 (2005), que relataram três genótipos (AA, AB e BB) com frequência do alelo de 0,56 e
65 0,44 para A e alelos B, respectivamente em Baluchi ovelhas.

66 Arora et al. (2014) encontraram frequência do alelo de 0,603 e 0,397 para os
67 alelos A e B, respectivamente, e observada frequência do genótipo de 0,388 ; 0,429 e
68 0,183 por cento para AA, AB e genótipos BB, respectivamente. Além disso, os
69 heterozigosidades observados e esperados foram 43,5 e 56,9 %, respectivamente, em 11
70 raças de ovinos indianos. Estes resultados foram em contraste aos obtidos no presente
71 estudo.

72 Kumar et al.(2015) relataram seis alelos dos quais três genótipos nomeadamente
73 AA, AB e AC foram observados com frequências de 54,76% ,32,14% e 13,09%,
74 respectivamente, em carneiros iraniano Kurdi usando PCR-SSCP. O genótipo BB, BC e
75 CC não foram observados. As frequências para os alelos A, B e C foram 0,78; 0,16 e
76 0,06 respectivamente. Os polimorfismos do gene CAPN relatados pelas pesquisas
77 consultadas corroboram com os dados encontrados neste trabalho.

78 Muitos estudos revelaram efeito significativo para a variação no gene
79 calpastatina em peso ao nascer em Nova Zelândia ovelhas Romney (Byun et al., 2008)
80 com características de pré-desmame e ganho de peso diário em Kajil ovelhas (Khan et
81 al.,2012) e Playpay, Targhee e ovelhas mestiças (Chung e Davis, 2012) e ganho de peso
82 diário em Kurdi ovelhas (Nassiry et al., 2006) e Balkhi ovelhas (Khan et al., 2012).

4.3. Associação com Rendimento e Qualidade da carcaça e da carne

De acordo com os resultados obtidos por Ibraim et al. (2015) observaram associação principalmente para polimorfismos do gene da calpastatina com carne magra e maior porcentagem de gordura das carcaças.

O aumento da porcentagem de carne magra das carcaças pode ocorrer devido ao efeito da inibição das calpaínas pelas calpastatinas (Presença de polimorfismos), resultando na diminuição da taxa de degradação de proteínas e promove o aumento da taxa de síntese de proteínas músculos esqueléticos.

O tamanho do músculo esquelético depende do balanço entre a taxa de degradação e a taxa de síntese da proteína no músculo. O genótipo AB para o marcador da calpaina conferiu carnes mais macias observados na tabela 5, para ovinos pantaneiros e para ovinos Sem Raça Definida. Isto pode estar relacionado a presença do polimorfismo que ativa a ação das calpains musculares e inativa a ação da calpastatina.

Os ovinos Sem Raça Definida apresentaram características superiores para rendimento de carcaça, quando comparados aos ovinos pantaneiros. Este fator pode estar relacionado principalmente pelo fato deste grupo estar sofrendo cruzamentos aleatórios com raças comerciais voltadas para a produção de carne com o intuito de melhorar seus rendimentos cárneos.

Considerando esta vertente, o ambiente poderia ter efeito significativo em relação ao genótipo, uma vez que alguns animais foram obtidos de locais e condições de manejos diferenciados.

Os ovinos pantaneiros para o genótipo MN da Calpastatina apresentaram características significativas para força de cisalhamento do *Longissimus dorsi* (3,5) e do *Semimembranosus* (4,0) e maior Área de olho de lombo (16,1 cm). Nas características de rendimento da carne como Área de olho de lombo, mostraram-se semelhantes e superiores aos valores da literatura para animais selecionados para produção de carne (acima de 14 cm).

As características de qualidade da carne principalmente para o genótipo MM e MN (cor, luminosidade, capacidade de retenção de água, menores perdas de exsudado e maior proporção de pigmentos vermelhos e amarelos na carne) foram significativas para os ovinos pantaneiros. Os ovinos Sem Raça Definida apresentaram maiores intensidade de pigmentos vermelhos e amarelos para o *Longissimus dorsi* para o genótipo AB.

115 A falta de informações sobre a população de ovinos pantaneiros, não demonstra
116 que estes tenham menor potencial cárneo, pelo contrario, uma vez que apresentaram
117 maiores concentrações de pigmentação da carne (carnes mais vermelhas).

118 As porcentagens de carne magra, sua aparência e a gordura são as
119 características mais importantes considerando carne de cordeiros que fornecem retornos
120 positivos para os agricultores, considerado um produto de alta qualidade com
121 características que os consumidores preferirem.

122 O fator da intensidade de vermelho e amarelo está relacionado ao crescimento
123 muscular bem como os tipos de fibras (vermelhas, intermediarias e brancas) que
124 compõem a carne que resultam na maciez da mesma. O ovino apresenta maior
125 proporção de fibras vermelhas seguidas das fibras intermediárias, os pigmentos
126 vermelhos são provenientes as fibras vermelhas e intermediárias e o pigmento amarelo
127 esta relacionado às fibras intermediarias. A concentração de pigmentos de cor varia
128 consideravelmente entre os tecidos musculares, sendo influenciada pela espécie, sexo,
129 idade e atividade física do animal e dos diferentes grupos musculares.

130 Segundo alguns autores Ramos e Gomide (2009), Mancini e Hunt (2005)
131 afirmam que a presença de fibras intermediárias ou fibras brancas conferem maior
132 maciez da carne. A carne com predominância de fibras vermelhas possui maior
133 concentração de mioglobina que àquelas em que há a predominância de fibras brancas.

134 Essa diferença está relacionada com o metabolismo respiratório (oxidativo),
135 predominante nos músculos vermelhos, que os torna mais rígidos em função da
136 necessidade de oxigenação, se movimentam mais. E condizem com o resultado
137 significativo para maior luminosidade do músculo, maior concentração de liquido e
138 menor oxidação das fibras.

139 Paralelo a isto o armazenamento de oxigênio, realizado pela mioglobina, é
140 consistente com elevada proporção de enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo e a
141 baixa quantidade de enzimas glicolíticas encontradas nessas fibras. Dessa forma
142 dependendo do tipo de músculo com predominância de fibras brancas, a quantidade de
143 mioglobina é quase indetectável isso leva a crer que menor foram a concentração das
144 proteínas proteolíticas (maior concentração de Calpaína – ativa e menor concentração
145 de Calpastatina – ativa).

146 **5 Conclusão**

147 Sendo assim fica claro que os ovinos pantaneiros mostram-se conservados para
148 estas características, indicando que são animais distintos das demais raças e dignos de
149 serem consideradas uma nova raça, uma vez que os mesmos sem ter sido selecionados
150 para a produção de carne apresentam potencial para exploração da ovinocultura
151 destinada para corte, incrementando a atividade produtiva da região Sulmatogrossense.
152 Além de todos estes pontos levantados às características da carcaça e carne são
153 favoráveis e desejáveis pelos padrões do mercado, e tudo indica que se trabalhadas
154 produziram carcaças mais pesadas e carne mais macia dos principais cortes: lombo
155 (*Longissimus dorsi*) e pernil (*Semnimembranosus*).

156 Os dados das PCR pelo método de RFLP e de SSCP mediante as sequencia
157 estudadas forneceram evidências de que ovelhas Sem Raça Definida e ovelhas
158 pantaneiras apresentam lócus polimórfico para calpastatina e calpaína, logo evidenciam
159 o potencial produtivo de qualidade que o mercado exige. Dessa forma faz-se a sugestão
160 que estes marcadores poderiam ser utilizados como mecanismo para seleção de
161 características correlacionadas com esta região dos genes da Calpastatina e da Calpaina
162 reduzindo a variação genotípica neste grupo de ovinos promovendo maior utilização
163 deste pelos produtores locais.

164 **6 Agradecimentos**

165 Á equipe do Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Produção Animal pelo auxílio
166 técnico e pelo o apoio financeiro concedido pela Fundação de Apoio ao
167 Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul .

168 **7 Referências Bibliográficas**

- 169 ARORA, R. R.; YADAV, H. S.; YADAV, D. K. Identification of novel single
170 nucleotide polymorphisms in candidate genes for mutton quality in Indian sheep.
171 **Animal Molecular Breeding**, v.4, n.1, p.1-5, 2014.
- 172 ASADI, N.; NANEKARANI, SH.; KHEDERZADEH, S. Genotypic frequency of
173 calpastatin gene in Lori sheep by polymerase chain reaction-restriction fragment
174 length polymorphism (PCR-RFLP) method. **African Journal of Biotechnology**, v.13,
175 n.19, p. 1952-1954, 2014.

- 176 AZARI, M. A.; DEHNAVI, E.; YOUSEFI, S.; SHAHMOHAMDI, L. Polymorphism of
177 Calpastatin, Calpain and Myostatin genes in native Dalagh sheep in Iran. **Slovak**
178 **Journal of Animal Science**, v. 45, n.1, p. 1-6, 2012.
- 179 BENBOUZA, H.; JACQUEMIN, J.M.; BAUDOIN, J.P.; MERGEAI, G. Optimization
180 of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers
181 in polyacrylamide gels. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**,
182 v.10, p.77-81, 2006.
- 183 BYUN, S. O.; ZHOU, H.; FORREST, R. H. J.; FRAMPTON, C. M.; HICKFORD, J. G.
184 H. Association of the ovine calpastatin gene with birth weight and growth rate to
185 weaning. **Animal Genetics**, v.39, p. 572–573, 2008.
- 186 CAMPBELL, R. L.; DAVIES, P.L. Structure–function relationships in calpains.
187 **Biochemical Journal**, v.447, p. 335-351, 2012.
- 188 CASAS, E. et al. Effects of calpastatin and u-calpain markers in beef cattle on
189 tenderness traits. **Journal of Animal Science**, v.84, p. 520-525, 2006.
- 190 CHUNG, H.; DAVIS, M. Effects of genetic variants for the calpastatin gene on
191 calpastatin activity and meat tenderness in Hanwoo (Korean cattle). **Meat Science**, v.
192 90, p. 711–714, 2012.
- 193 CHUNG, H.; CHOI, B.; JANG, G.; LEE, K.; KIM, H.; YOON, S.; HINES, H. Effect of
194 variants in the ovine skeletal-muscle-specific calpain gene on body weight. **Journal**
195 **of Applied Genetics**. v.48, n.1, p.63-68, 2007.
- 196 CHUNG, H.Y.; DAVIS, M. S.; HINES, H.C. Relationship of genetic variants in the
197 ovine calpain regulatory gene with growth. **American Society Animal Science**,
198 Supplement 2. v.79, p. 32-110, 2001.
- 199 CRISPIM, B.A.; GRISOLIA, A.B.; SENO, L.O.; EGITO, A.A.; VARGAS JUNIOR,
200 F.M.; SOUZA, M.R. Genetic diversity of locally adapted sheep from Pantanal region
201 of Mato Grosso do Sul. **Genetics and Molecular Research**. v.12, p.5458–5466,
202 2013.
- 203 DEHNAVI, E.; AZARI, M.A.; HASANI, S.; NASSIRY, M.R. et al. Genetic variability
204 of calpastatin and calpain genes in Iranian Zel Sheep using PCR-RFLP and PCR-
205 SSCP methods. **Iranian Journal of Biotechnology**, v.10, n. 2, 2012.
- 206 ELYASI, G.; SHODJA, J.; NASSIRY, M.R. Determination of ovine Calpastatin gene
207 polymorphism using PCRRFLP. Proc of 4th National Biotechnol Cong I.R.
208 **Anais...Iran**, p. 110, 2005.
- 209 GÁBOR, M.; TRAKOVICKÁ, A.; MILUCHOVÁ, M. The Analysis of the *MspI*
210 Polymorphism within Exon 3 of the Calpastatin Gene in Slovak Simmental Cattle.
211 **Animal Science and Biotechnologies**, v.45, n.1, 2012.
- 212 GEESINK, G. H., R. G. TAYLOR, e M. KOOHMARAIE. Calpain 3/p94 is not
213 involved in postmortem proteolysis. **Journal Animal Science**, v.83, p. 1646-1652,
214 2005.

- 215 GEORGIEVA, S.; HRISTOVA, D.; DIMITROVA , D.; STANCHEVA, N.;
216 BOZHILOVA-SAKOVA, M. Molecular analysis of ovine calpastatin (CAST) and
217 myostatin (MSTN) genes in Synthetic Population Bulgarian Milk sheep using
218 PCR-RFLP. **Biology Science Biotechnology**, v.4, n.1, p. 95-99, 2015.
- 219 IBRAHIM, A. H. M.; ISMAIL, I. M. ; SHEHATA1 , M. F.; EL-BELTAGY, A. R..
220 Calpastatin Polymorphism in Barki Lambs and their Effects on Growth and Carcass
221 Traits. **Journal of American Science**, v.11, n.3, 2015.
- 222 KHAN, S.U.H.; RIAZ, M.N.; GHAFAR, A.; KHAN, M.F.U. Calpastatin (CAST)
223 gene polymorphism and its association with average daily weight gain in Balkhi and
224 Kajli sheep and Beetal goat breeds. **Pakistan Journal Medical Science**, v. 44,
225 p.377-382, 2012.
- 226 KIM, Y. H.; LONERGAN, S.M.; HUFF-LONERGAN, E. Protein denaturing
227 conditions in beef deep semimembranosus muscle results in limited μ /m-calpain
228 activation and protein degradation. **Meat Science**, v.86, p. 883-887, 2010.
- 229 KOOHMARAIE, M., SHACKELFORD, S. D.; MUGGLICOCKETT, N. E. e STONE,
230 R. T.. Effect of the beta-adrenergic agonist L644,969 on muscle growth, endogenous
231 proteinase activities, and postmortem proteolysis in wether lambs. **Journal Animal
232 Science**, v. 69, p. 4823-4835, 1991.
- 233 KUMAR, S.N.; JAYASHANKAR, M.R.; RAMAKRISHNAPPA, N. ; NAGARAJA,
234 C.S.; FAIROZE, N.; SATYANARAYANA, K. Genetic Polymorphism of Ovine
235 Calpain Gene in Bandur Sheep. **International Journal of Science, Environment
236 and Technology**, v. 4,n.3,p. 804 – 812, 2015.
- 237 MANCINI, R.A. and HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, v.71,
238 p.100–121, 2005.
- 239 MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUK, L.E.B. et al. Statistical confidence for
240 likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v.7,
241 p.639-655, 1998.
- 242 NASSIRY, M. R.; MOJTABA, T.; ALI, J.; MAHDI, S.; SAHEB, F. F. Calpastatin
243 polymorphism and its association with daily gain in Kurdi sheep. **Iranian Journal of
244 Biotechnology**, v.4, p.188-192, 2006.
- 245 PAGE, B.T.; CASAS,E.; HEATON, M.P; CULLEN, N.G.; HYNDMAN, D.L.;
246 MORRIS, C.A. et al. Evaluation of single-nucleotide polymorphism in CAPN1 for
247 association with meat tenderness in cattle. **Journal of Animal Science**, v.80, p.3077
248 3085, 2002.
- 249 PALMER, B.R., HICKFORD, J.G.H.; BICKERSTAFFE, R. A candidate gene approach
250 to animal quality traits. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal
251 Production**, v.57, p.294-296,1997.
- 252 PALMER,B.R.;ROBERTS,N.HICKFORD,J.G.;BICKERSTAFFE,R.Rapid
253 communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene.
254 **Journal Animal Science**, v.76, p. 1499-1500, 1998.

- 255 RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes:**
256 **fundamentos e metodologias.** 1ª ed, 1ª reimpressão, 599 p. Editora UFV, Viçosa
257 MG, 2009.
- 258 SAMBROOCK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory**
259 **manual.** New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 540f.
- 260 SAÑUDO, C., SANCHES, A. AFONSO, M. Small ruminants production systems and
261 factors affect lamb meat quality. **Meat Science**, v. 49, n. 1, p.S29 - S64, 1998.
- 262 SCHENKEL, F. S.; MILLER, S.P.; JIANG, Z.; MANDELL, I.B.; YE, X.; LI,
263 H.; WILTON, J.W. Association of a single nucleotide polymorphism in the
264 calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **Journal Animal**
265 **Science.** v.84, p. 291-299, 2006.
- 266 SIMEONI, C. P.; FRUETI, A.P.B.; J.K.; TEIXEIRA, C.; RITT, L.A. Post - slaughter
267 factors that contribute to meat tenderness. **Revista Eletronica em Gestão, Educação**
268 **e Tecnologia Ambiental – REGET**, v. 18. Ed. Especial, p. 18-24, 2014.
- 269 SORIMACHI, H., H. MAMITSUKA, e Y. ONO. **Understanding the substrate**
270 **specificity of conventional calpains.** n. 393, 2012, p.853.
- 271 SUNILKUMAR, M.A.; NAGARAJA, C.S.; JAYASHANKAR, M.R.; FAIROZE, N;
272 VEEREGOWDA, B. M. Molecular studies on meat quality gene in Bandur sheep.
273 **Journal of Cell and Tissue Research**, v.14, n.1, p.4049-4053, 2014.
- 274 THAMOORESPOUR, M., NASSIRY, M.R. e JAVADMANESH, A. Calpastatin gene
275 polymorphism in Baluchi and Kurdi sheep by sheep by SSCP. **Agriculture**
276 **Biotechnology Conference.** Iran: 51. 2005.
- 277 VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F.; PINTO, G.S.; FERREIRA, M.B. et al. The
278 effect of sex and genotype on growth performance, feed efficiency, and carcass traits
279 of local sheep group Pantaneiro and Texel or Santa Inês crossbred finished on
280 feedlot. **Tropical Animal Health and Production**, v.46, p.869–875, 2014.
- 281 YILMAZ, O.; SEZEMLER, T.; ATA, N.; YAMAN, Y. et al. Polymorphism of the ovine
282 calpastatin gene in some Turkish sheep breeds. **Turkish Journal of Veterinary and**
283 **Animal Sciences**, v.38:, p.354-357, 2014.

284 **8 Considerações Finais**

285 A utilização de métodos de pesquisa sobre os fatores que influenciam o
286 rendimento da carcaça de ovinos que apresentam alta variabilidade genética se torna
287 cada vez mais necessários a fim de disseminar a produção destes ovinos nas regiões nas
288 quais são adaptados e conseqüentemente conservar o potencial genético dos mesmos.
289 Assim o uso de marcadores moleculares como os SNPs são essenciais para permitir que
290 se possa verificar possíveis associações entre genótipos de interesses econômicos
291 ligados a parâmetros de qualidade da carne e carcaça de ovinos, tais como os genes da
292 calpaína e calpastatina.

293 Com o crescimento da ovinocultura no Estado do Mato Grosso do Sul, faz-se
294 necessário uma caracterização genética de rebanhos de ovinos pantaneiros e os ovinos
295 Sem Raça Definida que se encontram nesta região, para que não haja a perda na
296 variabilidade do material genético, incluindo características importantes para a
297 sobrevivência destes grupos. A caracterização das frequências gênicas e genotípicas dos
298 ovinos relacionados com características fenotípicas podem apresentar ferramentas
299 adicionais para a seleção dos animais em função da produção. Assim, vários trabalhos
300 propuseram a correlação entre polimorfismos da calpaína com fenótipos indicando
301 variações no rendimento do músculo. Nenhuma indicação foi dada que a variação
302 genética do gene CAST e do gene CAPN poderia influenciar diretamente a qualidade do
303 músculo/carne. Para que estes marcadores sejam utilizados como ferramenta de seleção
304 para qualidade de carne foram necessário investigar os aspectos bioquímicos dos
305 polimorfismos no gene CAST e do gene CAPN e correlacionar com as variantes dos
306 alelos específicos com parâmetros da produção de carne de qualidade para ovinos
307 pantaneiros e mestiços da região Sul- Mato-Grossense.