



**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 CARÇAÇA E  
CARNE DE OVINOS**

**TAUANE CATILZA LOPES FERNANDES**

Zootecnista

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior  
**CO-ORIENTADORES:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. 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>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**

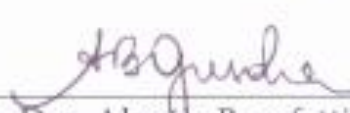
Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título  
de MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovada em: 23/10/2015



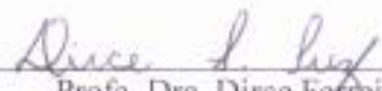
---

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 ate 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: Profº. Fernando e Profª. 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

	<b>Pág.</b>
Lista de Abreviatura.....	viii
Lista de Tabela.....	ix
Lista de Figuras.....	x
1. Considerações Iniciais.....	01
<b>CAPÍTULO 1- Revisão de Literatura.....</b>	<b>03</b>
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
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>34</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>35</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>36</b>
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.
<b>Tabela 1.</b> Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras.....	09
CAPITULO 2	
<b>Tabela 1.</b> 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
<b>Tabela 2.</b> Sitio de restrição da enzima <i>MspI</i> .....	41
<b>Tabela 3.</b> Genótipos e a frequência alélica de ovinos Sem Raça Definida (SDR) e ovina pantaneira (OP) para os marcadores CAST e CAPN.....	45
<b>Tabela 4.</b> Médias ajustadas e o desvio padrão das características da carcaça para os genótipos do gene CAST.....	46
<b>Tabela 5.</b> Médias ajustadas e o desvio padrão das características da carne para os genótipos do gene CAST.....	47
<b>Tabela 6 .</b> Médias ajustadas e o desvio padrão das características qualidade de carne para os genótipos do gene CAST.....	48

## Lista de Figuras

<b>CAPITULO 1</b>	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras.....	08
<b>Figura 2.</b> Diagrama esquemático da fibra muscular.....	10
<b>Figura 3.</b> Demonstração da ligação das proteínas miosina e actina (relaxamento e contração).....	11
<b>Figura 4.</b> Atividade da Calpaína e da Calpastatina no músculo .....	13
<b>Figura 5.</b> Avaliação de escore- método `` <i>in vivo</i> `` .....	19
 <b>CAPITULO 2''</b>	
<b>Figura 1.</b> Gel de Agarose a 2% de produtos de digestão enzimática (CAST).....	43
<b>Figura 2.</b> 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 (Koochmaraie, 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 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) 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

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

**CAPÍTULO 1**  
**Revisão Bibliográfica**

## **1. Tecnologias para Produção Animal**

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

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

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

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

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

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

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



## 2. Potencial da Ovinocultura de corte

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

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

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

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

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

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

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

## 2.1. Raças de ovinos típicas do Brasil

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

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

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

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

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

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

## 2.2. Ovinos Pantaneiros

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

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

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

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

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



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

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

### **2.2.1. Características produtivas**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<b>Características</b>	<b>Valor</b>
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

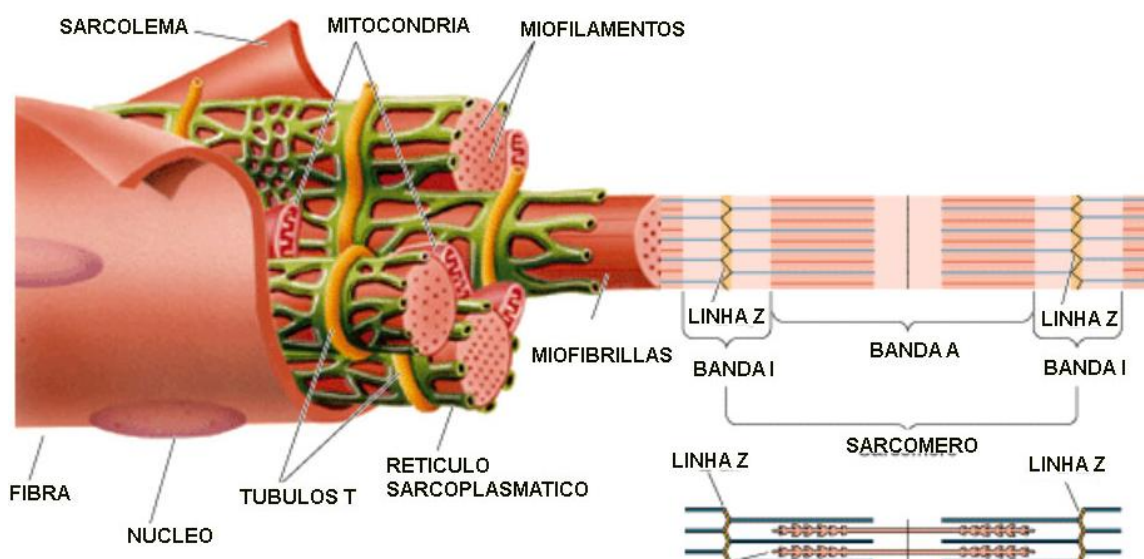
Fonte: Vargas Junior, 2011.

### 2.3. Qualidade da carne: Fatores estruturais e Fisiológicos

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

#### 2.3.1. Organização e estrutura da fibra muscular

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



**Figura 2.** Diagrama esquemático da fibra muscular.

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

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

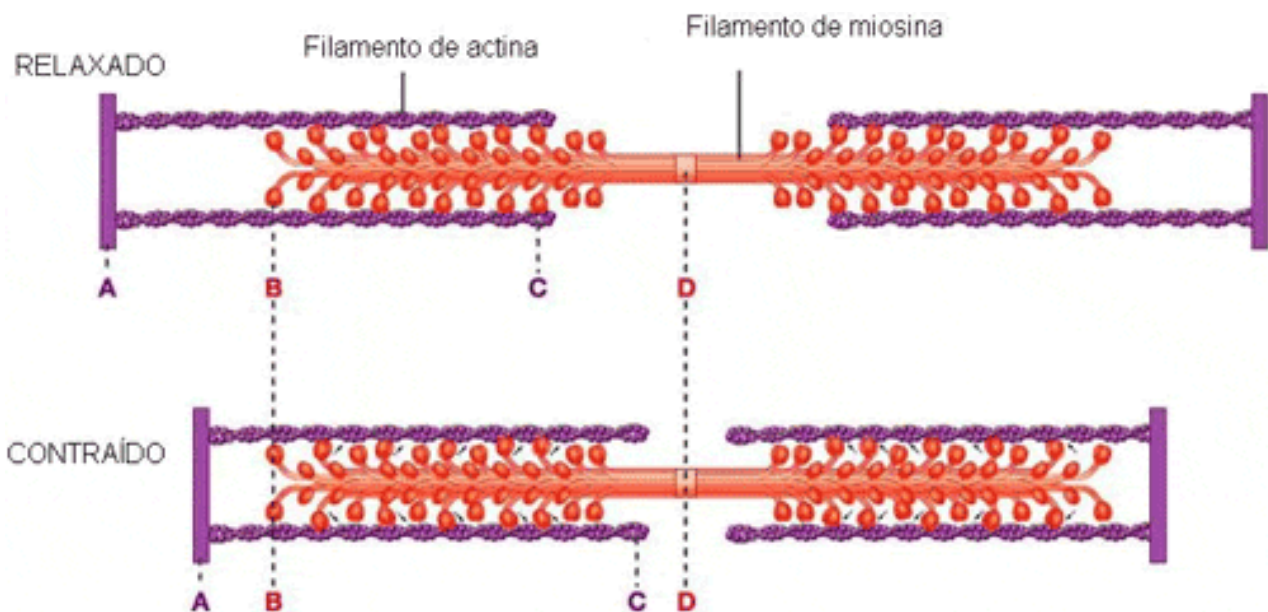
As fibras musculares são compostas de milhares de fibras menores, miofibrilas, que ocupam cerca de 80% do volume das células musculares que por sua vez são constituídos por miofilamentos (Warriss, 2010).

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

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

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

Essas ligações entre a actina e miosina (**Figura 3**) sofrem ação de proteínas como as Calpaínas, Calpastatins, caspases e outras que atuam no processo de proteólise 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).

### 2.3.2. Atuação da Calpaína e Calpastatina no músculo

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

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

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

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

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

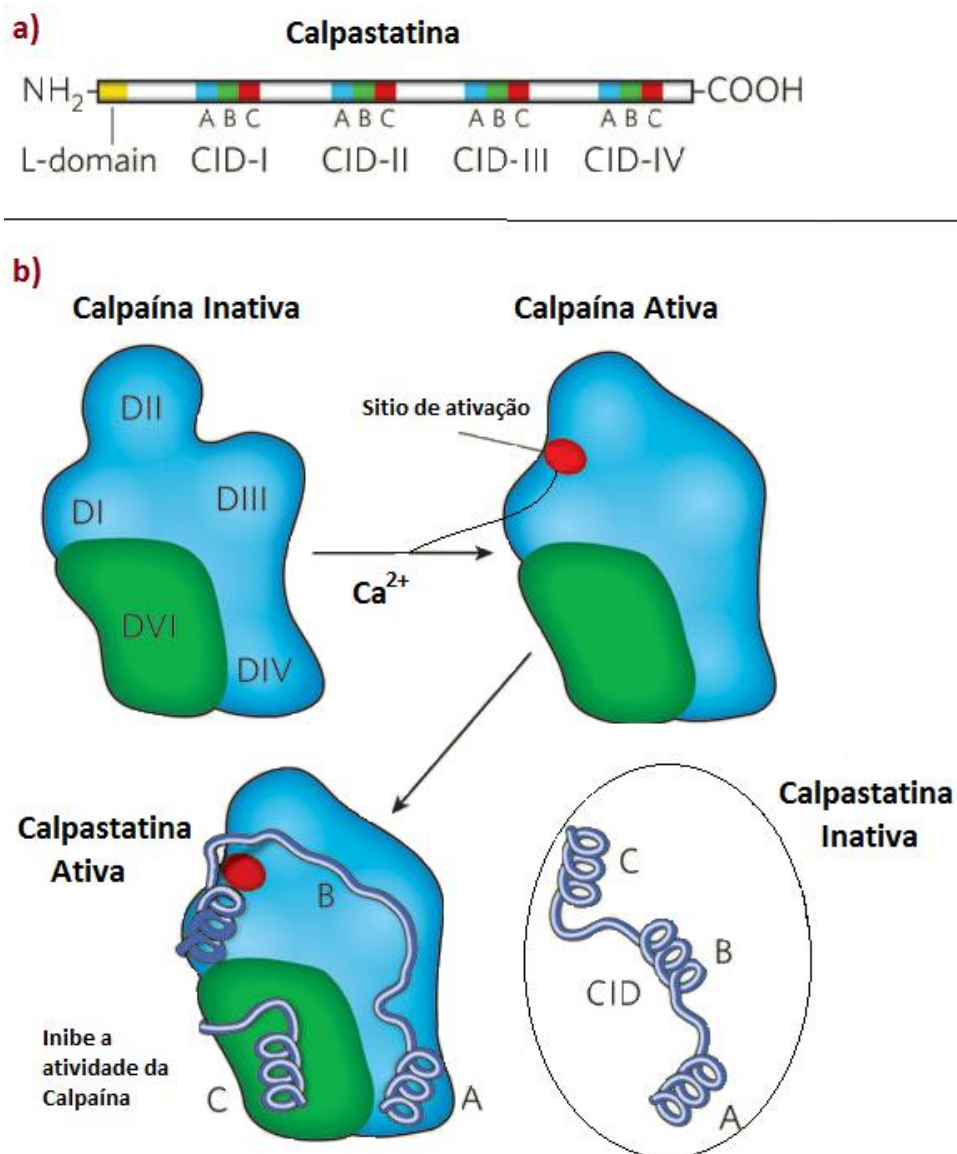
Embora enzimas proteolíticas endógenas desempenhem funções na maciez da carne, ainda é considerada inferior ao sistema calpaína, especificamente  $\mu$ - calpaína e calpastatina (inibidor específico da calpaína) (Lage et al., 2009). Este sistema proteolítico é dependente de cálcio e responsável pela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

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



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

Quando há no meio muscular menor quantidade da proteína Calpastatina a Calpaína não sofre inibição e desta forma realiza a proteólise (**Figura 4**) da estrutura das miofibrilas que compõem o músculo resultando em amaciamento do músculo após 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).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### **2.4. Marcadores Moleculares**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

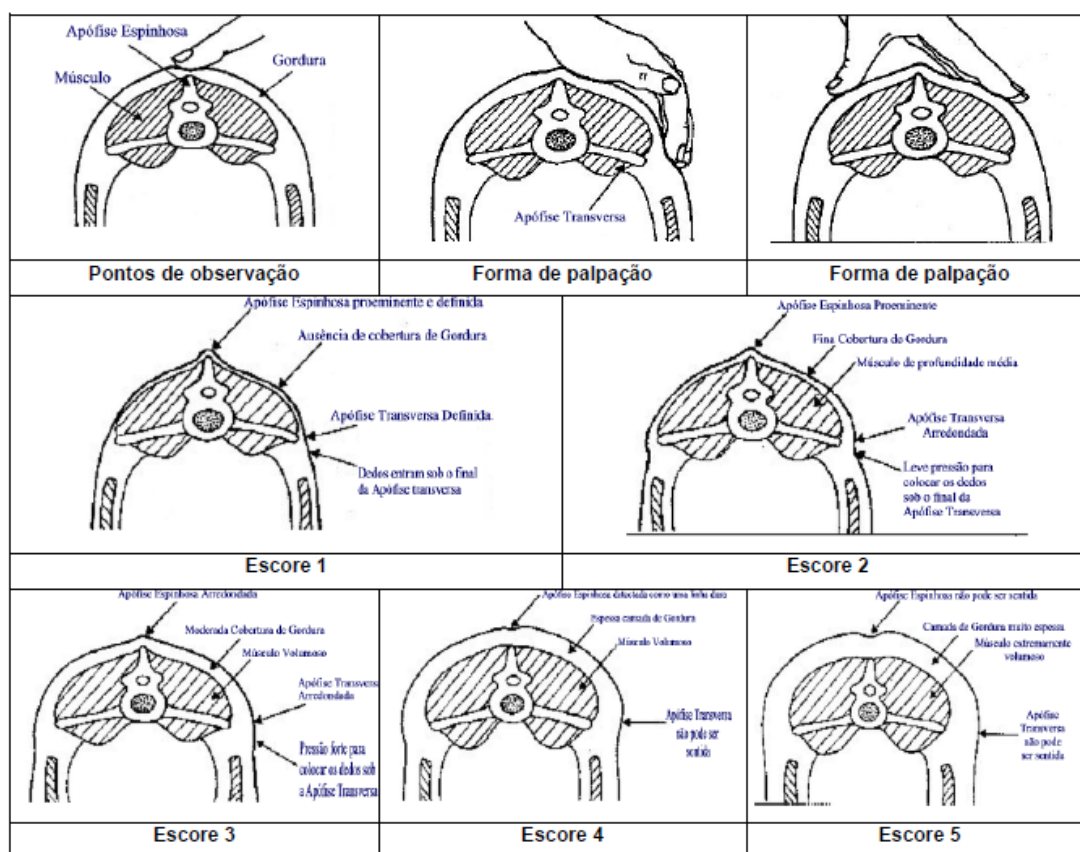
Os métodos de avaliação *in vivo* usam o peso pré-abate como o padrão, embora possa dificultar as medidas precisas, devido à influência do enchimento do trato

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



### 2.4.2.3. Maciez (força de cisalhamento)

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

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

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

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

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

### 2.4.2.4. Capacidade de retenção de água

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

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

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

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

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

#### **2.4.2.5. Luminosidade e Cor**

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

Os pigmentos que originam a cor pode ser determinados pela quantidade de mioglobina e pelas proporções relativas desse pigmento, que pode ser encontrado na forma mioglobina reduzida (Mb, cor púrpura), oximioglobina (MbO<sub>2</sub>, cor vermelha) e metamioglobina (MetMb, cor marrom). Entre esses três tipos de pigmentos formam-se um equilíbrio mais ou menos estável (Lawrie, 2005).

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

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

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

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

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

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

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

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

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo Geral**

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

#### **3.2. Objetivos Específicos**

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

#### 4. Referências Bibliográficas

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

BRASH, L.D., FORGARTY, N.M., GILMOUR, A.R. et al. Genetic parameters for live weight and ultrasonic fat depth in Australian meat and dual-purpose sheep breeds. **Aust. J. Agric. Res.**, v.43, p.831-841, 1992.

BRAUNER, R. A.; **Potencialidades da lâ de ovinos nativos pantaneiro**. Universidade Anhanguera-Uniderp. Dissertação de Mestrado. Campo Grande – MS, 2010.

BRESSAN, M.C. ROSSATO, L.V.; RODRIGUES, E.C.; ALVES, S.P.; BESSA, R.J.B.; RAMOS, E.M.. et al. Genotype x environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on either pasture or grain. **Journal of Animal Science**, v.89, pp. 221–232, 2011.

CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7 p.64-71, 2009.

CAÑEQUE, V.; SAÑUDO, C. **Estandarización de lâs metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes**. 2005.

CAÑEQUE, V.; SAÑUDO, C. **Metodología para el estudio de La calidad de la canal y de la carne en rumiantes**. Madri: INIA, 2000. 255p.

CHOI, Y.M. e KIM, B.C. Review article: Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. **Livestock Science**, v.122, p.105–118, 2009.

CHRISTENSEN, M.; HENCKEL, P.; PURSLOW, P.P. Effect of muscle type on the rate of post-mortem proteolysis in pigs. **Meat Science**, v.66, n.3, p:595-601, 2004.

DA LUZ, J. **Ovelha pantaneira, a quase nova raça que pode revolucionar a ovinocultura**. 2009. Disponível em: <<http://www.acrissul.com.br/upload/jornal/1261145486.pdf>> Acesso: Julho, 2015.

DÁBES, A.C. Flavor da carne e de produtos cárneos – uma visão geral. **Revista Nacional da Carne**, v.28,n.322,2003, p.35.

DELBARRE-LADRAT, C.; VERREZ-BAGNEIS V.;NOEL, J.; FLEURENCE, J. Proteolytic potencial in White muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) during post mortem storage on ice: time-dependent changes in the activity of the components of the calpain system. **Food Chemistry**, v.64, n.3, p.441-446, 2004.

DÍAZ, M.T.; VELASCO, S.C.; PÉREZ, S. et al. Physico-chemical characteristics of carcass and meat Manchego-breed suckling lambs slaughtered at different weights. **Meat Science**, v.65, p.1247-1255, 2003.

EDWARD, J.W., CANNELL, R.C., GARRET, R.P. et al. Using ultrasound, linear measurements and live fat tickness estimates to determine the carcass composition of market lambs. **Journal Animal Science.**, v.67, p.3322-3330, 1989.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Demanda por carne ovina cresce 25%, mas oferta é baixa**. 2010. Disponível em: <[http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/03320012431.20\\_01\\_2010.pdf](http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/03320012431.20_01_2010.pdf)> Acesso: Julho, 2015.

EUCLIDES FILHO, K. Efeito do tamanho e peso metabólico do animal sobre a eficiência reprodutiva e requerimento nutricional. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003. João Pessoa-PB. **Anais...** SANTOS, E.S.; SOUZA, W.H. (Eds.). João Pessoa-PB: EMEPA, 2003. p.381-400.

FACÓ, O.; VILLELA, L. C. V. Conceitos fundamentais do melhoramento genético animal. IN: Campos ACN. (Org.). Do campus para o campo: tecnologias para a produção de ovinos e caprinos, **Anais...**Fortaleza: [s.n.], 2005.

FAHMY, M.H., BOUCHER, J.M., POSTE, L.M. et al. Feed efficiency, carcass characteristics and sensory quality of lambs with or without prolific ancestry fed diets with different protein supplements. **Journal Animal Science**, v.70, p.1365- 1374, 1992.

FALEIRO, F.G. **Marcadores genéticomoleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF. 2007, p. 102.

FERREIRA, M.E. e GRATTAPAGLIA, D. **Introdução Ao Uso De Marcadores Moleculares Em Análise Genética**. Brasília: Embrapa, 1998.

FONSECA, B. **Ovelha rústica é adaptada ao clima do Cerrado Raça pantaneira com alta fertilidade possibilita a criação em pequenas propriedades com baixo custo e produção de carne magra**. 2010. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=23219&secao=Paquetes%20Tecnol%F3gicos&c2=Ovinos>> Acesso: Julho, 2015.

FORREST, J.C.; ABERLE, E.D.; HEDRICK, H.B.; JUDGE, M.D. e MERKEL, R.A. **Fundamentos de ciencia de la carne**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1979. 364p.

FRAYSSE, B., J.-F. DESAPHY, J.-F. ROLLAND, S. PIERNO, A. LIANTONIO, V. GIANNUZZI, C. CAMERINO, M. P. DIDONNA, D. COCCHI, A. DE LUCA, e D. CONTE CAMERINO. Fiber type-related changes in rat skeletal muscle calcium homeostasis during aging and restoration by growth hormone. **Neurobiology Disease**, v.21, p: 372-380, 2006.

GARCIA, I.F.F.; PEREZ, J.R.O.; LIMA, A.L. e QUINTÃO, F.A. Estudo dos cortes da carcaça de cordeiros Santa Inês puros e cruza Santa Inês com Texel, Ile de France e Bergamácia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p:453-462, 2004.

GEESINK, G.H. e KOOHMARAIE, M. Effect of Calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by  $\mu$ -calpain under post mortem conditions. **Journal of Animal Science**, v.77, p. 26855-2692, 1999.

GEORGES, M.; LEQUARRÉ, A.S.; HANSET, R. e VASSART, G. Genetic variation of the bovine thyroglobulin gene studied at the DNA level. **Animal Genetics**, v.18, n.1, p.41-50, 1987. 40

GOMES, W.S.; ARAÚJO, A.R.; CAETANO, A.R.; MARTINS, C.F.; VARGAS JUNIOR, F.M.; MCMANUS, C. e PAIVA, S.R. Origem e Diversidade Genética da Ovelha Crioula do Pantanal, Brasil. In: **SIMPOSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE**. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. p.322, 2007.

HASHEMI, A.; MARDANI, K.; FARHADIAN, M.; ASHRAFI I.; RANJBARI M. Allelic polymorphism of Makoei sheep leptin gene identified by polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism. **African Journal of Biotechnology**, v.10, 2011, 3p.

HEATON, M.P.; KEEN, J.E.; CLAWSON, M.L. et al. Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v.226, n.8, p.1311-1314, 2005.

HIRWA, C.A.; WALLACE, P.; SHEN, X.; NIE, Q.; YANG, G.; ZHANG, X.. Genes Related to Economically Important Traits in Beef Cattle. **Asian Journal of Animal Sciences**, v.5, n.1, p.34-35, 2011.

HUGO, M. **Ovino nativo do Pantanal é mais produtivo e cruza bem**. 2011. Disponível em: <<http://flip.siteseguro.ws/pub/correiodoestado/index.jsp?ipg=8768>> Acesso: Julho, 2015.

HUXLEY, H. E. The double array of filaments in cross-striated muscle. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v.3, n.5, p. 631-648, 1957.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Censo de consumo de carne ovina. Site: [www.ibge.org.br](http://www.ibge.org.br), 2010.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Censo de consumo de carne ovina.. Site: [www.ibge.org.br](http://www.ibge.org.br), 2011.

JACINTO, M.A.C.; VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F. et al. Influence of genotype on the quality of sheep leather. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1830-1836, 2011.

KEMP, C. M.; KING, D.A.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L. e KOOHMARAIE, M. The caspase proteolytic system in callipyge and normal lambs in *longissimus*, *semimembranosus*, and *infraspinatus* muscles during postmortem storage. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 2943-2951, 2009.

KIJAS, J.W.; LENSTRA, J. A.; HAYES, B.; BOITARD, S.; PORTO NETO, L.R. et al. Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. **PLoS Biology**, v.10, n.2, p. e1001258. 2012.

KIJAS, J.W.; TOWNLEY, D.; DALRYMPLE, B.P.; HEATON, M.P.; MADDOX, J.P.; MCGRATH, A.; WILSON, P.; INGERSOLL, R.G.; MCCULLOCH, R., MCWILLIAM, S. et al. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. **PLoS ONE**, v.4, p. e4668, 2009.

KOOHMARAIE, M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. **Meat Science**, v. 43, p.193–201, 1996.

KOOHMARAIE, M. SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; LONGERRAN, T.L. e DOUMIT, M.E. A muscle hypertrophy condition in lambs (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, v.73, p. 3596-3607, 1995.



KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, v. 74, p.34-43, 2006.

KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; MUGGLICOCKETT, N.E e STONE, R.T. Effect of the beta-adrenergic agonist L644,969 on muscle growth, endogenous proteinase activities, and postmortem proteolysis in wether lambs. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 4823-4835, 1991.

LAGE, J. F.; OLIVEIRA, I.M.; PAULINO, P.V.R. e RIBEIRO, F. Papel do sistema calpaína calpastatina sobre a proteólise muscular e sua relação com a maciez da carne em bovinos de corte. REDVET. **Revista electrónica de Veterinária**, v.10, n.12, 2009.

LANDE,R. e THOMPSON, R. 1990 Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, v.124, p.743-756, 1990.

LARA, M. A. C.; GUTMANIS, G.; SOARES, W. V. B.; ROCHA, L. A.; CUNHA, E. A.; CAVALCANTE-NETO, A.; SILVA, R. C. B.;RIBEIRO, M. N. e HERLING, V. R.Characterização genética de raças nativas e comerciais de ovinos com base em SNPs do gene Leptina. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal**, p.215 -219, 2012.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Trad. Jane Maria Rubensam. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p.

LÔBO, R. N. B.; LÔBO, A. M. B. O. **Evolução do melhoramento de Caprinos e Ovinos no Brasil**, 2007.

MANCINI, R.A. e HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, v.71, p.100–121, 2005.

MARCHITELLI, C.; CRISÀ, M. L.; CHECA, M.E; MIRANDA, S.; DUNNER, V.; ARMARGER, D. et al. Polymorphisms in genes affecting meat quality in European beef breeds. **Italia Journal Animal Science.**, v.4, n.2, p. 34-36, 2005.

MARIANTE, A.D.S.; ALBUQUERQUE, M.; DO EGITO, A.A. et al., Advances in the Brazilian Animal Genetic Resources Conservation Programme. **Animal Genetic Resources Information** 25 (1999): 107-22.

MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M. e RAMOS, A.F. Criopreservação de recursos genéticos animais brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 19, Recife. **Anais...** Belo Horizonte: Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.35, n.2, p.64-68, 2011.

MARSH, B. B. e LEET, N. G. Meat tenderness. **Journal Food Science**, v.31, p. 450-459, 1966.

MARTINS, R. R. C.; OLIVEIRA, N. M.; OSÓRIO, J. C. S. e OSÓRIO, M. T. M. Efeito da interação genótipo x sistema nutricional sobre a composição regional e tecidual. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 110-119, 2008.

MELLGREN, R.L. Structural biology: Enzyme knocked for a loop. **Nature**. 2008;456:337 338.

MELLONI, E., M. AVERNA, R. STIFANESE, R. DE TULLIO, E. DEFRANCHI, F. SALAMINO, S. e PONTREMOLI. Association of calpastatin with inactive calpain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, p. 24945-24954, 2006.

MENDONÇA G.; OSÓRIO J.C.; OLIVEIRA N.M.; OSÓRIO M.T.; ESTEVES R. e WIENGARD M.M. Morfologia, características e componentes do peso vivo em borregos Corriedale e Ideal. **Ciência Rural**, v.33, p.351-355, 2003.

MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E. e HAYES, B. J. Prediction of total genetic value using genomewide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, p. 1819-1829, 2001.

MOHAMMADI, M.; NASIRI, M.T.B.; ALAMI-SAEID, K.H.; FAYAZI, J. et al. Polymorphism of calpastatin gene in Arabic sheep using PCR- RFLP. **African Journal of Biotechnology** .v. 7, n. 15, p. 2682-2684, 2008.

MORAES, D. **Bioma Pantanal**. 2011. Disponível em: <<http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=963&sid=2>> Acesso: Agosto, 2015.

NEGRINI, R. ; NICOLOSO, L. ; CREPALDI, P. ; MILANESI, E. ; MARINO, R. ; PERINI, D. ; PARISET, L. ; DUNNER, S. ; LEVEZIEL, H. ; WILLIAMS, J.L. e AJMONE- MARSAN, P. Traceability of four European Protected Geographic Indication (PGI) beef products using Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) and Bayesian statistics. **Meat Science**, v. 80, n. 4, p. 1212-1217, 2008.

NORMAN, G. A. Effect of breed and nutrition on the productive traits of beef cattle in southeast Brazil: part 3-Meat Quality. **Meat Science**, v.6, p.79-96, 1982.

OLIVEIRA, L. B.; SOARES, G. J. D. e ANTUNES, P.L. Influência da maturação da carne bovina na solubilidade do colágeno e perdas por cozimento. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.4. n. 3. p. 166-171., 1998.

OSÓRIO, J.C.S; OSÓRIO, M.T.M. e SAÑUDO, C. Características sensoriais da carne ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.292-300, 2009. (Suplemento Especial).

OTTENHEIJM, C. A. e GRANZIER, H. Lifting the nebula: novel insights into skeletal muscle contractility. **Physiology (Bethesda)**, v.25, p.304–310, 2010.

PAIVA, S.R. e MCMANUS, C. **Utilização de marcadores moleculares na caracterização genética de ovinos**. 9 th Biennial Symposium of the Brazilian Society of Animal Breeding, p. 20-22, 2012.

PALMER, B. R.; ROBERTS, N.; HICKFORD, J.G. e BICKERSTAFFE, R. Rapid communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. **Journal Animal Science**, v.76, p. 1499-1500, 1998.

PARDI, M.C; SANTOS, I.F. SOUZA, E.R. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: Centro Editorial e 42 Gráfico Universidade de Goiás, v.1, 1993. 586p.

PINTO, G.S.; MAGRIN, M.N.; SETTI, J. et al. Infestação por parasitos gastrintestinais em ovinos submetidos à pastejo contínuo na gramínea aruana. In: CONGRESSO DE NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, **Anais...v.5.**, 2008a.

PORTER, V. **Goats of the World**. Farming Press, 1996

QUADROS, D.G. **Caprinas Para Produção De Carne**. Barreiras: Universidade do Estado da Bahia. , 2005.

RAMOS, E. M. e GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. 1ª ed, 1ª reimpressão, 599 p. Editora UFV, Viçosa MG, 2009.

RAYNAUD, P.; GILLARD, M.; PARR, T.; BARDSLEY, R.; AMARGER, V. e LEVÉZIEL, H. Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein isoforms. **Archives of biochemistry and biophysics**, New York, v.440, p-46 – 53, 2005.

REGITANO L.C.A. e VENERONI G.B. Marcadores Moleculares E Suas Aplicações No Melhoramento Animal. In: Simpósio De Biologia Molecular Aplicada À Produção Animal. São Carlos – Sp, 2009.

SÁ, J.L. e OTTO DE SÁ, C. **Produção de leite ovino**: revisão. 2001. Disponível em: <[http://www.crisa.vet.br/publi\\_2001/leite.htm](http://www.crisa.vet.br/publi_2001/leite.htm)>. Acesso em: julho 2015.

SANTOS, C.L. e PÉREZ, J.R.O. 2000. Cortes comercias de cordeiros Santa Inês. In: I ENCONTRO MINEIRO DE OVINOCULTURA, Lavras, MG, **Anais...** Lavras, p.149-168.

SAÑUDO, C.; AFONSO, M.; SÁNCHEZ, A.; DELFA, R.; TEIXEIRA, A. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in EU carcass classification system. **Meat Science**, v.56, p.89-94, 2000.

SAÑUDO, C.; NUTE, G.R.; CAMPO, M.M. et al. Assessment of comercial lamb meat quality by british and spanish taste panels. **Meat Science**, v.48, n.1/2, p.91-100, 27 1998.

SAÑUDO, C.; OSÓRIO, M.T.M. **Curso de analises sensorial**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2004. 150p.

SAÑUDO, C.; SIERRA, I.; LOPEZ, M. et al. **La qualité de La viande ovine**. Etude des differents facteurs qui la conditionnent. Commission des C.E. Rapport EUR 11479. p.67-81. 1986.

SAVELL, J. W.; MUELLER, S. L. e BAIRD, B. E. (2005). The chilling of carcasses.**Meat Science**, 70, 449-459.

SCHENKEL, F. S.; MILLER,S.P.; JIANG,Z.; MANDELL,I.B.;YE,X.; LI, H.;WILTON, J.W. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **Journal Animal Science**. v.84, p. 291-299, 2006.

SCZESNY-MORAES, E.A.; I BIANCHIN, I. ; SILVA, K.F.; CATTO, J.B.; HONER, M.R. e PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30 , n.3,p. 229-236, 2010.

SILVA, D.B.S.; SENO, L.O.; GRISOLIA, A.B. et al. Estrutura genética dos ovinos naturalizados do Pantanal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá. **Anais...** Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 2010.

STANFORD, K.; CLARK, I. e JONES, S.D.M. Use of ultrasound in prediction of carcass characteristics in lambs. **Canadian Journal Animal Science**, v.75, p.185-189, 1995.

STANFORD, K.; JONES, S.D.M. e PRICE, M.A. Methods of predicting lamb carcass composition: A review. **Small Ruminant Research**, v.29, p.241- 254, 1998.

THOMPSON, J. e MEYER, H. **Body condition scoring sheep**. Oregon: Oregon State University, 4p, 1994.

TOBACMAN, L.S.; NIHLI, M.; BUTTERS, C.; HELLER, M.; HATCH, V.; CRAIG, R.; LEHMAN, W.; HOMSHER, E. The troponin tail domain promotes a conformational state of the thin filament that suppresses myosin activity. **Journal of Biological Chemistry**, n.277, p: 27636-27642. 2002.

VARGAS JUNIOR, F.M.; LONGO, M.L.; SENO, L.O. et al. Potencial produtivo de um grupamento genético de ovinos nativos Sulmatogrossenses. **PUBVET**, Londrina, v.5, n.30, Ed. 177, Art. 1197, 2011 a.

VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS,C.F. ;PINTO,G.S.;FERREIRA,M.B. et al. The effect of sex and genotype on growth performance, feed efficiency, and carcass traits of local sheep group Pantaneiro and Texel or Santa Inês crossbred finished on feedlot. **Trop Anim Health Prod**, v.46, p.869–875, 2014.

VIANA, J.G.A. Panorama geral da Ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, ano 4, nº12, 2008. 9p.

WARRISS, P. D. **Meat Science: An introductory text**. In Meat Science: An Introductory Text. 2nd ed. P. D. Warriss, ed. CABI Publishing, USA, p. 68-71, 2010.

WHITE, S. N.; CASAS, E.; WHEELER, S. D.; SHACKELFORD, M.; KOOHMARAIE, M.; RILEY, D. G.; CHASE, C. C.; JOHNSON, D. D.; KEELE, J. W. e SMITH, T. P. L. A new single nucleotide polymorphism in CAPN extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. **Journal Animal Science**, v. 83, n. 9, p.2001-2008, 2005.

WILLIAMS, J.L. **Genetic Control of Meat Quality Traits**. Chapter 2. Meat Biotechnology, 2008.

WU, X.L.; MACNEIL, M.D.; DE, S., XIAO, Q.J.; MICHAL, J.J.; GASKINS C.T.; REEVES, J.J.;BUSBOOM, J.R.; WRIGHT, R.W. JR. e JIANG, Z. Evaluation of candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection. **Genetica**, v.125, p. 103-113, 2005.

ZAPATA, J.F.F.; NOGUEIRA, C.M. e SEABRA, L.M.J. Características da carne de pequenos ruminantes no Nordeste do Brasil. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 37, p.146-153, 2003.

ZEN, S.; SANTOS, M.C. e MONTERO, C.M. **Evolução da caprino e ovinocultura**. ATIVOS ovinos e caprinos. Ano I, ed. 1, 2014.

ZEOLA, N.M.B.L. Conceitos e parâmetros utilizados na avaliação da qualidade da 23 carne ovina. **Revista Nacional da Carne**, v.26, n.304, p.36-56, 2002.

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

ZOT, A. S. e POTTER, J. D. Structural aspects of troponin-tropomyosin regulation of skeletal muscle contraction. **Annual Review of Biophysics and Biophysical 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 Fernandes<sup>1</sup>, Alexeia Barufatti Grisolia<sup>2</sup>, Elias Carnelossi Gutierrez<sup>1</sup>, Alexandre Fernando Miranda de Vargas Junior<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> 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 Fernandes<sup>1</sup>, Alexeia Barufatti Grisolia<sup>2</sup>, Elias Carneossi Gutierrez<sup>1</sup>, Fernando Miranda Vargas Junior<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> 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.



## 1 Introdução

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

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

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

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

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

Dessa forma o presente estudo tem por objetivo verificar a presença de polimorfismos nos genes da Calpaína e da Calpastatina e posteriormente verificar se há associação destes polimorfismos com características quantitativas da carcaça e 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<sup>o</sup>C por 24 horas, foram cortadas em amostras de 2,5 cm e levadas ao forno elétrico pré-aquecido à temperatura de 170<sup>o</sup>C, as amostras foram mantidas no forno elétrico até atingirem a temperatura superior a 70<sup>o</sup>C 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

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

### 2.3. Análises moleculares

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

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

#### 2.3.1. Quantificação do DNA

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

#### 2.3.2. Seleção dos *Primers*

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

### 2.3.2.1. CAST (gene da Calpastatina)

O gene da calpastatina em ovinos foram amplificados para produzir um fragmento de 622 pb, por meio dos iniciadores sugeridos por PALMER et al. (1998) e CHUNG et al. (2001). O numero de acesso do GenBank para o gene da Calapstatina é NM\_001009788.1, as sequências de *primers* usadas para gene CAST apresenta numero de acesso: NC\_019462.1 (Cromossomo 5, exon 29) referência primaria Oar\_v3.1

### 2.3.2.2. CAPN (gene da Calpaína)

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

### 2.3.3. PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

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

### 2.3.3.1. PCR-RFLP e PCR-SSCP

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

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

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

Para observação dos genótipos da região alvo do gene da CAPN segundo a metodologia descrita por Dehnavi et al., (2012). Os programas para PCR utilizados estão descritos na **Tabela 2**. Os fragmentos de DNA foram visualizados por método de 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).

## 2.4. Análise fenotípica

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

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

## 2.5. Análises estáticas

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

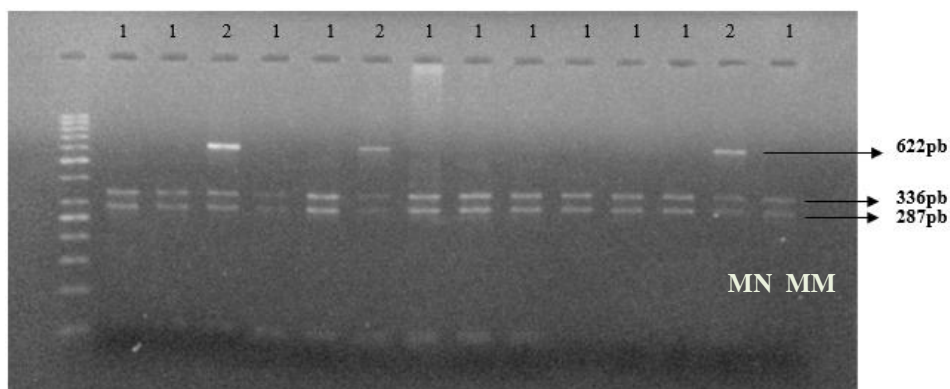
## 3 Resultados

### 3.1. Calpastatina e Calpaína

#### 3.1.1. Calpastatina

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

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



**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.

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

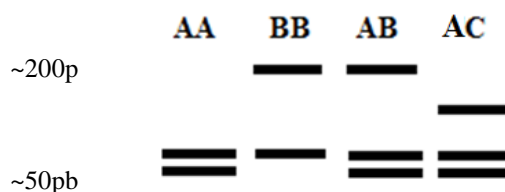
Os ovinos Sem Raça Definida o **genótipo MN** mostrou associação significativa para as características de: Rendimento de carcaça quente ( $p=0,004$ ); Rendimento de carcaça fria ( $p=0,002$ ); Perda de exsudado pós-cozimento do *Semimembranosus* ( $p=0,04$ ); Luminosidade do *Longissimus dorsi* ( $p=1,63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

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

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

### 3.1.2. *Calpaína*

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



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

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

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



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

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

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

Os ovinos Sem Raça Definida para o **genótipo AB** mostrou associação significativa para as características de: Rendimento de carcaça quente ( $p=0,0001$ ); Rendimento de carcaça fria ( $p=0,005$ ); Luminosidade do *Longissimus dorsi* ( $p=0,002$ ); Capacidade de retenção de água do *Semnimembranosus* ( $p=0,025$ ) e Força de cisalhamento de *Semnimembranosus* ( $p=0,001$ ). Já os ovinos pantaneiros apresentaram características significativas para as características de: Cor ( $p=0,04$ ); Pigmentos amarelos (b) do *Longissimus dorsi* ( $p=0,0001$ ) e Área de olho de lombo ( $p=0,023$ ). (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	
<b>CAST</b>										
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		
<b>CAPN</b>										
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

<sup>1</sup>N= 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 <sup>NS</sup>	17,85±3,73 <sup>aB</sup>	16,89±1,79 <sup>aB</sup>	47,0±5,94 <sup>b</sup>	49,11±2,70 <sup>b</sup>	1,7±0,69 <sup>b</sup>
	OP	MN	40,9±5,86 <sup>NS</sup>	20,1±1,90 <sup>aA</sup>	19,4±1,92 <sup>aA</sup>	49,6±3,11 <sup>a</sup>	47,8±2,98 <sup>a</sup>	2,7±1,76 <sup>a</sup>
	SRD	MM	30,6±2,39 <sup>NS</sup>	17,7±1,78 <sup>aB</sup>	17,1±1,79 <sup>AB</sup>	52,7±3,27 <sup>a</sup>	51,4±3,23 <sup>a</sup>	2,6±1,34 <sup>a</sup>
	SRD	MN	31,2±2,24 <sup>NS</sup>	18,3±1,22 <sup>bB</sup>	17,8±1,26 <sup>bB</sup>	53,5±1,92 <sup>a</sup>	51,9±1,97 <sup>a</sup>	2,4±0,75 <sup>a</sup>
CAPN456	OP	AA	36,5±5,52 <sup>NS</sup>	17,85±2,32 <sup>NS</sup>	17,3±2,24 <sup>NS</sup>	49,3±2,92 <sup>bB</sup>	47,5±2,79 <sup>b</sup>	2,0±1,28 <sup>NS</sup>
	OP	AB	36,7±4,98 <sup>NS</sup>	19,5±6,54 <sup>NS</sup>	16,9±1,91 <sup>NS</sup>	45,1±10,54 <sup>bB</sup>	45,8±3,47 <sup>b</sup>	1,5±0,76 <sup>NS</sup>
	SRD	AA	30,7±2,36 <sup>NS</sup>	17,6±1,79 <sup>NS</sup>	17,1±1,81 <sup>NS</sup>	52,4±3,33 <sup>aB</sup>	51,1±3,32 <sup>a</sup>	2,6±1,39 <sup>NS</sup>
	SRD	AB	30,0±2,32 <sup>NS</sup>	17,9±1,21 <sup>NS</sup>	17,4±1,07 <sup>NS</sup>	53,5±1,33 <sup>AB</sup>	51,8±1,07 <sup>a</sup>	2,4±0,69 <sup>NS</sup>
	SRD	AC	31,80±2,20 <sup>NS</sup>	18,70±1,24 <sup>NS</sup>	18,30±1,27 <sup>NS</sup>	54,50±1,39 <sup>aA</sup>	53,10±1,35 <sup>a</sup>	2,60±0,56 <sup>NS</sup>

<sup>1</sup> 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. <sup>a,b</sup>caráteres representam diferenças significativas na coluna ( p<0,05) pelo teste de Tukey. ; <sup>A,B</sup>caráteres representam diferenças significativas entre as linhas ( p<0,05) pelo teste de Tukey. <sup>NS</sup> = 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 <sup>2</sup> )
CAST/ <i>MspI</i>	OP	MM	20,5±6,21 <sup>b</sup>	79,3±5,87 <sup>a</sup>	33,1±7,80 <sup>NS</sup>	34,4±9,70 <sup>a</sup>	3,6±1,05 <sup>a</sup>	3,9±1,26 <sup>a</sup>	14,2±1,95 <sup>a</sup>
	OP	MN	22,2±5,89 <sup>a</sup>	78,0±8,07 <sup>a</sup>	35,6±6,42 <sup>NS</sup>	36,6±6,61 <sup>a</sup>	4,0±1,16 <sup>b</sup>	3,5±1,02 <sup>a</sup>	16,1±1,79 <sup>a</sup>
	SRD	MM	26,6±4,25 <sup>a</sup>	71,8±5,31 <sup>b</sup>	36,7±12,10 <sup>NS</sup>	37,5±4,58 <sup>b</sup>	5,4±1,01 <sup>b</sup>	4,8±1,71 <sup>b</sup>	13,8±2,37 <sup>a</sup>
	SRD	MN	26,3±3,89 <sup>a</sup>	74,9±3,20 <sup>a</sup>	40,5±3,02 <sup>NS</sup>	38,9±9,15 <sup>a</sup>	5,7±1,27 <sup>b</sup>	4,4±1,79 <sup>a</sup>	12,9±2,08 <sup>b</sup>
CAPN	OP	AA	22,9±5,95 <sup>b</sup>	78,5±5,87 <sup>aB</sup>	35,2±7,45 <sup>NS</sup>	36,8±10,42 <sup>NS</sup>	3,9±1,24 <sup>a</sup>	3,8±1,15 <sup>a</sup>	14,8±2,24 <sup>a</sup>
	OP	AB	20,2±5,36 <sup>b</sup>	76,5±7,13 <sup>aB</sup>	35,6±5,33 <sup>NS</sup>	34,6±6,36 <sup>NS</sup>	3,3±0,68 <sup>a</sup>	3,6±1,47 <sup>a</sup>	15,1±1,79 <sup>a</sup>
	SRD	AA	25,9±4,32 <sup>a</sup>	72,3±5,31 <sup>bB</sup>	36,4±12,27 <sup>NS</sup>	37,3±4,55 <sup>NS</sup>	5,4±1,04 <sup>a</sup>	4,8±1,71 <sup>b</sup>	13,8±2,48 <sup>a</sup>
	SRD	AB	27,4±3,77 <sup>a</sup>	71,4±2,08 <sup>aB</sup>	40,1±3,52 <sup>NS</sup>	37,5±5,81 <sup>NS</sup>	5,5±1,28 <sup>b</sup>	3,6±2,01 <sup>a</sup>	12,7±1,38 <sup>b</sup>
	SRD	AC	28,2±3,13 <sup>NS</sup>	75,6±4,92 <sup>aA</sup>	41,3±2,27 <sup>NS</sup>	40,8±11,39 <sup>NS</sup>	5,8±1,19 <sup>NS</sup>	4,9±1,26 <sup>NS</sup>	13,2±2,20 <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>Crasm=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 (cm<sup>2</sup>).<sup>a,b</sup>carâteres representam diferenças significativas na coluna ( p<0,05) pelo teste de Tukey. ; <sup>A,B</sup>carâteres representam diferenças significativas entre as linhas ( p<0,05) pelo teste de Tukey. <sup>NS</sup> = 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 <sup>a</sup>	42,0±3,99 <sup>b</sup>	22,4±1,67 <sup>b</sup>	6,9±2,20 <sup>a</sup>
	OP	MN	3,7±0,41 <sup>a</sup>	40,1±2,51 <sup>b</sup>	23,0±2,22 <sup>a</sup>	7,7±2,59 <sup>a</sup>
	SRD	MM	3,4±0,37 <sup>a</sup>	46,4±2,23 <sup>a</sup>	20,8±2,47 <sup>a</sup>	2,6±1,59 <sup>a</sup>
	SRD	MN	3,2±0,26 <sup>a</sup>	46,3±2,34 <sup>a</sup>	20,9±1,84 <sup>b</sup>	2,7±1,67 <sup>b</sup>
Locus	Grupo	Genótipo	Cor	Lumilo	Vermlo	Amarlo
CAPN	OP	AA	3,39±0,45 <sup>a</sup>	42,2±4,08 <sup>b</sup>	22,1±2,17 <sup>aB</sup>	6,9±2,65 <sup>a</sup>
	OP	AB	3,7±0,47 <sup>a</sup>	40,1±3,23 <sup>b</sup>	23,1±0,94 <sup>aA</sup>	8,1±1,36 <sup>a</sup>
	SRD	AA	3,4±0,36 <sup>a</sup>	46,3±2,20 <sup>a</sup>	20,7±2,50 <sup>aB</sup>	2,5±1,64 <sup>a</sup>
	SRD	AB	3,1±0,20 <sup>b</sup>	46,6±2,56 <sup>a</sup>	21,6±2,28 <sup>bB</sup>	2,9±1,52 <sup>b</sup>

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

## 4 Discussão

### 4.1. Calpastatina

As frequências genotípicas, 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

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

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

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

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

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

De maneira similar, Yilmaz et al., (2014), verificaram a frequência alélica de M e N do gene CAST em 720 animais nas raças Kivircik, Sakiz, Karacabey Merino e Gokçeada, sendo relatado as seguintes frequências para cada raça respectivamente 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 em frequência genotípica NN relativamente menor que os genótipos MM e MN.

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

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

#### **4.2. Calpaína**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



## 5 Conclusão

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

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

## 6 Agradecimentos

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

## 7 Referências Bibliográficas

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

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

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

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

## 8 Considerações Finais

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

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