



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE MyoD1 E ASSOCIAÇÃO  
COM CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E CARÇAÇA EM OVINOS  
SANTA INÊS**

**GERALDO MAGALHÃES MELO FILHO**

**SALVADOR - BAHIA  
JULHO - 2014**

**GERALDO MAGALHÃES MELO FILHO**

**IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE MyoD1 E  
ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E  
CARÇA EM OVINOS SANTA INÊS**

Dissertação apresentada à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Melhoramento Animal

Orientador: Prof. Dr. Luís Fernando Batista Pinto

**SALVADOR - BA  
JULHO - 2014**

Sistema de Bibliotecas da UFBA

Melo Filho, Geraldo Magalhães.

Identificação de polimorfismos no gene MyoDI e associação com características de desempenho e carcaça em ovinos Santa Inês / Geraldo Magalhães Melo Filho. - 2014. 63 f.

Inclui anexo.

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Batista Pinto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2014.

1. Ovelha - Melhoramento genético. 2. Marcadores genéticos. 3. Polimorfismo (Genética).  
I. Pinto, Luis Fernando Batista. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.3  
CDU - 636.3

**IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE MyoD1 E ASSOCIAÇÃO  
COM CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E CARCAÇA EM OVINOS  
SANTA INÊS**

**GERALDO MAGALHÃES MELO FILHO**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Organizadora em 24 de julho de 2014.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Luís Fernando Batista Pinto  
Universidade Federal da Bahia  
(Presidente)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Thereza Cristina Bório dos Santos Calmon de Bittencourt  
Universidade Federal da Bahia

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Adriana de Farias Jucá  
Universidade Federal da Bahia

"Seja humilde, pois, até o sol com toda sua  
grandeza se põe e deixa a lua brilhar".

Bob Marley

Este trabalho é dedicado à família, a  
minha companheira Lorena Assunção  
de Souza pelo amor e paciência nos  
momentos turbulentos e aos amigos.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Bahia, a Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao curso de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade de trabalho e pesquisa;

Ao Prof. Dr. Luís Fernando Batista Pinto, pela orientação.

À Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz” e toda equipe do Laboratório de Biotecnologia Animal.

À Embrapa Tabuleiros Costeiros/SE.

À CAPES pela concessão da Bolsa de Mestrado.

Aos professores da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFBA.

Aos companheiros de pós-graduação, principalmente aos amigos Adriana de Farias Jucá, Ariana Nascimento Meira, Patrícia Dutra, Caio Victor, Juliana Faveri e Dayanne Sanders, pela equipe, incentivo, convivência e união.

Aos amigos de graduação em Zootecnia da UFBA Jandrei Santana, Miguel Gazar, Mayro Rafaga, Victor Guimarães, Tatiana Cortez, Taiana Cortez, Priscila Maia, Lucas Fialho Bulcão, Calil de Sá Lopes, Matheus Del Rey, Larissa Kiana, pelo apoio na execução do experimento.

A minha família, Geraldo Magalhães Melo, Sonja Ney Moreira da Silva Melo, Saulo da Silva Melo, Tércio da Silva Melo, Anne da Silva Melo, tios, avós, primos, cunhados (as), sogro (a) e meu grande amor Lorena Assunção de Souza, pelo apoio e tolerância durante este período.

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Identificação de polimorfismos no gene MyoD1 e associação com características de desempenho e carcaça em ovinos Santa Inês</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 1 sobre EGS240	38
<b>Figura 2.</b> Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Peso aos 60 dias de idade	43
<b>Figura 3.</b> Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Peso aos 90 dias de idade	43
<b>Figura 4.</b> Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Peso à Desmama	44
<b>Figura 5.</b> Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre Ganho de Peso do Nascimento ao Desmame (GPND)	44
<b>Figura 6.</b> Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 8 sobre Marmoreio ao Desmame	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Identificação de polimorfismos no gene MyoD1 e associação com características de desempenho e carcaça em ovinos Santa Inês</b>		<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b>	<i>Primers forward (F) e reverse (R)</i> utilizados no gene MyoD1	28
<b>Tabela 2.</b>	SNPs identificados no gene MyoD1, suas localizações no cromossomo e respectivas trocas de bases e aminoácidos alterados	34
<b>Tabela 3.</b>	Frequências genótípicas e alélicas dos SNPs encontrados	35
<b>Tabela 4.</b>	Marcador 1 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês	38
<b>Tabela 5.</b>	Marcador 2 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês	40
<b>Tabela 6.</b>	Marcador 5 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês	40
<b>Tabela 7.</b>	Marcador 7 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês	42
<b>Tabela 8.</b>	Marcador 8 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês	46



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A - adenina

ARCO - Associação brasileira de criadores de ovinos

BLAST - *Basic Local Alignment Search Tool*

C - citosina

CV - coeficiente de variação

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EMEPA-PB - Empresa estadual de pesquisa agropecuária da Paraíba

G - guanina

GENECOC - Programa de melhoramento genético de caprinos e ovinos de corte

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MAS - Seleção Assistida por Marcadores

MRF - Fatores de Regulatórios da Miogênese

MRF4 - Fatores de Regulação Miogênica 4

MyF3 - gene Fator Miogênico 3

MyF4 - gene Fator Miogênico 4

MyF5 - gene Fator Miogênico 5

MyF6 - gene Fator Miogênico 6

MyoD - gene da Diferenciação Miogênica

MyoD1 - gene da Diferenciação Miogênica 1

NCBI - National Center for Biotechnology Information

pb - pares de bases

PROMOVI - Programa de melhoramento genético de ovinos

QTL - *Quantitative trait loci*

$R^2$  - coeficiente de determinação

SANTAGEM - Programa de melhoramento genético de ovinos Santa Inês

SIFT - *Sorting Intolerant From Tolerant*

SNPs - *Single Nucleotide Polimorphism*

T - timina

TVC - Teste de Velocidade de Crescimento

VEP - *Variant Effect Predictor*

## SUMÁRIO

<b>Identificação de polimorfismos no gene MyoD1 e associação com características de desempenho e carcaça em ovinos Santa Inês</b>	<b>Página</b>
Resumo	12
Abstract	13
1 Introdução	14
2 Revisão de literatura	16
2.1 Panorama da ovinocultura de corte no Brasil	16
2.2 A Raça Santa Inês	17
2.3 Características de desempenho	18
2.4 A ultrassonografia na avaliação de carcaças	19
2.5 Programas de melhoramento genético em ovinos Santa Inês	20
2.6 Marcadores genéticos na seleção de ovinos	23
2.7 Genes da família MyoD	25
3 Material e Métodos	27
3.1 População experimental	27
3.2 Fenótipos	27
3.3 Extração do DNA genômico	28
3.4 Reação de PCR	29
3.5 Purificação dos amplificados	29
3.6 Sequenciamento	29
3.7 Bioinformática	30

3.8 Determinação das frequências genotípicas e alélicas	31
3.9 Análises estatísticas	31
4 Resultados e Discussões	33
5 Conclusões	48
6 Referências Bibliográficas	49
7 Anexo	62

## **Identificação de polimorfismos no gene MyoD1 e associação com características de desempenho e carcaça em ovinos Santa Inês**

### **RESUMO**

O objetivo desse trabalho foi identificar polimorfismos no gene MyoD1 e testar a associação dos polimorfismos encontrados com características de desempenho e de carcaça em ovinos Santa Inês. A amostra contemplou 96 animais da raça Santa Inês, os quais foram avaliados para as características de peso ao nascimento e com 30, 60, 90, 112 (à desmama) e 240 dias de idade, além da área de olho do músculo *Longissimus dorsi*, a espessura de gordura subcutânea e o marmoreio obtidos à desmama (112 dias) e aos 240 dias de idade *in vivo* por ultrassonografia entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas. Após coleta de sangue de cada animal, foi extraído DNA para realização do sequenciamento do gene MyoD1. Foram identificadas 19 mutações, das quais cinco se mostraram potenciais marcadores genéticos para este gene, por terem boa distribuição de frequências dos genótipos. Para os Marcadores 1, 7 e 8 foram detectadas seis associações ( $P < 0,05$ ) com as características de espessura de gordura subcutânea aos 240 dias de idade, peso vivo aos 60, 90 e 112 dias de idade, ganho de peso do nascimento ao desmame e marmoreio ao desmame. O genótipo GG foi o que proporcionou os maiores valores médios para as características nos três marcadores. Os alelos mais frequentes foram o G para o Marcador 1, o T para o Marcador 7 e o alelo A para o Marcador 8. Portanto, com exceção do Marcador 1, os alelos favoráveis para as características supracitadas tem frequência reduzida na população estudada. Outro fator a se destacar é que as características aqui estudadas apresentaram elevados coeficientes de variação e, em alguns casos, os modelos de análise de variância apresentaram valores de  $R^2$  moderados. Portanto, para estas características o estudo sugere aumentar o tamanho da amostra para melhor testar o efeito destes marcadores para as características aqui estudadas. Aumentar o tamanho da amostra também pode ser útil para avaliar os 14 marcadores que tiveram uma distribuição de frequência que impediu o teste de associação. Também recomenda-se testar a associação dos cinco marcadores aqui encontrados com outras características de interesse econômico em ovinos.

**Palavras-chave:** Miogênese, Marcadores moleculares, Ovelhas, SNPs

## **Polymorphisms on MyoD1 gene and association with carcass and performance traits in Santa Ines breed**

### **ABSTRACT**

This study aimed to find polymorphisms on MyoD1 gene and testing association of the polymorphisms with performance and carcass traits in Santa Ines lambs. A sample of 96 lambs were evaluated for weights at 1, 30, 60, 90, 112 (weaning) and 240 days of age, besides measured for rib eye area, backfat thickness and marbling of Longissimus dorsi muscle at 112 and 240 days of age, in vivo by ultrasound between the 12th e 13th ribs. One blood sample by animal was used for DNA extraction and to sequence the MyoD1 gene. Nineteen mutations were identified, but only five mutations had good distribution of the genotype classes for association test studies. For the markers 1, 7, and 8 were detected six associations ( $P<0.05$ ) with backfat thickness at 240 days of age, body weight at 60, 90 and 112 days of age, weight gain from birth to weaning, and marbling at weaning. The GG genotype showed largest measured for all traits, in the three markers. The G, T and A alleles were most frequent for markers 1, 7 and 8, respectively. Thus, except for the marker 1, the favorable alleles are found in reduced frequency in Santa Ines breed. Another important factor is that the coefficients of variation, for several traits, ranged from moderate to large level. In this case, the coefficients of determination ranged from moderate to low magnitude. Therefore, the study suggested that it is necessary more animals to better evaluate the five markers for the traits studied here. Improve the number of animals also can be useful for studying the 14 markers that were not tested. Association tests must carried out for five markers found here with other important economic traits for ovine.

**Keywords:** Myogenesis, Molecular Markers, sheep, SNPs

## 1. INTRODUÇÃO

Para o estabelecimento, manutenção e aprimoramento dos índices produtivos na ovinocultura de corte no Brasil, além das ações referentes aos manejos sanitário, nutricional e reprodutivo, deve-se destinar esforços ao melhoramento genético das raças consideradas nativas. Logo, obter animais com melhores genótipos para desenvolvimento de características de elevado interesse econômico, pode promover avanços significativos na cadeia produtiva da ovinocultura brasileira.

O melhoramento genético clássico para animais de produção consiste basicamente de duas estratégias fundamentais descritas por Falconer e Mackay (1996): a seleção e o acasalamento. A seleção de animais é realizada após a obtenção de fenótipos, os quais são utilizados para estimar o valor genético dos animais. De acordo com Ferraz et al. (2012), incrementos de ganhos genéticos nos rebanhos, aumentando ou diminuindo a frequência de genes que influenciam características de interesse econômico, podem ser alcançados com técnicas da biologia molecular. Os polimorfismos moleculares podem auxiliar a seleção, pois possibilitam observar diretamente os alelos favoráveis, identificando precocemente animais com o potencial de transmitir suas características nos rebanhos, o que ficou conhecido como seleção assistida por marcadores.

A identificação de marcadores moleculares associados a características de interesse econômico em animais domésticos, vem sendo estudada por muitos grupos de pesquisa e em várias espécies. Em ovinos, marcadores moleculares tem sido utilizados para diferentes fins. Paiva et al. (2003) e Pariset et al. (2006) fizeram estudos de caracterização racial genética de ovinos. Pesquisas de Paiva et al. (2008) focaram na avaliação da associação entre características de crescimento e marcadores do tipo SNP, enquanto Paiva et al. (2005) utilizaram informações de marcadores para manejar o rebanho. Rocha et al. (2009) tinham como objetivo identificar mutações no gene BMP15 em ovelhas Santa Inês e Silva et al. (2010) estudaram os genes GDF9 e BMP15 em ovinos. Porém, até o presente momento não há relatos de associação do gene MyOD1 com características de interesse econômico em ovinos, bem como identificação de marcadores neste gene na raça Santa Inês. Segundo Silva e Carvalho (2007), este gene é responsável pelo recrutamento de células do mesoderma, na formação dos

mioblastos. Assim, o presente estudo teve por objetivo identificar e associar polimorfismos no gene MyoD1 com características de interesse econômico em ovinos Santa Inês. Neste contexto, o estudo visa obter o sequenciamento do gene MyoD1 e quantificar o número de polimorfismos na sequência, determinando a posição dos mesmos; testar a associação dos polimorfismos encontrados com as características de pesos com 1, 30, 60, 90 e 240 dias de idade, ganhos de peso diário do nascimento a desmama e da desmama aos 240 dias, além da área de olho de lombo do músculo *Longissimus dorsi*, espessura de gordura subcutânea e gordura de marmoreio obtidas por ultrassom, definindo quais alelos e genótipos são favoráveis, em todos os testes de associação que forem significativos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Panorama da ovinocultura de corte no Brasil

Segundo o IBGE (2012), o efetivo do rebanho de ovinos no Brasil foi de aproximadamente 16,8 milhões de cabeças, o que representou uma diminuição de 5 % quando comparado ao ano de 2011. O Nordeste possui o maior rebanho nacional (55,55 %), sendo o estado da Bahia o maior produtor de ovinos da região com 30,16 % dos animais. Atualmente no Brasil, o estado que possui o maior número de animais é o Rio Grande do Sul, com um efetivo aproximado de 4,1 milhões de cabeças, que produz principalmente lã e carne.

A expansão da ovinocultura de corte no Brasil ocorreu logo após a crise internacional da lã, durante as décadas de 1980 e 1990, devido à comercialização de tecidos sintéticos. Esse fato mudou o cenário da produção de ovinos, onde o principal objetivo passou a ser a produção de carne, levando essa atividade, que era principalmente de subsistência, para um enfoque mais comercial (VIANA, 2008).

O consumo *per capita* de carne ovina no Brasil ainda é pequeno, embora a atividade esteja em plena expansão. Cuenca et al. (2008) relataram um consumo médio de aproximadamente 700 gramas/habitante/ano. Situação diferente é verificada em países como a Nova Zelândia e a Austrália que apresentaram um consumo médio de 40 quilos/habitantes/ano. Martins et al. (2008) atribuíram esse baixo consumo nacional à comercialização de animais velhos, o que refletiu diretamente na baixa qualidade da carcaça e da carne. Este fato direcionou a aceitabilidade da carne ovina por parte dos consumidores, que preferem o consumo de outras carnes como a de bovinos, aves e pescados. Entretanto, Costa (2007) identificou um aumento na procura por carne ovina de qualidade, onde o estado de São Paulo foi o maior e mais exigente mercado consumidor no Brasil. O autor ainda visualizou a oportunidade de crescimento da ovinocultura de corte nas regiões Nordeste e Centro Oeste. Estas regiões possuem frigoríficos com capacidade ociosa, área disponível para o aumento do número de cabeças e disponibilidade de tecnologias desenvolvidas nas áreas de reprodução, alimentação e sanidade.



## 2.2 A raça Santa Inês

De acordo com Lôbo (2006) a crise da lã promoveu a ascensão da ovinocultura de corte no Brasil, destacando-se nesse cenário a raça Santa Inês. Até então criada principalmente na região Nordeste, começou a entrar em evidência também nos estados do Sudeste e do Centro Oeste. Atualmente, dentre as raças de ovinos criadas no Brasil, a Santa Inês representa a de maior quantitativo (PEREIRA, 2008).

Segundo Pereira (2008), a raça Santa Inês foi formada no Brasil a partir do cruzamento de raças africanas, europeias e nacionais, dentre as principais citam-se: Somalis, Bergamácia, Morada Nova e Rabo Largo. O ovino Santa Inês apresenta como principais atributos: 1 - Capacidade de se adaptar às condições climáticas do Nordeste brasileiro, tendo como principal parâmetro a tolerância ao calor. Quesada et. al (2001), avaliaram duas raças de ovinos deslanados no semiárido e identificaram que a raça Santa Inês apresentou uma maior tolerância ao calor, quando comparada à Morada Nova. O estresse calórico é um importante fator que limita o desenvolvimento dos ovinos na expressão do potencial genético de produção; 2 - Rusticidade, que está relacionada principalmente ao manejo sanitário e refere-se à resistência a doenças parasitárias e infecciosas. A habilidade de apresentar resistência a doenças conferem ao ovino Santa Inês maior rusticidade quando comparado a outras raças. Segundo Amarante (2004), rusticidade é uma característica hereditária, tendo herdabilidade que varia de 0,3 a 0,5, para a resistência dos ovinos aos helmintos. Desta forma, o mesmo autor identificou que o melhoramento genético de animais, visando à resistência a doenças infecciosas e parasitárias, favorece a diminuição da infestação dos rebanhos e conseqüentemente reduz a contaminação das pastagens por agentes infecciosos; 3 - Prolificidade, que expressa o número médio de crias nascidas por parto e está relacionada às taxas de ovulação e concepção, mortalidade embrionária, taxa de abortos e partos normais (FACÓ et al., 2008). Silva et al. (2010) encontraram resultados onde animais homozigotos e heterozigotos para polimorfismos no gene GDF9 (gene da prolificidade) em ovinos Santa Inês, demonstraram uma maior taxa de ovulação, elevando a possibilidade de partos duplos. Esse fato poderia levar a um impacto positivo na produtividade dos rebanhos de animais desta raça. Outra característica importante na criação de animais da raça Santa Inês, descrita por Pereira (2008), é que

as fêmeas não apresentaram estacionalidade reprodutiva, ao contrário da maioria das raças européias.

Apesar das muitas características positivas anteriormente listadas, Bueno et al. (2006) ressaltaram que o Santa Inês apresentou características inferiores a outras raças de corte, como ganho de peso diário e características de carcaça. Isso se refletiu em menor proporção de traseiro, menor relação entre o peso e o comprimento da carcaça, e menor perímetro de perna. Outros pontos a serem observados são o período de lactação, que se mostrou mais longo que o de raças especializadas para corte e animais com implantação de úbere não satisfatória. Estas particularidades atrapalharam o desmame precoce e poderiam ocasionar mastites. Portanto, o Santa Inês é um animal com bom potencial para a produção de carne, mas que necessita de melhoramento das características de produção.

### **2.3 Características de desempenho**

O principal indicador de desempenho é o controle do peso vivo dos animais, quando aferidos em intervalos de tempo pré-definidos (ANDRADE, 2005). Dentre as idades padrão para se avaliar peso nos ovinos estão: ao nascimento, à desmama e ao abate. Mexia et al (2006) citaram que o peso ao nascer tem grande relevância, pois cordeiros nascidos com menores pesos normalmente têm menor possibilidade de sobrevivência pela dificuldade na busca por alimento. Por outro lado, cordeiros muito grandes poderiam levar a problemas de parto distócico (QUESADA et al., 2002). Logo, controlar essa medida é uma etapa fundamental do processo de avaliação zootécnica do rebanho. Em ovinos Santa Inês o peso ao nascimento gira em torno de 3,82 kg para machos e 3,39 kg para fêmeas (CASTRO et al. 2012).

O peso a desmama também é uma importante medida de desempenho, pois a partir dele pode-se calcular o ganho de peso diário no período pré-desmama e, principalmente, a habilidade materna das ovelhas. O peso a desmama é formado por dois componentes genéticos importantes, o efeito direto e o efeito materno. O efeito direto diz respeito aos efeitos dos genes que o animal possui e que possibilitam a ele ganhar mais ou menos peso até a desmama. Esses genes estão relacionados com a capacidade do animal ingerir grande quantidade de alimento e transformar esse alimento

em tecido corporal e assim aumentar o seu peso. Já os efeitos maternos são os genes que a ovelha possui e que a torna uma mãe melhor ou pior, no que diz respeito à produção de leite e aos cuidados com a cria. Para mais detalhes sobre efeitos genéticos diretos e maternos, ver Faria (2006). Em ovinos Santa Inês o peso à desmama depende muito do sistema de criação das ovelhas. Criando as ovelhas a pasto, o peso foi de aproximadamente 18,36 kg para machos e 19,29 kg para fêmeas, com idade ao desmame de 90 dias (SANTOS et al., 2012). Criando as ovelhas em confinamento, com a idade ao desmame de 70 dias, o peso médio foi de 12,99 kg para machos e 11,18 kg para fêmeas (CASTRO et al., 2012). O ganho de peso médio diário do nascimento a desmama está em torno de 170 gramas nos machos (GARCIA et al., 2000; GERASEEV et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007a) e 117 gramas nas fêmeas (FREITAS et al. 2007; SILVA, 2012; JUCÁ, 2013).

Por fim, tem-se uma terceira pesagem, que geralmente ocorre próximo do abate, mas não possui uma data definida em ovinos Santa Inês. Alguns criadores abatem com cerca de oito meses, sobretudo aqueles que criam a pasto, enquanto criadores que investem em arração costumam abater com até seis meses. Essa pesagem visa mensurar o ganho de peso diário no período pós-desmama. Esse ganho de peso quase sempre é diferente do ganho no período pré-desmama, sobretudo nos sistemas de produção a pasto que se tem no Brasil. A pasto, o animal nem sempre tem à disposição toda oferta de nutrientes que atendam ao requerimento nutricional. Enquanto na fase pré-desmama, o aporte de nutrientes é fornecido através do leite e se a mãe tiver boa habilidade materna, então o cordeiro tem todo aporte de nutrientes de que necessita para expressar o máximo do seu potencial de ganhar peso. Em ovinos Santa Inês o peso ao abate também depende do sistema de criação e da idade de abate, com valores variando entre 28 kg a 32 kg (CUNHA et al., 2008; MASCIOLI et al, 2009; COSTA et al., 2011)

#### **2.4 A ultrassonografia na avaliação de carcaças**

As avaliações de ultrassonografias, na predição da composição da carcaça de bovinos de corte, começaram a ser utilizadas na agropecuária a partir da década de 1950, pelo Dr. James Stouffer da Universidade de Cornell nos EUA. A técnica consiste na emissão de frequências sonoras acima da capacidade de detecção humana (> 20.000

hertz). Essas ondas são produzidas pela vibração de cristais piezoelétricos, que se encontram presentes em um transdutor. As ondas de energia mecânicas são emitidas através dos tecidos que possuem constituições/densidades diferentes. Seus reflexos são convertidos em energia elétrica e capturados novamente pelo transdutor, formando a imagem (YOKOO et al., 2011).

Segundo Cartaxo et al. (2011), as imagens mais analisadas por meio da ultrassonografia para avaliações na carcaça são a área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e o marmoreio. Estas medidas possibilitam estimar a composição e a qualidade de carcaça, de maneira não invasiva, com altas repetibilidade e correlações com os parâmetros avaliados nas carcaças pós-abate, permitindo a seleção ou descarte dos animais dentro dos rebanhos. Para maiores detalhes ver Jucá (2013) e McManus et al., (2013). Ainda é importante mencionar que estas medidas estão relacionadas ao ganho de peso diário, rendimento de carcaça, precocidade de acabamento, sabor e suculência da carne. Porém, Yokoo (2005) ressaltou que diversos fatores como raça, sexo, idade, tipo de parto, alimentação, dentre outros, devem ser considerados ao analisar estas imagens, pois explicam grande percentual de variância destas características.

Outras vantagens da avaliação por ultrassonografia foram descritas por Sainz e Araujo (2002), como: a análise precoce dos animais para seleção sem a necessidade de abate e teste de progênie; o custo da avaliação individual é muito inferior ao custo do teste de progênie, com resultados equivalentes; as características de carcaça são de herdabilidade média a alta; o ultrassom pode ser utilizado como um auxílio no julgamento de animais na pista, acrescentando mais objetividade neste processo; e por fim, gerar categorias de rendimento e qualidade de carcaça, permitindo o cálculo de rendimento de cortes. Porém, apresentou como desvantagens a necessidade de técnicos de campo e de laboratório credenciados para a coleta e análise das imagens, respectivamente, além de equipamento de alto custo.

## **2.5 Programas de melhoramento genético em ovino Santa Inês**

Segundo Sousa et al. (2006), um programa de melhoramento genético deve apontar animais com genótipos superiores, identificando características que sejam

herdáveis e de fácil mensuração. Contudo, no Brasil, a seleção de ovinos Santa Inês foi inicialmente feita apenas para características raciais, pois muitos criadores de elite estavam preocupados, principalmente, com a obtenção de animais aptos a participarem de exposições da raça. Vencer uma exposição permite agregar valor no momento da venda, especialmente em leilões, mas um campeão sem o valor genético estimado pouco contribui para o melhoramento da raça. A partir da década de 1970, foi implantado o primeiro programa de melhoramento de ovinos, o PROMOVI (Programa de Melhoramento Genético de Ovinos), criado pela Associação Brasileira de Criadores de Ovinos (ARCO). O PROMOVI inicialmente estimava as características de produção e qualidade da lã, e por isso teve uma abrangência predominantemente regional, avaliando mais de trinta mil reprodutores no Estado do Rio Grande do Sul (MORAIS, 2000; LÔBO, 2006).

Com a crise da lã e a mudança no cenário nacional voltado para a produção de carne, a ARCO modificou o PROMOVI, incluindo o Teste de Velocidade de Crescimento (TVC), para a avaliação de raças especializadas na produção de carne. O programa que até então só abrangia o Estado do Rio Grande do Sul, por possuir o maior rebanho nacional voltado para produção de lã, começou a englobar os Estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo, que utilizavam raças especializadas na produção de carne. O ovino Santa Inês, principal raça do Nordeste, ficou de fora das avaliações do TVC, apesar de estar em franca expansão nacional (MORAIS, 2000).

Na década de 1990 a EMBRAPA caprinos realizou o primeiro trabalho de melhoramento da raça Santa Inês com o projeto: “Seleção de ovinos deslanados para o melhoramento genético dos rebanhos experimentais e privados no Nordeste do Brasil”, mas foi encerrado cinco anos depois por falta de adesão dos criadores e associações. Atualmente, Lôbo (2008) relatou a existência do Programa de Melhoramento Genético de Caprinos e Ovinos de Corte (GENECOC) desenvolvido em 2003 pela EMBRAPA Caprinos, que tem como principal objetivo dar suporte ao produtor na utilização dos recursos genéticos à sua disposição, otimizando seu sistema de produção; e o Programa de Avaliação de Desempenho de Ovino Santa Inês, criado pela Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba (EMEPA-PB), onde são realizadas provas de ganho de peso de ovinos da raça Santa Inês, em parceria com a Associação Paraibana de Criadores de Caprinos e Ovinos.

No Piauí, o Programa de Melhoramento Genético de Ovinos Santa Inês – SANTAGEM é realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Piauí (UFPI), e faz parte de um programa maior, desenvolvido pela Embrapa Caprinos. O objetivo do programa é caracterizar geneticamente a raça Santa Inês, identificando suas potencialidades e limitações, de maneira a promover seu melhoramento genético (AZEVEDO et al., 2005).

Parâmetros genéticos são importantes informações para o melhoramento animal. A herdabilidade e as correlações genéticas são os principais parâmetros observados, pois a herdabilidade está relacionada com ganho genético através da seleção, enquanto as correlações podem orientar os programas nos melhores caminhos a serem seguidos para otimizar os ganhos e abranger o maior número de características possíveis através das respostas correlacionadas. Falconer e Mackay (1996) descrevem a herdabilidade como um valor atribuído a uma característica, o qual serviria para medir a relação entre o fenótipo do animal e seu valor genético. Assim, altas herdabilidades indicariam elevada relação entre os valores fenotípicos de uma determinada característica e valores genéticos dos animais para esta mesma característica. Já a correlação genética é um parâmetro que expressa a associação entre duas ou mais características. Essa associação pode ter duas origens, a pleiotropia ou a ligação gênica. No caso da pleiotropia, a correlação entre as duas características não se altera, pois um mesmo gene está influenciando ambas. Enquanto na ligação gênica, existem dois genes em um mesmo cromossomo, cada um influenciando uma das características. Se a distância entre os genes for pequena, é pouco provável que ocorra permuta gênica entre eles e a correlação se manterá constante, mas se a distância for grande a permuta pode ocorrer e a correlação genética poderá se alterar.

Herdabilidade para peso ao nascer em ovinos Santa Inês com magnitude moderada de 0,34, 0,20 e 0,21 foram descritas por Barbosa et al. (2009), Barrozo et al. (2011), Carvalho et al. (2014), respectivamente e de baixa magnitude (0,15) por Sousa (2004). Carvalho et al. (2014) encontraram herdabilidades devido ao efeito materno para peso aos 90 dias igual a 0,20, enquanto Santos et al. (2009) encontraram herdabilidade direta igual a 0,24 para peso aos 90 dias. Já Sousa et al. (2004) encontraram valor médio de 0,06 para peso aos 120 dias.

Correlações entre a biometria e o peso vivo à desmama em ovinos Santa Inês, diferenciando quanto ao sexo, foram descritas por Jucá et al. (2011). Houve correlações positivas para as características de peso ao nascimento (com valores variando de 0,01 cm a 0,61 cm) e para o peso a desmama (valores de 0,13 cm a 0,65 cm), nas fêmeas. Nos machos, os mesmos autores encontraram correlações positivas, destacando-se os maiores valores para as características de peso ao nascimento (0,42 cm para perímetro torácico) e peso a desmama (0,68 cm para comprimento do corpo). Moreno et al (2010) descreveram médios coeficientes de correlação entre a área de olho de lombo obtida por ultrassom com rendimento comercial e conformação da carcaça de 0,58 e 0,48, em cordeiros Ile de France. Araujo et al. (2014) encontraram em ovinos Santa Inês e mestiços, baixa correlação entre a espessura de gordura subcutânea na carcaça e espessura de gordura subcutânea avaliada pelo ultrassom (0,12 mm<sup>3</sup>). A área de olho de lombo avaliada pelo ultrassom apresentou valores de correlações moderadas com área de olho de lombo na carcaça (0,42 cm<sup>3</sup>) e peso de carcaça fria (0,52).

Programas de melhoramento genético são baseados na seleção tradicional, onde os animais têm diversas características mensuradas para servirem como critério de seleção. Contudo, a seleção tradicional nem sempre é fácil de ser conduzida, pois muitas características são de baixa herdabilidade, de difícil mensuração ou não se expressam em um dos sexos. Como exemplo de características desta natureza, tem-se a área de olho de lombo e a espessura de gorduras subcutânea, que para serem mensurados *in vivo* requerem um equipamento de alto custo (ultrassom) e mão de obra bem treinada na utilização do mesmo. Neste contexto, Polido et al. (2012) relatam que a Seleção Assistida por Marcadores (MAS) moleculares vem sendo utilizada nos programas de melhoramento animal, para otimizá-los, pois permite selecionar mais precocemente, não requer o abate dos animais e geram informações para todos os animais, independente do sexo.

## **2.6 Marcadores genéticos na ovinocultura**

A identificação de regiões gênicas polimórficas, ou seja, regiões onde os genes apresentam diferentes formas, mostraram-se de grande importância pela possibilidade de identificar e marcar onde os genes que carregam determinadas informações de

interesse para produção se localizam no genoma. Essas variações são conhecidas como marcadores moleculares ou marcadores genéticos e permitem identificar animais de potencial genético superior, antes mesmo da expressão do seu fenótipo, o que é conhecido como Seleção Assistida por Marcadores – MAS. Maiores informações sobre seleção assistida por marcadores podem ser encontradas em Regitano e Coutinho (2001).

A avaliação de material genético de interesse zootécnico visa identificar animais que tenham maior potencial para serem utilizados no sistema de produção. A análise ao nível de DNA permite desvendar a arquitetura genética que controla uma característica de interesse, determinando o número de genes envolvidos, a localização destes genes e a contribuição individual de cada gene para a expressão fenotípica. Isso pode ser feito via mapeamento de QTL (Locos de Características Quantitativas), polimorfismos em genes candidatos ou sequenciamento de DNA / mRNA (COUTINHO et al., 2010).

Existem muitos tipos de marcadores genéticos, esses diferem nas técnicas que identificam as variações na sequência do DNA, que são originadas de diferentes tipos de mutações (COUTINHO et al., 2006). Segundo Regitano e Veneroni (2009), os marcadores moleculares do tipo SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*) atualmente se destacam na análise genômica. Uma das razões é sua abundância e boa distribuição ao longo de todo o genoma, além da técnica para sua identificação estar bem consolidada e automatizada. A frequência aproximada é de um SNP a cada Kilobase (WANG et al., 1998).

Caetano (2009) descreveu os SNPs como mutações pontuais onde há a troca de uma base nitrogenada por outra. Essas trocas podem ser transições (troca de purina por purina (A ↔ G) ou pirimidina por pirimidina (T ↔ C)) ou, em menor intensidade, transversões (troca de purina por pirimidina (A ↔ C) ou pirimidina por purina (T ↔ G)).

Resultados de identificação de marcadores moleculares em ovinos já foram descritos por: Lara et al. (2012), que objetivam conhecer as frequências alélicas e genotípicas para marcadores no gene da Leptina; Paiva et al. (2011) realizaram estudos sobre diversidade genética em raças de ovinos; Petroli et al. (2009) estudaram a variabilidade genética de loci microssatélites em ovinos Santa Inês e sua utilização no manejo do rebanho; Souza et al. (2012) desenvolveram um banco de dados com



frequência de alelos para 23 loci STR para testes de parentesco em ovinos Santa Inês. Porém, até o presente momento pouco se sabe sobre genes da família MyoD em ovinos.

## **2.7 Genes da família MyoD**

Na ovinocultura de corte é importante conhecer aspectos biológicos relacionados com a formação do tecido muscular, com vistas a manipular a quantidade e o tipo de fibras musculares. Desta forma, informações sobre a miogênese contribuem significativamente no direcionamento da diferenciação de células com linhagem miogênica. Entende-se por miogênese a formação embrionária do tecido muscular, onde ocorrem eventos importantes como: a determinação dos mioblastos, onde células somáticas são recrutadas para diferenciar-se em células musculares, migrando para regiões do tecido muscular; proliferação dos mioblastos, que é responsável pelo aumento do número de células pré-musculares; diferenciação de mioblastos em miócitos, através da expressão de proteínas específicas; e, por fim, o amadurecimento das células musculares, onde existe a fusão das mesmas, originando as fibras musculares (LIMA, 2007; MARCHESIN, 2008).

Silva e Carvalho (2007) apontam que os Fatores de Regulação Miogênica (MRF) estão envolvidos na formação dos tecidos musculares, atuando principalmente durante a fase embrionária e são controlados por uma família de genes conhecida como MyoD (Myogenic Differentiation). Essa família é constituída por quatro genes: MyoD1 (ou MyF3), Miogenina (ou MyF4), MyF5 e o MRF4 (ou MyF6). MyoD1 e MyF5 são os genes primários e estão relacionados com o recrutamento e proliferação de células precursoras da musculatura (mioblastos). Já o Miogenina e o MRF4 são genes envolvidos na diferenciação de mioblastos em miócitos e na fusão desses miócitos para formação dos miotubos, compondo o tecido muscular esquelético (SCHIERHOLT et al., 2008).

O gene MyoD1 em ovinos está localizado no cromossomo 15, possui 2.991 pares de bases, com duas regiões de exon e uma de intron. Sua sequência nucleotídica completa está disponível no banco de dados do NCBI sob o acesso Gene ID: 443405. Estudos com genes da família MyoD já foram descritos por Huynen et al. (1991), que compararam a sequência do gene MyoD1 em ovinos e camundongos; Gabriel et al.

(2000), que estudaram o padrão de expressão dos transcritos do fator miogênico MyoD em embriões inteiros de galinhas; Souza (2004) identificou polimorfismos nos genes da família MyoD e avaliou a possibilidade de utilizá-los como marcadores na seleção de aves; Kapelański et al. (2005), estudaram associações entre o gene MyoD1 e características de qualidade da carne em suínos, encontrando resultados com efeito significativo para o pH final da carne, cor e teor de cinzas no tecido muscular. Estudos de associação entre marcadores no gene MyoD1 com ovinos, até o presente momento não constam na literatura.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 População experimental

O presente estudo foi desenvolvido com 96 cordeiros Santa Inês nascidos e criados no Campo Experimental Pedro Arle da Embrapa Tabuleiros Costeiros, entre 2010 e 2012. Está localizado no município de Frei Paulo, mesorregião do sertão do Estado de Sergipe, latitude 10°32'58" sul e longitude 37°32'04" oeste, altitude de 272 metros, com clima semiárido (IBGE, 2006). As matrizes e os cordeiros foram criados a pasto durante o dia com acesso a áreas de *Panicum maximum* cv. Green Panic e Aruana e confinados a noite quando receberam silagem de milho a base de 1,5 % do peso vivo como suplementação, sendo água e mineralização disponibilizadas *ad libitum*. Todos os animais tiveram os dados genealógicos controlados, com grupos de contemporâneos bem definidos e controle das idades em que foram feitas as mensurações de interesse.

#### 3.2 Fenótipos

Os cordeiros tiveram o peso vivo aferido ao nascimento, aos 30, 60, 90, 112 (à desmama) e 240 dias de idade. Para avaliação da carcaça dos cordeiros *in vivo* foi realizada a ultrassonografia mensurando-se a área de olho de lombo do músculo *Longissimus dorsi*, a espessura de gordura subcutânea e o marmoreio, à desmama (112 dias) e aos 240 dias de idade. Antes da captação das imagens, procedeu-se à limpeza e a tricotomia da região entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas, sempre do lado esquerdo do animal (LEEDS et al., 2008). Foi utilizado o ecógrafo modelo Aquila Pro da Piemedical, com sonda linear de 6,0 MHz de frequência. O comprimento (A) e a profundidade máxima (B) do músculo foram mensurados nas imagens gravadas para cálculo da área de olho de lombo por meio da fórmula  $AOL = A/2 \times B/2 \times \pi$ , aferida em  $cm^2$ . Com a mesma imagem aferiu-se também a espessura de gordura subcutânea, em milímetros (mm), acima da referida área muscular. O marmoreio foi avaliado subjetivamente nas imagens utilizando escala de escores de 1 (pouquíssimo) a 5 (elevado).

### 3.3 Extração do DNA genômico

Coletou-se 5 ml de sangue dos 96 animais em tubos vacutainer contendo EDTA, que foram estocados e refrigerados para posterior extração de leucócitos, seguindo protocolo descrito pela Embrapa. Os leucócitos foram encaminhados à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESAQ/USP, onde foi realizada a extração do DNA genômico e o sequenciamento. A extração do DNA foi realizada utilizando soluções salina e proteinase K seguindo protocolo da Embrapa (OLIVEIRA et al., 2007b).

O sequenciamento ocorreu a partir de produtos de amplificados dos genes estudados. O desenho do primer para a amplificação do gene MyoD1 foi realizado com base nos dados depositados no NCBI (National Center for Biotechnology Information), sequência Gene ID: 443405 (*Ovis aries*), selecionando as regiões entre o primeiro intron e o segundo exon. O desenho do primer foi realizado a partir do programa Primer 3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>), que gerou as possíveis sequências dos oligonucleotídeos. Para testar a qualidade das sequências geradas, utilizou-se o net primer (<http://www.premierbiosoft.com/crm/jsp/com/pbi/crm/clientside/EligibleForDiscountLoginForm.jsp?LoginForFreeTool=true&PID=3>). Após a escolha dos primers forward e reverse do gene estudado (Tabela 01), foi realizado o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) que é utilizado como uma ferramenta de busca para o alinhamento das sequências no NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para confirmar a similaridade com a espécie *Ovis aries*.

Tabela 1 - *Primers forward* (F) e *reverse* (R) utilizados no gene MyoD1

Primers	Sequência	Tamanho do amplificado	Localização
MyoD1 – F	CAG ACC CTC AGT GCT TTG CT	2428 pb	Cromossomo 15
MyoD1 – R	CCT GCC TGC CGT ATA AAC AT		

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento

### 3.4 Reação de PCR

Para a amplificação do fragmento do gene do MyoD1, foram utilizados 15 µL da reação contendo 0,3 µM de cada primer, taq Emerald<sub>amp</sub> Max Hs (Takara Bio, USA) e 100ng do DNA molde. A amplificação foi realizada em um termociclador Veriti® (Applied Biosystems, USA) e consistiu numa etapa inicial de desnaturação por 5 minutos a 98°C, seguida por 45 ciclos de amplificação (desnaturação a 98°C por 10 segundos, anelamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 3 minutos), e extensão final a 72°C por 5 minutos.

Os produtos da amplificação foram corados com o GelRed (Biotium, USA) e posteriormente separados em gel de agarose a 1%. Foi observado se houve a amplificação da banda desejada, utilizando como controle positivo para o gene MyoD1, um pool de DNA de ovinos Santa Inês.

### 3.5 Purificação dos Amplificados

Após a amplificação das amostras, foi feita a purificação dos amplicons. A purificação foi realizada com esferas magnéticas Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, USA), seguindo o protocolo sugerido pelo fabricante. As amostras foram diluídas para 2 nM, o qual foi quantificado com fluorômetro Qubit® (Life Technologies, USA), sendo diluído para 0,2 ng/µl e encaminhado para o sequenciamento.

### 3.6 Sequenciamento

O sequenciamento foi realizado no Miseq, plataforma desenvolvida pela empresa Illumina, em San Diego - USA. Para a preparação das amostras utilizou-se os kits Nextera® XT DNA *Sample Preparation* na preparação da biblioteca e Nextera® XT Index para os índices, sendo estes kits também desenvolvidos pela empresa supracitada. A preparação da biblioteca foi realizada de acordo com protocolo do fabricante. Após o preparo da biblioteca as amostras foram submetidas ao sequenciamento usando o kit MiSeq Reagent Kit v2 (500 cycle).

O sequenciamento consistiu em três etapas: a ligação de adaptadores, formação de clusters (PCR em pontes) e o sequenciamento propriamente dito, como pode ser observado em Carvalho e Silva (2010). Estes mesmos autores informam que o processo de fragmentação do produto da amplificação é aleatório e posteriormente os fragmentos foram conectados a adaptadores nas duas extremidades (5' e 3'). Então a PCR em fase sólida promove a ligação dos fragmentos de fita simples (pela extremidade 5') à superfície do canal da *flow cell* (lâmina de vidro com uma linha onde as extremidades dos fragmentos são ligados). O anelamento iniciou-se com a adição de nucleotídeos não marcados que sintetizaram a segunda fita do fragmento, em formato de pontes de fitas duplas. Na desnaturação as fitas foram separadas, a ponte foi desfeita e o DNA molde fita simples ficou fixado à superfície da linha da *flow cell*, dispostas na posição linear. Este ciclo é repetido diversas vezes, gerando milhões de grupos (*clusters*) de DNA fita simples no canal da *flow cell*. O sequenciamento iniciou-se com a adição de quatro nucleotídeos marcados, primers e DNA polimerase, para as reações de sequenciamento que ocorreram dentro de cada cluster. Existiu a incorporação dos nucleotídeos à primeira base. Após excitação com laser, há emissão de fluorescências que foi captada por um dispositivo de leitura, identificando cada uma das bases da sequência. A leitura foi feita de forma sequencial, permitindo a montagem da sequência completa de cada *cluster* (CARVALHO e SILVA, 2010).

### 3.7 Bioinformática

Para as análises dos resultados do sequenciamento foi necessário cumprir algumas etapas para a interpretação dos dados gerados. Os *reads* (pequenas sequências geradas pelo sequenciamento) foram processados, alinhados (determina o grau de similaridade entre duas ou mais sequências) e suas variantes foram identificadas e anotadas.

Após sequenciamento foram gerados arquivos compactados que foram descompactados com o auxílio do programa FASTQC (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>), para verificar a qualidade das *reads* por meio de gráficos e tabelas. A partir da qualidade inicial das *reads* foi feita uma limpeza do banco de dados utilizando a ferramenta SeqyClean (ZHBANNIKOV et

al., 2014). Essa filtragem levou em consideração o escore mínimo de qualidade e o comprimento do fragmento.

A próxima etapa foi fazer o alinhamento das *reads* para a identificação de mutações, com o auxílio do programa Bowtie2 (LANGMEAD e SALZBERG, 2012). Nesta etapa foram utilizadas a sequência indexada do genoma referência, para tentar alinhar com a maior quantidade de *reads* possível à sequência das amostras, sendo sua qualidade proporcional ao maior número de alinhamentos. Após o pareamento das sequências foram identificadas as variantes (polimorfismos) com o programa SAMtools (LI et al., 2009). Por fim, realizou-se a anotação funcional das mutações (SNPs) com o programa VEP (*Variant Effect Predictor*) do *Ensembl* (<http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html>), para identificar sua localização no genoma e seu efeito funcional.

### 3.8 Determinações das frequências genótípicas e alélicas

Foram considerados potenciais polimorfismos aquelas mutações em relação ao genoma referência, cuja frequência do alelo raro foi superior a 1%. As frequências alélicas e genótípicas foram estimadas para cada loco por contagem simples dos alelos e dos genótipos, respectivamente. Entende-se por frequência alélica a proporção dos diferentes alelos de um gene na população, enquanto que frequência genotípica é a proporção dos genótipos.

### 3.9 Análises estatísticas

Foi realizada análise de variância com o modelo:

$$y_{ijkl} = u + T_i + A_j + MyoD1_k + \beta D_{ijkl} + \alpha I_{ijkl} + P_l + e_{ijkl}$$

Onde:  $y_{ijkl}$  é o valor fenotípico para a característica em análise;  $u$  é a média geral da característica;  $T_i$  é o efeito fixo de tipo de parto (simples, duplo ou triplo),  $A_j$  é o efeito fixo de ano de nascimento (2010, 2011, 2012),  $MyoD1_k$  é o efeito de substituição alélica para os marcadores em análise;  $\beta D_{ijkl}$  é o efeito da covariável peso

vivo da mãe à desmama,  $\alpha I_{ijkl}$  é o efeito da covariável idade do animal no momento da avaliação da característica;  $P_l$  é o efeito aleatório de pai; e  $e_{ijkl}$  é o erro experimental.

Quando o efeito de um determinado marcador foi significativo para a característica na análise de variância, procedeu-se a realização da análise de regressão. Foi testado o modelo Linear, visto que a distribuição de pontos para as características não indicava outro modelo de melhor ajuste. Neste modelo o coeficiente angular da reta é o efeito de substituição alélica, enquanto o  $R^2$  da análise de regressão é o percentual de variância residual explicada pelo marcador. Em todos os testes foi utilizado como nível de significância 5%.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total das 96 amostras em sequenciamento 20 não amplificaram. Isso pode ser decorrente de alguma mutação na região de anelamento dos primers. Ainda, 18 amostras foram descartadas após constatação que havia baixa qualidade do alinhamento, sendo que essa qualidade é diretamente proporcional ao número de *reads* que estão alinhadas na mesma posição. Portanto, 58 amostras amplificaram e mantiveram qualidade do alinhamento satisfatória para análise, ou seja, um grande número de *reads* foram alinhadas na mesma posição. Seis animais são reprodutores e não foram considerados para análise de associações com as características de produção, pois não tiveram dados do desempenho e carcaça coletados. Por fim, foram avaliadas 52 amostras dos animais. Dos 2.428 pb amplificados, 1.085 pb foram alinhados a partir de informações do gene referência depositadas no NCBI. A grande diferença da quantidade de pares de bases entre o que foi amplificado e o que foi alinhado deve-se a uma lacuna de informações no gene referência, onde se sabe do número de nucleotídeos pertencentes à região, porém não se conhece os nucleotídeos.

Dos 1.085 pb alinhados com o genoma referência, 19 pb se mostraram diferentes do gene referência (Tabela 2). Três dessas diferenças estão na região do intron estudado e por isso não codificam aminoácidos, enquanto 16 pb estão nas duas regiões codificadoras estudadas (exons). Das 16 mutações que estão em regiões codificadoras, sete foram consideradas sinônimas, quando a troca das bases não modificaram o aminoácido que codificou proteína, e nove foram consideradas não-sinônimas, quando o polimorfismo altera o aminoácido que codifica a proteína, podendo alterar ou não sua função (MCDONALD e KREITMAN, 1991). As interpretações dos dados das mutações não sinônimas tomam como referência o escore SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*), que Segundo Ng e Henikoff (2003), prediz se a mutação é ou não tolerável, ou seja, o polimorfismo é tolerado ( $SIFT > 0,05$ ) quando a natureza química do novo aminoácido é similar a do aminoácido anterior. Neste caso a função da proteína não é alterada. O polimorfismo é deletério ( $SIFT \leq 0,05$ ) quando o aminoácido tem natureza química diferente do anterior, afetando a estrutura da proteína e consequentemente sua função.

Tabela 2 - SNPs identificados no gene MyoD1, suas localizações no cromossomo e respectivas trocas de bases e aminoácidos alterados

Marcador	Posição da mutação *	Região do cromossomo	Base nitrogenada trocada (SNP)	Aminoácido Alterado	Escore SIFT
1	34368999	Intron	T/G	-	-
2	34369043	Intron	G/A	-	-
3	34369066	Intron	C/A	-	-
4	34370639	Exon	G/A	Alanina	-
5	34370797	Exon	A/G	Leucina	-
6	34370835	Exon	G/T	Alanina/Aspartato	1
7	34370841	Exon	G/T	Treonina/Asparagina	0,84
8	34370843	Exon	G/A	Prolina	-
9	34370845	Exon	G/T	Prolina/Treonina	1
10	34370846	Exon	G/C	Prolina	-
11	34370848	Exon	G/T	Prolina/Treonina	1
12	34370854	Exon	G/C	Prolina/Alanina	0
13	34370861	Exon	G/A	Glicina	-
14	34370863	Exon	C/G	Glicina/Arginina	0,06
15	34370867	Exon	G/T	Glicina	-
16	34370868	Exon	C/G	Glicina/Alanina	0,01
17	34370870	Exon	C/A	Prolina	-
18	34370877	Exon	C/A	Arginina/Leucina	1
19	34370879	Exon	G/T	Fenilalanina/Leucina	1

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento. \*Posição dos SNPs em relação ao genoma referência (Oar\_v3.1, NCBI). SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*) – Escore que prediz se a mutação é tolerável ( $> 0,05$ ) ou deletéria ( $\leq 0,05$ )

Dentre as alterações não sinônimas, oito foram tolerantes, pois tiveram escore SIFT acima de 0,05 (Tabela 2). Apenas a mutação da posição 34370868 teve efeito deletério, ocorrendo a troca de uma glicina por alanina. De acordo com Lehninger (2006), a glicina é o mais simples dos aminoácidos, a sua cadeia lateral é curta e possui apenas um átomo de hidrogênio, por isso, apesar de ser apolar, não participa de interações hidrofóbicas. Já a alanina tem um caráter hidrofóbico, sua cadeia lateral se agrupa no interior de proteínas, contribuindo para estabilizar sua estrutura tridimensional. Sendo assim, Ng e Henikoff (2003) explicaram que uma mutação não sinônima deletéria acontece em regiões conservadas de proteínas, quando se altera o aminoácido que desempenha um papel importante na mesma. Outra forma, é quando há a mudança de um aminoácido de caráter hidrofóbico por hidrofílico, onde o contrario também pode acontecer. Como a frequência dos genótipos CC e CG para esta posição

foi de apenas um animal (Tabela 3), não foi possível testar associação com os fenótipos avaliados. Para essa mutação, recomenda-se avaliar um número maior de animais, para que o efeito dessa mudança de aminoácido seja estimado.

Tabela 3 - Frequências genotípicas e alélicas dos SNPs encontrados

(continua)

Posição do Polimorfismo	Nome	N	Genótipos	Frequência genotípica (%)	Alelos	Frequência alélica (%)
34368999	Marcador 1	25	GG	48,08	G	59,62
		12	TG	23,08	T	40,38
		15	TT	28,85		
34369043	Marcador 2	5	AA	9,62	A	14,42
		5	GA	9,62	G	85,58
		42	GG	80,77		
34369066	Marcador 3	2	AA	3,85	A	8,65
		5	CA	9,62	C	91,35
		45	CC	86,54		
34370639	Marcador 4	1	GG	1,92	G	1,92
		0	GA	0	A	98,08
		51	AA	98,08		
34370797	Marcador 5	31	AA	59,62	A	75,96
		17	AG	32,69	G	24,04
		4	GG	7,69		
34370835	Marcador 6	2	GG	3,85	G	3,85
		0	GT	0	T	96,15
		50	TT	96,15		
34370841	Marcador 7	3	GG	5,77	G	15,38
		10	GT	19,23	T	84,62
		39	TT	75		
34370843	Marcador 8	28	AA	53,85	A	71,15
		18	GA	34,62	G	28,85
		6	GG	11,54		
34370845	Marcador 9	3	GG	5,77	G	5,77
		0	GT	0	T	94,23
		9	TT	94,23		
34370846	Marcador 10	0	GG	0	G	0
		0	GC	0	C	100
		52	CC	100		
34370848	Marcador 11	1	GG	1,92	G	1,92
		0	GT	0	T	98,08
		51	TT	98,08		

Tabela 3 - Frequências genotípicas e alélicas dos SNPs encontrados

(continuação)

Posição do Polimorfismo	Nome	N	Genótipos	Frequência genotípica (%)	Alelos	Frequência alélica (%)
34370854	Marcador 12	1	GG	1,92	G	3,85
		2	GA	3,85	A	96,15
		49	AA	94,23		
34370861	Marcador 13	1	GG	1,92	G	7,69
		6	GA	11,54	A	92,31
		45	AA	86,54		
34370863	Marcador 14	0	CC	0	C	1,92
		2	CG	3,85	G	98,08
		50	GG	96,15		
34370867	Marcador 15	1	GG	1,92	G	3,85
		2	GT	3,85	T	96,15
		49	TT	94,23		
34370868	Marcador 16	1	CC	1,92	C	2,88
		1	CG	1,92	G	97,12
		50	GG	96,16		
34370870	Marcador 17	1	CC	1,92	C	1,92
		0	CA	0	A	98,08
		51	AA	98,08		
34370877	Marcador 18	2	CC	3,85	C	11,54
		8	CA	15,38	A	88,46
		42	AA	80,77		
34370879	Marcador 19	1	GG	1,92	G	4,81
		3	GT	5,77	T	95,19
		48	TT	92,31		

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento

Observa-se na Tabela 3 que apenas os marcadores 1, 2, 5, 7 e 8 possuíram boa distribuição de frequências alélicas e genotípicas e, por isso, foram selecionados para as análises de associação com os fenótipos. Para as outras 14 mutações, a distribuição de animais entre os três genótipos não foi considerada adequada, devido ao reduzido número de animais dentro de determinados genótipos, em alguns casos apenas um animal ou até mesmo nenhum. Nova placa de sequenciamento para 96 animais está sendo analisada e poderá indicar melhor o potencial de utilização das 14 mutações que não foram submetidas a testes de associação no presente estudo.

Para o marcador 1 (Tabela 3) identificamos uma mutação pontual de transversão, onde ocorreu a troca de uma pirimidina (timina) por uma purina (guanina), com uma maior frequência do genótipo GG. Para o Marcador 2 houve uma transição, tendo ocorrido a troca da purina guanina pela purina adenina, com a maior frequência para o genótipo GG. Os Marcadores 5 e 8 também são consequências de transições, porém a troca é de uma adenina por uma guanina para o marcador 5 e de uma guanina por uma adenina no marcador 8, sendo o genótipo mais frequente o AA em ambos. O marcador 7 apresenta uma transversão, onde existe a troca de uma guanina por uma timina e o genótipo mais frequente é o TT. Para os demais marcadores as frequências genótípicas e alélicas serão melhor descritas com a ampliação do número de animais genotipados, cujas análises laboratoriais encontram-se em andamento.

O gene MyoD1 está relacionado à formação do tecido muscular, o que o torna um bom gene candidato para as características aqui estudadas. Assim, análises de associação com os pesos, ganhos de peso e medidas de carcaça foram conduzidas para os marcadores 1, 2, 5, 7 e 8, pois apresentaram distribuição de frequências genótípicas mínima de três animais em todos os três genótipos de cada marcador.

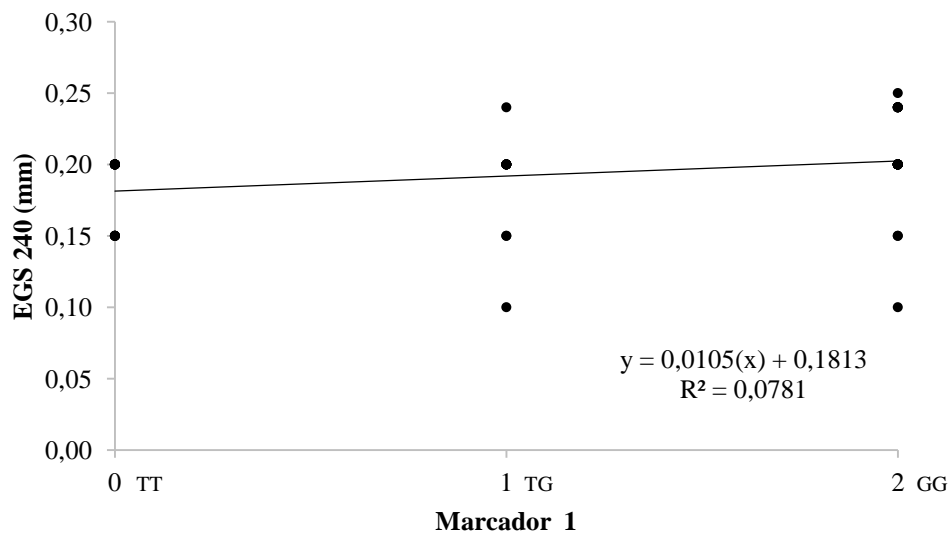
Para o Marcador 1, foi identificado um efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para a Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias de idade (EGS240) (Tabela 4), sendo o genótipo GG aquele que teve maior espessura. A diferença entre as médias dos genótipos GG e os genótipos TG e TT, foi de 0,03 mm para essa característica. Na Figura 1 observa-se a equação que estima o EGS240 a partir do número de alelos G no genótipo para o marcador 1. O efeito de substituição alélica para este marcador foi igual a 0,0105 mm, sendo que os animais TT apresentaram em média 0,1813 mm de EGS240, enquanto os genótipos TG e GG apresentaram 0,1918 mm e 0,2023 mm. O  $R^2$  neste caso indicou que este marcador explicou 7,81% da variação total de EGS240. Observa-se na Tabela 3 que a frequência do alelo G é superior ao do alelo T, porém ainda existe na amostra estudada um grande número de animais com os genótipos GT e TT, logo a resposta à seleção com base na informação deste marcador pode trazer importantes ganhos para a raça. Para as demais características não foi encontrado efeito deste marcador.

Tabela 4 - Marcador 1 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês

Característica	Marcador 1			P-ANOVA	R <sup>2</sup>	CV	P-MyoD1
	GG	TG	TT				
Peso ao Nascer (kg)	3,79	3,58	3,55	<.0001	0,62	12,95	0,2246
Peso aos 30 dias (kg)	5,98	7,02	6,19	0,0308	0,38	31,70	0,7455
Peso aos 60 dias (kg)	10,44	9,64	11,14	0,0230	0,39	30,76	0,6242
Peso aos 90 dias (kg)	16,50	13,60	15,43	0,0034	0,49	25,17	0,5728
Peso ao Desmame (kg)	21,48	19,52	19,93	0,0022	0,51	21,02	0,4231
Peso aos 240 dias (kg)	29,73	26,36	28,50	<.0001	0,67	16,88	0,3874
GPND (g/dia)	161,78	146,6	150,51	0,1725	0,31	26,64	0,5364
GPD240 (g/dia)	68,60	50,81	63,53	<.0001	0,79	30,33	0,6089
AOLD (cm <sup>2</sup> )	6,12	5,80	6,13	0,0301	0,41	20,45	0,9629
AOL240 (cm <sup>2</sup> )	6,53	6,22	7,14	0,0304	0,41	20,32	0,3627
EGSD (mm)	0,18	0,15	0,16	0,0248	0,41	18,26	0,0993
EGS240 (mm)	0,20	0,17	0,17	0,0111	0,40	14,52	0,0366
Marmoreio Desmame (escore)	2,10	1,93	2,11	0,0028	0,51	17,73	0,8686
Marmoreio 240 dias (escore)	2,17	2,02	2,15	0,0577	0,38	16,83	0,8084

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento. GPND - Ganho de Peso do Nascimento a Desmama; GPD240 - Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias; AOLD - Área de Olho de Lombo ao Desmame; AOL240 - Área de Olho de Lombo aos 240 dias de idade; EGSD - Espessura de Gordura Subcutânea ao Desmame; EGS240 - Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias de idade.

Figura 1 - Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 1 sobre EGS240



Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento.

Os coeficientes de determinação das análises de variância para Peso ao Nascer, Peso ao Desmame, Peso aos 240 dias e Marmoreio ao Desmame, apresentaram valores

moderados (Tabela 4), enquanto para o Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias (GPD240) o modelo proposto na análise de variância explicou 79 % da variação total. Estes resultados mostraram um bom ajustamento da análise de variância, mas para as outras características o  $R^2$  pode ser considerado baixo.

Contudo, ressalta-se que para várias características o CV foi elevado, o que implicou na necessidade de se ter amostras maiores para melhor ajuste do modelo estatístico e detecção de efeitos de menor intensidade.

Dado a associação do Marcador 1 com a espessura de gordura subcutânea aos 240 dias de idade, pode se dizer que a seleção utilizando informação deste marcador pode ajudar a identificar animais com maior potencial de precocidade de acabamento da carcaça na raça Santa Inês. Segundo Sugisawa et al. (2008) a espessura de gordura representou o potencial genético do indivíduo para precocidade de acabamento da carcaça.

Não foram identificadas diferenças significativas entre os genótipos para as características de desempenho e de carcaça para os marcadores 2 e 5 (Tabelas 5 e 6, respectivamente). Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) das equações de análise de variância para as características estudadas para esses dois marcadores, de uma maneira geral, mostraram valores moderados, com ressalva para Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias (GPD240), denotando um ajuste satisfatório do modelo. Para essas características o CV também foi elevado, sugerindo que o aumento no número de amostras poderá representar de forma fidedigna os efeitos desses SNPs, já que estas características apresentaram intrinsecamente uma alta variabilidade. Assim, as mutações encontradas nas posições 34369043 e 34370797 (Marcadores 2 e 5) do gene MyoD1 devem ser melhor estudadas com amostras maiores ou testadas com outras características de interesse econômico na ovinocultura, especialmente na raça Santa Inês.

Tabela 5 - Marcador 2 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês

Característica	Marcador 2			P-ANOVA	R <sup>2</sup>	CV	P-MyoD1
	AA	GA	GG				
Peso ao Nascer (kg)	3,91	3,56	3,68	<.0001	0,61	13,12	0,5136
Peso aos 30 dias (kg)	6,34	7,89	6,07	0,0302	0,38	31,68	0,6919
Peso aos 60 dias (kg)	9,11	10,79	10,30	0,0224	0,40	30,73	0,5727
Peso aos 90 dias (kg)	14,85	16,43	15,14	0,0038	0,49	25,28	0,9576
Peso ao Desmame (kg)	19,34	21,59	20,32	0,0027	0,50	21,17	0,7542
Peso aos 240 dias (kg)	26,14	31,28	27,71	<.0001	0,66	17,03	0,8145
GPND (g/dia)	141,02	165,38	152,61	0,1831	0,31	26,71	0,6848
GPD240 (g/dia)	51,71	73,31	59,37	<.0001	0,79	30,42	0,8049
AOLD (cm <sup>2</sup> )	6,60	6,67	5,88	0,0211	0,42	20,16	0,3116
AOL240 (cm <sup>2</sup> )	5,78	6,16	6,66	0,0288	0,42	20,28	0,3203
EGSD (mm)	0,17	0,20	0,16	0,0556	0,38	18,83	0,5710
EGS240 (mm)	0,20	0,18	0,19	0,0427	0,39	15,03	0,7064
Marmoreio Desmame (escore)	2,00	2,21	2,02	0,0029	0,50	17,73	0,9679
Marmoreio 240 dias (escore)	2,01	2,45	2,05	0,0585	0,37	16,84	0,8876

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento. GPND - Ganho de Peso do Nascimento a Desmama; GPD240 - Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias; AOLD - Área de Olho de Lombo ao Desmame; AOL240 - Área de Olho de Lombo aos 240 dias de idade; EGSD - Espessura de Gordura Subcutânea ao Desmame; EGS240 - Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias de idade.

Tabela 6 - Marcador 5 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês

Característica	Marcador 5			P-ANOVA	R <sup>2</sup>	CV	P-MyoD1
	GG	AG	AA				
Peso ao Nascer (kg)	3,43	3,62	3,73	<.0001	0,62	13,06	0,3635
Peso aos 30 dias (kg)	5,46	7,02	6,16	0,0314	0,38	31,72	0,8315
Peso aos 60 dias (kg)	10,66	9,93	10,52	0,0247	0,39	30,84	0,8375
Peso aos 90 dias (kg)	17,13	14,88	15,28	0,0036	0,49	25,22	0,6889
Peso ao Desmame (kg)	23,03	20,31	20,17	0,0022	0,51	21,03	0,4299
Peso aos 240 dias (kg)	31,66	29,31	27,12	<.0001	0,68	16,57	0,1393
GPND (g/dia)	181,42	151,82	151,14	0,1556	0,32	26,51	0,3866
GPD240 (g/dia)	68,79	72,75	54,36	<.0001	0,80	29,69	0,1817
AOLD (cm <sup>2</sup> )	6,86	6,18	5,79	0,0169	0,43	20,01	0,1991
AOL240 (cm <sup>2</sup> )	5,94	6,59	6,68	0,0355	0,41	20,45	0,5411
EGSD (mm)	0,18	0,17	0,17	0,0579	0,37	18,86	0,6555
EGS240 (mm)	0,17	0,18	0,19	0,0281	0,41	14,80	0,2420
Marmoreio Desmame (escore)	2,12	2,02	2,05	0,0029	0,50	17,73	0,9339
Marmoreio 240 dias (escore)	2,13	2,27	2,03	0,0373	0,40	16,55	0,2402

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento. GPND - Ganho de Peso do Nascimento a Desmama; GPD240 - Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias; AOLD - Área de Olho de Lombo ao Desmame; AOL240 - Área de Olho de Lombo aos 240 dias de idade; EGSD - Espessura de Gordura Subcutânea ao Desmame; EGS240 - Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias de idade.



O Marcador 7 (Tabela 7) teve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) sobre peso aos 60 dias, sendo o genótipo GG aquele que apresentou o maior peso médio. Ressalta-se que este marcador também teve efeito sobre Peso aos 90 dias, Peso ao Desmame e Ganho de Peso do Nascimento ao Desmame (GPND). A diferença entre os genótipos extremos para os pesos aos 60 e 90 dias e ao desmame foi de 4,49 kg, 6,63 kg, e 9,29 kg respectivamente, já para o ganho de peso diário do nascimento ao desmame foi de 89,49 gramas por dia. Na Figura 2 pode-se observar a equação que estimou o peso aos 60 dias de idade a partir do número de alelos G no genótipo para o marcador 7. O efeito de substituição alélica para este marcador foi igual a 0,9698 kg, sendo que os animais TT apresentaram em média 9,7227 kg para o peso aos 60 dias, enquanto os genótipos TG e GG apresentaram 10,6925 kg e 11,6623 kg, respectivamente. O  $R^2$  neste caso indicou que este marcador explica 2,56% da variação total para esta característica. Para o peso aos 90 dias (Figura 3), o efeito de substituição alélica foi de 1,4554 kg, sendo que os animais TT apresentaram em média 14,0930 kg, os genótipos TG e GG apresentaram 15,5484 kg e 17,0038 kg para o peso aos 90 dias, onde o  $R^2$  explica 3,52% da variação total para este marcador. No peso à desmama (Figura 4) o efeito de substituição alélica foi de 2,2306 kg, sendo que os animais TT exibem em média 18,5330 kg para o peso à desmama, os genótipos TG e GG tem valores médios de 20,7636 kg e 22,9942 kg, onde o  $R^2$  explica 6,60% da variação para o à desmama. O Ganho de Peso do Nascimento à Desmama (Figura 5) exibe o efeito de substituição alélica com valor de 23,6630 g, onde os animais TT tem em média 135,3300 g para esta característica e os genótipos TG e GG tem valores médios de 158,9930 g e 182,6560 g respectivamente, onde o  $R^2$  explica 11,67% da variação para este marcador. A frequência do alelo favorável G é muito inferior a do alelo T, no entanto há um número razoável de animais com os genótipos GT e poucos GG (Tabela 3). Os coeficientes de determinação das equações nas análises de variância para Peso ao Nascer, Peso aos 90 dias, Peso ao Desmame, Peso aos 240 dias, Ganho de Peso do Nascimento a Desmama (GPND), Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias (GPD240) e Marmoreio ao Desmame, apresentaram valores médios. Como nos marcadores anteriores, o melhor modelo de análise foi encontrado para o Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias (GPD240), pois explicou 80% dessa variação. Para as outras características o  $R^2$  revelou valores de moderados a baixos. Apesar do potencial para produção de carne citado por Quesada et. al (2001), Amarante (2004) e Pereira

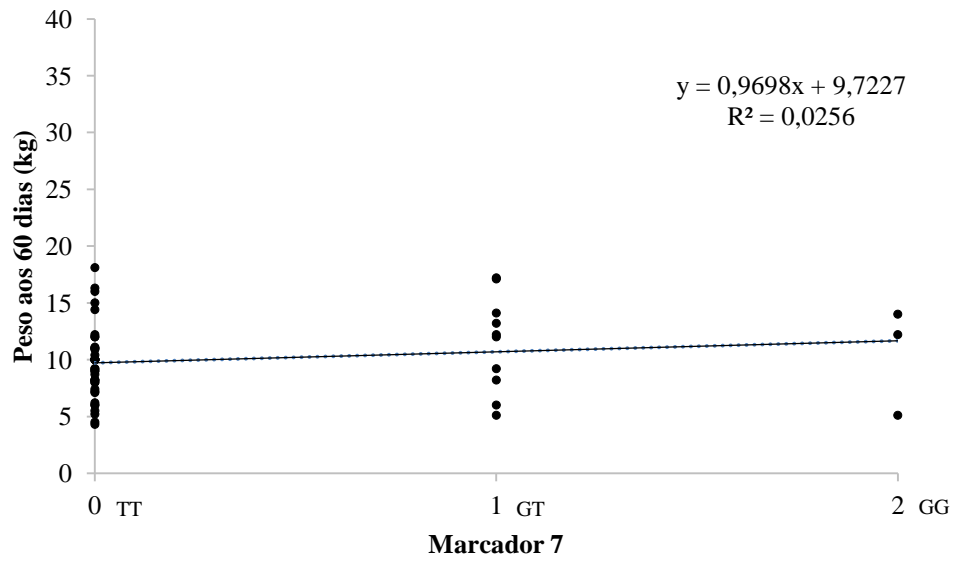
(2008), Bueno et al. (2006) advertiram sobre a necessidade de melhora das características de desempenho e carcaça da raça Santa Inês. Este marcador pode ser utilizado na seleção dos atributos Peso aos 60 dias, Peso aos 90 dias, Peso ao Desmame e Ganho de Peso do Nascimento a Desmama (GPND), visando o melhor desempenho do ovino Santa Inês para essas características.

Tabela 7 - Marcador 7 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês

Característica	Marcador 7			P-ANOVA	R <sup>2</sup>	CV	P-MyoD1
	TT	GT	GG				
Peso ao Nascer (kg)	3,63	3,81	3,69	<.0001	0,61	13,11	0,4658
Peso aos 30 dias (kg)	6,13	6,52	7,88	0,0202	0,40	31,22	0,2541
Peso aos 60 dias (kg)	9,67	11,19	14,16	0,0034	0,47	28,84	0,0210
Peso aos 90 dias (kg)	14,30	16,70	20,93	<.0001	0,59	22,48	0,0027
Peso ao Desmame (kg)	19,04	22,43	28,33	<.0001	0,67	17,27	<.0001
Peso aos 240 dias (kg)	27,33	29,96	32,70	<.0001	0,69	16,28	0,0609
GPND (g/dia)	141,14	169,32	230,58	0,0011	0,53	22,12	<.0001
GPD240 (g/dia)	66,42	59,08	35,19	<.0001	0,80	29,53	0,1407
AOLD (cm <sup>2</sup> )	5,83	6,34	6,91	0,0135	0,44	19,85	0,1320
AOL240 (cm <sup>2</sup> )	6,47	6,75	7,09	0,0334	0,41	20,4	0,4554
EGSD (mm)	0,17	0,18	0,16	0,0471	0,38	18,71	0,3631
EGS240 (mm)	0,18	0,19	0,20	0,0269	0,41	14,76	0,2202
Marmoreio Desmame (escore)	2,04	2,17	1,89	0,0028	0,51	17,72	0,8355
Marmoreio 240 dias (escore)	2,11	2,23	1,94	0,0587	0,37	16,85	0,9326

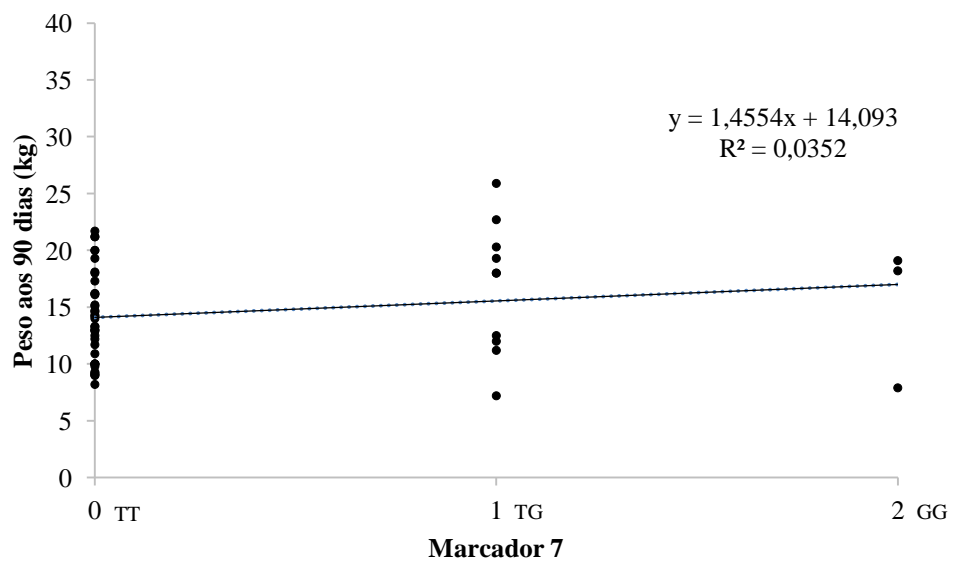
Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento. GPND - Ganho de Peso do Nascimento a Desmama; GPD240 - Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias; AOLD - Área de Olho de Lombo ao Desmame; AOL240 - Área de Olho de Lombo aos 240 dias de idade; EGSD - Espessura de Gordura Subcutânea ao Desmame; EGS240 - Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias de idade.

Figura 2 - Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Peso aos 60 dias de idade



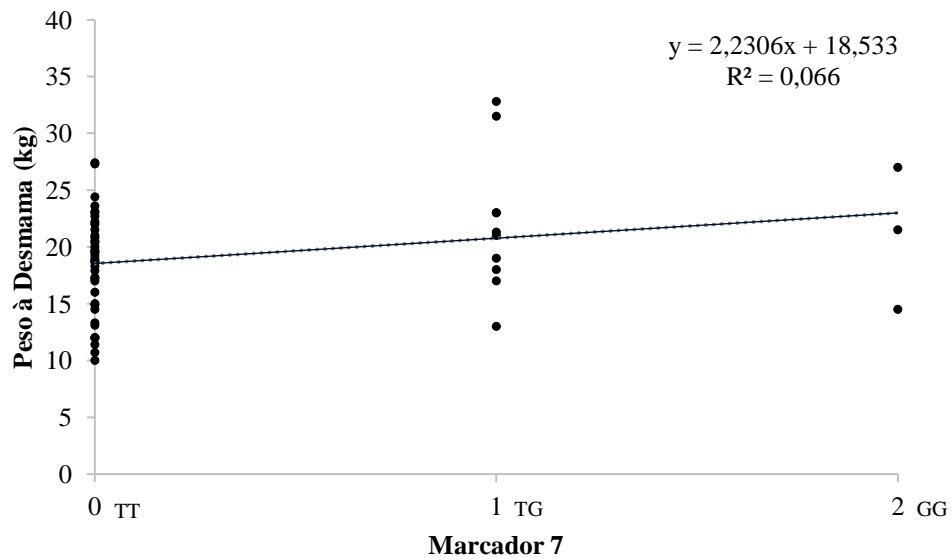
Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento.

Figura 3 - Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Peso aos 90 dias de idade



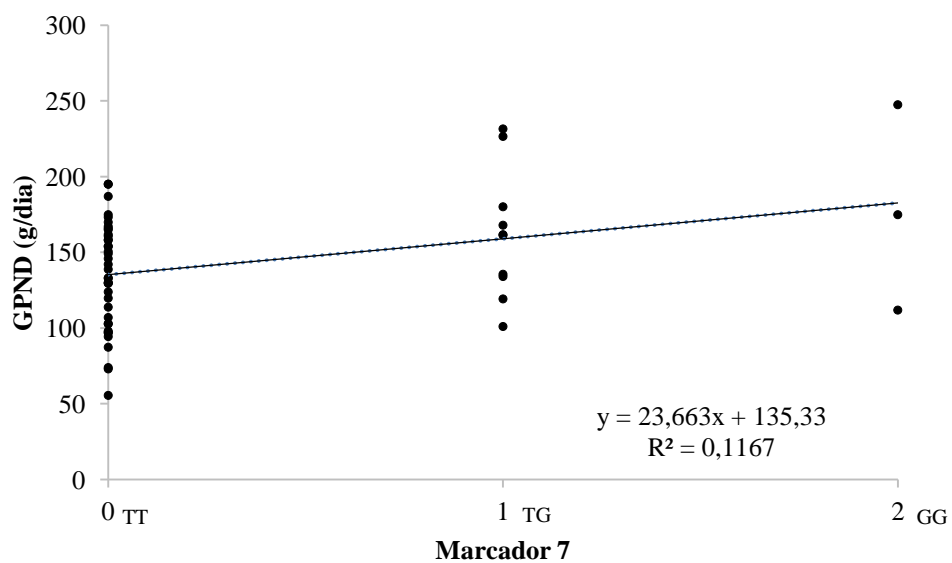
Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento.

Figura 4 - Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Peso ao Desmame



Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento.

Figura 5 - Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 7 sobre o Ganho de Peso do Nascimento ao Desmame (GPND)



Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento.

No Marcador 8, foi identificado um efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para o Marmoreio ao Desmame (Tabela 8), sendo o genótipo GG aquele que teve maior marmoreio. A diferença entre os genótipos extremos foi de 0,41 para essa característica. Na Figura 6 pode-se observar a equação que estima o Marmoreio ao Desmame a partir do número de alelos G no genótipo, para o marcador 8. O efeito de substituição alélica para este marcador foi igual a 0,1920, sendo que os animais AA apresentaram em média 2,0145 de Marmoreio ao Desmame, enquanto os genótipos GA e GG apresentaram 2,2065 e 2,3985, respectivamente. O  $R^2$  neste caso indica que este marcador explica 8,22% da variação total de Marmoreio ao Desmame. Nota-se na Tabela 3 que a frequência do alelo A é mais expressiva do que a do alelo G, apesar disso ocorreu bom número de animais com os genótipos GA e abundância aceitável de animais com o genótipo GG, o que pode facilitar o processo de seleção de animais para aumentar marmoreio. O  $R^2$  das análises de variância para Peso aos 240 dias e Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias (GPD240) exibiram valores expressivos (Tabela 8), indicando um bom ajuste do modelo. Para as outras características o  $R^2$  revelou valores baixos a moderados. Os valores de CV mostraram a necessidade de se aumentar o tamanho da amostra, elevando o poder de detecção dos efeitos de menor magnitude.

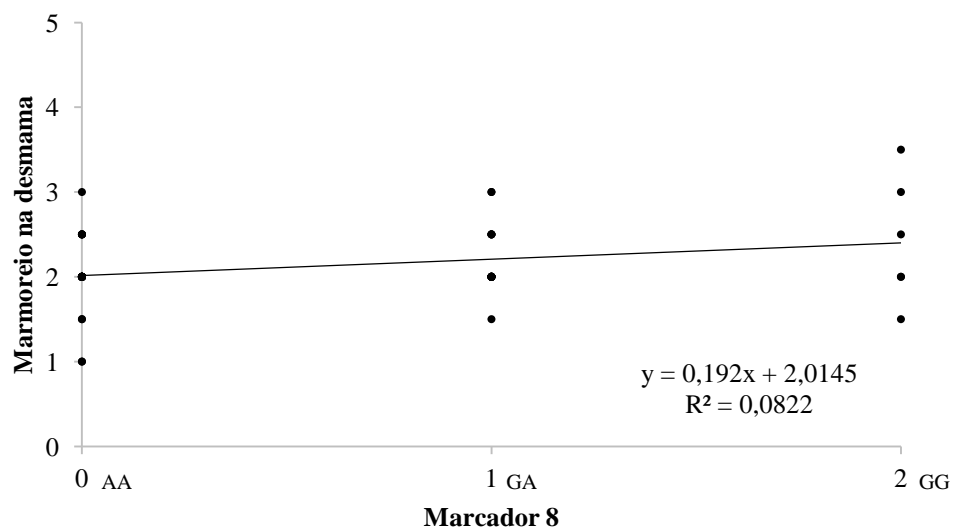
Segundo Sugisawa et al. (2008), o marmoreio representa a quantidade de gordura intramuscular e é um dos fatores responsável pela suculência e sabor da carne. De acordo com Costa et al. (2002), é uma característica que está correlacionada principalmente com a maciez, uma das propriedades organolépticas mais importantes na determinação da qualidade da carne e um dos atributos mais procurados pelos consumidores. Dessa forma a seleção com base neste marcador pode prever conhecimentos proveitosos sobre a qualidade da carne de animais da raça Santa Inês. Para as outras características, não houve efeito deste marcador.

Tabela 8 - Marcador 8 do gene MyoD1 e suas associações com características de desempenho em ovinos da raça Santa Inês

Característica	Marcador 8			P-ANOVA	R <sup>2</sup>	CV	P-MyoD1
	AA	GA	GG				
Peso ao Nascer (kg)	3,65	3,60	4,01	<.0001	0,62	13,06	0,3653
Peso aos 30 dias (kg)	6,34	6,32	6,64	0,0315	0,38	31,72	0,8445
Peso aos 60 dias (kg)	10,16	10,70	10,59	0,0232	0,39	30,77	0,6443
Peso aos 90 dias (kg)	15,15	15,44	16,27	0,0034	0,49	25,17	0,5748
Peso ao Desmame (kg)	20,35	19,91	23,37	0,0020	0,51	20,97	0,3611
Peso aos 240 dias (kg)	27,48	29,25	30,63	<.0001	0,96	16,63	0,1674
GPND (g/dia)	153,35	149,78	175,85	0,1663	0,32	26,59	0,4735
GPD240 (kg)	55,77	73,00	58,21	<.0001	0,79	30,12	0,3853
AOLD (cm <sup>2</sup> )	5,86	6,02	7,15	0,0110	0,45	19,71	0,0920
AOL240 (cm <sup>2</sup> )	6,39	7,00	6,30	0,0351	0,41	20,44	0,5239
EGSD (mm)	0,17	0,16	0,17	0,0574	0,38	18,86	0,6339
EGS240 (mm)	0,19	0,18	0,18	0,0306	0,41	14,84	0,2891
Marmoréio Desmame (escore)	1,96	2,15	2,37	0,0003	0,58	16,39	0,0149
Marmoréio 240 dias (escore)	2,10	2,12	2,27	0,0471	0,39	16,7	0,4090

Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento. GPND - Ganho de Peso do Nascimento a Desmama; GPD240 - Ganho de Peso da Desmama aos 240 dias; AOLD - Área de Olho de Lombo ao Desmame; AOL240 - Área de Olho de Lombo aos 240 dias de idade; EGSD - Espessura de Gordura Subcutânea ao Desmame; EGS240 - Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias de idade.

Figura 6 - Efeito de substituição alélica do efeito do marcador 8 sobre Marmoréio ao Desmame



Fonte: Construído a partir de dados do sequenciamento.

Em síntese, o presente trabalho encontrou importantes resultados de associação, que poderão ser potencialmente utilizados no melhoramento genético da raça Santa Inês. Sequenciou-se 2.428 pb, das quais 1.085 pb foram alinhados ao gene referência. Identificou-se 19 mutações, onde cinco apresentaram boa distribuição dos genótipos e puderam ser utilizadas em testes de associação com características de interesse econômico. Dentre os cinco potenciais marcadores, em dois não foi possível verificar associações para as características estudadas (Marcadores 2 e 5). Para os Marcadores 1, 7 e 8 foram detectadas seis associações com as características de espessura de gordura subcutânea aos 240 dias; pesos aos 60 dias, 90 dias, a desmame e ganho de peso do nascimento ao desmame; e marmoreio ao desmame, respectivamente. O genótipo que proporcionou os maiores valores médios para as características, para os três marcadores, foi o GG, sendo que os alelos mais frequentes foram o G, T e A para os Marcadores 1, 7 e 8, respectivamente. Com exceção para o Marcador 1, os alelos favoráveis para as características supracitadas têm baixa frequência na população estudada, o que indica que a seleção para estes marcadores pode trazer grandes ganhos para a raça Santa Inês.

Até o momento não há relatos de associação do gene MyOD1 com características de interesse econômico em ovinos, bem como identificação de marcadores neste gene para a raça Santa Inês. No entanto, as características aqui estudadas apresentaram elevados coeficientes de variação e os modelos de análise de variância expõem valores de  $R^2$  em muitos casos moderados ou baixos. Com base nessas informações o estudo sugere que um aumento do tamanho da amostra pode ajudar a melhorar os testes de associação, bem como permitir avaliar as 14 mutações que não foram testadas aqui. Além disso, deve-se testar os polimorfismos aqui encontrados sob o gene MyoD1, com outras características de interesse na ovinocultura e que são de difícil mensuração, a exemplo dos rendimentos de carcaça, maciez de carne, coloração da carne, dentre outras.

## 5. CONCLUSÕES

O gene MyoD1 na raça Santa Inês tem 2.428 pb, dos quais 1.085 pb foram alinhados ao gene referência.

Existem 19 mutações nas posições 34368999, 34369043, 34369066, 34370639, 34370797, 34370835, 34370841, 34370843, 34370845, 34370846, 34370848, 34370854, 34370861, 34370863, 34370867, 34370868, 34370870, 34370877, 34370879, em ovinos Santa Inês, quando comparados à sequência do gene referência.

Cinco mutações apresentaram boa distribuição de genótipos: Marcador 1 na posição 34368999, Marcador 2 na posição 34369043, Marcador 5 na posição 34370797, Marcador 7 na posição 34370841 e o Marcador 8 na posição 34370843 e podem ser utilizadas em testes de associação com características de interesse em ovinos Santa Inês.

O Marcador 1 tem efeito sobre Espessura de Gordura Subcutânea aos 240 dias, onde animais com o genótipo GG têm maior espessura de gordura.

O Marcador 7 teve efeito sobre pesos aos 60, 90 dias e a Desmame, além do Ganho de Peso do Nascimento ao Desmame, sendo os animais com genótipo GG aqueles que apresentaram maiores médias de pesos e de ganho de peso pré-desmama.

O Marcador 8 teve efeito significativo para o Marmoreio ao Desmame, onde o genótipo GG foi o que teve maior marmoreio.

Não foram detectados efeitos dos Marcadores 2 e 5 sobre as características aqui estudadas.

As características pesquisadas apresentaram coeficientes de variação elevados e os modelos de análise de variância propostos apresentaram moderados  $R^2$ .



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, A. F. V. Resistência parasitária a helmintos gastrointestinais. In: V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal. 8 e 9 julho de 2004. Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga/SP: Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2004.

ANDRADE, C. M. S.; VALENTIM, J. F.; CAVALCANTE, F. A.; VALLE, L. A. R. **Padrões de desempenho e produtividade animal para a recria-engorda de bovinos de corte no Acre.** Rio Branco: Embrapa Acre, 2005.32 p. il.

ARAÚJO, J. C.; SOUZA, A. V. T.; CARVALHO, E. A. L.; LIMA, A. C. S.; SOUSA, M. A. P.; SILVA, A. G. M.; MORAIS, E. C.; CHAVES, L. C. S. Correlação entre medidas ultrassonográficas e características quantitativas da carcaça de ovinos Santa Inês e mestiços no estado do Pará. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 2014, Vitória-ES. **Anais...** Vitória/ES: A zootecnia fazendo o Brasil crescer, 2014.

AZEVEDO, D. M. M. R.; SILVA, D. C.; PESSOA, R. S.; MOURA JÚNIOR, P. N. **Programa de avaliação genética de ovinos Santa Inês: SANTAGEN.** 2005. Disponível em: <http://www.ufpi.br/subsiteFiles/capriovis/arquivos/files/Artigo%209.pdf> Acessado em: 13/01/2014

BARBOSA, L.; SANTOS, G. B.; FONTES, J. G. G.; SANTOS, T. T. A.; MUNIZ, E. N.; AZEVEDO, H. C.; BACKES, A. A. Estimativa de parâmetros genéticos para a característica peso ao nascer de ovinos da raça Santa Inês utilizando o amostrador de GIBBS. In: ZOOTEC, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia/SP: Zootec, p. 27-27, 2009.

BARROZO, D.; BERNARDI JÚNIOR, N. ; DIAZ, I. P. S. ; HATA, M. E. ; MATTAR, M.; THOLON, P.; QUEIROZ, S. A. Estimativa dos componentes de variância e herdabilidade de pesos pré-desmama em ovinos Santa Inês. In: XXI CONGRESSO

BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 2011, Maceió. **Anais...** Maceió/AL: Inovações tecnológicas e mercado consumidor- anais, 2011.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E.; VERÍSSIMO, C. J. **Santa Inês: uma boa alternativa para a produção intensiva de carne de cordeiros na região Sudeste.** 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em:  
<[http://www.infobibos.com/Artigos/2006\\_2/SantaInes/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/SantaInes/index.htm)>. Acesso em: 31/05/2014

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

CARTAXO, F. Q.; SOUSA, W. H; CABRAL, H. B.; VIANA, J. A.; CÉZAR, M. F.; SOARES, A. T.; FREITAS. F. F. Avaliação de carcaça em caprinos e ovinos em tempo real por ultrassonografia. Uma revisão de literatura. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 5, p. 51-55, 2011.

CARVALHO, G. C.; BARBOSA, L. T.; OLIVEIRA, T. M.; FONSECA, F. E. P.; MUNIZ, E. N.; AZEVEDO, H. C. Estimação de parâmetros genéticos de ovinos da raça Santa Inês utilizando modelos uni e bicaracterística. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.1, p.111-116, jan, 2014.

CARVALHO, M. C. C. G.; SILVA, D. C. G. Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 735-744, 2010.

CASTRO, F. A. B; RIBEIRO, E. L. A.; KORITIAKI, N. A.; MIZUBUTI, I. Y.; SILVA, L. D. F.; PEREIRA, E. S.; PINTO, A. P.; CONSTANTINO, C.; FERNANDES JUNIOR, F. Desempenho de cordeiros Santa Inês do nascimento ao desmame filhos de ovelhas alimentadas com diferentes níveis de energia. *Semina*. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3379-3388, 2012.

COSTA, N. G. A. **Cadeia produtiva de carne ovina no Brasil, rumo às novas formas de organização da produção** / Nívia Guimarães da Costa; orientação de Josemar Xavier de Medeiros. – Brasília, 2007. 182 p.: II Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2007.

COSTA R. G.; ANDRADE M.G. L. P.; MEDEIROS G. R.; AZEVEDO P. S.; MEDEIROS, A. N.; PINTO, T. F.; SOARES J. N.; SUASSUNA J. M. A. Características de carcaça de ovinos Santa Inês e Morada Nova abatidos com diferentes pesos. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal**. 231-234, 2011.

COUTINHO, H. D. M.; NETO, V. M.; VERDE, L. C. L. Técnicas com Marcadores Moleculares Usadas nas Ciências da Saúde. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. Volume 10, Número 2, Páginas 177-188, 2006.

COUTINHO, L. L.; ROSARIO, M. F. JORGE, E. C. Biotecnologia animal. **Estudos avançados**. [online]. Vol.24, n.70, pp. 123-147. 2010. Disponível em : [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-40142010000300009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000300009)  
Acesso em: 25/11/2013

CUENCA, M. A. G.; MARTINS, E. C.; SANTOS, A. S.; MUNIZ, E. N.; SANTOS, R. P. C.; GONZÁLES, E. O. **Caracterização do consumo das carnes caprina e ovina na cidade de Salvador** / Manuel Alberto Gutiérrez Cuenca. ... [et al.]. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 21 p. : il. color. 2008.

CUNHA, M. G. G.; CARVALHO, F. F. R.; GONZAGA NETO, SEVERINO; CEZAR, M. F. Características quantitativas de carcaça de ovinos Santa Inês confinados alimentados com rações contendo diferentes níveis de caroço de algodão integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, Viçosa, 2008.

FACÓ, O.; PAIVA, S. R.; ALVES, L. R. N.; LÔBO, R. N. B.; VILLELA, L. C. V. **Raça Morada Nova: origem, características e perspectivas**. Embrapa Caprinos, Sobral – CE, 43 p. 2008.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction of quantitative genetics**. 4<sup>th</sup> ed. New York: Longman, 464 p, 1996.

FARIA, L. C. **Estudo genético quantitativo das características produtivas e reprodutivas na raça Brahman** / Lydio Cosac de Faria – Jaboticabal, 2006.  
nº f: il. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 2006.

FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P.; REZENDE, F. M. Seleção genômica aplicada ao melhoramento animal: desafios atuais e expectativas futuras do criador. SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL – SBMA. In: IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. 20-22 de junho de 2012, João Pessoa, PB, Brasil. **Anais...** João Pessoa/PB: SBMA, 2012.

FREITAS, D. C.; OLIVEIRA, G. J. C.; JAEGER, S. M. P.; LEDO, C. A. S.; TORRES, P. E. L. V.; SANTANA, P. F. A.; ALMEIDA, D. C. Desempenho de cordeiros deslanados terminados em confinamento e em pastagem no Litoral Norte da Bahia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 709-715, 2007.

GABRIEL, J. E. ALVES, H. J.; ALVARES, L. E.; SCHIMIDT, G. S. ; COUTINHO, L. L. In situ detection of transcripts from the myogenic factor MyoD in whole chicken embryos. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 145-148, 2000.

GARCIA, I. F. F.; PEREZ, J. R. O.; TEIXEIRA, J. C.; BARBOSA, C. M. P. Desempenho de Cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês Puros, Terminados em Confinamento, Alimentados com Casca de Café como Parte da Dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29(2):564-572, 2000.

GERASEEV, L. C.; PEREZ, J. R. O.; CARVALHO, P. A.; PEDREIRA, B. C.; ALMEIDA, T. R. V. Efeitos das restrições pré e pós-natal sobre o crescimento e desempenho de cordeiros Santa Inês do desmame ao abate. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.237-244, 2006.

HUYNEN, L.; BASS, J.; GARDNER, R. C.; BELLAMY, A. R. Nucleotide sequence of the sheep MyoD1 gene. **Nucleic Acids Research**, Vol. 20, No. 2. 1991.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em:

[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil\\_2006/Brasil\\_censoagro2006.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf). Acesso em 28/05/2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária**

**Municipal 2012**. Rio de Janeiro, v. 40, p.1-71, 2012. ISSN 0101-4234. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Producao\\_da\\_Pecuaria\\_Municipal/2012/ppm2012.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2012/ppm2012.pdf). Acessado em: 13/01/2014.

JUCÁ, A. F. **Características de desenvolvimento, morfologia e carcaça em ovinos Santa Inês** / Adriana de Farias Jucá. - 2013. 97 f.: il. Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2013.

JUCÁ, A. F. ; PINTO, L. F. B. ; MOITA, A. K. F. ; DEL REY, M. C. ; MELO FILHO, G. M. ; PINHEIRO, P. M. ; STELAMARES, A.; AZEVEDO, H. C. Correlações entre medidas morfométricas e peso vivo em ovinos santa inês a desmama. In: ZOOTECA, 2011, Maceió. **Anais...** Maceio/AL: ZOOTECA 2011 - Inovações tecnológicas e mercado consumidor, 2011.

KAPELAŃSKI, W.; GRAJEWSKA, S.; KURYŁ, J.; BOCIAN, M.; WYSZYŃSKA-KOKO, J.; URBAŃSKI, P. Polymorphism in Coding and Non-coding Regions of the MyoD Gene Family and Meat Quality in Pigs. **Folia biologica** (Kraków), vol. 53, Supplement. 2005.

LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2.

**Nature methods**, London, v. 4, n. 6, p. 357-359, 2012.

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.; HERLING, V. R.

Caracterização genética de raças nativas e comerciais de ovinos com base em SNPs no gene Leptina. **Actas Ibero Americanas de Conservación Animal**. 215-219, 2012.

LEEDS, T. D.; MOUSEL, M. R.; NOTTER, D. R.; ZERBY, H. N.; MOFFET, C. A.; LEWIS, G. S. B-mode, real-time ultrasound for estimating carcass measures in live sheep: Accuracy of ultrasound measures and their relationships with carcass yield and value. **Journal of Animal Science**. Nov;86(11):3203-14. 2008.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2006.

LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH, G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R.; 1000 GENOME PROJECT DATA PROCESSING SUBGROUP. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, Oxford ,v. 25, n. 16, p. 2078–2079, 2009.

LIMA, S. C. **A Estimulação elétrica na expressão gênica do MyoD, miostatina e atrogina-1 do músculo gastrocnêmio desnervado de ratos**. Piracicaba, 2007. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Metodista de Piracicaba. 2007

LÔBO, R. N. B. Programa de Melhoramento de Pequenos Ruminantes no Brasil. In: V Semana da Caprinocultura e Ovinocultura Brasileiras, 2006, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande/MS: V Semana da Caprinocultura e Ovinocultura Brasileiras, 2006.

LÔBO, R. N. B. Melhoramento Genético de Ovinos e Caprinos. In: Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia - AMAZONPEC, 2008, Belém. Anais do I Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia - AMAZONPEC. **Anais...** Belém: Amazonpec - Instituto Frutal, v. 1. p. 1-22. 2008.

MASCIOLI, A. S.; MOURA NETO, J. B.; PEREIRA, L. G. R.; YAMAMOTO, S. M.; ARAGÃO, A. S. L.; CHIZZOTTI, M. L.; MENEZES, D. R.; LISBOA NETO, A. S.; BARBOSA, L. D.; SILVA, T. S.; LIMA, S. S. Pesos e rendimentos de carcaça de

ovinos Santa Inês alimentados com farelo do fruto da manga em substituição ao farelo de milho. In: Zootec 2009, 2009, Águas de Lindóia - SP. **Anais...** Águas de Lindóia/SP: Zootec, 2009.

MARCHESIN, M. L. **Análise da expressão gênica de MyoD, MRF4, Miogenina e Miostatina nos músculos Bíceps femoris e Gastrocnemius lateralis em duas linhagens de Gallus gallus (corte e postura)**. Rio Claro-SP, 2008. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 2008.

MARTINS, E. C.; CUENCA, M. A. G.; SANTOS, A. S.; MUNIZ, E. N.; SANTOS, R. P. C.; GONZÁLES, E. O. **Caracterização do consumo das carnes caprina e ovina em Alagoas** / Espedito Cezário Martins. ...[et al.]. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2008. 23 p. : il. color. 2008.

MCDONALD, J. H.; KREITMAN, M. Adaptive Protein Evolution at the Adh Locus in *Drosophila*. **Nature**; Jun 20, 1991.

MCMANUS, C.; PAIM, T. P.; LOUVANDINI, H.; DALLAGO, B. S. L.; DIAS, L.T.; TEIXEIRA, R. A. Avaliação ultrasonográfica da qualidade de carcaça de ovinos Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, n.1, p. 8-16, jan./mar. 2013.

MEXIA, A. A.; MACEDO, F. A. F.; MACEDO, R. M. G.; SAKAGUTI, E. S.; SANTELLO, G. A.; CAPOVILLA, L. C. T.; ZUNDT, M.; SASA, A. Desempenho e características das fibras musculares esqueléticas de cordeiros nascidos de ovelhas que receberam suplementação alimentar em diferentes períodos da gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1780-1787, 2006.

MORAIS, O. R. Melhoramento Genético dos Ovinos no Brasil: situação e perspectivas. In: III Simpósio Nacional de Melhoramento Animal, 2000, Belo Horizonte. Anais do III Simpósio Nacional de Melhoramento Animal. **Anais...** Belo Horizonte: FEPMVZ, p. 266-272. 2000.

MORENO, G. M. B.; SILVA SOBRINHO, A. G.; LEÃO, A. G.; OLIVEIRA, R. V.; YOKOO, M. J. I.; SOUSA JÚNIOR, S. C.; PEREZ, H. L. Características morfológicas “in vivo” e da carcaça de cordeiros terminados em confinamento e suas correlações.

**Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.3, p. 888/902 jul/set, 2010

NG, C. P.; HENIKOFF, S. SIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. **Nucleic Acids Research**. vol. 31, n. 13, p. 3812-3814, 2003.

OLIVEIRA, L. S.; BOMFIM, M. A. D; BARROS, N. N.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. S. C.; COSTA H. H. A.; CARVALHO, R. S. Desempenho de cordeiros de três grupos genéticos terminados em confinamento. In: III simpósio internacional sobre caprinos e ovinos de corte. João Pessoa, Paraíba, Brasil. 05 a 10 de novembro de 2007a. **Anais...** João Pessoa/PB: III simpósio internacional sobre caprinos e ovinos de corte. 2007a.

OLIVEIRA, M. C. S.; REGITANO, L. C. A.; ROESE, A. D.; ANTHONISEN, D. G.; PATROCÍNIO, E.; PARMA, M. M.; SCAGLIUSE, S. M. M.; TIMÓTEO, W. H. B.; JARDIM, S. N. **Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase**. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste, 2007b.

PAIVA, S. R.; SILVÉRIO, V. C. ; EGITO, A. A.; PIMENTEL, C. M. M.; FARIA, D. A.; MARIANTE, A. S. ; CASTRO, S. T. R.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; DERGAM, J. A. Caracterização Genética da Raça Santa Inês. In: 2nd International Symposium on sheep and goat production, 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa/PB: Segundo Sincorte. João Pessoa: Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba, v. Único. p. 487-499. 2003.

PAIVA, S. R.; FARIA, D. A.; SILVÉRIO, V. C. ; MCMANUS, C. M. ; OLIVEIRA, A. A. ; DERGAM, J. A.; GUIMARÃES, S. E. F.; PEREIRA, M. S.; EGITO, A. A. ; AZEVEDO, H. C.; LÔBO, R. N. B.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; CASTRO, S. T. R.; MARIANTE, A. S. Aplicação de marcadores moleculares na conservação e



melhoramento de um rebanho da raça Santa Inês. In: 42 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005, Goiânia-GO. **Anais...** Goiânia/GO: 42 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005.

PAIVA, S. R. ; LÔBO A. M. B. O. ; ARAÚJO A. R. ; MCMANUS, C. M.; LÔBO, R. N. B. Prospecção de marcadores SNP nos genes GHR, GHRHR e IGF em ovinos de corte. In: VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 2008, São Carlos-SP. **Anais...** São Carlos/SP: VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. São Carlos, v. único. p. 1-4. 2008.

PAIVA, S. R. ; MARIANTE, A. D. S. ; BLACKBURN, H. D. Combining US and Brazilian Microsatellite Data for a Meta-Analysis of Sheep (*Ovis aries*) Breed Diversity: Facilitating the FAO Global Plan of Action for Conserving Animal Genetic Resources. **Journal of Heredity**, v. 102, p. 697-704, 2011.

PARISET, L.; CAPPUCCIO, I.; AJMONE-MARSAN, P.; BRUFORD, M.; DUNNER, S.; CORTES, O.; ERHARDT, G.; PRINZENBERG, E. M.; GUTSCHER, K.; JOOST, S.; PINTO-JUMA, G.; NIJMAN, I. J.; LENSTRA, J. A.; PEREZ, T. Characterization of 37 Breed-Specific Single-Nucleotide Polymorphisms in Sheep. **Journal of Heredity**, v.97, p.531–534, 2006.

POLIDO, P. B.; FERREIRA, F. G.; ALBERTON, O.; SOUZA, S. G. H. Marcadores moleculares aplicados no melhoramento genético de bovinos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. Umuarama, v. 15, n. 2, p. 161-169, jul./dez. 2012.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal** / Jonas Carlos Campos Pereira. 5. ed. Belo Horizonte. FEPMVZ Editora, 617p.: il. 2008.

PETROLI, C. D.; PAIVA, S. R.; CORREA, M. P. C.; MCMANUS, C. Genetic monitoring of a Santa Ines herd using microsatellite markers near or linked to the sheep MHC. **Revista Brasileira de Zootecnia** [online]. vol.38, n.4, pp. 2009.

QUESADA, M.; MCMANUS, C.; D'ARAÚJO COUTO, F. A. Tolerância ao Calor de Duas Raças de Ovinos Deslanados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30(3):1021-1026, 2001.

QUESADA, M.; MCMANUS, C.; D'ARAÚJO COUTO, F. A. Efeitos genéticos e fenotípicos sobre características de produção e reprodução de ovinos deslanados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.342-349, 2002.

REGITANO, L. C. A.; COUTINHO, L. L. **Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 215 p. 2001.

REGITANO, L. C. A.; VENERONI, G. B. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento animal. In: II Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal – 22 e 23 de junho de 2009. Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos – SP – Brasil. **Anais... II Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**, 2009.

ROCHA, S. S. N.; SILVA, D. M. F.; LEAL, C. A. S.; ROCHA, M. N.; OLIVEIRA, A. E. T.; ADRIÃO, M.; WISCHRAL, A. Caracterização Gênica de Ovinos Nativos da Raça Santa Inês, para o Gene da BMP-15. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2009, Recife. **Anais... IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2009.

SAINZ, R. D.; ARAÚJO, F. R. C. Uso de tecnologias de ultra-som no melhoramento do produto final carne. In: 5º Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas, 2002, Uberaba-MG. **Anais... Uberaba: 5º Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas**. 2002.

SANTOS, T. T. A. ; SANTOS, G. B ; FONTES, J. G. G. ; AZEVEDO, H. C. ; MUNIZ, E. N. ; BARBOSA, L. ; BACKES, A. A . Estimção de parâmetros genéticos para característica peso aos 90 dias de ovinos da raça Santa Inês utilizando amostrador de GIBBS. In: Zootec, 2009, Águas de Lindóia. **Anais... Águas de Lindóia: Zootec**, 2009.

SANTOS, D. C.; COSTA, M. D.; SILVA, F. V.; ROCHA JUNIOR, V. R ; CARVALHO, Z. G.; TOLENTINO, D. C.; LEITE, J. R. A. Desempenho ponderal de

cordeiros Santa Inês e F1 Dorper x Santa Inês em pastagens naturais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, p. 237-243, 2012.

SCHIERHOLT, A. S.; FONSECA, I.; SILVA, P. V.; PAIVA, S. R.; CHAVES, L. C. S.; LOPES, P. S.; FARIA, D. A.; GUIMARÃES, S. E. F. Análise filogenética do gene da miogenina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.156-162, 2008.

SILVA, M. D. P.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.21-31, 2007.

SILVA, B. D. M.; CASTRO, E. A.; SOUZA, C. J. H.; PAIVA, S. R.; SARTORI, R.; FRANCO, M. M. ;AZEVEDO, H. C.; SILVA, T. A. S. N.; VIEIRA, A. M. C.; NEVES, J. P.; MELO, E. O. A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. **Animal Genetics** (Print), 2010.

SILVA, A. F. **Desempenho produtivo e reprodutivo de borregas Santa Inês e seus cruzamentos com Dorper, Texel e Ile de France no Distrito Federal**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 68p. Tese de Doutorado. 2012.

SOUSA, J. E. R.; OLIVEIRA, S. M. P.; LÔBO, R. N. B. ; LIMA, F. A. M.; FERREIRA, I. C.; CÔRREA, G. S. S.; FRIDRICH, A. B. Parâmetros genéticos e fenotípicos de características ponderais em ovinos da raça Santa Inês. In: XXXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 1-4. 2004.

SOUSA, J. E. R.; OLIVEIRA, S. M. P.; LIMA, F. A. M.; SILVA, F. L. R.; SILVA, M. A. Efeitos genéticos e de ambiente para características de crescimento em ovinos Santa Inês no Estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**. v.37, n.3, p.364-368, 2006.

SOUZA, C. A. **Investigação de polimorfismos nos genes dos fatores miogênicos e miostatina como marcadores moleculares para características quantitativas em Gallus gallus** / Carla dos Anjos de Souza. – Piracicaba, 2004. 108 p. : il. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.

SOUZA, C. A.; PAIVA, S.R.; MCMANUS, C. M.; AZEVEDO H. C.; MARIANTE, A.S.; GRATTAPAGLIA, D. Genetic diversity and assessment of 23 microsatellite markers for parentage testing of Santa Inês hair sheep in Brazil. **Genetics and Molecular Research** 11 (2): 1217-1229 (2012).

SUGUISAWA, L.; VARGAS JUNIOR, F. M. ; MARQUES, A. C. W. ; BARDI, A. E. ; MARTINS, C. F.; PINTO, G. S.; NOGUEIRA, L. M. L. Características de carcaça e Qualidade de Carne por Ultra-sonografia em Ovinos confinados. In: Zootec 2008 - X Congresso Internacional de Zootecnia, 2008, João Pessoa/PB. **Anais...** João Pessoa: Zootec 2008 - X Congresso Internacional de Zootecnia, 2008.

VIANA, J. G. A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Ano 4, N° 12, Porto Alegre, Março, 2008.

WANG, D. G.; FAN, J. B.; SIAO, C. J.; BERNO, A.; YOUNG, P.; SAPOLSKY, R.; GHANDOUR, G.; PERKINS, N.; WINCHESTER, E.; SPENCER, J.; KRUGLYAK, L.; STEIN, L.; HSIE, L.; TOPALOGLOU, T.; HUBBELL, E.; ROBINSON, E.; MITTMANN, M.; MORRIS, M. S.; SHEN, N.; KILBURN, D.; RIOUX, J.; NUSBAUM, C.; ROZEN, S.; HUDSON, T. J.; LIPSHUTZ, R.; CHEE, M. S.; LANDER, E. S. Largescale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. **Science**. p. 1077-1082, 1998.

YOKOO, M. J. **Estimativas de efeitos genéticos e ambientais para características de carcaça medidas pelo ultra-som em bovinos da raça Nelore** / Marcos Jun Iti Yokoo. – – Jaboicabal, 2005. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2005.

YOKOO, M. J.; MAGNABOSCO, C. U.; SAINZ R. D.; FARIA, C. U.; ARAUJO F. R. C.; ROSA, G. J. M.; CARDOSO, F. F.; ALBUQUERQUE, L. G. **Avaliação genética de características de carcaça utilizando a técnica do ultrassom em bovinos de corte.** Bagé: Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul, 2011.

ZHBANNIKOV, I. Y.; HUNTER, S. S.; SETTLES, M. L. **Seqclean user manual.** Disponível em: <[http:// http://sourceforge.net/projects/seqclean/files/](http://sourceforge.net/projects/seqclean/files/)>. Acesso em: 28/05/2014.

**ANEXO**

**Sequência do gene MyoD1 ovino  
(NCBI, Gene ID: 443405 (*Ovis aries*))**

Sequência do gene do presente estudo (animal 29) em Forward.  
Posição no NCBI : 34368821-34371231

CCGTATAAACATACAAAGTCCTGTCGCACCGCACACCATGCCTCAGAGATAAATACAGCCCGAGGGG  
CTCCTGCTCTGGCAAAGCAACTCTTATTTACAGGAATAGATTACAAAAGTATTACAAAAAGTGGTCCTG  
AACCGGGGGTGGGGGTTGGGGGTGGGAGTGGTTACCGTTACACCTGTAAACACTTGGGAAGGGAGCG  
GCGGGAAACAGCTGAAGTCACCAGGGGGCTCCGGAACGGAGGGGCACGCCCTGTAAGCGGTCGGGG  
GTCTTGGGGCGGGGCTTAGGCNN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
NN  
ACGAGAGCTGCCCGCACTTCTCTAGCCCAGGGTCTGGCCTTAC  
ATGCCGTCGGAACAGTTGGAGCGCGGACTGGAAGCGTCCGAGTCGCCGCTGTAGTGTTCGCCGCTGCG  
GCCGGGGGCAACGGGCCAGGCGCGTAAAAGGCAGCGGCAGCGCCGGGAGGCAGCGCGTCTGGTTCG  
CGAAGCAGCGCCTGCAGGCCTTCGATATAGCGGATTGCGTTGCGCAGGATCTCCACCTTGGGCAGCCGC  
TGGTTTGGGTTGCTAGACGTGCAGCGTTTGCAGCGTCTCGAAGGCCTCGTTGACTTTGCTCARGCGGCGC  
CGCTCGCGCATGGTAGCAGCCTTGCAGCGGTTCGGCGTTRGTGCTCTTGGCGTTGCACGCTTGCAG  
CCCCAGTAAACAGCGGCCGGNNNNNNNGCCCGGGGCCGGGTGCGCCGCTGCAGGGAAGTGCGAGTG  
TTCCTCCGGCTTCAAGAGCGCGCCACGTGCACGAGGCGCGGATCCAGGTCTCGAAGAAGCGCAGAT  
CCGGGGAGTCGAAACACGGGTCATCATAGAAGTCATCCGCTGTTGCAAAGTTGCAGAGAGAGCCGTGC  
GGGCCCGTCAAGTCTACGTCCGGAGCGGCGGACAGCAGCTCCATATCCCGCGTGGGGCGGCGCG  
GTCCTGGCTTTCAGCCAGCTCAGCGGCAGCGGCAGGGGTTGCCAGAACTTACTGCGGTTCTGGAGCCC  
CGGCAATGAGAGAGCAAAGCACTGAGG

**Legenda:** R – Característica heterozigótica que tem os genótipos AG ou GA; Nucleotídeos marcados na cor amarela são as posições dos exons 1 e 2, respectivamente; Nucleotídeos marcados na cor vermelha são os polimorfismos encontrados.