

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS

**POLIMORFISMOS NOS GENES *MYOD1*, *MYF5*, *MYF6*,
MYOG E *MSTN* E SEUS EFEITOS SOBRE QUALIDADE DE
CARNE EM OVINOS SANTA INÊS**

LUIS PAULO BATISTA SOUSA JUNIOR

Salvador-BA
2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS

**POLIMORFISMOS NOS GENES *MYOD1*, *MYF5*, *MYF6*,
MYOG E *MSTN* E SEUS EFEITOS SOBRE QUALIDADE DE
CARNE EM OVINOS SANTA INÊS**

LUIS PAULO BATISTA SOUSA JUNIOR

Zootecnista

Salvador-BA
2017

LUIS PAULO BATISTA SOUSA JUNIOR

**POLIMORFISMOS NOS GENES *MYOD1*, *MYF5*, *MYF6*, *MYOG*
E *MSTN* E SEUS EFEITOS SOBRE QUALIDADE DE CARNE
EM OVINOS SANTA INÊS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Luís Fernando Batista Pinto

**Salvador-BA
2017**

Ficha catalográfica

Ficha catalográfica elaborada pelo sistema Universitário de Bibliotecas
(SIBI – UFBA)

S725 Sousa Junior, Luis Paulo Batista
Polimorfismos nos genes MYOD1, MYF5, MYF6, MYOG e
MSTN e seus efeitos sobre qualidade de carne em ovinos Santa
Inês / Luis Paulo Batista Sousa Junior. — Salvador, 2017
93 f.
Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Batista Pinto.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal nos Trópicos) -- Universidade Federal da Bahia,
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2017.

1. Biotecnologia. 2. Genética. 3. Ovinos. I. Pinto, Luis
Fernando Batista II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU: 601.2

Polimorfismos nos genes MYOD1, MYF5, MYF6, MYOG e MSTN e seus efeitos sobre qualidade de carne em ovinos Santa Inês

Luis Paulo Batista Sousa Junior

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em
Ciência Animal nos Trópicos

Salvador, 28 de novembro de 2017

Comissão examinadora:

Raphael Bernal Costa

Dr. Raphael Bernal Costa
UFBA

[Signature]

Dr. Gerson Barreto Mourão
USP

Gregório Miguel Ferreira de Camargo

Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo
UFBA

[Signature]

Dr. Luis Fernando Batista Pinto
Orientador
UFBA

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.”
(Louis Pasteur)

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Luis e Lourdes, e minha noiva, Amanda, pelo amor e carinho entregues a mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder virtudes, as quais me proporcionaram concluir esse trabalho com êxito e por sempre se manifestar presente em minha vida;

Aos meus pais por me formar, sustentar e amar de maneira que sempre saberei que possuo esse porto seguro;

A Amanda, minha companheira que sempre me incentivou e acreditou em mim;

Ao professor Luís Fernando, meu orientador, que proporcionou e compartilhou o conhecimento necessário à realização desse trabalho de forma tão proveitosa;

Aos professores Raphael, Gregório e Thereza, que contribuíram com a melhora do mesmo;

Aos colegas e amigos de pós-graduação, em especial a Ariana e Alessandro, pois estiveram sempre à disposição e contribuíram de forma decisiva para o seu desenvolvimento;

Ao Programa da Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos, por proporcionar a oportunidade de desenvolvimento intelectual;

As instituições parceiras, em especial a Embrapa Tabuleiros Costeiros e ao Laboratório de biotecnologia animal da ESALQ, pelo auxílio à execução desse trabalho;

E a todos colegas, estagiários, PIBICs e funcionários que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO GERAL

SOUSA JUNIOR, L. P. B.. **Polimorfismos nos genes MYOD1, MYF5, MYF6, MYOG e MSTN e seus efeitos sobre qualidade de carne em ovinos Santa Inês**. 2017. 93p. Dissertação (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2017.

O objetivo desta pesquisa foi identificar, em até 192 ovinos Santa Inês, polimorfismos nos genes *MyoD1* (Diferenciador Mio gênico 1), *MyoG* (Miogenina), *MyF5* (Fator Mio gênico 5), *MyF6* (Fator Mio gênico 6) e *MSTN* (Miostatina) e verificar se estão associados a características que evidenciam qualidade de carne. Amostras do músculo *Longissimus* de cada animal foram avaliadas para pH pós-abate (pH0) e 24 horas pós-abate (pH24), intensidades de luminosidade (L*), vermelho (a*) e amarelo (b*), capacidade de retenção de água (CRA) e força de cisalhamento da carne. Amostras de DNA foram extraídas e procedeu-se o sequenciamento de fragmentos contendo 2.493, 1.836, 2.813, 1.126 e 2.380 pb nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN*, respectivamente. Nas regiões sequenciadas foram identificados 59, 24, 51, 4 e 10 polimorfismos, respectivamente. Do total de 148 polimorfismos identificados, 46 SNP apresentaram distribuição de frequência que permitiu utilizá-los para estimar efeitos aditivo e de dominância, sendo 19 no *MyoD1*, 11 no *MyoG*, 10 no *MyF5*, 3 no *MyF6* e 3 no *MSTN*. Os SNPs *g.34302419T>G* e *g.34303049G>T* do gene *MyoD1*, *g.197088C>T*, *g.197660G>A*, *g.197710A>G* e *g.197845C>G* do gene *MyoG*, *g.116445837T>G* do gene *MyF6* e *g.118141035G>A* do gene *MSTN* apresentaram ao menos efeito aditivo sugestivo ($P < 0,05$) para as características aqui analisadas. Os SNPs *g.34302419T>G* no *MyoD1* e *g.197088C>T* no *MyoG* apresentaram efeito significativo ao nível da correção de Bonferroni para força de cisalhamento e a*, respectivamente. Além disso, alguns efeitos de haplótipos foram significativos. Portanto, polimorfismos na família *MyoD* e no gene *MSTN* podem fornecer informações úteis para seleção assistida por marcadores em ovinos da raça Santa Inês, visando a melhoria da qualidade de carne.

Palavras-chave: biotecnologia, genética, marcadores moleculares, melhoramento animal, sequenciamento

ABSTRACT

SOUSA JUNIOR, L. P. B.. **Polymorphisms in the *MYOD1*, *MYF5*, *MYF6*, *MYOG* and *MSTN* genes and their effects on meat quality in Santa Inês sheep.** 2017. 93p. Dissertação (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2017.

This study aimed to identify polymorphisms in the *MyoD1* (*MyoGenic* differentiation 1), *MyoG* (*Myogenin*), *MyF5* (*MyoGenic* factor 5), *MyF6* (*MyoGenic* factor 6) and *MSTN* (*myostatin*) genes and testing association with meat quality traits in 192 Santa Ines sheep. Samples of Longissimos muscle of each animal were evaluated for pH post-slaughter (pH0) and pH 24 hours post-slaughter (pH24), luminosity (L*), red (a*) and yellow (b*) Minolta parameters, water holding capacity (WHC) and meat shear force. DNA samples were extracted and sequencing of fragments containing 2,493, 1,836, 2,813, 1,126, and 2,380 bp in the *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* and *MSTN* genes, respectively. In the sequenced regions 59, 24, 51, 4 and 10 polymorphisms were identified, respectively. For 46 polymorphisms was possible to estimate additive and dominance effects in association studies (19 in *MyoD1*, 11 in *MyoG*, 10 in *MyF5*, 3 in *MyF6* and 3 in *MSTN*). The SNPs *g.34302419T>G* and *g.34303049G>T* (*MyoD1*), *g.197088C>T*, *g.197660G>A*, *g.197710A>G* and *g.197845C>G* (*MyoG*), *g.116445837T>G* (*MyF6*), and *g.118141035G>A* (*MSTN*) had at least suggestive additive effect ($P < 0.05$) for the meat traits. The SNPs *g.34302419T>G* (*MyoD1*) and *g.197088C>T* (*MyoG*) had significant effect at the Bonferroni level for shear force and a*, respectively. In addition, some haplotype effects were found. Therefore, polymorphisms in the *MyoD* family genes and in *MSTN* gene can provide useful information in the marker-assisted selection of Santa Ines sheep to improve meat quality traits.

Key words: animal breeding, biotechnology, genetics, molecular markers, sequencing

LISTA DE TABELAS

Referencial Teórico

	Página
Tabela 1. Valores médios de pH na carcaça de ovinos Santa Inês no momento do abate (pH0) e 24 horas pós abate (pH24).....	24
Tabela 2. Valores médios para atributos luminosidade (L*) e intensidades de vermelho (a*) e amarelo (b*) no músculo <i>Longissimus</i> de ovinos Santa Inês.....	26
Tabela 3. Valores médios da força de cisalhamento (kgf) no músculo <i>Longissimus</i> em ovinos Santa Inês.....	27
Tabela 4. Valores médios de capacidade de retenção de água (CRA) no músculo <i>Longissimus</i> em ovinos Santa Inês.....	28

CAPÍTULO 1: Polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* em ovinos Santa Inês

	Página
Tabela 1. <i>Primers forward</i> (F) e <i>reverse</i> (R) utilizados, tamanho do fragmento amplificado (pb) e sua localização no genoma ovino.....	42
Tabela 2. Temperaturas e tempos utilizados nas reações de PCR em cada um dos genes estudados em ovinos Santa Inês.....	43
Tabela 3. Resumo dos polimorfismos encontrados nos genes da família <i>MyoD</i> e <i>MSTN</i> em ovinos Santa Inês.....	45

CAPÍTULO 2: Genes envolvidos na miogênese influenciam cor, maciez e ph da carne de ovinos Santa Inês

	Página
Tabela 1. Tamanho amostral (N), mínimo, média, máximo e desvio-padrão (DP) das dos atributos de carne analisados em ovinos Santa Inês.....	60
Tabela 2. <i>Primers forward</i> (F) e <i>reverse</i> (R) utilizados, tamanho do fragmento amplificado (pb) e sua localização no genoma ovino.....	62
Tabela 3. Temperaturas e tempos utilizados nas reações de PCR em cada um dos genes estudados em ovinos Santa Inês.....	63
Tabela 4. Efeitos aditivo (a) e dominância (d), com seus respectivos erros-padrão (EP), estimados para polimorfismos nos genes da família <i>MyoD</i> e no gene <i>MSTN</i> em ovinos Santa Inês.....	67
Tabela 5. Coeficientes de regressão (β) e erros-padrão (EP) obtidos com a análise de associação de haplótipos nos genes da família <i>MyoD</i> e <i>MSTN</i> em ovinos Santa Inês.....	68

ANEXO-I

	Página
Tabela 1. Frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos nos genes <i>MyoD1</i> , <i>MyoG</i> , <i>MyF5</i> , <i>MyF6</i> e <i>MSTN</i> em ovinos da raça Santa Inês e probabilidade do teste de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) ao comparar as heterosigosidades observada (HO) e predita (HP).....	79

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUIS PAULO BATISTA SOUSA JUNIOR – Nascido em 30 de dezembro de 1989, na cidade de Salvador – BA. Formado em Zootecnia em dezembro de 2015, na Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador – BA. Foi bolsista de Iniciação Científica cedidas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia. Em dezembro de 2015, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos pela Universidade Federal da Bahia, e em 28 de novembro de 2017, defendeu a dissertação de mestado.

LISTA DE SIGLAS

A – Adenina
a* - Intensidade de vermelho
b* - Intensidade de amarelo
BAM (forma binária do arquivo SAM)
bHLH - *basic helix-loop-helix*
BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*)
C – Citosina
CRA - capacidade de retenção de água
DFD - *Dark, Firm and Dry*
Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
G – Guanina
kgf- Quilograma Força
L* - Índice de luminosidade
LL -*Longissimus lumborum*
MRFs -Fatores de Regulação Miogênica
MSTN- *gene da Miostatina*
MyF5 -Fator Miogênico 5
MyF6 -Fator Miogênico 6
MyoD1-Diferenciador Miogênico 1
MyoG – gene da Miogenina
NCBI (*National Center for Biotechnology Information*)
pb – pares de bases
PCR - Reação em cadeia da polimerase
PF – peso final
pH0 - pH inicial
pH24 – pH após 24 horas do abate
PI- peso inicial
PSE -*Pale, Soft and Exudative*
SAM (*Sequence Alignment/Map*)
Shh - *Sonic hedgehog*
SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*)
SM –*Semimembranosus*
SNP – (*Single Nucleotide Polymorphism*)
T – Timina
TGF- β - superfamília beta de fatores transformantes e de crescimento

SUMÁRIO

Polimorfismos nos genes *MYOD1*, *MYF5*, *MYF6*, *MIOG* e *MIOS1* e seus efeitos sobre qualidade de carne em ovinos Santa Inês

	Página
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3 OBJETIVOS	29
4 HIPÓTESE.....	29
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
6 CAPÍTULO 1: Polimorfismos nos genes <i>MyoD1</i> , <i>MyoG</i> , <i>MyF5</i> , <i>MyF6</i> e <i>MSTN</i> em ovinos Santa Inês.....	37
6.1 RESUMO.....	38
6.2 ABSTRACT.....	39
6.3 INTRODUÇÃO.....	40
6.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
6.6 CONCLUSÕES.....	53
6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
7 CAPÍTULO 2 : Genes envolvidos na miogênese influenciam cor, maciez e pH da carne de ovinos Santa Inês	55
7.1 RESUMO.....	56
7.2 ABSTRACT.....	57
7.3 INTRODUÇÃO.....	58
7.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
7.6 CONCLUSÕES.....	72
7.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES.....	77
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. (GERAL).....	78
10 ANEXO I.....	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

A carne ovina vem conquistando espaço no mercado consumidor brasileiro e o aumento do consumo é percebido em todas as regiões do país (DECKER *et al.*, 2016), contudo existe demanda para um produto de melhor qualidade. A região Nordeste é um dos principais centros de criação de ovinos do Brasil (IBGE, 2016) e a raça Santa Inês desponta como uma das principais na região (NÓBREGA *et al.*, 2013). Além da produção de carne, possui vantagens como a resistência a parasitos e uma pele de qualidade apreciada (MORAES *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Influenciam a escolha dos consumidores na compra de produtos cárneos a sua aparência visual no momento da compra e a maciez da carne no momento do seu consumo (BRESSAN *et al.*, 2001). Dentre as características da carne que podem ser melhoradas, estão os parâmetros físicos e químicos que podem influenciar a sua qualidade e a aceitação do consumidor na hora da compra (ALVARENGA *et al.*, 2014).

O melhoramento de atributos de carne pode ser obtido com o auxílio de marcadores moleculares (PAIVA *et al.*, 2008) em genes candidatos. Neste contexto tem-se os genes da família MyoD e o gene da miostatina (*MSTN*), que atuam no processo embriológico da formação do músculo esquelético (BHUIYAN *et al.*, 2009; CRISPO *et al.*, 2015). São encontrados trabalhos que relacionam esses genes com a produção de carne (HADJIPAVLOU *et al.*, 2008; HAN *et al.*, 2015; TRUKHACHEV *et al.*, 2015), porém um número reduzido de trabalhos ligam o *MSTN* com a qualidade de carne em ovinos (HOPE *et al.*, 2013; KIJAS *et al.*, 2007) e não há prévios estudos relatando efeito de marcadores nos genes da família *MyoD* sobre atributos da carne ovina. Assim, o objetivo desse estudo foi encontrar polimorfismos nos genes da família *MyoD* e no gene *MSTN* e estimar seus efeitos sobre os atributos da carne em ovinos da raça Santa Inês.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A RAÇA SANTA INÊS

A produção de ovinos no Brasil teve seu apogeu no século XX, na década de 80, com objetivo comercial de produção de lã (DECKER *et al.*, 2016). Na década seguinte esse segmento enfrentou uma crise, que teve como um dos principais fatores a difusão de lã sintética, capaz de substituir com eficiência a lã produzida a partir de ovelhas (JESUS

JUNIOR *et al.*, 2010). Nos tempos atuais o rebanho brasileiro é formado por 18,4 milhões de cabeças. Em ordem decrescente, em relação ao número de animais, têm-se a região Nordeste (60,59%), seguida das regiões Sul (26,49%), Centro-Oeste (5,58%), Sudeste (3,80%) e Norte (3,56%) (IBGE, 2016).

A espécie ovina vem conquistando um espaço maior no gosto alimentar da população brasileira, levando ao aumento da produção de carne e deixando de ser um produto apreciado exclusivamente no meio rural do Sul e do Nordeste (DECKER *et al.*, 2016). A sua criação tem laços históricos nessas regiões, sendo que no Nordeste sua produção se concentra na região semiárida, na qual a presença de condições climáticas adversas torna propícia a criação de animais mais rústicos, como a raça Santa Inês (REGO NETO *et al.*, 2014).

A raça Santa Inês foi formada no Nordeste brasileiro e apresenta uma expressiva fração dos ovinos desta região. Esses animais são predominantemente deslanados ou semideslanados e apresentam um alto potencial na produção de carne, considerando a escassez e irregularidade da oferta de alimentos dessa localidade (NÓBREGA *et al.*, 2013). De Sousa *et al.* (2003) destacam que esses animais também apresentam um elevado potencial reprodutivo quando comparados com outras raças ovinas na região semiárida.

Os ovinos Santa Inês possuem uma resistência superior a cargas parasitárias gastrointestinais quando comparados com ovinos de raças exóticas (MORAES *et al.*, 2000; LARA *et al.*, 2001). A sua pele também representa um importante produto da ovinocultura, visto que possui um alto padrão de qualidade, que é muito apreciado pelo mercado consumidor (BARROS *et al.*, 1990; OLIVEIRA *et al.*, 2014). Esses fatores credenciam a raça Santa Inês como uma importante alternativa no desenvolvimento da produção animal no Brasil.

A raça Santa Inês é a que mais cresce em quantidade e em importância no Brasil, devido sua capacidade de se adaptar a diferentes climas e manejos (AZEVEDO *et al.*, 2008). A população da raça tem crescido vertiginosamente devido a sua boa adaptação aos diferentes climas, sua ausência de estacionalidade reprodutiva e sua habilidade materna elevada em comparação com outras raças (PEREIRA, 2008).

A preservação genética dos animais Santa Inês se faz necessária, tendo em vista a sua vulnerabilidade à estabelecimento de rebanhos de elite e a utilização de matrizes para

cruzamentos com outras raças (PEREIRA, 2008). Pretendendo salvaguardar esse material genético, a Embrapa mantém três núcleos de conservação da raça Santa Inês, que poderão ser utilizados no futuro para o resgate de característica de interesse econômico (MORAES *et al.*, 2016).

GENES CANDIDATOS RELACIONADOS À QUALIDADE DE CARNE

As ferramentas do melhoramento genético clássico de ovinos, como a exploração de cruzamentos de raças especializadas e a seleção através do valor genético estimado a partir de informações de pedigree e de fenótipos de interesse podem ser potencializadas com a utilização de marcadores moleculares (TEIXEIRA NETO *et al.*, 2014; PIRES *et al.*, 2015).

Dentro do melhoramento animal a utilização de marcadores moleculares pode ter como fim a seleção assistida por marcadores, que funciona melhor com características controladas por poucos genes de grande efeito. Também pode se pensar em seleção genômica, que funciona melhor características controladas por vários genes e de pouco efeito individuais (PAIVA *et al.*, 2008). Os marcadores mais utilizados atualmente para fins de seleção em animais são os do tipo SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*), que são polimorfismos que envolvem uma única base nitrogenada do DNA (CAETANO, 2009).

No contexto de seleção assistida por marcadores moleculares, muitos estudos utilizam a estratégia de genes candidatos. A seleção dos genes candidatos que serão utilizados em um projeto de pesquisa, precisa estar embasada em suas funções biológicas e suas correlações com as características que serão estudadas (LEE *et al.*, 2009; MENGUAL *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2016). Por exemplo, genes que estão relacionados com crescimento muscular podem ser bons candidatos a estudos de associação com volume de massa muscular ou mesmo com aspectos da qualidade de carne (JOHNSTON, 1999; FISHER *et al.*, 2003; ČEPICA *et al.*, 2013; YIN *et al.*, 2015).

A miofibrila é a unidade básica do tecido muscular, sendo que a sua proporção e os tipos de fibras musculares afetam diretamente a qualidade da carne. A matriz extracelular conjuntamente com as fibras musculares compõe o músculo estriado esquelético (CHRISTENSEN *et al.*, 2016). A compreensão das características morfológicas, da miogênese e da fisiologia desse tipo de tecido é importante para decifrar

os fatores relacionados com o crescimento muscular. De posse desse conhecimento é possível se fazer a seleção de animais para atender a demanda de um mercado consumidor que foca na qualidade de carne (GUO *et al.*, 2012).

A maior parte dos músculos estriados origina-se de células provenientes do mesoderma a partir dos somitos do embrião e alguns fatores, tanto indutores quanto inibitórios, são responsáveis por sua diferenciação. Uma categoria de fatores transcricionais, conhecido como família MyoD, tem um papel primordial na diferenciação muscular. Essa família também possui a denominação de Fatores de Regulação *MyoGênica* (MRFs) e essa nomenclatura será utilizada como padrão no restante da dissertação.

Entre os MRFs são conhecidos quatro tipos: *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5* e *MyF6* (BHUIYAN *et al.*, 2009). Esses fatores fixam-se a sequências de DNA conhecidas como Ebox (CANNTG) na região promotora de vários genes músculo-específicos, conduzindo à expressão dos mesmos. Outro gene que atua no crescimento muscular é a miostatina, agindo como um regulador negativo do crescimento do músculo esquelético. Variações nesse gene têm sido associadas a variações em musculosidade em muitas espécies de animais (HAN *et al.*, 2013).

FATORES MIOGÊNICOS

Durante o desenvolvimento embrionário, as células somíticas do mesoderma sofrem a atuação de sinais que irão afetar o desenvolvimento, proliferação e fusão das mesmas. Eles podem ser sinais positivos [*Wnts*, *Sonic hedgehog* (*Shh*), *Noggin*] ou negativos (*BMP4*, *Notch*) e são provenientes dos tecidos vizinhos como a notocorda e o tubo neural. A atuação deles será capaz de ativar genes que tem potencial de modificar o fenótipo dessas células a fim de que elas sejam comprometidas com a formação do tecido muscular (SILVA e CARVALHO 2007). Esses genes fazem parte da família dos fatores transcricionais *basic helix-loop-helix* (bHLH), da qual pertencem os fatores de regulação Miogênicos que compartilham um domínio homólogo bHLH necessário na ligação com o DNA (JIN *et al.*, 2016).

Os genes *MyoD1* e *MyF5* são conhecidos como fatores primários, enquanto os genes *MyoG* e *MyF6* são conhecidos como fatores secundários. Os dois primeiros são expressos em mioblastos na fase de proliferação e os dois últimos são expressos em

células, na fase de fusão e diferenciação (BUCKINGHAM *et al.*, 2014).

MyoD1 e MyF5

Os genes *MyF5* (Fator Mio gênico 5) e *MyoD1* (Diferenciador Mio gênico 1 ou *MyF3*) são os MRFs responsáveis pela diferenciação das células *MyoGênicas* que precedem a sua transformação em mioblastos e pela sua proliferação, sendo conhecidos como fatores primários (VÉLEZ *et al.*, 2017). Esses genes possuem três exons, sendo o *MyoD1* localizado no cromossomo 15 e o *MyF5* localizado no cromossomo 3, em ovinos.

Os fatores de transcrição Pax3 e Pax7 são importantes no processo Mio gênico embrionário, pois eles vinculam as células precursoras somíticas com a linhagem *MyoGênica* antes da expressão dos MRFs. Quando a expressão do Pax3 diminui gradualmente, a expressão do *MyF5* aumenta significativamente, formando as estruturas musculares primitivas com células musculares que foram vinculadas. Subsequentemente, o gene de *MyoD1* é ativado após o início da expressão de *MyF5* (SILVA e CARVALHO 2007).

Durante a embriogênese as células somíticas dependem de estruturas adjacentes e sua liberação de sinais positivos (Wnt, Sonic hedgehog (Shh) e noggin) e negativos (BMP4 e Notch). Todos estes sinais ajustam a quantidade de fatores reguladores Mio gênicos para o equilíbrio entre proliferação e estado de diferenciação durante o desenvolvimento muscular (UGARTE *et al.*, 2012; HURASKIN *et al.*, 2016; OHTA *et al.*, 2016). Uma parte da sinalização de Wnt (Wnt1 e Wnt3) é produzida pelo tubo neural dorsal e outra parte (Wnt4, Wnt6 e Wnt7) é produzida pelo ectoderme superficial. A expressão do Pax3 e *MyF5* é aumentada por Wnt1 e Wnt3, enquanto a expressão de *MyoD1* é reduzida por Wnt6 e Wnt7a. A sinalização de Shh regula o mecanismo da miogênese através da regulação positiva da expressão de *MyF5 / MyoD1*, levando as células *MyoGênicas* a se retirarem da proliferação e iniciarem a diferenciação. A superexpressão de BMP4 no somito pode inibir a expressão de *MyoD1*. Como antagonista de BMP4, a noggin encontra-se a jusante das vias de sinalização de Shh e Wnt e interage fisicamente com ela, neutralizando os efeitos da BMP4. Já a atividade de sinalização Notch influencia a diferenciação celular, proliferação e programas apoptóticos (JIN *et al.*, 2016).

A ausência de expressão de apenas um desses genes (*MyoD1* e *MyF5*) não

compromete a formação do tecido muscular esquelético, indicando que eles apresentam funções redutantes, apesar de serem expressos em momentos diferentes. (RUDNICKI *et al.*, 1993). Na regeneração muscular de adultos o gene *MyF5* se encontra expresso em células satélites quiescentes. O gene *MyoD1* é expresso nas células satélites ativadas e, juntamente com a regulação negativa da expressão de Pax7, subsequentemente se diferencia com a expressão do gene *MyoG*. No entanto, a superexpressão de Pax7 nos mioblastos reprime a expressão de *MyoD1* e inibe a miogênese. A expressão ectópica de Pax7 pode bloquear eficientemente a conversão dependente de *MyoD1* de células estaminais mesenquimais para a linhagem muscular (JIN *et al.*, 2016).

Quigley *et al.* (2015) analisaram a miogênese de fetos de diferentes tamanhos em ovinos e constataram que o número de miofibras do músculo semitendíneo não diferiu entre os fetos pequenos e grandes em nenhuma fase da gravidez. Sendo que o crescimento muscular é afetado pelo crescimento fetal e não pelo número de miofibras no feto das ovelhas. Porém a nutrição restrita durante a gestação altera a expressão temporal de fatores reguladores Miogênicos em células satélites da progênie. Isso pode reduzir a quantidade de mioblastos, diminuir a fusão deles e contribuir para o fraco crescimento muscular pós-natal (RAJA *et al.*, 2016).

MyoG e MyF6

Os genes *MyoG* (miogenina ou *Myf4*) e *MyF6* (Fator Miogênico 6), também conhecido como MRF4, são os MRFs responsáveis pela fusão e diferenciação dos miócitos e maturação das miofibras, sendo conhecidos como fatores secundários. Ambos os genes possuem três exons em ovinos, sendo o *MyoG* localizado no cromossomo 12 e o *MyF6* localizado no cromossomo 3, próximo ao gene *MyF5*.

O gene *MyoG* tem papel chave na ativação do programa de diferenciação muscular. O número de fibras musculares esqueléticas é reduzido em ratos com mutações no gene *MyoG*. Seus músculos apresentam má formação na costela e pouca massa muscular, vindo a óbito logo após nascerem. Apesar disso, eles possuem quantidades normais de mioblastos, o que indica falha na diferenciação destes (HASTY *et al.*, 1993; NABESHIMA *et al.*, 1993; JIN *et al.*, 2016; MORETTI *et al.*, 2016).

O controle do *MyoG* é regulado pela expressão do *MyF6* e ambos atuam sinergicamente na diferenciação e maturação dos mioblastos. Porém um aumento da

expressão do *MyF6* reduz a expressão do *MyoG*, sendo essa inibição requerida principalmente após o nascimento (HASTY *et al.*, 1993; ZHANG *et al.*, 1995).

O *MyF6* é expresso transitoriamente, ao mesmo tempo em que *MyF5*, no início da miogênese no embrião. Ele pode funcionar como um gene de determinação, uma vez que alguma miogênese ocorre em animais com mutação tanto no *MyF5* quanto no *MyoD1*, quando o *MyF6* não está comprometido (JIN *et al.*, 2016).

Moretti *et al.* (2016) citam que a expressão de *MyF6* inicia-se durante o desenvolvimento fetal e continua ao longo dos estágios pós-natais, sendo predominantemente expresso nas fibras musculares adultas. Com o silenciamento do *MyF6* no músculo esquelético adulto, há um aumento no tamanho da fibra muscular, sugerindo que o *MyF6* é um regulador negativo do crescimento muscular.

EFEITO DE POLIMORFISMOS NO GENE *MyoD1*

Trukhachev *et al.* (2017) investigaram a influência de 26 polimorfismos no gene *MyoD1* sobre alguns parâmetros corporais em ovinos da raça Stavropol, sendo os SNPs *g.34372032G>T* e *g.34372031G>T* associados com melhores valores de características corporais. Polimorfismos nesse gene também foram avaliados em outras espécies. Bhuiyan *et al.* (2009) encontraram um SNP no gene *MyoD1* em bovinos com efeito para peso vivo e peso de carcaça, enquanto Han *et al.* (2012), identificaram um polimorfismo com efeito sobre pH muscular de suínos.

No contexto de expressão gênica, Lôbo *et al.* (2012) observaram uma associação entre a expressão do gene *MyoD1* no músculo *Longissimus* em ovinos das raças Santa Inês, Morada Nova e Somalis e o rendimento de carcaça fria. Estudos com bovinos foram reportados efeitos de expressão do gene *MyoD* sobre atributos de carne, como Tizioto *et al.* (2016) que identificaram associação entre a expressão do gene *MyoD1* e a força de cisalhamento no músculo *Longissimus*, permitindo concluir que animais com menor expressão de *MyoD1* apresentaram carne mais macia.

EFEITO DE POLIMORFISMOS NO GENE *MyF5*

Não foram encontrados prévios estudos de associação entre polimorfismo no gene *MyF5* e crescimento ou qualidade de carne em ovinos. Entretanto ao analisar a maciez de carne em suínos, Wang *et al.* (2012), identificaram um polimorfismo no gene *MyF5* que

apresentou efeito significativo. Bhuiyan *et al.*, (2009) encontraram um SNP no gene *MyF5* em bovinos com efeito para peso vivo. Enquanto, Zhong *et al.* (2013) estudaram a expressão do gene *MyF5* em cinco músculos de caprinos e encontraram alguns efeitos significativos.

EFEITO DE POLIMORFISMOS NO GENE *MyoG*

Sun *et al.* (2014) identificaram maior expressão do gene *MyoG* em ovinos machos da raça Hu do que nas fêmeas, em todos os estágios de crescimento, exceto no período de seis meses de idade. Além disso, a expressão gênica foi correlacionada de forma não significativa com peso vivo, carcaça e rendimento de carcaça ($P > 0,05$). Nos bovinos há mais estudos e os resultados são controversos. Bhuiyan *et al.* (2009) identificaram um polimorfismo no gene *MyoG* associado ao peso vivo em bovinos, enquanto Borges *et al.* (2014) não encontraram nenhum efeito sobre peso da carcaça quente, área de olho do lombo, espessura de gordura subcutânea, percentagem de gordura intramuscular, força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar, coloração da carne (L^* , a^* , b^*) e perdas por cocção em ovinos. Em suínos, Stupka *et al.* (2012) encontraram um efeito significativo de polimorfismo no gene *MyoG* sobre os teores de água no presunto e no pernil e o teor de gordura intramuscular no pernil, enquanto Kapelański *et al.* (2005) encontraram efeitos sobre capacidade de retenção de água e coloração da carne em suínos ($P < 0,01$).

EFEITO DE POLIMORFISMOS NO GENE *MyF6*

Não foram encontrados na literatura referências de estudos ao gene *MyF6* relacionado à qualidade de carnes em ovinos. No entanto, existem trabalhos que encontraram associação entre polimorfismos no *MyF6* e características de qualidade ou produção de carne em suínos, como perdas de peso devido ao gotejamento da carne (KAPELAŃSKI *et al.*, 2005). Enquanto, Wszyńska-Koko *et al.* (2006) encontraram associação entre polimorfismos do gene *MyF6* e ganho diário, peso de presunto, peso de lombo e rendimento de carne magra de carcaça em suínos. Contudo, também há estudos em suínos que não encontraram associações significativas. Verner *et al.* (2007) não encontraram associações significativas de polimorfismos no gene *MyF6* e características de carne e de carcaça como a gordura intramuscular, a espessura de toucinho, os pesos do

pescoço, lombo, pernil e presunto, pH da carne, coloração da carne (L^* , a^* e b^*), maciez da carne, teores de água no presunto, pescoço, lombo e pernil, os teores de gordura intramuscular no presunto, pescoço, lombo e pernil.

O GENE *MSTN*

O gene *MSTN*, também conhecido como fator de diferenciação de crescimento 8, é um membro da superfamília beta de fatores transformantes e de crescimento (TGF- β). Ele funciona como um regulador negativo do desenvolvimento e do crescimento do músculo esquelético, inibindo a proliferação e diferenciação de progenitores musculares durante o desenvolvimento (MCPHERRON *et al.*, 1997; CRISPO *et al.*, 2015). O gene *MSTN* gera a miostatina ovina e está localizado no cromossomo 2 (FARHADIAN *et al.*, 2012).

Durante a miogênese, a extensão da proliferação de mioblastos determina em grande parte a formação de fibras musculares. No mioblasto, a miostatina madura ao se ligar a seu receptor, dá início à cascata de sinalização intracelular das proteínas reguladas pelo receptor de Smad2 e Smad3. Esse efeito resulta na inibição de fatores reguladores Miogênicos (*MyoD* e *MyoG*), resultando na inibição da proliferação de mioblastos (LV *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2014). Liu *et al.*, (2012) constataram que a superexpressão da miostatina em mioblastos primários de ovinos resultou em inibição significativa da diferenciação dos mioblastos. Porém o silenciamento gênico do gene *MSTN* resultou num aumento de 28,3% da proliferação de mioblastos primários de ovinos (LIU *et al.*, 2014).

As mutações genéticas do *MSTN* foram relatadas em bovinos, ovelhas, cães e humanos. Percebe-se neles um aumento significativo na massa muscular, fenômeno conhecido como musculatura dupla. Porém algumas desvantagens são relatadas nestes animais, como a redução da fertilidade feminina, a menor viabilidade dos descendentes e o atraso na maturação sexual (HU *et al.*, 2013).

Segundo Liu *et al.* (2012), algumas proteínas podem suprimir a atividade do *MSTN*, como a folistatina e o próprio peptídeo da miostatina, resultando em aumento da massa muscular. No entanto, elas podem causar uma resposta imuni indesejável e resultar em perturbação das suas funções inibitórias. Segundo Jeanplong *et al.*, (2013), a miostatina possui estratégias de regulação que são específicas em algumas espécies. Em roedores, os machos têm menos miostatina madura do que as fêmeas e isso foi

desenvolvido para auxiliar no desenvolvimento do crescimento dimórfico sexual dos músculos esqueléticos. No entanto, não foi encontrado dimorfismo sexual na abundância de miostatina madura em músculos esqueléticos de ovelhas ou em amostras de biópsia obtidas de indivíduos humanos.

EFEITO DE POLIMORFISMOS NO GENE *MSTN*

Analisando a raça ovina Santa Inês, Bagatoli *et al.* (2013) constataram que a maior expressão do gene da miostatina levou os animais a apresentarem menor maciez da carne, independente da espessura de gordura da mesma. Os animais que possuem musculatura dupla apresentam menor conteúdo de gordura intramuscular, com mais ácidos graxos insaturados. Estas características tornam esta carne mais saudável para os consumidores (CRISPO *et al.*, 2015).

Trabalhando com a raça Norwegian White, Boman *et al.* (2010) identificaram duas mutações no gene da miostatina. Uma das mutações foi responsável por reduzir em 1/3 a expressão da *MSTN*. Ambas as mutações afetaram a conformação e a classe de gordura em cordeiros, produzindo uma carcaça com menos gordura e mais massa muscular. Farhadian *et al.* (2012) analisaram a raça ovina iraniana Makoei e constaram que o gene *MSTN* está associado com peso as nascimento, mas não com o ganho de peso após nascimento.

Analisando as raças ovinas Madras Red e Mecheri, Sahu *et al.* (2017) identificaram um SNP no exon 3 do gene *MSTN* (5622G>C), que também foi identificado em outros trabalhos (GAN *et al.*, 2008 e ZHOU *et al.*, 2008). Nos animais da raça Madras Red foi observado efeito deste NPS sobre os pesos corporais aos nove e doze meses de idade, mas não sobre os pesos ao nascimento, aos três e seis meses de idade, enquanto na raça Mecheri não foi encontrado qualquer efeito.

O marcador g+6723G>A do gene *MSTN* (também denominado de g.118150665G>A) tem sido relatado muitas vezes na literatura (CLOP *et al.*, 2006; KIJAS *et al.*, 2007; JOHNSON *et al.*, 2009; HADJIPAVLOU *et al.*, 2008; HOPE *et al.*, 2013; e HAN *et al.*, 2015) e se encontra na região UTR 3'. Segundo Hope *et al.* (2013) esse polimorfismo promove o aumento dos pesos do lombo e do pernil. Contudo, não foram encontrados efeitos para variáveis mensuradas nos músculos *Longissimus lumborum* (LL) e *Semimembranosus* (SM) como pH, gordura intramuscular, intensidades

de vermelho e de amarelo. Efeitos significativos da mutação g+6723G>A foram observados para desenvolvimento muscular de ovinos (HADJIPAVLOU *et al.*, 2008; HAN *et al.*, 2015) e diminuição de gordura (KIJAS *et al.* 2007; JOHNSON *et al.*, 2009).

ATRIBUTOS DA CARNE

A definição de qualidade da carne altera-se com o interesse do mercado consumidor e abrange muitos aspectos, englobando tradições e culturas regionais. No entanto, uma carne de boa aceitabilidade deve atender as características físicas e químicas exigidas pelos consumidores (ALVARENGA *et al.*, 2014). Entre os atributos mais importantes que atraem o comprador da carne vermelha estão à aparência visual no momento da compra e a maciez da carne no momento do seu consumo. Essas propriedades podem sofrer variação a depender de vários fatores como: a idade do animal, seu peso vivo, sua raça e o manejo ao qual ele foi submetido (BRESSAN *et al.*, 2001). De forma objetiva, a análise da qualidade de carne pode ser mensurada através de alguns parâmetros como pH, coloração, capacidade de retenção de água e maciez.

pH

O pH é o mais importante parâmetro referente a qualidade final da carne, pois age sobre as demais características. Sua variação pode afetar o rendimento da mesma, além da sua capacidade de retenção de água, sua maciez e sua defesa à atuação de organismos microbianos (GRANDIS *et al.*, 2016). Segundo Coutinho *et al.* (2013), os diferentes tipos de fibra que constituem a carne ovina contribuem para que, apenas esporadicamente, ela apresente grandes variações no seu pH durante seu processo de rigor mortis.

Quando se obedece ao manejo de bem-estar animal no período pré-abate os ovinos possuem, logo após o fim de sua sangria, um pH inicial (pH₀) de valor muito próximo de 7,0. Decorrido 24 horas do abate, o pH da carne do animal (pH₂₄) deve estar entre a faixa de 5,5 a 5,8. (SILVA *et al.*, 2014; GRANDIS *et al.*, 2016; COUTINHO *et al.*, 2016).

Segundo Bonagurio *et al.* (2003), o fator sexo parece não apresentar grande efeito sob a variação do pH₂₄. Porém o efeito da raça (presença de uma susceptibilidade maior ao estresse) e uma quantidade maior de gordura cobertura na carcaça favorecem a uma queda do pH₂₄. A gordura subcutânea pode agir como isolante térmico, tornando a temperatura da carcaça mais alta por mais tempo, acelerando o processo de glicólise e a

redução do pH. Segundo Bressan *et al.* (2001), a velocidade de redução do pH é maior em animais mais pesados. Porém, o pH24 pode não apresentar grandes diferenças nos valores quando se compara as proporções de gordura na carcaça (RODRIGUES *et al.*, 2008).

Se durante a primeira hora após o abate o pH da carne reduzir de 7,0 para abaixo de 6,0, na presença de uma elevada temperatura da carcaça, aproximadamente 35°C, pode resultar em carne PSE (*Pale, Soft and Exudative*), que tem como características ser pálida, flácida e exsudativa. Contudo esse tipo de carne é mais comum em suínos e algumas aves (BRESSAN *et al.*, 2001). Por outro lado, se o pH24 permanecer acima de 6,0 a carne pode ser DFD (*Dark, Firm and Dry*), que tem como características ser escura, firme e seca (PINHEIRO *et al.*, 2015; COUTINHO *et al.*, 2016). A Tabela 1 apresenta valores médios encontrados na literatura para pH0 e pH24 no músculo *Longissimus* de ovinos Santa Inês. Estes valores indicam que pode haver variação desse atributo no lombo de ovinos Santa Inês, sendo necessário, portanto, monitorá-lo para garantir boa qualidade a carne.

Tabela – 1 Valores médios de pH na carcaça de ovinos Santa Inês no momento do abate (pH0) e 24 horas pós abate (pH24).

Característica	pH	Referência
pH0	6,35 a 6,64	Silva <i>et al.</i> (2014)
pH24	5,51 a 5,72	
pH0	6,36 a 6,91	Jucá <i>et al.</i> (2016)
pH24	5,01 a 5,96	
pH0	6,67 a 6,83	Rodrigues <i>et al.</i> (2008)
pH24	5,59 a 5,63	
pH0	6,67	De Oliveira, <i>et al.</i> (2004)
pH24	5,61	
pH24	5,37 a 5,68	Fernandes Júnior <i>et al.</i> (2013)
pH24	5,52 a 5,63	Grandis <i>et al.</i> (2016)

LUMINOSIDADE E INTENSIDADES DE VERMELHO E AMARELO

A coloração da carne é o atributo de qualidade mais facilmente observado pelo consumidor. Questões culturais podem fazer com que carnes mais escuras ou mais claras sejam as preferidas (SAÑUDO *et al.*, 1998). Normalmente animais mais jovens possuem uma coloração mais clara, porém se ele for abatido com pouca reserva de glicogênio o pH da sua carne não reduzirá o suficiente para obter a coloração normal, independentemente de sua idade e maciez (BRESSAN *et al.*, 2001). Isso ocorre devido as citocromoxidases das mitocôndrias se tornarem mais ativas nessa situação,

aumentando o consumo de oxigênio. Então se aumenta a concentração de *MyoGlobina* desoxigenada, levando a uma coloração da carne mais escura.

Na análise de coloração da carne, podem ser observados alguns parâmetros, como o seu índice de luminosidade (L^*) e as intensidades de vermelho (a^*) e amarelo (b^*). O valor de L^* pode oscilar a depender do teor de umidade no músculo, quanto menor a umidade menor é a luminosidade (RODRIGUES *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2014).

Outro fator que influencia é o peso vivo. Animais mais pesados tendem a ter menos umidade no músculo e apresentar um valor de a^* maior. Esse teor vermelho maior pode ser explicado pelo fato de que os animais mais pesados também possuem uma maior massa muscular e, conseqüentemente, maior irrigação sanguínea, levando a maior concentração de proteínas sarcoplasmáticas e outros pigmentos (GRANDIS *et al.*, 2016). Bonagurio *et al.* (2003) também citam valores de b^* maiores nos grupos de peso de abate maior. Outro fator é a composição da carne, pois o valor de b^* pode ser elevado se houver um aumento do nível de lipídios na carne, pois as xantofilas e os carotenos são os principais pigmentos responsáveis pela cor do tecido adiposo (PINHEIRO *et al.*, 2010; COUTINHO *et al.*, 2013). Outros fatores, como o sexo, espécie, idade, e tratamento pós-abate, também estão relacionados com as mudanças na qualidade de carne e podem causar modificações na cor. Contudo, geralmente essa diferença é pequena e pode ter pouca influência no momento de o consumidor adquirir a carne (BRESSAN *et al.*, 2001; BONAGURIO *et al.*, 2003).

Na Tabela 2, podem ser observados os valores médios das variáveis L^* , a^* e b^* na raça Santa Inês em diferentes músculos. Os valores de L^* variaram entre 27,75 a 47,33, os valores de a^* variaram entre 7,19 a 23,50 e os valores de b^* foram entre 3,55 a 16,30, indicando a necessidade de monitorar esses valores para garantir a qualidade do produto comercializado.

FORÇA DE CISALHAMENTO

A textura (maciez) é considerada, pelos provadores, uma das características mais importante na análise sensorial de carne. A técnica utilizada para se medir essa maciez é a força de cisalhamento necessária para cortar a carne (COUTINHO *et al.*, 2013). Podem-se encontrar diferenças nos valores de força de cisalhamento dentro da mesma espécie, pois existe heterogeneidade entre as raças na sua musculosidade, na idade de maturação

do animal, além da ação enzimática. O sexo é outro fator que pode interferir na maciez, pois as fêmeas normalmente apresentam uma constituição muscular menos densa e com mais quantidade de gordura. As carcaças com menos gordura normalmente são mais duras, devido à falta de proteção contra os efeitos negativos da temperatura de resfriamento (BONAGURIO *et al.*, 2003).

Tabela 2 - Valores médios para atributos luminosidade (L*) e intensidades de vermelho (a*) e amarelo (b*) no Músculo *Longissimus* de ovinos Santa Inês.

Característica	Média	Referência
L*	39,93 a 40,50	Grandis <i>et al.</i> (2016)
a*	14,7 a 15,36	
b*	9,88 a 10,90	
L*	27,75 a 30,45	Silva <i>et al.</i> (2014)
a*	9,67 a 10,49	
b*	10,57 a 12,07	
L*	35,73 a 37,70	Fernandes Júnior <i>et al.</i> (2013)
a*	13,95 a 15,33	
b*	10,15 a 11,22	
L*	42,1 a 43,0	Rodrigues <i>et al.</i> (2008)
a*	14,3 a 15,1	
b*	7,0 a 7,7	
L*	36,48 a 47,33	Jucá <i>et al.</i> (2016)
a*	11,65 a 21,14	
b*	3,45 a 10,24	

O peso do animal também pode ter influência, mas segundo Bressan *et al.* (2001), isso não é um consenso na literatura, podendo haver diferença significativa ou não entre animais mais pesados e mais leves quanto à maciez da carne. Nos estudos em que houve diferença a explicação foi atribuída ao fato de as carcaças mais leves possuírem uma boa relação de solubilidade/insolubilidade do colágeno e as carcaças mais pesadas apresentarem maior quantidade de gordura intramuscular (GRANDIS *et al.*, 2016).

Boleman *et al.* (1997) classificaram carne bovina com força de cisalhamento entre 2,27 e 3,58 kgf como muito macia, valores entre 4,08 e 5,40 kgf como moderadamente macia e na faixa entre 5,90 e 7,21 kgf como pouco macia. Em ovinos os valores são geralmente baixos (Tabela 3), o que indica uma carne bastante macia. Ressalta-se que a maciez da carne apresenta moderada herdabilidade e pode ser melhorada via seleção, por isso é de suma importância avaliá-la em programas de melhoramento animal (WARNER *et al.*, 2010).

Tabela 3 - Valores médios da força de cisalhamento (kgf) no músculo *Longissimus* em ovinos Santa Inês.

Média (kgf)	Referência
2,79 a 3,53	Grandis <i>et al.</i> (2016)
3,93 a 5,01	Silva <i>et al.</i> (2014)
2,21 a 2,82	Fernandes Júnior <i>et al.</i> (2013)
0,94 a 3,10	Jucá <i>et al.</i> (2016)
2,11 a 2,28	Fernandes <i>et al.</i> (2011)

CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

A capacidade da carne reter água é uma característica importante, pois interfere na aparência e rendimento da carne antes e durante o cozimento e a suculência durante a mastigação (RODRIGUES *et al.*, 2008). A menor capacidade de retenção de água (CRA) da carne ovina provocará o decréscimo do valor nutritivo pelo exsudato liberado, além de tornar a carnes mais secas, com menor maciez e menos saborosa (PINHEIRO *et al.*, 2010; GRANDIS *et al.*, 2016).

A CRA pode ser estabelecida pela quantidade de água perdida por meio de aplicação de força externa como corte, aquecimento, trituração ou prensagem do tecido muscular. Assim, a CRA pode ser calculada colocando a amostra de carne envolto em um papel de filtro entre duas placas de acrílico, adicionando-se um peso de 10 kg sobre as placas durante 5 minutos. Os resultados são expressos como percentagens em comparação do peso pós-prensagem com o peso inicial, como se segue: $CRA = 100 - ((PI - PF) / PI * 100)$, onde CRA é a capacidade de retenção de água, PI e PF são os pesos inicial e final da amostra analisada, respectivamente (ALVARENGA *et al.*, 2014).

A capacidade de retenção de água pode ser influenciada por diversos fatores. Um desses fatores é o valor final do pH da carne, que quando apresenta um valor baixo reduz a CRA, devido a maior proximidade com o ponto isoelétrico das proteínas (SILVA *et al.*, 2014). Outro fator que pode interferir na CRA é a presença das gorduras subcutânea, intramuscular e interna na carne, que previne os efeitos do encurtamento do sarcômero pelo frio, ocasionando uma menor perda de água no momento do cozimento (BONAGURIO *et al.*, 2003). Na Tabela 4 é possível observar os valores médios de CRA encontrados na literatura para a raça Santa Inês.

Tabela 4 - Valores médios de capacidade de retenção de água (CRA) no músculo *Longissimus* em ovinos Santa Inês.

Média (%)	Referência
58,50 a 62,50	Rodrigues <i>et al.</i> (2008)
60,57	Moreno <i>et al.</i> (2011)
59,84 a 61,06	Fernandes <i>et al.</i> (2011)
71,56	Fernandes Junior <i>et al.</i> (2013)

3 OBJETIVOS

- Identificar polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN*, em ovinos da raça Santa Inês.
- Verificar se polimorfismos nestes genes estão associados a características que evidenciam qualidade de carne.

4 HIPÓTESE

Existem polimorfismos nos genes *MSTN*, *MyoG*, *MyoD1*, *MyF5* e *MyF6* que influenciam características de qualidade de carne como a capacidade de retenção de água, pH, coloração e a maciez da carne em animais da raça Santa Inês.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, T. I. R. C.; BORBA, H.; MORENO, G. M. B.; ARAÚJO, G. G. L. D.; MELLO, J. L. M. D.; DOURADO, R. D. C.; BARBOSA, J.C.; SOUZA, P. A. D. Quality of aged shoulder from lambs fed with different oldman saltbush hay levels (*Atriplex nummularia*). **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2252-2257, 2014.
- AZEVEDO, H. C.; OLIVEIRA, A. A. de; MUNIZ, E. N.; PAIVA, S. R.; VIEIRA, L. da S. Núcleo de conservação do ovino Santa Inês. **Noticiário Tortuga**, v. 53, p. 20-21, fev./mar. 2008. Edição especial Caprinos e Ovinos. 2008.
- BAGATOLI, A.; GASPARINO, E.; SOARES, M. A. M.; AMARAL, R. M.; MACEDO, F. A. F.; VOLTOLINI, D. M.; DEL VESCO, A. P. Expression of calpastatin and myostatin genes associated with lamb meat quality. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6168-6175, 2013.
- BARROS, N.N.; FIGUEIREDO, A.P. de; BARBIERI, M.E.; FERNANDES, F.D.; SIMPLICIO, A.A. Efeito da raça do carneiro no desempenho de cordeiros de corte no Estado do Ceará. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27.; 1990, Campinas. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p.523
- BHUIYAN, M. S. A.; KIM, N. K.; CHO, Y. M.; YOON, D.; KIM, K. S.; JEON, J. T.; LEE, J. H. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, v. 126, n. 1, p. 292-297, 2009.
- BOLEMAN, S. J.; BOLEMAN, S. L.; MILLER, R. K.; TAYLOR, J. F.; CROSS, H. R.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; MILLER, F.M.; WEST, R.L.; JOHNSON, D. D.; SAVELL J.W. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of animal science**, v. 75, n. 6, p. 1521-1524, 1997.
- BOMAN I.A.; KLEMETSDAL G.; NAFSTAD O.; BLICHFELDT T.; VÅGE D.I.; Impact of two myostatin (*MSTN*) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). **Genetics Selection Evolution**, v. 42, n. 1, p. 4, 2010.
- BONAGURIO, S.; PÉREZ, J.R.O.; GARCIA, I.F.F.; BRESSAN, M.C.; LEMOS A.L.S.C.. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel, abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1981-1991, 2003.
- BORGES, B. O.; CURTI, R. A.; BALDI, F.; FEITOSA, F. L. B.; ANDRADE, W. B. F. D.; ALBUQUERQUE, L.G.D.; OLIVEIRA H.N.; OLIVEIRA H.N.; CHARDULO, L. A. L. Polymorphisms in candidate genes and their association with carcass traits and meat quality in Nellore cattle. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 49, n. 5, p. 364-371, 2014.
- BRESSAN, M. C.; PRADO, O. V.; PÉREZ, J. R. O.; Lemos, A. L. S. C.; BONAGURIO, S. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 293-303, 2001.
- BUCKINGHAM, M.; RIGBY, P.W.J. Gene regulatory networks and transcriptional mechanisms that control *Myo*Genesis. **Developmental cell**, v. 28, n. 3, p. 225-238, 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, n. 8, p. 64-71, 2009
- ČEPICA, S.; ZAMBONELLI, P.; WEISZ, F.; BIGI, M.; KNOLL, A.; VYKOUKALOVÁ, Z.; DAVOLI, R. Association mapping of quantitative trait loci for carcass and meat quality traits at the central part of chromosome 2 in Italian Large White pigs. **Meat science**, 95(2), 368-375, 2013
- CHRISTENSEN, S; PURSLOW, P. P. The role of matrix metalloproteinases in muscle and adipose tissue development and meat quality: A review. **Meat science**, v. 119, p. 138-146, 2016.
- CLOP, A.; Marcq, F.; Takeda, H.; Pirottin, D.; Tordoir, X.; Bibé, B.; Larzul, C.. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. **Nature genetics**, v. 38, n. 7, p. 813-818, 2006.
- COUTINHO, M. A. D. S.; MORAIS, M.G.; ALVES, F.V.; FERNANDES, H.J.; FEIJÓ, G.L.D.; ÍTAVO, C. C. B. F.; COMPARIN, M.A.S.; COELHO, R. G. Características físico-químicas e composição centesimal de cortes cárneos de borregas confinadas e alimentadas com diferentes proporções volumoso: concentrado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 4, 2013.
- CRISPO M, MULET A.P, TESSON L.; BARRERA N.; CUADRO F.; DOS SANTOS-NETO P.C.; NGUYEN T.H.; CRÉNÉGUY A.; BRUSSELLE L.; ANEGÓN I.; MENCHACA A.. Efficient generation of myostatin knock-out sheep using CRISPR/Cas9 technology and microinjection into zygotes. **Plos one**, v. 10, n. 8, p. e0136690, 2015.
- DECKER, S. R. F.; Fernandes, D. A. C.; & Gomes, M. C. . Gestão Competitiva na Produção de Ovinos. Agropampa: Revista de Gestão do Agronegócio, v. 1, n. 1, 2016.
- DE OLIVEIRA, I.; DA SILVA, T. J. P.; DE FREITAS, M. Q.; TORTELLY, R.; DE OLIVEIRA PAULINO, F. Caracterização do processo de rigor mortis em músculos de cordeiros e carneiros da raça Santa Inês e maciez da carne. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 1, p. 25-31, 2004.
- DE SOUSA, W.H.; LÔBO, R.N.B.; MORAIS, O.R. Ovinos Santa Inês: estado de arte e perspectivas. 2003.
- FARHADIAN M.; HASHEMI A.; MARDANI K.; DARVISHZADEH R.; JAFARI S. Polymorphisms in the ovine myostatin gene are associated with birth weight but not with weight gain in Iranian Makoei sheep. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 4, p. 3568-3575, 2012.
- FERNANDES A.R.M.; JUNIOR, O.; PREVIDELLI, M.A.; ORRICO, A.C.A.; VARGAS JUNIOR, F.M.D.; OLIVEIRA, A.B.D.M. Desempenho e características qualitativas da carcaça e da carne de cordeiros terminados em confinamento alimentados com dietas contendo soja grão ou gordura protegida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1822-1829, 2011.
- FERNANDES JÚNIOR, F.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I. Y.; DA SILVA, L.D.D.F.; BARBOSA, M.A.A.F.; PRADO, O.P.P, PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; CONSTANTINO, C. Características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros Santa Inês alimentados com torta de girassol em substituição ao farelo de algodão. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl2, p. 3999-4014, 2013.
- FISHER M. E.; Peck, W.; Branney, P. A.; Pownall, M. E. Cloning and characterisation of *Myf5* and *MyoD* orthologues in *Xenopus tropicalis*. **Biology of the Cell**, v. 95, n. 8, p. 555-561, 2003.

- GAN, S.Q. DU, Z.; LIU, S.R.; YANG, Y.L.; SHEN, M.; WANG, X.H.; WANG, J.H. Association of SNP haplotypes at the myostatin gene with muscular hypertrophy in sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, p. 928-935, 2008.
- GUO, Y.; LI, J.; SHANG, J.; JIN, Y. Development of muscle-related genes and their effects on meat quality. **Energy Procedia**, v. 16, p. 229-233, 2012.
- GRANDIS, F.A.; DE AZAMBUJA RIBEIRO, E.L.; MIZUBUTI, I.Y.; JUNIOR, V.H.B.; DO PRADO, O.P.P.; PINTO, A.P. Características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros alimentados com diferentes teores de torta de soja em substituição ao farelo de soja. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 327-341, 2016.
- HADJIPAVLOU, G.; MATIKA, O.; CLOP, A.; BISHOP, S.C. Two singlenucleotide polymorphisms in the myostatin (GDF8) gene have significant association with muscle depth of commercial Charollais sheep. **Animal Genetics** 39, 346–353, 2008.
- HAN, XUELEI HAN, X.; JIANG, T.; YANG, H.; ZHANG, Q.; WANG, W.; FAN, B.; LIU, B. Investigation of four porcine candidate genes (H-FABP, *MYOD1*, UCP3 and MASTR) for meat quality traits in Large White pigs. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 6, p. 6599-6605, 2012.
- HAN, J.; FORREST, R. H.; HICKFORD, J. G. H. Genetic variations in the myostatin gene (*MSTN*) in New Zealand sheep breeds. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 11, p. 6379-6384, 2013.
- HAN, J.; Forrest, R. H.; Sedcole, J. R.; Hickford, J. G. H.. Myostatin (*MSTN*) gene haplotypes and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney lambs. **Small Ruminant Research**, v. 127, p. 8-19, 2015.
- HASTY, P.; BRADLEY, A.; MORRIS, J. H.; EDMONDSON, D. G.; VENUTI, J. M.; OLSON, E. N.; KLEIN, W. H. Muscle deficiency and neonatal death in mice with a targeted mutation in the Myogenin gene. **Nature**, v. 364, n. 6437, p. 501, 1993
- HOPE, M.; HAYNES, F.; ODDY, H.; KOOHMARAIE, M.; AL-OWAIMER, A.; GEESINK, G. The effects of the myostatin g+ 6723G> A mutation on carcass and meat quality of lamb. **Meat science**, v. 95, n. 1, p. 118-122, 2013.
- HU, S.; NI, W.; SAI, W.; ZI, H.; QIAO, J.; WANG, P.; SHENG, J.; CHEN, C. Knockdown of myostatin expression by RNAi enhances muscle growth in transgenic sheep. **PLoS one**, v. 8, n. 3, p. e58521, 2013.
- HURASKIN, D.; EIBER, N.; REICHEL, M.; ZIDEK, L. M.; KRAVIC, B.; BERNKOPF, D.; MALTZAHN, J. HASHEMOLHOSSEINI, S. Wnt/ β -catenin signaling via Axin2 is required for *MyoGenesis* and, together with YAP/Taz and Tead1, active in IIA/IIx muscle fibers. **Development**, v. 143, n. 17, p. 3128-3142, 2016.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal, 2016**. Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em 18 de Abril de 2017.
- JOHNSON, P.L.; DODDS, K.G.; BAIN, W.E.; GREER, G.J.; MCLEAN, N.J.; MCLAREN, R.J.; GALLOWAY, S.M.; VAN STIJN, T.C.; MCEWAN, J.C. Investigations into the GDF8 g+6273G-A polymorphism in New Zealand Texel sheep. **Journal of animal science and biotechnology**. 87, 1856–1864, 2009
- JESUS JUNIOR, C.de.; RODRIGUES, L.S.; MORAES, V.E.G. de. Ovinocaprinocultura de corte: a convivência dos extremos. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 31, p. 281-320, 2010.
- JIN, W.; PENG, J.; JIANG, S.N. The epigenetic regulation of embryonic *MyoGenesis* and adult muscle regeneration by histone methylation modification. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 6, p. 209-219, 2016.

- JEANPLONG F.; FALCONER S.J.; OLDHAM J.M.; THOMAS M.; GRAY T.S.; HENNEBRY A.; MATTHEWS K.G.; KEMP F.C.; PATEL K.; BERRY C.; NICHOLAS G.; MCMAHON C.D. Discovery of a mammalian splice variant of myostatin that stimulates *MyoGenesis*. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e81713, 2013.
- JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, v. 177, n. 1, p. 99-115, 1999.
- JUCÁ, A. DE F.; FAVERI, J.C.; MELO FILHO, G.M.; DE LISBOA RIBEIRO FILHO, A.; AZEVEDO, H.C.; MUNIZ, E.N.; PEDROSA, V.B.; PINTO, L.F.B. Effects of birth type and family on the variation of carcass and meat traits in Santa Ines sheep. **Tropical animal health and production**, v. 48, n. 2, p. 435-443, 2016.
- 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**, v. 53, n. 4, p. 45-49, 2005.
- KIJAS, J.W.; MCCULLOCH, R.; EDWARDS, J.E.; ODDY, V.H.; LEE, S.H.; VAN DER WERF, J. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the Ovine *GDF8* locus. **BMC Genet.** 8, 80–90. 2007.
- LARA, A. M. C, VERÍSSIMO, C. J. GAMA, L.T, CUNHA, E. A, SANTOS, BUENO, M. S, SALES, L, OLIVEIRA, M.; SPÓSITO, E. F. Relação Entre Polimorfismos De Proteínas E Infecção Por Nematódeos Gastrintestinais Em Ovelhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38.; 2001, Viçosa. **Anais...Viçosa MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. CD.**
- LEE, C. L.; Hsieh, K. S.; Chen, Y. L.; & Shiue, Y. L.. Identification of candidate genes for congenital ventricular septal defects with *hsa22q11* loss of heterozygosity. **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 62, n. 3, p. 263-272, 2009
- LIU C.; LI W.; ZHANG X.; ZHANG N.; HE S.; HUANG J.; GE Y.; LIU M. The critical role of myostatin in differentiation of sheep myoblasts. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 422, n. 3, p. 381-386, 2012.
- LIU C.; LI W.; ZHANG X.; ZHANG N.; HE S.; HUANG J.; GE Y.; LIU M. Knockdown of endogenous myostatin promotes sheep myoblast proliferation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, v. 50, n. 2, p. 94-102, 2014.
- LIU, H.; FU, B.; PANG, M.; FENG, X.; WANG, X.; YU, X.; TONG, J. QTL fine mapping and identification of candidate genes for growth-related traits in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). **Aquaculture**, 465, 134-143, 2016.
- LÔBO, A.M.B.O.; GUIMARÃES, S.E.F.; PAIVA, S.R.; CARDOSO, F.F.; SILVA, F. F.; JÚNIOR, G.A.F.; LÔBO, R.N.B. Differentially transcribed genes in skeletal muscle of lambs. **Livestock Science**, v. 150, n. 1, p. 31-41, 2012.
- LV X.Y.; SUN W.; SU R.; LI D.; WANG Q.Z.; MUSA H.H.; CHEN L.; ZHANG Y.F.; WU W.Z. Correlation between sheep *YAP1* temporal and spatial expression trends and *MSTN* and *MyoG* gene expression. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 3244-3256, 2015.
- MCPHERRON, A.C.; LAWLER A.M.; LEE S. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **nature**, v. 387, n. 6628, p. 83, 1997.
- MENGUAL, , ARS, E.; LOZANO, J. J.; BURSET, M.; IZQUIERDO, L.; INGELMOTORRES, M.; ALCARAZ, A. Gene expression profiles in prostate cancer:

- Identification of candidate non-invasive diagnostic markers. **Actas Urológicas Españolas (English Edition)**, v. 38, n. 3, p. 143-149, 2014.
- MORAES, F. R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; ROSSI JUNIOR, P. Suscetibilidade de ovinos das raças Suffolk e Santa Inês a infecção. **Archives of Veterinary Science**, v. 6, n. 2, p. 63-69, 2000.
- MORAES, J. C. F.; SILVA, K. D. M.; LEAL, T.; AZEVEDO, H.; SANTOS, S.; FACO, O.; BRAGA, R. Núcleos de conservação de ovinos. **Embrapa Tabuleiros Costeiros-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**. p. 42-55, 2016
- MORENO G, M. B.; BUZZULINI, C.; BORBA, H.; DA COSTA, A. J.; DE LIMA, T. M. A.; DOURADO, J. F. B. Efeito do genótipo e do teor de proteína da dieta sobre a qualidade da carne de cordeiros. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 3, p. 630-640, 2011.
- MORETTI, I.; CICILIOT, S.; DYAR, K. A.; ABRAHAM, R.; MURGIA, M.; AGATEA, L.; AKIMOTO, T.; BICCIATO, S.; FORCATO.M. PIERRE.P.; UHLENHAUT, N. H.; RIGBY P.W.J.; CARVAJAL J.J.; BLAAUW. B.; CALABRIA.E.; SCHIAFFINO S. MRF4 negatively regulates adult skeletal muscle growth by repressing MEF2 activity. **Nature Communications**, v. 7, 2016.
- NABESHIMA, Y.; HANAOKA, K.; HAYASAKA, M.; ESUMI, E.; LI, S.; NONAKA, I. Myogenin gene disruption results in perinatal lethality because of severe muscle defect. **Nature**, v. 364, n. 6437, p. 532-535, 1993.
- NÓBREGA, G. H.; CÉZAR, M. F.; PEREIRA FILHO, J. M.; SOUSA, W. H.; SOUSA, O. B.; CUNHA, M. G. G.; SANTOS, J. R. S. Regime alimentar para ganho compensatório de ovinos em confinamento: composição regional e tecidual da carcaça. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 469-476, 2013.
- OHTA, S.; WANG, B.; MANSOUR, S. L.; SCHOENWOLF, G. C. SHH ventralizes the otocyst by maintaining basal PKA activity and regulating GLI3 signaling. **Developmental Biology**, v. 420, n. 1, p. 100-109, 2016.
- OLIVEIRA, D.S.; ROGÉRIO, M. C. P.; BATISTA, A. S. M.; ALVES, A. A.; ALBUQUERQUE, F. H. M. A. R.; POMPEU, R. C. F. F.; GUIMARÃES, V.P.; DUARTE, T. F. Desempenho e características de carcaça de cordeiros SPRD cruzados com as raças Santa Inês e Somalis Brasileira terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 4, p. 937-946, 2014.
- PAIVA, Samuel Rezende; PIMENTEL, Concepta Margaret McManus. Uso de marcadores moleculares como ferramenta adicional para conservação e melhoramento da raça Santa Inês. 2008. In: **V CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL**, 2.; 2008, Aracaju, SE. Anais... Aracaju: SNPA, 2008.
- PEREIRA, J. C. C. Melhoramento genético aplicado à produção animal. 5. ed. Belo Horizonte: **FEPMVZ Editora**, p.617, 2008
- PINHEIRO, R. S. B.; JORGE, A. M.; SOUZA, H. B. A.; BOIAGO, M. M. Coloração da gordura e qualidade da carne de ovelhas de descarte abatidas em distintos estágios fisiológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 468-474, 2010.
- PINHEIRO, R. S. B.; JORGE, A. M.; DE LA LAMA, M.; CVABODNI, G.; SOUZA, H. B. A. D. Manejo pré-abate de ovelhas de descarte: perdas de peso corporal, qualidade da carne e comportamento animal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 227-234, 2015.

- PIRES, M. P.; FARAH, M. M.; CARREÑO, L. O. D.; UTSUNOMIYA, A. T. H.; ONO, R. K.; BERTIPAGLIA, T. S.; FONSECA, R. Estimativas de parâmetros genéticos para características de crescimento em ovinos da raça Suffolk no Brasil. **Arq. bras. med. vet. zootec**, p. 1119-1124, 2015.
- RAJA, J. S.; HOFFMAN, M. L.; GOVONI, K. E.; ZINN, S. A.; REED, S. A. Restricted maternal nutrition alters *MyoGenic* regulatory factor expression in satellite cells of ovine offspring. **Animal: an international journal of animal bioscience**, p. 1-4, 2016.
- REGO NETO, A.A.; SARMENTO, J.L.R.; SANTOS, N.P.S. ; BIAGIOTTI, D. ; SANTOS, G.V. ; CAMPELO, J.E.G. ; SENA, L.S. ; FIGUEIREDO FILHO, L.A.S. Estrutura e distribuição geográfica do rebanho de ovinos Santa Inês no Estado do Piauí. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, 2014.
- RODRIGUES, G.H.; SUSIN, I.; PIRES, A.V.; MENDES, C.Q.; URANO, F.S.; CASTILLO, C. J. C. Polpa cítrica em rações para cordeiros em confinamento: características da carcaça e qualidade da carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 10, p. 1869-1875, 2008.
- RUDNICKI, M.A.; SCHNEGELSBERG, P.N.J.; STEAD, R.H.; BRAUN, T.; ARNOLD, H.H.; JAENISCH, R. *MyoD* or *Myf5* is required in a functionally redundant manner for the formation of skeletal muscle. **Cell**, v.75, p.1351-1359, 1993.
- SAHU, A.R.; SAHU, A. R.; JEICHITRA, V.; RAJENDRAN, R.; RAJA, A. Polymorphism in exon 3 of myostatin (*MSTN*) gene and its association with growth traits in Indian sheep breeds. **Small Ruminant Research**, v. 149, p. 81-84, 2017.
- SAÑUDO, C.; NUTE, G.R.; CAMPO, M.M. Assessment of comercial lamb meat quality by british and spanish taste panels. **Meat Science**, v.48, n.1/2, p.91-100, 1998.
- SILVA, M.D.P.; CARVALHO, R.F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 21-31, 2007.
- SILVA, F.; CARVALHO, Z. G.; SÁ, H. C. M. D.; OLIVEIRA, L. L. D. S.; ALVES, D. D.; SILVA, V. L.; SOARES, F.D.S.; SANTOS, C. C. R. D. Ganho em peso, características de carcaça e carne de ovelhas terminadas em pasto com teores diferentes de suplementação. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 1, 2014.
- STUPKA, R.; Citek, J.; Sprysl, M.; Okrouhla, M.; & Brzobohaty, L. . The impact of *MYOG*, *MYF6* and *MYOD1* genes on meat quality traits in crossbred pigs. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 88, p. 15405-15409, 2012.
- SUN, W.; SU, R.; LI, D.; MUSA, H. H.; KONG, Y.; DING, J. T, WU, W. Z. Developmental changes in IGF-I and *MyoG* gene expression and their association with meat traits in sheep. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 2772-2783, 2014.
- QUIGLEY, S. P.; GREENWOOD, P. L.; KLEEMANN, D. O.; OWENS, J. A.; BAWDEN, C. S.; NATTRASS, G. S. *MyoGenesis* in small and large ovine fetuses at three stages of pregnancy. **Animal Production Science**, v. 55, n. 2, p. 207-212, 2015.
- TEIXEIRA-NETO M. R. T.; DA CRUZ, J. F.; CARNEIRO, P. L. S.; MALHADO, C. H. M.; FARIA, H. H. N.. Parâmetros populacionais da raça ovina Santa Inês no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1589-1595, 2014.
- TIZIOTO, P. C.; COUTINHO, L. L.; MOURÃO, G. B.; GASPARIN, G.; MALAGÓJR,

- W.; BRESSANI, F. A.; R TULLIO,R.R.; NASSU, R.T.; TAYLOR,J.F.; REGITANO, L. C. A.. Variation in *MyoGenic* differentiation 1 mRNA abundance is associated with beef tenderness in Nelore cattle. **Animal genetics**, v. 47, n. 4, p. 491-494, 2016.
- TRUKHACHEV, V.; BELYAEV, V.; KVOCHKO, A.; KULICHENKO, A.; KOVALEV, D.; PISARENKO, S.; OMAROV, A. Myostatin gene (*MSTN*) polymorphism with a negative effect on meat productivity in Dzhalginsky Merino sheep breed. **Journal of BioScience & Biotechnology**, v. 4, n. 2, 2015.
- TRUKHACHEV, V.; SKRIPKIN, V.; TELEGINA, E.; YATSYK, O. 2017. Associations between newly discovered polymorphisms of the *MyoDI* gene and body parameters in Stavropol breed rams. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. Disponível em: <<http://tru.uni-sz.bg/bjvm/A.%20Krivoruchko%20OnFirst.pdf>> Acessado em 20/10/2017.
- UGARTE, G.; CAPPELLARI, O.; PERANI, L.; PISTOCCHI, A.; COSSU, G. Noggin recruits mesoderm progenitors from the dorsal aorta to a skeletal *MyoGenic* fate. **Developmental biology**, v. 365, n. 1, p. 91-100, 2012.
- VÉLEZ, E. J.; LUTFI, E.; AZIZI, S.; PERELLÓ, M.; SALMERÓN, C.; RIERA-CODINA, M.; IBARZ, A.; FERNÁNDEZ-BORRÀS, J.; BLASCO, J.; CAPILLA, E.; NAVARRO, I.; GUITIÉRREZ, J. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. **Aquaculture**, v. 467, p. 28-40, 2017.
- VERNER, J.; HUMPOLÍČEK, P.; KNOLL, A. Impact of MYOD family genes on pork traits in Large White and Landrace pigs. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 124, n. 2, p. 81-85, 2007.
- WANG, W.; XUE, W.; ZHOU, X.; ZHANG, L.; WU, J.; QU, L.; XU, X. Effects of candidate genes' polymorphisms on meat quality traits in pigs. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A–Animal Science*, v. 62, n. 3, p. 120-126, 2012.
- WARNER, R.D.; GREENWOOD, P.L.; PETHICK, D.W.; FERGUSON, D.M. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, v.86, n.1, p.171-183, 2010.
- WYSZYŃSKA-KOKO, J.; Pierzchała, M.; Flisikowski, K.; Kamyczek, M.; Różycki, M.; Kurył, J.. Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine *MYF6* and *MYOG* genes and expression of the *MYF6* gene in m. longissimus dorsi versus productive traits in pigs. **Journal of applied genetics**, v. 47, n. 2, p. 131-138, 2006.
- YIN H.; LI, D.; WANG, Y.; ZHAO, X.; LIU, Y.; YANG, Z.; ZHU, Q.. *MyoGenic* regulatory factor (MRF) expression is affected by exercise in postnatal chicken skeletal muscles. *Gene*, v. 561, n. 2, p. 292-299, 2015
- ZHANG, W.; BEHRINGER, R. R.; OLSON, E. N. Inactivation of the *MyoGenic* bHLH gene MRF4 results in up-regulation of Myogenin and rib anomalies. **Genes & development**, v. 9, n. 11, p. 1388-1399, 1995.
- ZHONG, T.; JIN, P. F.; DONG, E. N.; LI, L.; WANG, L. J.; ZHANG, H. P.. Caprine sex affects skeletal muscle profile and MRFs expression during postnatal development. **Animal Science Journal**, v. 84, n. 5, p. 442-448, 2013.

**6 CAPÍTULO 1: POLIMORFISMOS NOS GENES *MYOD1*, *MYOG*, *MYF5*,
MYF6 E *MSTN* EM OVINOS SANTA INÊS**

POLIMORFISMOS NOS GENES MYOD1, MYOG, MYF5, MYF6 E MSTN EM OVINOS SANTA INÊS

6.1 RESUMO

Os genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* tem importante papel no desenvolvimento muscular e por isso tem sido alvo de estudos de associação em diferentes espécies de interesse zootécnico. However, many of these genes remain poorly understood in sheep. Assim, este estudo teve por objetivo sequenciar fragmentos destes genes e identificar polimorfismos, utilizando 192 cordeiros da raça Santa Inês. Frequências gênicas e genotípicas dos polimorfismos encontrados foram estimadas e o equilíbrio Hardy-Weinberg testado. Fragmentos contendo 1.836 pb (*MyoG*), 2.493 pb (*MyoD1*), 2.813 pb (*MyF5*), 1.126 pb (*MyF6*) e 2.380 pb (*MSTN*) foram obtidos e nessas sequências foram identificados 160 polimorfismos quando comparadas à sequência referência depositada no NCBI. Estes polimorfismos foram distribuídos da seguinte forma: 59 (*MyoD1*), 24 (*MyoG*), 63 (*MyF5*), quatro (*MyF6*) e 10 (*MSTN*). Deste montante, 104 polimorfismos foram identificados pela primeira vez em ovinos, sendo dois no *MyoG*, 45 no *MyoD1*, 56 no *MyF5* e um no *MSTN*. Com relação a localização, 61 estavam em intron (10 no *MSTN*, três no *MyF6*, cinco no *MyF5*, 16 no *MyoG* e 27 no *MyoD1*), 87 em exon (um no *MyF6*, 56 no *MyF5*, oito no *MyoG* e 22 no *MyoD1*) e 12 na 3'UTR (dois no *MyF5* e 10 no *MyoD1*). Muitos polimorfismos no gene *MyoD1* não estão em equilíbrio Hardy-Weinberg e as frequências genotípicas de algumas mutações não-sinônimas levantaram a hipótese de efeito deletério. No gene *MSTN* não foram encontrados polimorfismos em região de exon, enquanto para o gene *MyF5* grande parte dos polimorfismos encontram-se próximo de fixar para o alelo referência. Concluindo, o presente estudo revelou muitos polimorfismos nos genes da família MyoD e no gene *MSTN*, os quais podem ser utilizados em estudos de associação na raça Santa Inês.

Palavras-chave: equilíbrio Hardy-Weinberg, genética, genômica, SNP, variabilidade

POLYMORPHISMS IN *MYOD1*, *MYOG*, *MYF5*, *MYF6* AND *MSTN* GENES IN SANTA INES SHEEP

6.2 ABSTRACT

The MyoD family genes and the *MSTN* gene play a key role in muscle development and therefore are a constant target of association studies in livestock. This study aimed to identify polymorphisms in the *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* and *MSTN* genes of Santa Ines sheep. A total of 192 Santa Ines lambs had region of these genes amplified and sequenced. Sequences of 1,836 pb (*MyoG*), 2,493 pb (*MyoD1*), 2,813 pb (*MyF5*), 1,126 pb (*MyF6*) e 2,380 pb (*MSTN*) were obtained and 160 polymorphisms were identified when these sequences were compared to reference in NCBI. These polymorphisms were distributed as follows: 59 (*MyoD1*), 24 (*MyoG*), 63 (*MyF5*), 4 (*MyF6*) and 10 (*MSTN*), being 104 novel polymorphisms (two in *MyoG*, 45 in *MyoD1*, 56 in *MyF5* and one in *MSTN*). Regarding site, 61 were in intron ((10 no *MSTN*, three no *MyF6*, five no *MyF5*, 16 no *MyoG* e 27 no *MyoD1*), 87 in exon (one in *MyF6*, 56 in *MyF5*, eight in *MyoG* and 22 in *MyoD1*) and 12 in 3'UTR (two in *MyF5* and 10 in *MyoD1*). Hardy-Weinberg equilibrium was not observed for several polymorphisms in *MyoD1* and the genotypic frequencies observed for some no-synonymous mutation raised up the hypothesis of deleterious effect. For the *MSTN* gene no polymorphisms were found in exon, whereas many polymorphisms are almost fixed for the reference allele in *MyF5*. In conclusion, the present study revealed many polymorphisms that may be useful for association studies with economic traits in Santa Ines sheep.

Keywords: genetics, genomics, Hardy-Weinberg equilibrium, SNP, variability

6.3 INTRODUÇÃO

A seleção assistida por marcadores vem sendo muito utilizada em diferentes espécies de animais para melhorar índices produtivos e redução da ocorrência de doenças. Para que isso ocorrer basta apenas identificar em genes candidatos um polimorfismo que esteja associado a uma variável de interesse econômico para o sistema de produção. Nesse contexto, os genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* vem sendo utilizados em estudos de associação visando identificar polimorfismos associados aos atributos de crescimento, carcaça e carne, pois as funções biológicas desses genes estão associadas ao desenvolvimento do tecido muscular esquelético (BHUIYAN *et al.*, 2009; HAN *et al.*, 2013).

Alguns genes tem o potencial de modificar o fenótipo de células somáticas a fim de que elas sejam comprometidas com a formação do tecido muscular. Entre eles, a família MyoD (genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5* e *MyF6*) faz parte dos fatores transcricionais *basic helix-loop-helix* (bHLH) e são fatores de regulação miogênica (JIN *et al.*, 2016). Os genes *MyoD* e *MyF5* são conhecidos como fatores primários, enquanto os genes *MyoG* e *MyF6* são fatores secundários. Os dois primeiros são expressos em mioblastos na fase de proliferação e os dois últimos são expressos na fase de fusão e diferenciação (BUCKINGHAM *et al.*, 2014).

Já o gene *MSTN*, também conhecido como *GDF8*, é um membro da superfamília beta de fatores de crescimento (TGF- β) e funciona como um regulador negativo do desenvolvimento e do crescimento do músculo esquelético. Ele inibe a proliferação e diferenciação de progenitores musculares durante o desenvolvimento, ocasionando a redução da massa muscular dos animais (MCPHERRON *et al.*, 1997; CRISPO *et al.*, 2015). Hu *et al.* (2013) utilizaram RNA de interferência para inibir a expressão da miostatina em ovinos e constaram uma aceleração do crescimento nestes animais se comparado aos animais com expressão normal do gene *MSTN*.

Muitos dos genes da família *MyoD* foram alvo de poucos estudos em ovinos, enquanto o gene *MSTN*, apesar de muito estudado em ovinos, não foi alvo de prévios estudos com a raça Santa Inês. Não há também relatos de que estes genes tenham sido previamente sequenciados em ovinos Santa Inês. Assim, o objetivo deste estudo foi sequenciar fragmentos dos genes da família *MyoD* e do gene *MSTN* na raça Santa Inês e descrever as frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos encontrados.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

Animais avaliados

Este estudo foi realizado com aprovação do comitê de ética no uso de animais da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), conforme protocolo N° 02/2010. Foram avaliados 192 cordeiros Santa Inês com aproximadamente 240 dias de idade. Destes, 106 nasceram entre 2010 e 2012 no campo experimental Pedro Arle, da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, no município de Frei Paulo / Sergipe. Enquanto os outros 86 cordeiros foram criados na fazenda experimental da Escola de Veterinária Medicina e Zootecnia da UFBA, localizada em São Gonçalo dos Campos / Bahia, todos nascidos em 2014.

Extração de DNA genômico e reação em cadeia da polimerase

A extração de leucócitos foi feita pelo método de precipitação com sal, segundo protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2007). Para tanto, foi coletado 5 ml de sangue de cada animal, em tubos *vacutainer* contendo EDTA, os quais foram estocados e refrigerados para posterior análise. A extração do DNA genômico, amplificação da região alvo, preparação da biblioteca e sequenciamento foram realizados na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, para onde os leucócitos foram encaminhados. A extração do DNA foi realizada utilizando método de precipitação com solução salina e proteinase K, seguindo protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2007).

Foi escolhido aleatoriamente um fragmento dos genes estudados, levando em consideração o tamanho do gene e a distância entre os exons. O desenho dos *primers* para a amplificação dos fragmentos dos genes da *MyoG*, *MyoD1*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* foi realizado com base nos dados depositados no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) com os seguintes códigos de acesso: *MyoG* (ID: 443158), *MyoD1* (ID: 443405), *MyF5* (ID: 443159), *MyF6* (ID: 100188930) e *MSTN* (ID: 443449), do genoma de ovinos (*Ovis aries*) versão Oar_v4.0.

O desenho dos *primers* foi obtido com o programa Primer 3 (ROZEN e SKALETSKY, 1998), enquanto o teste da qualidade das sequências geradas e a escolha do *primer* foram feitos com a ferramenta online NetPrimer. Após a escolha dos melhores *primers forward* e *reverse* de cada gene (Tabela 1), foi realizado o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) para alinhamento das sequências no NCBI e confirmação de similaridade com a espécie *Ovis aries*.

Tabela 1 - Primers forward (F) e reverse (R) utilizados, tamanho do fragmento amplificado (pb) e sua localização no genoma ovino.

Gene	Sequência	pb	Localização
<i>MyoG</i>	F: 5' ACT ACC TGC CTG TCC ACC TC 3' R:3' TCC TCC ACT GTG ATG CTG TC 5'	1.836	Cromossomo 12 posições de 198441-196606 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MyoD1</i>	F: 5' CAG ACC CTC AGT GCT TTG CT 3' R:3' CCT GCC TGC CGT ATA AAC AT 5'	2.493	Cromossomo 15 Posições de 34303414 a 34300922 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MyF5</i>	F: 5' CTC CGG TTT CTC CCC TAT CT 3' R:3' CAT CAC CTT AAC TCA TGA TTC CT5'	2.813	Cromossomo 3 Posições de 116459993 a 116462805 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MyF6</i>	F: 5' CTT GGA CGG GGA AAA TGT TA 3' R: 3' GAG GAA ATG CTG TCC ACG AT 5'	1.126	Cromossomo 3 Posições de 116444909 a 116446058 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MSTN</i>	F: 5' AGA ACA GCG AGC AGA AGG AA 3' R: 3' CAA TGC TCT GCC AAA TAC CA 5'	2.380	Cromossomo 2 Posições de 118140493 a 118142497 (exons 1 a 2, incluindo intron 1)

Para amplificação da região alvo foram utilizados 20 μ L de reação contendo 0,3 μ M de cada *primer*, a enzima Taq polimerase *Emeraldamp Max Hs* (Takara Bio, USA) e 100ng/ μ L do DNA molde. A amplificação foi realizada em um termociclador Veriti® (Applied Biosystems, USA). Na Tabela 2 podem ser observados os protocolos de desnaturação inicial, desnaturação, anelamento, extensão e extensão final.

Para os genes *MSTN*, *MyoDI* e *MyF6* as fases de desnaturação, anelamento e extensão se repetiram 40 ciclos, antes da extensão final. Enquanto para os genes *MyF5* e *MyoG* foi realizada uma PCR *touchdown*, dividida em duas partes, onde as fases de desnaturação, anelamento e extensão tiveram 20 ciclos cada uma. Os produtos da amplificação foram diferenciados utilizando o gel de agarose a 1% e as bandas dos amplificados foram coradas com o GelRed (Biotium, USA). O produto amplificado foi classificado quanto à existência das bandas pretendidas, possuindo o mesmo número de pares de bases indicado na Tabela 1. Foi utilizado como controle positivo um pool de DNA de ovinos da raça Santa Inês.

Tabela 2 - Temperaturas e tempos utilizados nas reações de PCR em cada um dos genes estudados em ovinos Santa Inês.

Gene	Desnaturação Inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão Final
<i>MSTN</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	59°C / 30 seg	72°C/ 3 min	72°C/5min
<i>MyoDI</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	63°C / 30 seg	72°C/ 3 min	72°C/5min
<i>MyF6</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	56°C / 30 seg	72°C/ 2 min	72°C/5min
<i>MyoG</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	65°C – 55°C	72°C/ 2 min	
(Parte 1)			Δ -0,5°C / 30 seg		
<i>MyoG</i>		98°C/10 seg	55°C / 30 seg	72°C/ 2 min	72°C/5min
(Parte 2)					
<i>MyF5</i>	96°C/30 seg	94°C/15 seg	59°C – 54°C	68°C/ 4 min	
(Parte 1)			Δ – 0,5°C / 30 seg		
<i>MyF5</i>		94°C/15 seg	54°C / 30 seg	68°C/ 4 min	68°C/5min
(Parte 2)					

Deteccão de Polimorfismo e Anotação Funcional

A identificação de polimorfismos (SNPs e INDELS) foi realizada com o programa SAMtools versão 1.4 (LI et. al, 2009), considerando a posição dos polimorfismos no genoma de referência. Em seguida foi realizada a conversão dos arquivos em formato SAM (*Sequence Alignment/Map*) para o formato BAM (forma binária do arquivo SAM). Posteriormente foram removidas as duplicatas de PCR, ordenadas as posições das

sequências e construído o index do arquivo ordenado. Considerando os *mismatches* (nucleotídeos divergentes), foi utilizado um valor maior do que 40 para a análise de parâmetros de qualidade de mapeamento. Eles foram analisados em relação ao genoma referência, a qualidade da sequência e a taxa de erro do sequenciamento. Em seguida foram identificadas as variações genéticas e armazenadas em um arquivo em formato (.vcf) para posterior leitura, filtragens e análise dos resultados. Foi realizada a anotação funcional dos SNPs e INDELS utilizando a ferramenta VEP (*Variant Effect Predictor*) do Ensembl. A nomenclatura dos marcadores está de acordo com as regras definidas por *Human Genome Variation Society* (HGVs).

Determinação das frequências genotípicas e alélicas

Para cada polimorfismo foram estimadas as frequências alélicas e genotípicas, as heterozigosidades observada e predita e testado o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). O HWE foi testado pela comparação das heterozigosidades observada e predita. A heterozigosidade predita (HP) foi obtida com a equação: $HP = 2 * (1 - MAF) * MAF$, onde MAF é a menor frequência alélica. O programa Haploview (Barrett *et al.*, 2005) foi usado para testar o HWE e identificar blocos de desequilíbrio de ligação bem como as frequências dos haplótipos nestes blocos. Utilizou-se como critérios para pesquisa de blocos uma MAF mínima de 0,1% e P-valor do teste de HWE superior a 10^{-6} .

6.5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Algumas amostras avaliadas não amplificaram, sendo 19 no gene *MyoD1*, uma do *MyF5*, uma do *MyF6* e 68 do *MSTN*. Portanto, foram sequenciados 173, 192, 191, 191 e 123 animais para os genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN*, respectivamente. As frequências alélica e genotípica, as heterozigosidades observada e predita, o escore SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*), bem como o resultado do teste para equilíbrio Hardy-Weinberg são descritos no ANEXO-I para todos os polimorfismos encontrados, enquanto na Tabela 3 são resumidas algumas características das sequências obtidas e dos

polimorfismos identificados. Os fragmentos amplificados contiveram as quantidades de pares de bases a seguir: 1.836 (*MyoG*), 2.493 (*MyoDI*), 2.813 (*MyF5*), 1.126 (*MyF6*) e 2.380 (*MSTN*), o que correspondeu a 90,2% da sequência total do gene *MyoDI* depositada no NCBI, 94,8% do *MyoG*, 88,9% do *MyF5*, 81,1% do *MyF6* e 47,7% do *MSTN*.

Um total de 160 polimorfismos foram identificados quando comparamos as sequências obtidas com aquelas depositadas no NCBI. Estes polimorfismos foram distribuídos da seguinte forma: 59 (*MyoDI*), 24 (*MyoG*), 63 (*MyF5*), quatro (*MyF6*) e 10 (*MSTN*). Deste montante, 104 polimorfismos foram identificados pela primeira vez em ovinos, sendo dois novos polimorfismos no *MyoG*, 45 no *MyoDI*, 56 no *MyF5* e um no *MSTN*. Com relação a localização, 61 estavam em intron (10 no *MSTN*, três no *MyF6*, cinco no *MyF5*, 16 no *MyoG* e 27 no *MyoDI*), 87 em exon (um no *MyF6*, 56 no *MyF5*, oito no *MyoG* e 22 no *MyoDI*) e 12 na 3'UTR (dois no *MyF5* e 10 no *MyoDI*). Grande parte dos SNPs encontram-se em HWE ($P > 10^{-6}$), exceto para o gene *MyoDI* em que apenas 33,9% dos polimorfismos encontram-se em HWE.

Tabela 3 - Resumo dos polimorfismos encontrados nos genes da família *MyoD* e *MSTN* em ovinos Santa Inês.

	<i>MyoDI</i>	<i>MyoG</i>	<i>MyF5</i>	<i>MyF6</i>	<i>MSTN</i>
Pares de base no fragmento sequenciado	2493	1836	2813	1126	2380
% do gene referência	90,2	94,8	88,9	81,1	47,7
Número de polimorfismos identificados	59	24	63	4	10
Número de novos polimorfismos	45	2	56	0	1
Polimorfismos em intron	27	16	5	3	10
Polimorfismos em exon	22	8	56	1	0
Polimorfismos na região 3'UTR	10	0	2	0	0
Percentual de polimorfismos em HWE*	33,9	91,7	73,0	100,0	100,0

*Foi considerado em HWE polimorfismos cujo teste apresentou probabilidade maior que 10^{-6}

MyoDI

O presente estudo revelou muitas novas variantes (76,3%) no gene *MyoDI* de ovinos (ANEXO-I). Contudo, apenas 33,9% dos polimorfismos encontrados apresentaram HWE ($P > 10^{-6}$). A ausência de HWE foi uma consequência da baixa heterozigidade observada para muitos polimorfismos neste gene. Em muitos casos o genótipo heterozigoto não foi sequer encontrado. A ausência de um genótipo pode ser uma consequência da amostragem utilizada ou um indicativo de efeito deletério da combinação alélica que origina o genótipo. Ressalta-se o fato de que apenas dois SNPs

(*g.34302200A>T* e *g.34301376G>A*) apresentaram $MAF \leq 1\%$. Logo, neste caso específico do gene *MyoDI*, é pouco provável que a baixa amostragem seja a consequência da ausência de frequência em determinados genótipos.

Das 13 mutações não-sinônimas encontradas neste gene, apenas duas estão em HWE (*g.34301797T>G* e *g.34303195G>A*). O SNP *g.34301797T>G* é um novo polimorfismo, têm frequências genóticas iguais a 97,7% (*TT*), 1,2% (*TG*) e 1,2% (*GG*) e causa uma troca Asp/Ala. Já o SNP *g.34303195G>A* é uma mutação não-tolerável (SIFT = 0,03), tem frequências iguais a 96,5% (*GG*), 3,5% (*GA*) e 0% para (*AA*) e causa uma substituição Pro/Leu na posição 33. Portanto, apesar de estarem em HWE, estas duas mutações encontram-se praticamente fixadas para o alelo referência e seu uso em testes de associação será difícil.

Os SNPs que ocorreram na região 3'UTR não modificam a proteína, mas polimorfismos nesta região tem o potencial de alterar a expressão dos genes estudados, pois trata-se de uma região que é alvo de ligação de miRNAs (MEISTER *et al.*, 2004). Destacamos neste caso os polimorfismos *g.34301231G>GGC*, *g.34301304GA>G*, *g.34301332C>G*, *g.34301376G>A*, *g.34301388A>C*, *g.34301541A>C* e *g.34301571G>T*, os quais são novos polimorfismos, porém metade deles não está em HWE.

A amostra estudada aqui é pequena, mas ressaltamos que as frequências obtidas podem estar muito próximas da frequência real na raça Santa Inês, pois algumas destas frequências foram comparadas com estudos envolvendo outras raças e resultados muito similares foram identificados. Por exemplo, o SNP *g.34302967A>G* localizado no exon 3 também foi identificado na raça de ovinos Stavropol por Trukhachev *et al.* (2017), os quais reportaram frequências do alelo *G* e do genótipo *GG* iguais a 17% e 0%, respectivamente. Estes valores estão muito próximos daqueles encontrados aqui com a raça Santa Inês, os quais foram 19,1% (*G*) e 3,5% (*GG*).

Dos 59 polimorfismos identificados no gene *MyoDI*, apenas 20 atenderam aos critérios apresentaram simultaneamente $MAF > 0,1\%$ e P-valor do teste HWE maior que 10^{-6} . Entre esses 20 polimorfismos foi identificado apenas um bloco de desequilíbrio de ligação (Figura 1), sendo formado pelos SNPs *g.34302401G>A* e *g.34302419T>G*. Os haplótipos encontrados neste bloco foram *GT* e *AG*, com frequências de 93% e 6,7%, respectivamente. Logo, haplótipos raros (*GG* e *AT*) representaram apenas 0,3%.



Figura 1. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MyoDI* em ovinos Santa Inês

MyoG

No presente estudo foi obtida grande parte da sequência do gene *MyoG* (94,7%) em ovinos. Vinte quatro polimorfismos foram identificados (ANEXO-I), sendo dois novos (*g.196844G>A* e *g.198101CGG>CG*). O SNP *g.196844G>A* está no intron-1, apresenta HWE e têm frequências alélicas (92,4% *G* e 7,6% *A*) e genotípicas (85,4% *GG*, 14,1% *GA* e 0,5% *AA*) que permitem utilizá-lo em estudos de associação. Já o indel *g.198101CGG>CG* encontra-se no intron-2 e não está em HWE devido a grande diferença entre as heterozigosidades observada (0,5%) e predita 10,4%. Logo, provavelmente não será utilizado em estudos de associação.

Oito SNPs foram localizados no exon 3 do gene *MyoG*, sendo quatro variantes não-sinônimos (*g.198131T>G*, *g.198149A>T*, *g.198159C>T* e *g.198304C>G*). Dentre essas quatro variantes, o SNP *g.198304C>G* é o único que não está prestes a fixar para um dos alelos, apresentando frequências alélicas iguais a 83,1% para o alelo *C* e 16,9% para o *G*. Contudo, este também é o único SNP a não estar em HWE dentre as quatro

variantes não-sinônimas. As heterozigosidades esperada (8,9%) e predita (28,2%) para o SNP *g.198304C>G* indicam que este loco pode estar sofrendo efeito dos processos de seleção na raça.

A semelhança entre as frequências genotípicas de alguns SNPs aqui encontrados no gene *MyoG* e aquelas já previamente depositadas em bancos de dados como o ensemble, atestam a qualidade das sequências aqui obtidas. Por exemplo, o SNP *g.198159C>T* apresentou frequências iguais a 97,9% (*CC*), 2,1% (*CT*) e 0,0% (*TT*) na amostra da raça Santa Inês aqui estudada, resultado que é muito similar aos valores de 98,4% (*CC*) e 1,6% (*CT*) reportados na população MOOA do projeto NextGen (Ver site Ensembl).

Dos 24 polimorfismos identificados no gene *MyoG*, 21 atenderam os critérios mínimos para análise de haplótipos, tendo sido encontrado dois blocos de desequilíbrio de ligação (Figura 2). O primeiro bloco é formado por seis SNPs na seguinte ordem: *g.196793G>A*, *g.196844G>A*, *g.196984A>G*, *g.197088C>T*, *g.197099T>G* e *g.197380G>A*, totalizando 588 pb de comprimento. Neste bloco foram encontrados seis haplótipos com frequência maior que 4%, como segue: *GGACGG* (27,5%), *GGACGA* (21,7%), *GGACTG* (14,4%), *AGGTTG* (13,4%), *AGGCTG* (12,5%) e *GAAGTG* (7,3%), sendo o quantitativo de haplótipos raros igual a 3,2%. O segundo bloco foi formado pelos SNPs *g.198080G>A* e *g.198160G>A* e apresentou três tipos de haplótipos *GG* (72,3%), *AA* (18,1%) e *AG* (9,6%), não havendo haplótipos raros.

MyF5

Aqui foi sequenciado um fragmento que representa 88,9% da sequência referência do *MyF5* e neste fragmento foram identificados 56 novos polimorfismos em ovinos. Ressaltamos que todos os polimorfismos identificados no gene *MyF5* apresentaram maior frequência do alelo referência em comparação ao alelo mutante, tendo a MAF variado de 0,5% a 5,5%. Isso indica que quase todos os polimorfismos encontrados estão próximos de fixar na raça Santa Inês. Será difícil realizar estudos de associação com a raça Santa Inês envolvendo estes polimorfismos no gene *MyF5*, pois grandes amostras serão necessárias para garantir razoável distribuição das frequências genotípicas. Ressalta-se que apesar de 45 polimorfismos no gene *MyF5* atenderem os critérios mínimos para a pesquisa de haplótipos, nenhum bloco foi encontrado neste gene (Figura 3), o que também impede a análise de associação por haplótipos.

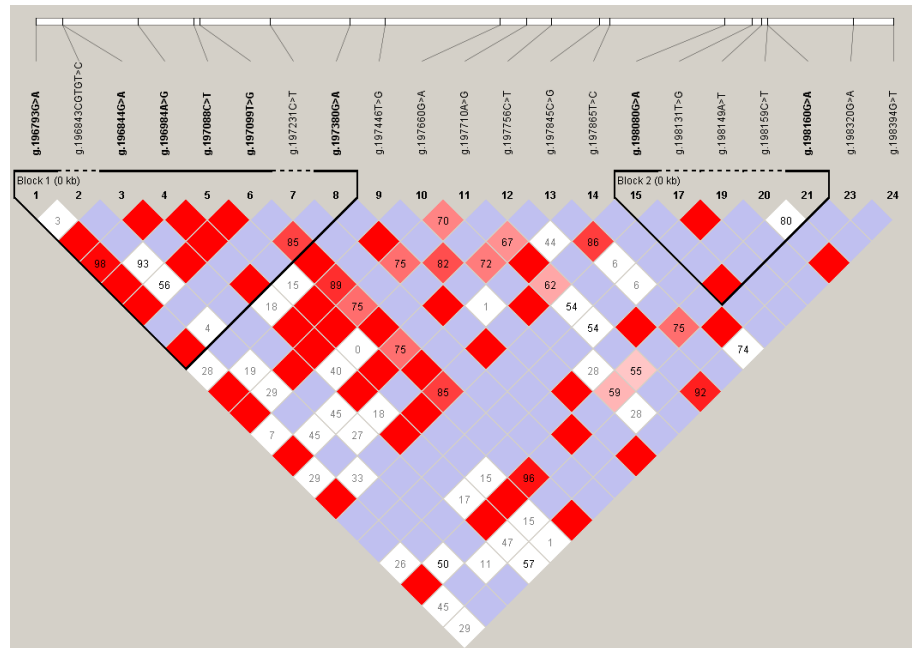


Figura 2. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MyoG* em ovinos Santa Inês

Apesar do elevado número de polimorfismos encontrados no *MyF5* em ovinos Santa Inês, não há razões para crermos que houve algum erro de sequenciamento, pois alguns polimorfismos apresentaram frequências muito similares aquelas observadas em outras populações de diferentes raças ovinas. Por exemplo, o SNP *g.116460689G>T* apresentou frequências alélicas iguais a 96,9% e 3,1% para os alelos *G* e *T*, respectivamente. Valores que são muito similares aqueles reportados para a população MOOA do projeto NextGen (99% *G* e 1% *T*).

Dos 44 polimorfismos localizados em exon, 20 causam substituição do aminoácido na sequência da proteína, sendo pelo menos três destes (*g.116460257C>T*, *g.116460430G>C* e *g.116462045C>G*) considerados não-toleráveis (SIFT < 0,05). Essa quantidade de polimorfismos em exons no gene *MyF5* revela a importância da realização de estudos de sequenciamento em ovinos, pois segundo dados do ensembl até o presente momento existem 82 polimorfismos já identificados no gene *MyF5* de ovinos, dos quais apenas 5 se localizam em exon.

MyF6

Grande parte (81,1%) do gene *MyF6* foi sequenciado no presente estudo, mas apenas quatro polimorfismos, já previamente reportados em ovinos de outras raças, foram encontrados. Esse reduzido número de polimorfismos no gene *MyF6* na raça Santa Inês é um fator que surpreende, pois segundo o banco de dados Ensembl existem 128 polimorfismos distribuídos nas diferentes regiões (68 em upstream, 49 em 3'UTR, 7 em introns e 4 em exons).

Embora tenhamos identificado um reduzido número de SNPs no gene *MyF6* de ovinos Santa Inês, será mais fácil utilizar este gene em estudo de associação do que utilizar o gene *MyF5*. Ocorre que os quatro SNPs do gene *MyF6* estão em HWE e apresentam frequências genotípicas que permitem utilizá-los em estudos de associação, tendo a MAF variado de 6,1% a 26,3%.

O SNP *g.116446029T>C* foi a única variante encontrada em exon no gene *MyF6*. Trata-se de uma mutação sinônima localizada no exon-3 que têm frequências genotípicas iguais a 1,6% (*TT*), 11,0% (*TC*) e 87,4% (*CC*). Estas frequências são semelhantes aquelas observadas para a população MOOA (0,6% *TT*, 5,6% *CT* e 93,8% *CC*) no projeto NextGen (Ver banco de dados ensembl). Logo, o reduzido número de SNPs aqui encontrados no gene *MyF6* em ovinos Santa Inês é provavelmente uma característica da raça e não uma consequência de erro no sequenciamento.

No gene *MyF6* foram encontrados dois blocos de haplótipos (Figura 4), sendo um deles com os SNPs *g.116445836A>G* e *g.116445837T>G*, os quais formaram os haplótipos *AG* (73,4%) e *GT* (25,8%), enquanto o segundo bloco foi formado pelos SNPs *g.116445882C>A* e *g.116446029C>T*, que teve os haplótipos *CC* (92,9%), *AT* (6,1%), tendo os haplótipos raros frequência de 1%.

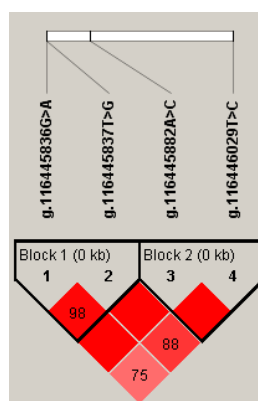


Figura 4. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MyF6* em ovinos Santa Inês

MSTN

O gene *MSTN* foi o que teve a menor proporção (47,7%) da sequência referência identificada dentre os genes aqui estudados. Apesar disso, foram encontrados 11 SNPs nesta sequência, todos no intron 1, sendo um novo (*g.118142503T>C*). O *g.118142503T>C* apresentou frequências genotípicas iguais a 76,4% (TT), 22,8% (TC) e 0,8% (CC), encontra-se em HWE e tem MAF igual a 12,2%, logo é uma boa opção para estudos de associação. Na verdade, todos os SNPs identificados no gene *MSTN* estão em HWE e a MAF variou de 4,5% a 45,5%, o que os tornam boas opções para estudos de associação. Polimorfismos no intron-1 do *MSTN* também foram identificados em ovinos (FARHADIAN *et al.*, 2012; IBRAHIM *et al.*, 2015; IBRAHIM e HICKFORD, 2016), os quais reportaram associação com atributos de crescimento, carcaça e carne.

As frequências genotípicas dos SNPs encontrados no intron 1 do gene *MSTN* em ovinos Santa Inês são similares aquelas já reportadas para populações do projeto NextGen. Por exemplo, o SNP *g.118141355G>A* apresentou frequência alélicas iguais a 83,7% para o alelo *A* e 16,3% para o *G*, valores muito próximos daqueles observados nas populações MOOA (88% *A* e 12% *G*) e IROA (83% *A* e 17% *G*).

A análise de associação por haplótipos também pode ser realizadas com alguns polimorfismos aqui encontrados, pois no gene *MSTN* foi encontrado um bloco formado pelos SNPs *g.118141035G>A* e *g.118141041T>C* (Figura 5). Três tipos de haplótipos *GT* (70,9%), *AT* (18,4%) e *AC* (10,7%) foram encontrados neste bloco.

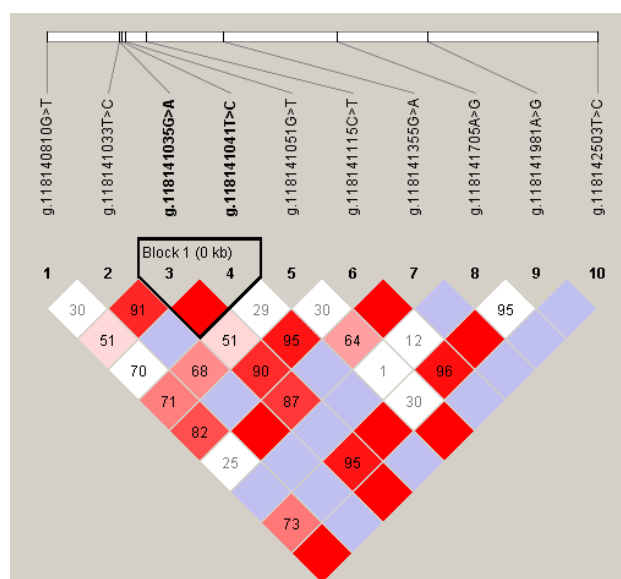


Figura 5. Análise de desequilíbrio de ligação no gene *MSTN* em ovinos Santa Inês

Considerações

Grandes fragmentos dos genes da família *MyoD* foram aqui sequenciados em ovinos da raça Santa Inês, o que permitiu identificar um elevado número de polimorfismos. Alguns resultados surpreenderam e evidenciaram a importância dos estudos de sequenciamento. Por exemplo, o gene *MyF5* tem muitas variantes (63), mas quase todas perto de fixar para o alelo referência, o que torna difícil a utilização deste gene em estudos de associação na raça Santa Inês. Já o gene *MyF6* tem poucas variantes (4), mas todas em HWE e com MAF que permitem usá-las em estudos de associação. Outro resultado interessante foi o elevado número de variantes no gene *MyoDI* (59), mas apenas 1/3 delas em HWE. Além disso, há razões para acreditar que algumas mutações não-sinônimas no gene *MyoDI* são deletérias, por serem não-toleráveis e por não terem apresentado frequência em um dos genótipos. Para o gene *MSTN* foi obtido um fragmento proporcionalmente menor que aqueles obtidos para os genes da família *MyoDI* e muitas regiões de interesse nesse gene, já associadas a variáveis de interesse na ovinocultura, permanecem desconhecidas na raça Santa Inês. Além disso, um elevado número de animais não amplificou para esse gene, o que indica que os *primers* aqui usados podem estar alinhando em uma região em que há polimorfismo.

6.6 CONCLUSÕES

Os genes *MyoDI*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* possuem vários polimorfismos na raça Santa Inês, muito dos quais podem ser utilizados em futuros estudos de associação para detectar associação com variáveis de interesse econômico na ovinocultura. Além disso, as frequências aqui apresentadas podem agora servir de comparação com aquelas obtidas em outras raças de ovinos, especialmente para 105 novos polimorfismos que ainda não haviam sido descritos em ovinos.

6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETT J.; FRY B.; MALLER J.; DALY M. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics** 21, 263-265, 2005.
- BHUIYAN, M. S. A.; KIM, N. K.; CHO, Y. M.; YOON, D.; KIM, K. S.; JEON, J. T.; LEE, J. H. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, v.126, n. 1, p. 292-297, 2009.
- BUCKINGHAM, M.; RIGBY, P.W.J. Gene regulatory networks and transcriptional mechanisms that control *MyoGenesis*. **Developmental cell**, v.28, n.3, p.225-238,

- 2014.
- CRISPO M, MULET A.P, TESSON L.; BARRERA N.; CUADRO F.; DOS SANTOS-NETO P.C.; NGUYEN T.H.; CRÉNÉGUY A.; BRUSSELLE L.; ANEGÓN I.; MENCHACA A.. Efficient generation of myostatin knock-out sheep using CRISPR/Cas9 technology and microinjection into zygotes. **Plos one**, v.10, n.8, p.e0136690, 2015.
- FARHADIAN M.; HASHEMI A.; MARDANI K.; DARVISHZADEH R.; JAFARI S. Polymorphisms in the ovine myostatin gene are associated with birth weight but not with weight gain in Iranian Makoei sheep. **Genetics and Molecular Research**, v.11, n.4, p.3568-3575, 2012.
- HAN, J.; FORREST, R. H.; HICKFORD, J. G. H. Genetic variations in the myostatin gene (*MSTN*) in New Zealand sheep breeds. **Molecular Biology Reports**, v.40, n.11, p. 6379-6384, 2013.
- HU, S.; NI, W.; SAI, W.; ZI, H.; QIAO, J.; WANG, P.; SHENG, J.; CHEN, C. Knockdown of myostatin expression by RNAi enhances muscle growth in transgenic sheep. **PloS One**, v.8, n.3, p.e58521, 2013.
- IBRAHIM, A.H.M.; ZHOU, H.; HICKFORD, J.G.H. Variation in intron 1 of the ovine GDF8 gene and its association with growth and carcass characteristics of dual purpose sheep. **Egyptian Journal of Animal Production**, v.52, p.39-46, 2015.
- IBRAHIM, A.H.M.; HICKFORD, J.G.H. Correlation analysis between myostatin gene polymorphisms and carcass traits in New Zealand Romney sheep. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology** v.44, n.2, 2016.
- JIN, W.; PENG, J.; JIANG, S.N. The epigenetic regulation of embryonic *MyoGenesis* and adult muscle regeneration by histone methylation modification. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v.6, p.209-219, 2016.
- LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH, G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, v.25, p.2078–2079, 2009.
- MCPHERRON, A.C.; LAWLER A.M.; LEE S. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**, v.387, n.6628, p.83, 1997.
- MEISTER. G.; TUSCHL, T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. **Nature**, v.431, n.7006, p.343-349, 2004.
- OLIVEIRA, M.C.D.S.; REGITANO, L.C.A.; ROESE, A.D.; ANTHONISEN, D.G.; PATROCÍNIO, E.; PARMA, M.M.; SCAGLIUSI, S.M.M.; TIMÓTEO, W.H.B.; JARDIM, S.N. 2007. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48295/1/LivroProtMolecular.pdf> Acessado em 02/05/2013.
- ROZEN, S.; SKALETSKY, H.J. **Primer3**. (1998). Disponível em: <http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html>
- TRUKHACHEV, V.; SKRIPKIN, V.; TELEGINA, E.; YATSYK, O. 2017. Associations between newly discovered polymorphisms of the *MyoDI* gene and body parameters in Stavropol breed rams. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. Disponível em: <<http://tru.uni-sz.bg/bjvm/A.%20Krivoruchko%20OnFirst.pdf>> Acessado em 20/10/2017.

**7 CAPÍTULO 2 : GENES ENVOLVIDOS NA MIOGÊNESE INFLUENCIAM
COR, MACIEZ E PH DA CARNE DE OVINOS SANTA INÊS**

GENES ENVOLVIDOS NA MIOGÊNESE INFLUENCIAM COR, MACIEZ E PH DA CARNE DE OVINOS SANTA INÊS

7.1 RESUMO

Os genes da família MyoD e o gene *MSTN* possuem importantes funções na mio gênese e por isso são candidatos a estudos de associação com atributos da carne em animais de produção. Assim, o objetivo deste estudo foi testar se polimorfismos nos genes *MyoDI*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* estão associados a maciez, pH, cor (a^* , b^* e L^*), força de cisalhamento e capacidade de retenção de água (CRA) em amostras de músculo *Longissimus* de ovinos da raça Santa Inês. Um total de 65 polimorfismos (15 no *MyoDI*, dez no *MSTN*, quatro no *MyF6*, 16 no *MyoG* e 20 no *MyF5*) foram testados a um nível de significância de 0,0003, obtido por correção de Bonferroni. O SNP *g.34302419T>G* no intron-2 do gene *MyoDI* foi associado com força de cisalhamento da carne, sendo o genótipo *GG* 0,88 kgf mais macio que o *TT*. Também foi identificado efeito do SNP *g.197088C>T*, no intron-1 do gene *MyoG*, sobre intensidade de vermelho (a^*) da carne, sendo a diferença entre os genótipos *CC* e *TT* igual a 5,72. Para os SNPs *g.34302419T>G* e *g.34303049G>T* (ambos no *MyoDI*), *g.197660G>A*, *g.197710A>G* e *g.197845C>G* (os três no *MyoG*), *g.116445837T>G* (*MyF6*) e *g.118141035G>A* (*MSTN*) também foram encontradas associações com atributos de carne como força de cisalhamento, pH e cor (a^* , b^* e L^*). Porém, com efeitos apenas sugestivos ($P < 0,05$). Portanto, existem SNPs na família MyoD e no gene *MSTN* associados a atributos de carne em ovinos Santa Inês, os quais podem ser úteis para a seleção assistida por marcadores.

Palavras-chave: cordeiros, polimorfismo, Santa Inês, seleção assistida, SNP

MYOGENESIS GENES ASSOCIATED WITH MEAT QUALITY IN SANTA INES SHEEP

7.2 ABSTRACT

The genes of the MyoD family and the *MSTN* gene have key roles in myogenesis and therefore are candidate genes for association studies with meat quality traits in livestock. However, there are no previous reports for many of these genes in sheep. Thus, this study aimed testing association between polymorphisms in *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* and *MSTN* genes with pH, color (a^* , b^* , L^*), shear force and water holding capacity in Longissimus muscle in Santa Ines sheep. A total of 46 polymorphisms (15 in *MyoD1*, ten in *MSTN*, four in *MyF6*, 16 in *MyoG* and 20 in *MyF5*) were tested. The significance level of 0.0003 was obtained after Bonferroni correction. The SNP *g.34302419T>G*, in intron-2 of the *MyoD1* gene, was associated with shear force, and the difference between *GG* and *TT* genotypes was 0.88 kgf. An additive effect of SNP *g.197088C>T*, in the intron-1 of the *MyoG* gene, on redness (a^*) was also found, with 5.72 of difference between *CC* and *TT* genotypes. The SNPs *g.34302419T>G* and *g.34303049G>T* (Both in *MyoD1*), *g.197660G>A*, *g.197710A>G* and *g.197845C>G* (all in *MyoG*), *g.116445837T>G* (*MyF6*), and *g.118141035G>A* (*MSTN*) also were associated with meat attributes, but only suggestive effects ($P < 0.05$) were found. Therefore, the present study identified SNPs in the MyoD family and *MSTN* gene associated with meat attributes in Santa Ines sheep, which can be useful for marker-assisted selection.

Keywords: lambs, polymorphism, Santa Ines, assisted selection, SNP

7.3 INTRODUÇÃO

Os genes da família *MyoD* (*MyoD1*, *MyoG*, *MyF5* e *MyF6*) são fatores de transcrição Miogênicos que atuam na determinação e maturação das fibras musculares (BHUIYAN *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2009). Já o gene *MSTN*, também conhecido como *GDF8*, é um regulador negativo da miogênese (HAN *et al.*, 2013). Assim, eles têm sido estudados como genes candidatos a associação com atributos de crescimento, carcaça e carne em animais de produção.

No contexto dos atributos de carne, Kapelański *et al.* (2005) reportaram associação entre polimorfismo no gene *MyoD1* e pH, cor e percentual de cinzas em amostras de carne suína, além de polimorfismo no gene *MyoG* associado com capacidade de retenção de água, luminosidade (L^*) e intensidade de vermelho (a^*) da carne. Já Chen *et al.* (2015) encontraram efeito de polimorfismos no gene *MyoD1* sobre diâmetro e densidade das fibras musculares, bem como percentual de matéria seca em filé de truta arco-iris. Para ovinos não há relatos de efeitos de polimorfismos nos genes *MyoD1* e *MyoG* associados a atributos de carne, mas Trukhachev *et al.* (2017) reportam efeito de polimorfismo no gene *MyoD1* para medidas corporais como perímetro do tórax, perímetro do metacarpo e largura do lombo. Além disso, Sun *et al.* (2010) encontraram correlações positivas entre o nível de expressão gênica do *MyoG* e os pesos vivo e da carcaça em ovinos da raça Hu. Portanto, há indícios de que os genes *MyoD1* e *MyoG* influenciam crescimento em ovinos e, conseqüentemente, podem estar ligados a qualidade de carne.

Dentre os genes da família *MyoD*, o mais investigado em estudos de associação com atributos de carne é o *MyF5*. Em suínos, Kapelański *et al.* (2005) reportaram associação entre esse gene e pH da carne, perdas de água do músculo por gotejamento. Liu *et al.* (2007) encontraram um haplótipo no *MyF5* associado com perda de água por gotejamento, capacidade de retenção de água, cor da carne e teor de água no músculo *Longissimus*. Ainda em suínos, Wang *et al.* (2012) identificaram um polimorfismo no exon-1 do gene *MyF5* associado com maciez de carne, enquanto Khang e Ngu (2013) reportaram efeito para maciez de carne e pH da carne 45 minutos pós-abate. Em bovinos de corte, também há relatos de polimorfismos no exon-2 e intron-1 associados com a capacidade de retenção de água em amostras de carne (Ujan *et al.* 2011^a; Ujan *et al.*, 2011^b). Enquanto Wang *et al.* (2017) encontram efeitos sobre cor (L^* , a^* e b^*) em

amostras de carne de coelhos. Já o gene *MyF6* foi pouco estudado em animais de produção, mas Kapelański *et al.* (2005) reportaram um efeito deste gene sobre perdas de água por gotejamento em amostras de carne suína. Não há relatos de polimorfismos nos genes *MyF5* e *MyF6* associados a atributos de qualidade de carne ovina ou outras variáveis de interesse zootécnico na ovinocultura.

O gene *MSTN*, diferentemente dos genes da família *MyoD*, foi muito estudado em ovinos de várias raças, pois inibindo-se esse gene ocorre o aumento das fibras musculares (HU *et al.*, 2013), gerando um fenótipo conhecido como musculatura dupla. Assim, polimorfismos nas regiões: codificadora (BOMAN e VÅGE, 2009; BOMAN *et al.*, 2009; BOMAN *et al.*, 2010), 3'UTR (CLOP *et al.*, 2006; BOMAN *et al.*, 2009; BOMAN *et al.*, 2010), 5'UTR (GAN *et al.*, 2008), intron-1 (IBRAHIM e HICKFORD, 2016) e intron-2 (KIJAS *et al.*, 2007) do gene *MSTN* de ovinos foram associados geralmente a aumento da massa muscular e redução da gordura. Porém, apenas Kijas *et al.* (2007) reportaram ter testado associação de polimorfismos no *MSTN* para atributos da carne, encontrando efeitos significativos da mutação $g+6723G>A$ (3'UTR) sobre medidas sensoriais de suculência, maciez e satisfação do consumidor. Ainda reportaram efeito do SNP $g-41C>A$ (5'UTR) sobre maciez de carne mensurada via força de cisalhamento.

Com exceção de polimorfismo no gene *MSTN* associado à alguns atributos de carcaça (KIJAS *et al.*, 2007), não há outros relatos de polimorfismos nos genes da família *MyoD* ou no gene *MSTN* associados a atributos de qualidade da carne ovina. Contudo, as evidências já observadas em outras espécies como aves, bovinos de corte e suínos, levantam a hipótese de que estes efeitos também podem estar presentes nos ovinos. Assim, o objetivo deste estudo foi testar se polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* estão associados a maciez, pH, cor (a^* , b^* e L^*) e capacidade de retenção de água em amostras de músculo *Longissimus* em ovinos Santa Inês.

7.4 MATERIAL E MÉTODOS

Animais e fenótipos avaliados

Este estudo foi realizado com aprovação do comitê de ética no uso de animais da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), conforme protocolo N° 02/2010. Foram avaliados 192 cordeiros Santa Inês com

aproximadamente 240 dias de idade, destes, 106 nasceram entre 2010 e 2012 no campo experimental Pedro Arle, da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, no município de Frei Paulo / Sergipe. Enquanto os outros 86 foram criados na fazenda experimental da Escola de Veterinária Medicina e Zootecnia da UFBA, localizada em São Gonçalo dos Campos / Bahia, todos nascidos em 2014. Estes animais tiveram amostras de lombo coletadas, as quais foram avaliadas para pH, cor, maciez e capacidade de retenção de água (Tabela 1).

Tabela 1 - Tamanho amostral (N), mínimo, média, máximo e desvio-padrão (DP) das dos atributos de carne analisados em ovinos Santa Inês.

Característica	N	Mínimo	Média	Máximo	DP
Luminosidade da carne (L*)	185	27,66	44,59	59,9	5,51
Intensidade de vermelho (a*)	185	10,44	20,9	31,14	5,69
Intensidade de amarelo (b*)	185	3,59	8,38	13,57	2,42
Capacidade de retenção de água	99	0,19	0,24	0,31	0,02
Força de cisalhamento	185	0,58	1,79	5,05	0,92
pH inicial (pH0)	99	6,2	6,63	7,04	0,18
pH final (pH24)	99	5,03	5,46	6,66	0,27

A mensuração do pH foi realizada com peagâmetro digital, logo após o abate (0 hora) e 24 horas *post mortem*. Foi realizado um corte no músculo *Longissimus* entre a 12^a e 13^a costelas para a introdução do eletrodo de penetração do peagâmetro, sendo aferidas três medições sequenciais de cada carcaça. A média dessa triplicata foi usada como referência de cada animal.

A caracterização cromática da carne foi realizada após o descongelamento dos referidos músculos (4°C por 12h e posteriormente exposto a temperatura ambiente por 30 minutos). Utilizou-se o colorímetro MINOLTA CR-400, empregado no sistema CIE/Lab com fonte D65, ângulo de 10° e calibrado no branco. Foram verificados os valores das coordenadas cromáticas: L* - luminosidade (com valores de 0 para preto a 100 para branco), a* - intensidade de vermelho (com valores negativos para a cor verde e positivos para a cor vermelha) e b* - intensidade de amarelo (com valores negativos para a cor azul e positivos para a cor amarela). Foram feitas três mensurações em cada lombo, sendo a média das triplicatas o valor utilizado.

Depois do descongelamento das amostras de músculo *Longissimus* em temperatura ambiente, foi realizada a quantificação da maciez pela força de cisalhamento com o equipamento Warner Bratzler Shear Force. Para tal, utilizou-se um vazador cilíndrico do próprio equipamento, com a finalidade de retirar cinco fragmentos da parte

central das porções com aproximadamente 1,27 cm de diâmetro; a incisão foi perpendicular as suas fibras e livre de excesso de gorduras e nervos. O auge da força do cisalhamento (kgf) foi registrado e a média das cinco amostras de cada lombo foi considerada a força de cisalhamento.

Amostras de carne também foram colocadas sobre papel-filtro no sentido transversal das fibras, para a determinação da capacidade de retenção de água. Em seguida foram colocadas entre duas placas acrílicas e sobre estas foi colocado um peso de 10 kg durante 5 minutos. Subsequentemente, calculou-se a quantidade de água perdida das amostras por diferença de peso.

Extração de DNA genômico e reação em cadeia da polimerase

A extração de leucócitos foi feita pelo método de precipitação com sal, usando protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2007). Para tanto, foi coletado 5 ml de sangue de cada animal, em tubos *vacutainer* contendo EDTA. A extração do DNA, amplificação da região alvo, preparação da biblioteca e sequenciamento foram realizados na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP. A extração do DNA foi realizada utilizando método de precipitação com soluções salina e proteinase K, seguindo protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2007).

O desenho dos *primers* para a amplificação dos fragmentos dos genes *MyoG*, *MyoDI*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* foi realizado com base nos dados depositados no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) com os seguintes códigos de acesso: *MyoG* (ID: 443158), *MyoDI* (ID: 443405), *MyF5* (ID: 443159), *MyF6* (ID: 100188930) e *MSTN* (ID: 443449), do genoma de ovinos (*Ovis aries*) versão Oar_v4.0.

O desenho do *primer* foi realizado a partir do programa Primer 3 (ROZEN e SKALETSKY., 1998), enquanto o teste da qualidade das sequências geradas e a escolha do *primer* foram feitos com a aplicação online NetPrimer. Após a escolha dos melhores *primers forward* e *reverse* de cada gene (Tabela 2), foi realizado o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) para alinhamento das sequências no NCBI e confirmação de similaridade com a espécie *Ovis aries*.

Tabela 2 - Primers forward (F) e reverse (R) utilizados, tamanho do fragmento amplificado (pb) e sua localização no genoma ovino.

Gene	Sequência	pb	Localização
<i>MyoG</i>	F: 5' ACT ACC TGC CTG TCC ACC TC 3' R:3' TCC TCC ACT GTG ATG CTG TC 5'	1.836	Cromossomo 12 posições de 198441-196606 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MyoD1</i>	F: 5' CAG ACC CTC AGT GCT TTG CT 3' R:3' CCT GCC TGC CGT ATA AAC AT 5'	2.493	Cromossomo 15 Posições de 34303414 a 34300922 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MyF5</i>	F: 5' CTC CGG TTT CTC CCC TAT CT 3' R:3' CAT CAC CTT AAC TCA TGA TTC CT5'	2.813	Cromossomo 3 Posições de 116459993 a 116462805 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MyF6</i>	F: 5' CTT GGA CGG GGA AAA TGT TA 3' R: 3' GAG GAA ATG CTG TCC ACG AT 5'	1.126	Cromossomo 3 Posições de 116444909 a 116446058 (exons 1 a 3, incluindo introns 1 e 2)
<i>MSTN</i>	F: 5' AGA ACA GCG AGC AGA AGG AA 3' R: 3' CAA TGC TCT GCC AAA TAC CA 5'	2.380	Cromossomo 2 Posições de 118140493 a 118142497 (exons 1 a 2, incluindo intron 1)

Para amplificação da região alvo foram utilizados 20 μ L de reação contendo 0,3 μ M de cada *primer*, a enzima Taq polimerase *EmeraldAmp Max Hs* (Takara Bio, USA) e 100ng/ μ L do DNA molde. A amplificação foi realizada em um termociclador Veriti® (Applied Biosystems, USA). Na Tabela 3 podem ser observados os procedimentos de desnaturação inicial, desnaturação, anelamento, extensão e extensão final. Para os genes *MSTN*, *MyoD1* e *MyF6* as fases de desnaturação, anelamento e extensão se repetiram 40 ciclos, antes da extensão final. Os genes *MyF5* e *MyoG* foram amplificados em duas partes, em que as fases de desnaturação, anelamento e extensão tiveram 20 ciclos cada uma, utilizando a técnica de PCR *touchdown*.

Os produtos da amplificação foram diferenciados utilizando gel de agarose a 1% e as bandas dos amplificados foram coradas com o GelRed (Biotium, USA). O produto amplificado foi classificado quanto à existência das bandas pretendidas, possuindo o mesmo número de pares de bases indicado na Tabela 2. Foi utilizado como controle positivo um pool de DNA de ovinos da raça Santa Inês.

Tabela 3 - Temperaturas e tempos utilizados nas reações de PCR em cada um dos genes estudados em ovinos Santa Inês.

Gene	Desnaturaçã Inicial	Desnaturaçã	Anelamento	Extensã	Extensã Final
<i>MSTN</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	59°C / 30 seg	72°C/ 3 min	72°C/5min
<i>MyoD1</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	63°C / 30 seg	72°C/ 3 min	72°C/5min
<i>MyF6</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	56°C / 30 seg	72°C/ 2 min	72°C/5min
<i>MyoG</i>	98°C/5min	98°C/10 seg	65°C – 55°C	72°C/ 2 min	
(Parte 1)			Δ -0,5°C / 30 seg		
<i>MyoG</i>		98°C/10 seg	55°C / 30 seg	72°C/ 2 min	72°C/5min
(Parte 2)					
<i>MyF5</i>	96°C/30 seg	94°C/15 seg	59°C – 54°C	68°C/ 4 min	
(Parte 1)			Δ – 0,5°C / 30 seg		
<i>MyF5</i>		94°C/15 seg	54°C / 30 seg	68°C/ 4 min	68°C/5min
(Parte 2)					

Detecção de Polimorfismo e Anotação Funcional

A identificação de polimorfismos (SNPs e INDELS) foi realizada com o programa SAMtools versão 1.4 (LI *et al.*, 2009), considerando a posição dos polimorfismos no genoma de referência da espécie ovina Oar_v4.0. Em seguida foi realizada a conversão dos arquivos em formato SAM (Sequence Alignment/Map) para o formato BAM (forma binária do arquivo SAM). Posteriormente foram removidas as

duplicatas de PCR, ordenadas as posições das sequências e construído o index do arquivo ordenado. Considerando os *mismatches* (nucleotídeos divergentes), foi utilizado um valor maior do que 40 para a análise de parâmetros de qualidade de mapeamento. Eles foram analisados em relação ao genoma referência, a qualidade da sequência e a taxa de erro do sequenciamento. Em seguida foram identificadas as variações genéticas e armazenadas em um arquivo em formato (.vcf) para posterior leitura, filtragens e análise dos resultados. Foi realizada a anotação funcional dos SNPs e INDELS utilizando a ferramenta VEP (*Variant Effect Predictor*) do Ensembl. A nomenclatura dos marcadores está de acordo com as regras definidas por *Human Genome Variation Society* (HGVs).

Haplótipos e Equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE)

O HWE foi testado por comparação das heterozigosidades preditas e observadas. A heterozigosidade predita (HP) foi obtida com a equação: $HP = 2 * (1 - MAF) * MAF$, onde MAF é a menor frequência alélica. O programa Haploview (Barrett *et al.*, 2005) foi usado para testar o HWE e identificar os blocos de haplótipos. Os polimorfismos no gene *MyF5* não formaram blocos de haplótipos. No gene *MyoD1* foi encontrado um bloco de desequilíbrio de ligação formado pelos SNPs *g.34302401G>A* e *g.34302419T>G*, sendo dois tipos de haplótipo *GT* (93,0%) e *AG* (6,7%) com frequência maior que 4%. No gene *MyF6* foram encontrados dois blocos de haplótipos, sendo um deles com os SNPs *g.116445836A>G* e *g.116445837G>T*, os quais formaram os haplótipos *AG* (73,4%) e *GT* (25,8%), enquanto o segundo bloco foi formado pelos SNPs *g.116445882C>A* e *g.116446029C>T*, que teve os haplótipos *CC* (92,9%) e *AT* (6,1%). No gene *MyoG* foram formados dois blocos de haplótipos, sendo um deles com os SNPs na seguinte ordem: *g.196793G>A*, *g.196844G>A*, *g.196984A>G*, *g.197088C>T*, *g.197099T>G* e *g.197380G>A*. Neste bloco foram encontrados seis haplótipos com frequência maior que 4%, como segue: *GGACGG* (27,5%), *GGACGA* (21,7%), *GGACTG* (14,4%), *AGGTTG* (13,4%), *AGGCTG* (12,5%) e *GAAGCTG* (7,3%). O segundo bloco no gene *MyoG* foi formado pelos SNPs *g.198080G>A* e *g.198160G>A* e apresentou três tipos de haplótipos *GG* (72,3%), *AA* (18,1%) e *AG* (9,6%). No gene *MSTN* foi encontrado um único bloco com os SNPs *g.118141035G>A* e *g.118141041T>C*, os quais geraram três tipos de haplótipos *GT* (70,9%), *AT* (18,4%) e *AC* (10,7%).

Análise de dados fenotípicos

As variáveis de interesse foram previamente analisadas utilizando como modelo: $y_{ijkl} = \mu + F_i + Y_j + M_k + \alpha_{ijkl}(A) + \varepsilon_{ijkl}$, onde y_{ijkl} é o valor da características de interesse, μ é a media geral, F_i é o efeito de fazenda, Y_j é o efeito de ano de nascimento, M_k é o efeito de mês de nascimento, $\alpha_{ijkl}(A)$ é o efeito da covariável idade do animal no momento da avaliação, e ε_{ij} é o resíduo. Essa análise foi realizada para identificar possíveis erros de registro, bem como avaliar se as pressuposições da Análise de Variância eram atendidas. O PROC MIXED do programa *statistical analysis system* (SAS, 2011) foi utilizado nesta análise.

Análise de associação por marcas simples

Uma análise de associação envolvendo cada polimorfismo individualmente foi realizada com o programa Qxpak 5 (Pérez-Enciso e Misztal, 2011), a qual realiza um teste de razão de máxima verossimilhanças. O modelo geral pode ser descrito como, $y = \beta X + \sum_{k=1}^n Z \delta_k + \varepsilon$, onde y é o vetor contendo os registros das características, β é o vetor de soluções para os efeitos fixos, δ_k é o vetor de soluções para os efeitos genéticos de qualquer um dos n QTLs que afetam a característica, X e Z são matrizes de incidência que associam as observações em y aos vetores β e δ_k , respectivamente, e ε é o vetor de resíduos. Os efeitos fixos incluídos no modelo foram fazenda (2 níveis), ano de nascimento (4 níveis), mês de nascimento (12 níveis) e a covariável idade do animal na avaliação. Os efeitos aditivo e de dominância dos QTLs foram testados. Um efeito aditivo positivo indica que o alelo mutante está associado com maior valor médio da variável em análise. Um efeito de dominância positivo indica que o genótipo heterozigoto tem valor médio mais próximo do homozigoto mutante. Apenas polimorfismos com $MAF \geq 2\%$ e em HWE ($P \geq 10^{-6}$) foram utilizados nesta análise.

Análise de associação por haplótipos

A análise de associação com haplótipos foi realizada com a sub-rotina haplo.glm do pacote haplo.stat versão 1.7.7 (<https://cran.r-project.org/web/packages/haplo.stats/index.html>) (Lake *et al.*, 2003). Apenas haplótipos com frequência maior que 4% foram utilizados nesta análise.

Nível de significância

No presente estudo os níveis de significância foram estabelecidos segundo método de Bonferroni, considerando uma margem global de erro tipo 1 igual a 5%. Essa correção leva em consideração o número de polimorfismos em análise. Assim, na análise de marcas simples foram testados 65 SNPs (16 *MyoG*, 15 *MyoD*, 4 *MyF6*, 20 *MyF5* e 10 *MSTN*), o que levou a um nível de significância nominal de 0,0003. Na análise de associação por haplótipos foram testados cinco blocos de haplótipos, conseqüentemente, o nível de significância desta análise foi 0,0044. Além disso, efeitos significativos a uma probabilidade não corrigida de 5% são apresentados como sugestivos.

7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

MyF5

O gene *MyF5* (Fator Miogênico 5) executa função similar àquela observada para o gene *MyoD1*, pois ambos são responsáveis pela diferenciação de células miogênicas em mioblastos e pela sua proliferação (VÉLEZ *et al.*, 2017). No presente estudo dois SNPs (*g.116460955G>C* e *g.116460341C>T*) presentes no intron-1 e exon-1, respectivamente, foram testados, porém nenhum efeito aditivo ou de dominância foi significativo ($P > 0,05$). Não há prévios relatos de associação entre polimorfismos no gene *MyF5* e características de interesse em ovinos, mas prévios estudos com outras espécies evidenciaram efeitos sobre atributos de carne suína (KAPELAŃSKI *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2007; KHANG e NUG, 2013), bovina (UJAN *et al.*, 2011^a e UJAN *et al.* 2011^b) e de coelhos (WANG *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2017). Logo, a falta de efeito no presente estudo provavelmente decorre da distribuição de frequências genotípicas dos SNP avaliados, pois ~95% dos animais avaliados foram homozigotos para o alelo referência (ANEXO – I).

MyoD1

O presente estudo foi o primeiro a realizar análise de associação entre variantes no gene *MyoD1* e características de qualidade de carne em ovinos (Tabelas 4 e 5). A análise de marcas simples identificou efeitos aditivos sugestivos ($P < 0,05$) do SNP *g.34302419T>G*, localizado no intron-2, sobre as intensidades de vermelho ($1,14 \pm 0,48$)

e amarelo ($1,23 \pm 0,37$), luminosidade da carne (L^*) ($2,53 \pm 0,87$), além de efeito aditivo significativo ($P < 0,0006$) para a força de cisalhamento ($-0,44 \pm 0,11$) (Tabela 4). O alelo *G* foi associado a maiores valores médios das características de cor (L^* , a^* e b^*), além de menor força de cisalhamento, sendo a diferença entre os genótipo *GG* e *CC* iguais a 2,28 (a^*), 2,46 (b^*), 5,06 (L^*) e 0,88 (força de cisalhamento).

Tabela 4 - Efeitos aditivo (a) e dominância (d), com seus respectivos erros-padrão (EP), estimados para polimorfismos nos genes da família *MyoD* e no gene *MSTN* em ovinos Santa Inês.

Variável	a (EP)	d (EP)	LRT ¹	P-valor
<i>MyoDI</i>				
<i>g.34302419T>G</i>				
Intensidade de vermelho (a^*)	1,14 (0,48)	-	5,65	0,0174
Intensidade de amarelo (b^*)	1,23 (0,37)	-	10,71	0,0047
Intensidade de luminosidade (L^*)	2,53 (0,87)	-	8,28	0,0040
Força de cisalhamento	-0,44 (0,11)	-	15,54	<0,0001 [†]
<i>MyoG</i>				
<i>g.197088C>T</i>				
Intensidade de vermelho (a^*)	-2,86(0,64)	-2,87(0,72)	19,18	<0,0001 [†]
<i>g.197660G>A</i>				
pH0	-0,08(0,03)	-	4,95	0,0260
<i>g.197710A>G</i>				
Intensidade de luminosidade (L^*)	0,97(0,47)	-	4,26	0,0390
<i>g.197845C>G</i>				
Força de cisalhamento	0,16(0,08)	-	3,99	0,0457
pH24	0,09(0,04)	-	6,20	0,0128
<i>Myf6</i>				
<i>g.116445837T>G</i>				
Força de cisalhamento	0,14 (0,07)	-	4,58	0,0324
<i>MSTN</i>				
<i>g.118141035G>A</i>				
Força de cisalhamento	-0,29 (0,09)	-	10,03	0,0015
Intensidade de vermelho (a^*)	0,85 (0,37)	-	5,12	0,0236

¹LRT – Teste de razão de verossimilhanças, [†]Efeito significativo ao nível da correção de Bonferroni.

Na amostra estudada, 87,9% dos animais foram *TT*, 10,4% *TG* e 1,7% *GG*, sendo as frequências gênicas iguais a 93,1% (T) e 6,9% (G). Estes resultados apesar de novos em ovinos, são suportados por prévios estudos com outras espécies, como por exemplo Lee *et al.* (2012) que encontraram associação do SNP *g.1264C>A* localizado no intron-1 do gene *MyoDI* com L^* na carne suína. Os resultados obtidos com os testes de associação envolvendo o bloco de haplótipos (SNPs *g.34302401G>A* e *g.34302419T>G*) também

reforçam a hipótese de que há efeito sobre coloração da carne e maciez. Foi encontrado efeito sugestivo da substituição do haplótipo *GT* (frequência 93%) pelo *AG* (6,7%) sobre L^* ($-2,3040 \pm 0,9148$) e b^* ($-1,0640 \pm 0,3855$), além de efeitos significativos sobre a força de cisalhamento ($-0,4210 \pm 0,1186$), pH0 ($1,4260 \pm 0,2586$) e pH24 ($1,2510 \pm 0,2252$). Estes coeficientes de regressão indicam que a substituição de *GT* por *AG* está associada a maiores valores de pH0 e pH24 e menores valores de L^* , b^* e força de cisalhamento.

Tabela 5 - Coeficientes de regressão (β) e erros-padrão (EP) obtidos com a análise de associação de haplótipos nos genes da família *MyoD* e *MSTN* em ovinos Santa Inês.

Característica	Gene	Substituição de Haplótipos	$\beta \pm EP$	P-valor
pH0	<i>MSTN</i>	<i>GT>AC</i>	1,2580(0,3073)	P<0,001 [†]
pH24	<i>MSTN</i>	<i>GT>AC</i>	1,0740(0,2650)	P<0,001 [†]
a^*	<i>MSTN</i>	<i>GT>AC</i>	-1,3950(0,5048)	0,007
a^*	<i>MSTN</i>	<i>GT>AT</i>	-0,8855(0,4411)	0,047
Força de cisalhamento	<i>MSTN</i>	<i>GT>AC</i>	0,3904(0,1245)	0,002 [†]
Força de cisalhamento	<i>MSTN</i>	<i>GT>AT</i>	0,2482(0,1087)	0,024
pH0	<i>MyoD1</i>	<i>GT>AG</i>	1,4260(0,2586)	P<0,001 [†]
pH24	<i>MyoD1</i>	<i>GT>AG</i>	1,2510(0,2252)	P<0,001 [†]
L^*	<i>MyoD1</i>	<i>GT>AG</i>	-2,3040(0,9148)	0,013
b^*	<i>MyoD1</i>	<i>GT>AG</i>	-1,0640(0,3855)	0,006
Força de cisalhamento	<i>MyoD1</i>	<i>GT>AG</i>	-0,4210(0,1186)	0,001 [†]
Força de cisalhamento	<i>MyF6</i>	<i>AG>GT</i>	0,1954(0,0866)	0,025

[†]significativo a nível da correção de Bonferroni (P=0,0044).

Os efeitos aqui encontrados para pH confirmam prévios achados de Kapelański *et al.* (2005), os quais identificaram associação do SNP *g.489C>T* no gene *MyoD1* sobre pH final do músculo *Longissimus lumborum* 48 horas pós-abate. Enquanto Knežević *et al.* (2013) associaram este mesmo SNP ao pH mensurado no músculo *Semimembranosus* 45 minutos e 24 horas pós-abate, além de efeito sobre pH24 no músculo *Longissimus* de suínos. Han *et al.* (2012) também reportaram associação com pH da carne suína, porém com o SNP *g.257A>C* localizado no intron-1 do gene *MyoD1*.

O gene *MyoD1* é responsável pela diferenciação das células miogênicas que precedem a sua transformação em mioblastos e pela sua proliferação, sendo conhecido como fator primário (VÉLEZ *et al.*, 2017). Logo, os efeitos aqui encontrados para pH, coloração e maciez do músculo *Longissimus* podem estar relacionados a composição e

densidade das fibras no músculo estudado. Trukhachev *et al.* (2017) reportaram efeito de polimorfismo no gene *MyoDI* sobre a largura do lombo em ovinos raça Stavropol, o que pode ter sido decorrente da alteração da composição e densidade das fibras musculares. Lee *et al.* (2012) identificaram associação significativa de dois haplótipos no gene *MyoDI* de suínos com composição (número e área de fibras tipo I, IIa e IIb) e densidade das fibras musculares, o que impactou também a área total de olho de lombo do músculo *Longissimus*. Yang *et al.* (2015) e Chen *et al.* (2015) também encontraram efeito de polimorfismos no gene *MyoDI* sobre diâmetro e densidade das fibras musculares em músculos de aves e de truta arco-iris, respectivamente. Outro fator que pode explicar os efeitos sobre pH, L* e maciez é a composição de gordura. Knežević *et al.* (2013) reportaram efeito de polimorfismo no gene *MyoDI* sobre a composição de gordura e relação gordura/carne em suínos.

MyoG

No gene *MyoG* foram encontrados efeitos aditivo ($-2,86 \pm 0,64$) e de dominância ($-2,87 \pm 0,72$) significativos ($P < 0,0006$) do SNP *g.197088C>T* sobre a* (Tabela 4). Este SNP encontra-se no intron-1 e o alelo *C* e foi associado a maior valor médio desta variável, sendo a diferença entre *CC* e *TT* igual a 5,72. Adicionalmente, o alelo *G* do SNP *g.197710A>G*, localizado no intron 2, foi associado ($0,97 \pm 0,47$) a maior valor médio de L*, sendo a diferença entre os genótipos *GG* e *AA* igual a 1,94. As frequências genotípicas e alélicas do SNP *g.197088C>T* foram 75% (*CC*), 23,4% (*CT*), 1,6% (*TT*), 86,7% (*C*) e 13,3% (*T*). Enquanto para o SNP *g.197710A>G* as frequências foram 16,7% (*AA*), 56,3% (*AG*), 27,1% (*GG*), 44,8% (*A*) e 55,2% (*G*).

Os SNPs *g.197660G>A* e *g.197845C>G*, ambos localizados no intron-2 do gene *MyoG*, tiveram efeito aditivo sugestivo ($P < 0,05$) sobre pH0 ($-0,08 \pm 0,03$) e pH24 ($0,09 \pm 0,04$), respectivamente. Nos dois casos, o alelo *G* foi associado a maior pH, sendo as diferenças entre os homozigotos iguais a 0,16 (*g.197660G>A*) e 0,18 (*g.197845C>G*). O SNP *g.197845C>G* também apresentou efeito aditivo sugestivo ($0,16 \pm 0,08$) para a força de cisalhamento (Tabela 4), onde o genótipo homozigoto *CC* exigiu menor ($-0,32\text{kgf}$) força de cisalhamento que o *GG*. As frequências genotípicas e alélicas do SNP *g.197660G>A* foram 74,5% (*GG*), 22,9% (*GA*), 2,6% (*AA*), 85,9% (*G*) e 14,1% (*A*). Enquanto para o SNP *g.197845C>G* elas foram 64,6% (*CC*), 30,2% (*CG*), 5,2% (*GG*),

79,7% (C) e 20,3% (G).

O gene *MyoG*, também conhecido como *MyF4*, é o responsável pela miogenina, uma proteína de fase embrionária que atua na diferenciação dos mioblastos em miofibrilas multinucleadas (HOUBA e TE PAS, 2004). Já na fase pós-natal essa proteína está associada ao reparo dos danos nas fibras musculares e ao crescimento hipertrófico, portanto está diretamente relacionada à massa muscular e a quantidade total de carne na carcaça (TE PAS e SOUMILLION, 2001). Este foi o primeiro estudo desenvolvido com o gene *MyoG* em ovinos para fins de associação com atributos de carne. Contudo, nossos resultados encontram suporte em referências que citam efeitos significativos para essas mesmas variáveis na carne suína. Kapelański *et al.* (2005) reportaram associação entre polimorfismo na região 3' do gene *MyoG* e parâmetros de cor (a^* e L^*) na carne suína. Stupka *et al.* (2012) citam efeitos de polimorfismos no gene *MyoG* sobre os conteúdos de água no presunto e no músculo da paleta, bem com percentual de gordura intramuscular na paleta. Similar ao que foi mencionado para o gene *MyoDI*, os efeitos sobre pH, cor e maciez observados no gene *MyoG* também podem se decorrente do aumento no desenvolvimento do músculo longíssimos, em consequência da alteração na composição ou densidade de suas fibras. Wszyńska-Koko *et al.* (2006) encontraram associação de polimorfismo no gene *MyoG* com medidas de tamanho do músculo *Longissimus*, como peso e área de olho de lombo, enquanto Kim *et al.*, (2009) encontraram efeito de um haplótipo no gene *MyoG* sobre o tipo de fibra muscular, número total de fibras e área de olho de lombo em suínos. Em aves, Yang *et al.*, (2015) reportaram associação entre polimorfismos no gene *MyoG* e o diâmetro de fibras musculares. Logo, é possível que o impacto sobre crescimento do *Longissimus* proporcionado por polimorfismos no gene *MyoG* tenham como consequência alterações nos atributos de carne.

MyF6

O SNP *g.116445837T>G*, localizado no intron-2 do gene *MyF6*, teve efeito aditivo sugestivo ($P < 0,05$) sobre força de cisalhamento ($0,14 \pm 0,07$). O alelo *T* foi associado a menor força de cisalhamento e a diferença entre os genótipos *TT* e *GG* foi de 0,28 kgf. Também foi encontrada associação do bloco de haplótipos formado pelos SNPs *g.116445836A>G* e *g.116445837G>T* sobre a força de cisalhamento, sendo a substituição do haplótipo *AG* (frequência 73,4%) pelo *GT* (25,8%) associada a maior

força de cisalhamento ($0,1954 \pm 0,0866$). As frequências genóticas e alélicas do SNP *g.116445837T>G* foram 7,3% (TT), 37,7 (TG), 55,0% (GG), 26,2% (T) e 73,8% (G). Enquanto para o SNP *g.116445836A>G* observamos 6,8% (AA), 38,2% (AG), 55,0% (GG), 25,9% (A) e 74,1% (G).

Não encontramos prévios estudos de associação do *MyF6* com variáveis de interesse econômico em ovinos. Porém, polimorfismos neste gene foram associados a atributos de crescimento (KAMIŃSKI *et al.*, 2009; GUIATTI *et al.*, 2013) e de carcaça (URBAŃSKI *et al.*, 2006; WYSZYŃSKA-KOKO *et al.*, 2006) em suínos, além de atributos de crescimento (WANG *et al.*, 2011) e carcaça (DU *et al.*, 2013) em bovinos. Adicionalmente, Zou *et al.* (2015) reportaram efeitos sobre comprimento, profundidade e peso de Tilápia do Nilo. No contexto dos atributos de carne, Yang *et al.*, (2015) reportaram efeito sobre diâmetro das fibras musculares em aves, enquanto Kapelański *et al.* (2005) identificaram efeito sobre perdas de água por gotejamento em amostras de carne suína.

MSTN

No gene *MSTN* foram encontrados efeitos aditivos sugestivos ($P < 0,05$) do SNP *g.118141035G>A* sobre a força de cisalhamento ($-0,29 \pm 0,09$) e a^* ($0,85 \pm 0,37$). Esse marcador se encontra no intron-1 e o alelo *A* foi associado a menor força de cisalhamento e maior média de a^* . As diferenças entre os homozigotos *GG* e *AA* foi 0,58 kgf e 1,70 para a^* . Adicionalmente, os testes de associação com haplótipos no gene *MSTN* revelaram efeitos significativos sobre pH0, pH24, a^* e força de cisalhamento (Tabela 5). A substituição do haplótipo *GT* (70,9%) pelo *AT* (18,4%) foi associada a força de cisalhamento ($0,2482 \pm 0,1087$) e a^* ($-0,8855 \pm 0,4411$), enquanto a substituição do haplótipo *GT* pelo *AC* (10,7%) foi associado com pH0 ($1,2580 \pm 0,3073$), pH24 ($1,0740 \pm 0,2650$), a^* ($-1,3950 \pm 0,5048$) e força de cisalhamento ($0,3904 \pm 0,1245$). Os sinais dos coeficientes de regressão indicam que essas substituições aumentam os valores de pH e de força de cisalhamento, além de reduzir os valores de a^* .

Alguns polimorfismos no gene *MSTN* foram largamente estudados em ovinos, desde que mutações nesse gene foram associadas a maior desenvolvimento muscular e menor deposição de gordura. Polimorfismos em região codificadora (BOMAN e VAGE, 2009; BOMAN *et al.*, 2009; BOMAN *et al.*, 2010) ou nas regiões 3'UTR (CLOP *et al.*,

2006; TAKEDA *et al.* 2010; KIJAS *et al.*, 2007; JOHNSON *et al.*, 2009; HAYNES *et al.*, 2013; MASRI *et al.*, 2011^a; MASRI *et al.*, 2011^b; GAN *et al.*, 2008; BOMAN *et al.*, 2009; BOMAN *et al.*, 2010; e HAN *et al.*, 2010) e 5'UTR (KIJAS *et al.*, 2007) foram associados a desenvolvimento muscular e menor deposição de gordura. Contudo, nos ovinos Santa Inês nós encontramos polimorfismos apenas no intron-1 do gene *MSTN*. Farhadian *et al.*, (2012) encontraram via PCR-SSCP um polimorfismo associado a peso ao nascimento em ovinos da raça iraniana Makoei, enquanto Ibrahim e Hickford (2016) e Ibrahim *et al.*, (2015) identificaram seis genótipos SSCP no intron-1 associados a peso no abate e rendimento de cortes comerciais como pernil, paleta e lombo na raça New Zealand Romney. Logo, é possível que esta região tenha de fato efeito sob características de interesse econômico em ovinos. O único relato de polimorfismo afetando maciez de carne em ovinos foi encontrado por Kijas *et al.*, (2007) que identificaram o efeito do SNP g-41C>A na região 5'UTR.

Considerações

Muitos dos efeitos aqui encontrados foram oriundos de polimorfismos em região de intron e isso levanta a hipótese de que o responsável direto pelo efeito pode estar afetando a transcrição do gene ou a eficiência do *splicing*. Assim, maiores estudos podem ajudar a compreender se estes SNP de alguma forma afetam a estrutura da proteína ou se a hipótese de ligação com outro polimorfismo funcional é mais indicada. Um estudo de expressão também é recomendado, para se certificar de que estes genes são de fato diferencialmente expressos no músculo *Longissimus* e se os níveis de expressão estão relacionados com os polimorfismos aqui identificados.

7.6 CONCLUSÕES

Existem polimorfismos nos genes *MyoD*, *MyoG*, *MyF6* e *MSTN* que estão associados com características de qualidade de carne em ovinos Santa Inês. Estes polimorfismos podem agora servir de referência para comparação com estudos desenvolvidos em outras raças de ovinos, bem como podem ser fonte de informação para fins de seleção assistida por marcadores a fim de melhorar atributos da carne na raça Santa Inês.

7.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETT J.; FRY B.; MALLER J.; DALY M. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics** v.21, p.263-265, 2005.
- BHUIYAN, M. S. A.; KIM, N. K.; CHO, Y. M.; YOON, D.; KIM, K. S.; JEON, J. T.; LEE, J. H. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, v.126, p.292-297, 2009.
- BOMAN, I. A.; KLEMETSDAL, G.; BLICHFELDT, T.; NAFSTAD, O.; VÅGE, D. I. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (*MSTN*) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). **Animal Genetics**, v.40, p.418-422, 2009
- BOMAN I.A.; KLEMETSDAL G.; NAFSTAD O.; BLICHFELDT T.; VÅGE D.I. Impact of two myostatin (*MSTN*) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). **Genetics Selection Evolution**, v.42, p.4, 2010.
- BOMAN, I.A.; VÅGE, D.I. An insertion in the coding region of the myostatin (*MSTN*) gene affects carcass conformation and fatness in the Norwegian Spælsau (*Ovis aries*). **BMC Research Notes**, v.2, p.98, 2009.
- CHEN, W.X.; MA, Y.; LIU, K.H. Association of *MyoD1a* and *MyoD1b* gene polymorphisms and meat quality traits in rainbow trout. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p.9034-9044, 2015.
- CLOP, A.; MARCQ, F.; TAKEDA, H.; PIROTTIN, D.; TORDOIR, X.; BIBÉ, B.; BOUIX, J.; CAIMENT, F.; ELSEN, J.M.; EYCHENNE, F.; LARZUL, C.; LAVILLE, E.; MEISH, F.; MILENKOVIC, D.; TOBIN, J.; CHARLIER, C.; GEORGES, M. Mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. **Nature genetics**, v.38, p.813-818, 2006.
- DU, X.H.; GAN, Q.F.; YUAN, Z.R.; GAO, X.; ZHANG, L.P.; GAO, H.J.; LI, J.Y.; XU, S.Z. Polymorphism of *MyoD1* and *MyF6* genes and associations with carcass and meat quality traits in beef cattle. **Genetics and Molecular Research**, v.12, p.6708-6717, 2013.
- FARHADIAN, M.; HASHEMI, A.; MARDANI, K.; DARVISHZADEH, R.; JAFARI, S. Polymorphisms in the ovine myostatin gene are associated with birth weight but not with weight gain in Iranian Makoei sheep. **Genetics and Molecular Research**, v.11, p.3568-3575, 2012.
- GAN, S.Q.; DU, Z.; LIU, S.R.; YANG, Y.L.; SHEN, M.; WANG, X.H.; WANG, J.H. Association of SNP haplotypes at the myostatin gene with muscular hypertrophy in sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.21, p.928-935, 2008.
- GUIATTI, D.; STEFANON, B.; SGORLON, S. Association analysis between single nucleotide polymorphisms in the promoter region of *LEP*, *MYF6*, *MYOD1*, *OPN*, *SCD* genes and carcass traits in heavy pigs. **Italian Journal of Animal Science**, v.12, p.77-82, 2013.
- HAN, J.; ZHOU, H.; FORREST, R.H.; SEDCOLE, J.R.; FRAMPTON, C.M.; HICKFORD, J.G.H. Effect of myostatin (*MSTN*) g+6223G>A on production and carcass traits in New Zealand Romney sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.23, p.863-866, 2010.
- HAN, J.; FORREST, R. H.; HICKFORD, J. G. H. Genetic variations in the myostatin gene (*MSTN*) in New Zealand sheep breeds. **Molecular biology reports**, v.40, p.6379-6384, 2013.

- HAN, X.; JIANG, T.; YANG, H.; ZHANG, Q.; WANG, W.; FAN, B.; LIU, B. Investigation of four porcine candidate genes (H-FABP, *MYOD1*, UCP3 and MASTR) for meat quality traits in Large White pigs. **Molecular Biology Reports**, v.39, p.6599-6605, 2012.
- HAYNES, F.E.M.; GREENWOOD, P.L.; MCDONAGH, M.B.; MCMAHON, C.D.; NICHOLAS, G.D.; BERRY, C.J.; ODDY, V.H. Lack of association between allelic status and myostatin content in lambs with the myostatin g+6723G>A allele. **Journal of Animal Science**, v.91, p.78-89, 2013.
- HOUBA, P.H.J.; TE PAS, M.F.W. 2004. **The muscle regulatory factors gene family in relation to meat production**. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality. Oxfordshire: CABI, p.201-224, 2004.
- HU, S.; NI, W.; SAI, W.; ZI, H.; QIAO, J.; WANG, P.; SHENG, J.; CHEN, C. Knockdown of myostatin expression by RNAi enhances muscle growth in transgenic sheep. **PloS One**, v.8, p.e58521, 2013.
- IBRAHIM, A.H.M.; ZHOU, H.; HICKFORD, J.G.H. Variation in intron 1 of the ovine GDF8 gene and its association with growth and carcass characteristics of dual purpose sheep. **Egyptian Journal of Animal Production**, v.52, p.39-46, 2015.
- IBRAHIM, A.H.M.; HICKFORD, J.G.H. Correlation analysis between myostatin gene polymorphisms and carcass traits in New Zealand Romney sheep. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology** v.44, p.189-204, 2016.
- JOHNSON, P.L.; DODDS, K.G.; BAIN, W.E.; GREER, G.J.; MCLEAN, N.J.; MCLAREN, R.J.; GALLOWAY, S.M.; VAN STIJN, T.C.; MCEWAN, J.C. Investigations into the GDF8 g+6273G-A polymorphism in New Zealand Texel sheep. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.87, p.1856-1864, 2009.
- KAMIŃSKI, S.; HELP, H.; SUCHOCKI, T.; SZYDA, J. Additive effects of 19 porcine SNPs on growth rate, meat content and selection index. **Journal of Applied Genetics**, v.50, p.235-243, 2009.
- 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**, v.53, p.45-49, 2005.
- KHANG, N.T.K.; NGU, N.T. Effects of myogenic factor 5 (*MYF5*) gene on carcass and mat quality of Mong Cai Pigs. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v.43, p.213-218, 2013.
- KIJAS, J.W.; MCCULLOCH, R.; EDWARDS, J.E.; ODDY, V.H.; LEE, S.H.; VAN DER WERF, J. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the Ovine GDF8 locus. **BMC Genet**, v.8, p.80, 2007.
- KIM, J.M.; CHOI, B.D.; KIM, B.C.; PARK, S.S.; HONG, K.C. Associations of the variation in the porcine myogenin gene with muscle fiber characteristics, lean meat production and meat quality traits. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.126, p.134-141, 2009.
- KNEŽEVIĆ, D.; ĐURKIN, I.; KUŠEC, G.; KRALIK, G.; JERKOVIĆ, I. Influence of C489T SNP at *MYOD1* gene on carcass, meat quality traits and chemical composition of hybrid pigs. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.78, p.193-196, 2013.
- LAKE, S. L.; LYON, H.; TANTISIRA, K.; SILVERMAN, E. K.; WEISS, S. T.; LAIRD, N.M.; SCHAID, D.J. Estimation and tests of haplotype environment interaction when linkage phase is ambiguous. **Human Heredity**, v.55, p.56-65, 2003.
- LEE, J.H. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with

- carcass traits in cattle. **Livestock Science**, v.126, p.292-297, 2009
- LEE, E.A.; KIM, J.M.; LIM, K.S.; RYU, Y.C.; JEON, W.M.; HONG, K.C. Effects of variation in porcine *MYOD1* gene on muscle fiber characteristics, lean meat production, and meat quality traits. **Meat Science**, v.92, p.36-43, 2012.
- LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH, G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, v.25, p.2078–2079, 2009.
- LIU, M.; PENG, J.; XU, D.; ZHENG, R.; LI, F.; LI, J.; ZUO, B.; LEI, M.; XIONG, Y.; DENG, C.; JIANG, S. Associations of *MYF5* gene polymorphisms with meat quality traits in different domestic pig (*Sus scrofa*) populations. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.370-374, 2007.
- MASRI, A.Y.; LAMBE, N.R.; MACFARLANE, J.M.; BROTHERSTONE, S.; HARESIGN, W.; BÜNGER, L. Evaluating the effects of a single copy of a mutation in the myostatin gene (c.*1232G>A) on carcass traits in crossbred lambs. **Meat science**, v.87, p.412-418, 2011^a.
- MASRI, A.Y.; LAMBE, N.R.; MACFARLANE, J.M.; BROTHERSTONE, S.; HARESIGN, W.; BÜNGER, L. 2011^b. Evaluating the effects of the c.*1232G>A mutation and TM-QTL in Texel×Welsh Mountain lambs using ultrasound and video image analyses. **Small Ruminant Research**, v.99, p.99-109, 2011^b.
- OLIVEIRA, M.C.D.S.; REGITANO, L.C.A.; ROESE, A.D.; ANTHONISEN, D.G.; PATROCÍNIO, E.; PARMA, M.M.; SCAGLIUSI, S.M.M.; TIMÓTEO, W.H.B.; JARDIM, S.N. 2007. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48295/1/LivroProtMolecular.pdf> Acessado em 02/05/2013.
- PÉREZ-ENCISO, M.; MISZTAL, I. Qxpk.5: Old mixed model solutions for new genomics problems. **BMC Bioinformatics**, v.12, p.202, 2011.
- ROZEN S.; SKALETSKY, H.J. **Primer3**. (1998). Disponível em: <http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html>
- SAS. **SAS/STAT User's Guide: version 9.3**. SAS Institute, Cary, NC. USA, 2011.
- STUPKA, R.; CITEK, J.; SPRYSL, M.; OKROUHILA, M.; BRZOBOHATY, L. The impact of *MYOG*, *MYF6* and *MYOD1* genes on meat quality traits in crossbred pigs. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.88, p.15405-15409, 2012.
- SUN, W.; WANG, P.; DING, J.T.; MA, Y.H.; GUAN, W.J.; CHU, M.X.; LI, B.C.; WU, W.Z.; CHEN, L. Development changes of gene expression of Myostatin and Myogenin genes and their association analysis with carcass traits in Hu sheep. **Scientia Agricultura Sinica**, v.41, p.64-72, 2010.
- TAKEDA, H.; CHARLIER, C.; FARNIR, F.; GEORGES, M. Demonstrating polymorphic miRNA-mediated gene regulation in vivo: Application to the g+6223G→A mutation of Texel sheep. **RNA**, v.16, p.1854-1863, 2010.
- TE PAS, M. F. W.; SOUMILLION, A. Improvement of livestock breeding strategies using physiologic and functional genomic information of the muscle regulatory factors gene family for skeletal muscle development. **Current Genomics**, v.2, p.285-304, 2001.
- TRUKHACHEV, V.; SKRIPKIN, V.; TELEGINA, E.; YATSYK, O. Associations between newly discovered polymorphisms of the *MyoD1* gene and body parameters in Stavropol breed rams. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. Disponível

- em: <<http://tru.uni-sz.bg/bjvm/A.%20Krivoruchko%20OnFirst.pdf>> Acessado em 20/10/2017.
- UJAN, J.A.; ZAN, L.S.; UJAN, S.A.; WANG, H.B. Association between polymorphism of MyF-5 gene with meat quality traits in indigenous Chinese cattle breeds. **International Conference on Asia Agriculture and Animal IPCBEE**, v.13, p.50-55, 2011^a.
- UJAN, J.A.; ZAN, L.S.; WANG, H.B.; UJAN, S.A. The Effect of *MyoGenic* factor 5 polymorphism on the meat quality in Chinese Bos Taurus. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.76, p.373-377, 2011^b.
- URBAŃSKI, P.; KAPELAŃSKI, W.; WYS, J. An association between the MyoD gene polymorphisms and carcass traits in two- and three-breed crossbred pigs. **Animal Science Papers and Reports**, v.24, p.297-303, 2006.
- VÉLEZ, E. J.; LUTFI, E.; AZIZI, S.; PERELLÓ, M.; SALMERÓN, C.; RIERA-CODINA, M.; IBARZ, A.; FERNÁNDEZ-BORRÀS, J.; BLASCO, J.; CAPILLA, E.; NAVARRO, I.; GUITIÉRREZ, J. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. **Aquaculture**, v.467, p.28-40, 2017.
- WANG, S.; CAI, X.; XUE, K.; CHEN, H. Polymorphisms of MRF4 and H-FABP genes association with growth traits in Qinchuan cattle and related hybrids. **Molecular Biology Reports**, v.38, p.1013-1020, 2011.
- WANG, W.; XUE, W.; ZHOU, X.; ZHANG, L.; WU, J.; QU, L.; XU, X. Effects of candidate genes' polymorphisms on meat quality traits in pigs. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science**, v.62, p.120-126, 2012.
- WANG, J.; HU, Y.; ELZO, M.A.; SHI, Y.; JIA, X.; CHEN, S.; LAI, S. Genetic effect of *MyF5* gene in rabbit meat quality traits. **Journal of Genetics**, v. 96, p. 673-679, 2017.
- WYSZYŃSKA-KOKO, J.; PIERZCHAŁA, M.; FLISIKOWSKI, K.; KAMYCZEK, M.; RÓŻYCKI, M.; KURYŁ, J. Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine *MYF6* and *MYOG* genes and expression of the *MYF6* gene in m. longissimus dorsi versus productive traits in pigs. **Journal of Applied Genetics**, v.47, p.131-138, 2006.
- YANG, Z.Q.; QING, Y.; ZHU, Q.; ZHAO, X.L.; WANG, Y.; LI, D.Y.; LIU, Y.P.; YIN, H.D. Genetic effects of polymorphisms in *MyoGenic* regulatory factors on chicken muscle fiber traits. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.28, p.782, 2015.
- ZOU, G.; ZHU, Y.; LIANG, H.; LI, Z. Association of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and *MyoGenic* factor 6 genes with growth traits in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquacult International**, v.23, p.1217-1225, 2015.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

O presente estudo identificou um elevado número de polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN*, muitos dos quais apresentaram distribuição de frequência que permitiu utilizá-los em testes de associação. Alguns destes marcadores apresentaram associação com as características aqui estudadas e seus efeitos aditivos podem ser boa fonte de informação para a seleção de ovinos da raça Santa Inês.

Ressalta-se que algumas regiões desses genes não foram sequenciadas no presente estudo, em especial para o gene *MSTN* que teve apenas 47% da sequência estudada aqui. É possível que polimorfismos nessas regiões não estudadas aqui estejam influenciando a variação dos atributos de carne. Assim, recomenda-se que sejam sequenciadas as regiões que não foram estudadas no presente trabalho, a fim de que uma varredura mais completa do efeito destes genes seja efetuada.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, T. I. R. C.; BORBA, H.; MORENO, G. M. B.; ARAÚJO, G. G. L. D.; MELLO, J. L. M. D.; DOURADO, R. D. C.; BARBOSA, J.C.; SOUZA, P. A. D. Quality of aged shoulder from lambs fed with different oldman saltbush hay levels (*Atriplex nummularia*). **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2252-2257, 2014.
- AZEVEDO, H. C.; OLIVEIRA, A. A. de; MUNIZ, E. N.; PAIVA, S. R.; VIEIRA, L. da S. Núcleo de conservação do ovino Santa Inês. **Noticiário Tortuga**, v. 53, p. 20-21, fev./mar. 2008. Edição especial Caprinos e Ovinos. 2008.
- BAGATOLI, A.; GASPARINO, E.; SOARES, M. A. M.; AMARAL, R. M.; MACEDO, F. A. F.; VOLTOLINI, D. M.; DEL VESCO, A. P. Expression of calpastatin and myostatin genes associated with lamb meat quality. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6168-6175, 2013.
- BARRETT J.; FRY B.; MALLER J.; DALY M. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics** v.21, p.263-265, 2005.
- BARROS, N.N.; FIGUEIREDO, A.P. de; BARBIERI, M.E.; FERNANDES, F.D.; SIMPLICIO, A.A. Efeito da raça do carneiro no desempenho de cordeiros de corte no Estado do Ceará. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27.; 1990, Campinas. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p.523
- BHUIYAN, M. S. A.; KIM, N. K.; CHO, Y. M.; YOON, D.; KIM, K. S.; JEON, J. T.; LEE, J. H. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, v. 126, n. 1, p. 292-297, 2009.
- BOLEMAN, S. J.; BOLEMAN, S. L.; MILLER, R. K.; TAYLOR, J. F.; CROSS, H. R.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; MILLER, F.M.; WEST, R.L.; JOHNSON, D. D.; SAVELL J.W. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of animal science**, v. 75, n. 6, p. 1521-1524, 1997.
- BOMAN, I. A.; KLEMETSDAL, G.; BLICHFELDT, T.; NAFSTAD, O.; VÅGE, D. I. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (*MSTN*) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). **Animal Genetics**, v.40, p.418-422, 2009
- BOMAN I.A.; KLEMETSDAL G.; NAFSTAD O.; BLICHFELDT T.; VÅGE D.I. Impact of two myostatin (*MSTN*) mutations on weight gain and lamb carcass classification in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). **Genetics Selection Evolution**, v.42, p.4, 2010.
- BOMAN, I.A.; VÅGE, D.I. An insertion in the coding region of the myostatin (*MSTN*) gene affects carcass conformation and fatness in the Norwegian Spælsau (*Ovis aries*). **BMC Research Notes**, v.2, p.98, 2009.
- BONAGURIO, S.; PÉREZ, J.R.O.; GARCIA, I.F.F.; BRESSAN, M.C.; LEMOS A.L.S.C.. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel, abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1981-1991, 2003.
- BORGES, B. O.; CURI, R. A.; BALDI, F.; FEITOSA, F. L. B.; ANDRADE, W. B. F. D.; ALBUQUERQUE, L.G.D.; OLIVEIRA H.N.; OLIVEIRA H.N.; CHARDULO, L. A. L. Polymorphisms in candidate genes and their association with carcass traits and meat quality in Nellore cattle. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 49, n. 5, p.

- 364-371, 2014.
- BRESSAN, M. C.; PRADO, O. V.; PÉREZ, J. R. O.; Lemos, A. L. S. C.; BONAGURIO, S. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 293-303, 2001.
- BUCKINGHAM, M.; RIGBY, P.W.J. Gene regulatory networks and transcriptional mechanisms that control *MyoGenesis*. **Developmental cell**, v. 28, n. 3, p. 225-238, 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, n. 8, p. 64-71, 2009
- ČEPICA, S.; ZAMBONELLI, P.; WEISZ, F.; BIGI, M.; KNOLL, A.; VYKOUKALOVÁ, Z.; DAVOLI, R. Association mapping of quantitative trait loci for carcass and meat quality traits at the central part of chromosome 2 in Italian Large White pigs. **Meat science**, 95(2), 368-375, 2013
- CHEN, W.X.; MA, Y.; LIU, K.H. Association of *MyoD1a* and *MyoD1b* gene polymorphisms and meat quality traits in rainbow trout. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p.9034-9044, 2015.
- CHRISTENSEN, S; PURSLOW, P. P. The role of matrix metalloproteinases in muscle and adipose tissue development and meat quality: A review. **Meat science**, v. 119, p. 138-146, 2016.
- CLOP, A.; MARCQ, F.; TAKEDA, H.; PIROTTIN, D.; TORDOIR, X.; BIBÉ, B.; BOUIX, J.; CAIMENT, F.; ELSEN, J.M.; EYCHENNE, F.; LARZUL, C.; LAVILLE, E.; MEISH, F.; MILENKOVIC, D.; TOBIN, J.; CHARLIER, C.; GEORGES, M. Mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. **Nature genetics**, v.38, p.813-818, 2006.
- COUTINHO, M. A. D. S.; MORAIS, M.G.; ALVES, F.V.; FERNANDES, H.J.; FEIJÓ,G.L.D.; ÍTAVO, C. C. B. F.;COMPARIN. M.A.S.; COELHO, R. G. Características físico-químicas e composição centesimal de cortes cárneos de borregas confinadas e alimentadas com diferentes proporções volumoso: concentrado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 4, 2013.
- CRISPO M, MULET A.P, TESSON L.; BARRERA N.; CUADRO F.; DOS SANTOS-NETO P.C.; NGUYEN T.H.; CRÉNÉGUY A.; BRUSSELLE L.; ANEGÓN I.; MENCHACA A.. Efficient generation of myostatin knock-out sheep using CRISPR/Cas9 technology and microinjection into zygotes. **Plos one**, v. 10, n. 8, p. e0136690, 2015.
- DECKER, S. R. F.; Fernandes, D. A. C.; & Gomes, M. C. . Gestão Competitiva na Produção de Ovinos. Agropampa: Revista de Gestão do Agronegócio, v. 1, n. 1, 2016.
- DE OLIVEIRA, I.; DA SILVA, T. J. P.; DE FREITAS, M. Q.; TORTELLY, R.; DE OLIVEIRA PAULINO, F. Caracterização do processo de rigor mortis em músculos de cordeiros e carneiros da raça Santa Inês e maciez da carne. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 1, p. 25-31, 2004.
- DE SOUSA, W.H.; LÔBO, R.N.B.; MORAIS, O.R. Ovinos Santa Inês: estado de arte e perspectivas. 2003.
- DU, X.H.; GAN, Q.F.; YUAN, Z.R.; GAO, X.; ZHANG, L.P.; GAO, H.J.; LI, J.Y.; XU, S.Z. Polymorphism of *MyoD1* and *Myf6* genes and associations with carcass and

- meat quality traits in beef cattle. **Genetics and Molecular Research**, v.12, p.6708-6717, 2013.
- FARHADIAN M.; HASHEMI A.; MARDANI K.; DARVISHZADEH R.; JAFARI S. Polymorphisms in the ovine myostatin gene are associated with birth weight but not with weight gain in Iranian Makoei sheep. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 4, p. 3568-3575, 2012.
- FERNANDES A.R.M.; JUNIOR, O.; PREVIDELLI, M.A.; ORRICO, A.C.A.; VARGAS JUNIOR, F.M.D.; OLIVEIRA, A.B.D.M. Desempenho e características qualitativas da carcaça e da carne de cordeiros terminados em confinamento alimentados com dietas contendo soja grão ou gordura protegida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1822-1829, 2011.
- FERNANDES JÚNIOR, F.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I. Y.; DA SILVA, L.D.D.F.; BARBOSA, M.A.A.F.; PRADO, O.P.P, PEREIRA, E.S.;PIMENTEL, P.G.;CONSTANTINO, C. Características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros Santa Inês alimentados com torta de girassol em substituição ao farelo de algodão. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl2, p. 3999-4014, 2013.
- FISHER M. E.; Peck, W.; Branney, P. A.; Pownall, M. E. Cloning and characterisation of *MyF5* and *MyoD* orthologues in *Xenopus tropicalis*. **Biology of the Cell**, v. 95, n. 8, p. 555-561, 2003.
- GAN, S.Q. DU, Z.; LIU, S.R.; YANG, Y.L.; SHEN, M.; WANG, X.H.; WANG, J.H. Association of SNP haplotypes at the myostatin gene with muscular hypertrophy in sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, p. 928-935, 2008.
- GUO, Y.; LI, J.; SHANG, J.; JIN, Y. Development of muscle-related genes and their effects on meat quality. **Energy Procedia**, v. 16, p. 229-233, 2012.
- GRANDIS, F.A.; DE AZAMBUJA RIBEIRO, E.L.; MIZUBUTI, I.Y.; JUNIOR, V.H.B.; DO PRADO, O.P.P.; PINTO, A.P. Características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros alimentados com diferentes teores de torta de soja em substituição ao farelo de soja. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 327-341, 2016.
- GUIATTI, D.; STEFANON, B.; SGORLON, S. Association analysis between single nucleotide polymorphisms in the promoter region of *LEP*, *MYF6*, *MYOD1*, *OPN*, *SCD* genes and carcass traits in heavy pigs. **Italian Journal of Animal Science**, v.12, p.77-82, 2013.
- HADJIPAVLOU, G.; MATIKA, O.; CLOP, A.; BISHOP, S.C. Two singlenucleotide polymorphisms in the myostatin (*GDF8*) gene have significant association with muscle depth of commercial Charollais sheep. **Animal Genetics** 39, 346–353, 2008.
- HAN, J.; ZHOU, H.; FORREST, R.H.; SEDCOLE, J.R.; FRAMPTON, C.M.; HICKFORD, J.G.H. Effect of myostatin (*MSTN*) g+6223G>A on production and carcass traits in New Zealand Romney sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.23, p.863-866, 2010.
- HAN, X.; JIANG, T.; YANG, H.; ZHANG, Q.; WANG, W.; FAN, B.; LIU, B. Investigation of four porcine candidate genes (*H-FABP*, *MYOD1*, *UCP3* and *MASTR*) for meat quality traits in Large White pigs. **Molecular Biology Reports**, v.39, p.6599-6605, 2012.
- HAN, J.; FORREST, R. H.; HICKFORD, J. G. H. Genetic variations in the myostatin gene (*MSTN*) in New Zealand sheep breeds. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 11, p. 6379-6384, 2013.

- HAN, J.; Forrest, R. H.; Sedcole, J. R.; Hickford, J. G. H.. Myostatin (*MSTN*) gene haplotypes and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney lambs. **Small Ruminant Research**, v. 127, p. 8-19, 2015.
- HASTY, P.; BRADLEY, A.; MORRIS, J. H.; EDMONDSON, D. G.; VENUTI, J. M.; OLSON, E. N.; KLEIN, W. H. Muscle deficiency and neonatal death in mice with a targeted mutation in the Myogenin gene. **Nature**, v. 364, n. 6437, p. 501, 1993
- HAYNES, F.E.M.; GREENWOOD, P.L.; MCDONAGH, M.B.; MCMAHON, C.D.; NICHOLAS, G.D.; BERRY, C.J.; ODDY, V.H. Lack of association between allelic status and myostatin content in lambs with the myostatin g+6723G>A allele. **Journal of Animal Science**, v.91, p.78-89, 2013.
- HOPE, M.; HAYNES, F.; ODDY, H.; KOOHMARAIE, M.; AL-OWAIMER, A.; GEESINK, G. The effects of the myostatin g+ 6723G> A mutation on carcass and meat quality of lamb. **Meat science**, v. 95, n. 1, p. 118-122, 2013.
- HOUBA, P.H.J.; TE PAS, M.F.W. 2004. **The muscle regulatory factors gene family in relation to meat production**. In: TE PAS, M. F. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P. Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality. Oxfordshire: CABI, p.201-224, 2004.
- HU, S.; NI, W.; SAI, W.; ZI, H.; QIAO, J.; WANG, P.; SHENG, J.; CHEN, C. Knockdown of myostatin expression by RNAi enhances muscle growth in transgenic sheep. **PLoS One**, v.8, p.e58521, 2013.
- HURASKIN, D.; EIBER, N.; REICHEL, M.; ZIDEK, L. M.; KRAVIC, B.; BERNKOPF, D.; MALTZAHN, J. HASHEMOLHOSSEINI, S. Wnt/ β -catenin signaling via Axin2 is required for *MyoGenesis* and, together with YAP/Taz and Tead1, active in IIa/IIx muscle fibers. **Development**, v. 143, n. 17, p. 3128-3142, 2016.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal, 2016**. Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em 18 de Abril de 2017.
- IBRAHIM, A.H.M.; ZHOU, H.; HICKFORD, J.G.H. Variation in intron 1 of the ovine GDF8 gene and its association with growth and carcass characteristics of dual purpose sheep. **Egyptian Journal of Animal Production**, v.52, p.39-46, 2015.
- IBRAHIM, A.H.M.; HICKFORD, J.G.H. Correlation analysis between myostatin gene polymorphisms and carcass traits in New Zealand Romney sheep. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology** v.44, p.189-204, 2016.
- JIN, W.; PENG, J.; JIANG, S.N. The epigenetic regulation of embryonic *MyoGenesis* and adult muscle regeneration by histone methylation modification. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v.6, p.209-219, 2016.
- JOHNSON, P.L.; DODDS, K.G.; BAIN, W.E.; GREER, G.J.; MCLEAN, N.J.; MCLAREN, R.J.; GALLOWAY, S.M.; VAN STIJN, T.C.; MCEWAN, J.C. Investigations into the GDF8 g+6273G-A polymorphism in New Zealand Texel sheep. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.87, p.1856-1864, 2009.
- JESUS JUNIOR, C.de.; RODRIGUES, L.S.; MORAES, V.E.G. de. Ovinocaprinocultura de corte: a convivência dos extremos. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 31, p. 281-320, 2010.
- JIN, W.; PENG, J.; JIANG, S.N. The epigenetic regulation of embryonic *MyoGenesis* and adult muscle regeneration by histone methylation modification. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 6, p. 209-219, 2016.
- JEANPLONG F.; FALCONER S.J.; OLDHAM J.M.; THOMAS M.; GRAY T.S.; HENNEBRY A.; MATTHEWS K.G.; KEMP F.C.; PATEL K.; BERRY C.;

- NICHOLAS G.; MCMAHON C.D. Discovery of a mammalian splice variant of myostatin that stimulates *MyoGenesis*. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e81713, 2013.
- JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, v. 177, n. 1, p. 99-115, 1999.
- JUCÁ, A. DE F.; FAVERI, J.C.; MELO FILHO, G.M.; DE LISBOA RIBEIRO FILHO, A.; AZEVEDO, H.C.; MUNIZ, E.N.; PEDROSA, V.B.; PINTO, L.F.B. Effects of birth type and family on the variation of carcass and meat traits in Santa Ines sheep. **Tropical animal health and production**, v. 48, n. 2, p. 435-443, 2016.
- KAMIŃSKI, S.; HELP, H.; SUCHOCKI, T.; SZYDA, J. Additive effects of 19 porcine SNPs on growth rate, meat content and selection index. **Journal of Applied Genetics**, v.50, p.235-243, 2009.
- KAPELAŃSKI, W.; GRAJEWSKA, S.; KURYŁ, J.; BOCIAN, M.; WYSZYŃSKA-KOKO, J.; URBANŃSKI, P. Polymorphism in coding and non-coding regions of the MyoD gene family and meat quality in pigs. **Folia Biologica**, v.53, p.45-49, 2005.
- KHANG, N.T.K.; NGU, N.T. Effects of myogenic factor 5 (*MYF5*) gene on carcass and mat quality of Mong Cai Pigs. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v.43, p.213-218, 2013.
- KIJAS, J.W.; MCCULLOCH, R.; EDWARDS, J.E.; ODDY, V.H.; LEE, S.H.; VAN DER WERF, J. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the Ovine GDF8 locus. **BMC Genet**, v.8, p.80, 2007.
- KIM, J.M.; CHOI, B.D.; KIM, B.C.; PARK, S.S.; HONG, K.C. Associations of the variation in the porcine myogenin gene with muscle fiber characteristics, lean meat production and meat quality traits. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.126, p.134-141, 2009.
- KNEŽEVIĆ, D.; ĐURKIN, I.; KUŠEC, G.; KRALIK, G.; JERKOVIĆ, I. Influence of C489T SNP at *MYOD1* gene on carcass, meat quality traits and chemical composition of hybrid pigs. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.78, p.193-196, 2013.
- LAKE, S. L.; LYON, H.; TANTISIRA, K.; SILVERMAN, E. K.; WEISS, S. T.; LAIRD, N.M.; SCHAID, D.J. Estimation and tests of haplotype environment interaction when linkage phase is ambiguous. **Human Heredity**, v.55, p.56-65, 2003.
- LARA, A. M. C, VERÍSSIMO, C. J. GAMA, L.T, CUNHA, E. A, SANTOS, BUENO, M. S, SALES, L, OLIVEIRA, M.; SPÓSITO, E. F. Relação Entre Polimorfismos De Proteínas E Infecção Por Nematódeos Gastrintestinais Em Ovelhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38.; 2001, Viçosa. **Anais...Viçosa MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. CD.**
- LEE, C. L.; Hsieh, K. S.; Chen, Y. L.; & Shiue, Y. L. Identification of candidate genes for congenital ventricular septal defects with hsa22q11 loss of heterozygosity. **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 62, n. 3, p. 263-272, 2009
- LEE, J.H. Identification of SNPs in MYOD gene family and their associations with carcass traits in cattle. **Livestock Science**, v.126, p.292-297, 2009
- LEE, E.A.; KIM, J.M.; LIM, K.S.; RYU, Y.C.; JEON, W.M.; HONG, K.C. Effects of variation in porcine *MYOD1* gene on muscle fiber characteristics, lean meat production, and meat quality traits. **Meat Science**, v.92, p.36-43, 2012.
- LI, H.; HANDSAKER, B.; WYSOKER, A.; FENNELL, T.; RUAN, J.; HOMER, N.; MARTH, G.; ABECASIS, G.; DURBIN, R. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, v.25, p.2078–2079, 2009.
- LIU, M.; PENG, J.; XU, D.; ZHENG, R.; LI, F.; LI, J.; ZUO, B.; LEI, M.; XIONG, Y.;

- DENG, C.; JIANG, S. Associations of *MYF5* gene polymorphisms with meat quality traits in different domestic pig (*Sus scrofa*) populations. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.370-374, 2007.
- LIU C.; LI W.; ZHANG X.; ZHANG N.; HE S.; HUANG J.; GE Y.; LIU M. The critical role of myostatin in differentiation of sheep myoblasts. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 422, n. 3, p. 381-386, 2012.
- LIU C.; LI W.; ZHANG X.; ZHANG N.; HE S.; HUANG J.; GE Y.; LIU M. Knockdown of endogenous myostatin promotes sheep myoblast proliferation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, v. 50, n. 2, p. 94-102, 2014.
- LIU, H.; FU, B.; PANG, M.; FENG, X.; WANG, X.; YU, X.; TONG, J. QTL fine mapping and identification of candidate genes for growth-related traits in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). **Aquaculture**, 465, 134-143, 2016.
- LÔBO, A.M.B.O.; GUIMARÃES, S.E.F.; PAIVA, S.R.; CARDOSO, F.F.; SILVA, F. F.; JÚNIOR, G.A.F.; LÔBO, R.N.B. Differentially transcribed genes in skeletal muscle of lambs. **Livestock Science**, v. 150, n. 1, p. 31-41, 2012.
- LV X.Y.; SUN W.; SU R.; LI D.; WANG Q.Z.; MUSA H.H.; CHEN L.; ZHANG Y.F.; WU W.Z. Correlation between sheep *YAP1* temporal and spatial expression trends and *MSTN* and *MyoG* gene expression. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 3244-3256, 2015.
- MASRI, A.Y.; LAMBE, N.R.; MACFARLANE, J.M.; BROTHERSTONE, S.; HARESIGN, W.; BÜNGER, L. Evaluating the effects of a single copy of a mutation in the myostatin gene (c.*1232G>A) on carcass traits in crossbred lambs. **Meat science**, v.87, p.412-418, 2011^a.
- MASRI, A.Y.; LAMBE, N.R.; MACFARLANE, J.M.; BROTHERSTONE, S.; HARESIGN, W.; BÜNGER, L. 2011^b. Evaluating the effects of the c.*1232G>A mutation and TM-QTL in Texel×Welsh Mountain lambs using ultrasound and video image analyses. **Small Ruminant Research**, v.99, p.99-109, 2011^b.
- MCPHERRON, A.C.; LAWLER A.M.; LEE S. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **nature**, v. 387, n. 6628, p. 83, 1997.
- MEISTER. G.; TUSCHL, T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. **Nature**, v.431, n.7006, p.343-349, 2004.
- MENGUAL, , ARS, E.; LOZANO, J. J.; BURSET, M.; IZQUIERDO, L.; INGELMOTORRES, M.; ALCARAZ, A. Gene expression profiles in prostate cancer: Identification of candidate non-invasive diagnostic markers. **Actas Urológicas Españolas (English Edition)**, v. 38, n. 3, p. 143-149, 2014.
- MORAES, F. R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; ROSSI JUNIOR, P. Suscetibilidade de ovinos das raças Suffolk e Santa Inês a infecção. **Archives of Veterinary Science**, v. 6, n. 2, p. 63-69, 2000.
- MORAES, J. C. F.; SILVA, K. D. M.; LEAL, T.; AZEVEDO, H.; SANTOS, S.; FACO, O.; BRAGA, R. Núcleos de conservação de ovinos. **Embrapa Tabuleiros Costeiros-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**. p. 42-55, 2016
- MORENO G, M. B.; BUZZULINI, C.; BORBA, H.; DA COSTA, A. J.; DE LIMA, T. M. A.; DOURADO, J. F. B. Efeito do genótipo e do teor de proteína da dieta sobre a qualidade da carne de cordeiros. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 3, p. 630-640, 2011.
- MORETTI, I.; CICILLOT, S.; DYAR, K. A.; ABRAHAM, R.; MURGIA, M.; AGATEA, L.; AKIMOTO, T.; BICCIATO, S.; FORCATO.M. PIERRE.P.; UHLENHAUT, N.

- H.; RIGBY P.W.J.; CARVAJAL J.J.; BLAAUW. B.; CALABRIA.E.; SCHIAFFINO S. MRF4 negatively regulates adult skeletal muscle growth by repressing MEF2 activity. **Nature Communications**, v. 7, 2016.
- NABESHIMA, Y.; HANAOKA, K.; HAYASAKA, M.; ESUMI, E.; LI, S.; NONAKA, I. Myogenin gene disruption results in perinatal lethality because of severe muscle defect. **Nature**, v. 364, n. 6437, p. 532-535, 1993.
- NÓBREGA, G. H.; CÉZAR, M. F.; PEREIRA FILHO, J. M.; SOUSA, W. H.; SOUSA, O. B.; CUNHA, M. G. G.; SANTOS, J. R. S. Regime alimentar para ganho compensatório de ovinos em confinamento: composição regional e tecidual da carcaça. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 469-476, 2013.
- OHTA, S.; WANG, B.; MANSOUR, S. L.; SCHOENWOLF, G. C. SHH ventralizes the otocyst by maintaining basal PKA activity and regulating GLI3 signaling. **Developmental Biology**, v. 420, n. 1, p. 100-109, 2016.
- OLIVEIRA, D.S.; ROGÉRIO, M. C. P.; BATISTA, A. S. M.; ALVES, A. A.; ALBUQUERQUE, F. H. M. A. R.; POMPEU, R. C. F. F.; GUIMARÃES, V.P.; DUARTE, T. F. Desempenho e características de carcaça de cordeiros SPRD cruzados com as raças Santa Inês e Somalis Brasileira terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 4, p. 937-946, 2014.
- OLIVEIRA, M.C.D.S.; REGITANO, L.C.A.; ROESE, A.D.; ANTHONISEN, D.G.; PATROCÍNIO, E.; PARMA, M.M.; SCAGLIUSI, S.M.M.; TIMÓTEO, W.H.B.; JARDIM, S.N. 2007. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48295/1/LivroProtMolecular.pdf> Acessado em 02/05/2016.
- PAIVA, Samuel Rezende; PIMENTEL, Concepta Margaret McManus. Uso de marcadores moleculares como ferramenta adicional para conservação e melhoramento da raça Santa Inês. 2008. In: **V CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL**, 2.; 2008, Aracaju, SE. Anais... Aracaju: SNPA, 2008.
- PEREIRA, J. C. C. Melhoramento genético aplicado à produção animal. 5. ed. Belo Horizonte: **FEPMVZ Editora**, p.617, 2008
- PÉREZ-ENCISO, M.; MISZTAL, I. Qxpk.5: Old mixed model solutions for new genomics problems. **BMC Bioinformatics**, v.12, p.202, 2011.
- PINHEIRO, R. S. B.; JORGE, A. M.; SOUZA, H. B. A.; BOIAGO, M. M. Coloração da gordura e qualidade da carne de ovelhas de descarte abatidas em distintos estágios fisiológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 468-474, 2010.
- PINHEIRO, R. S. B.; JORGE, A. M.; DE LA LAMA, M.; CVABODNI, G.; SOUZA, H. B. A. D. Manejo pré-abate de ovelhas de descarte: perdas de peso corporal, qualidade da carne e comportamento animal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 227-234, 2015.
- PIRES, M. P.; FARAH, M. M.; CARREÑO, L. O. D.; UTSUNOMIYA, A. T. H.; ONO, R. K.; BERTIPAGLIA, T. S.; FONSECA, R. Estimativas de parâmetros genéticos para características de crescimento em ovinos da raça Suffolk no Brasil. **Arq. bras. med. vet. zootec**, p. 1119-1124, 2015.

- RAJA, J. S.; HOFFMAN, M. L.; GOVONI, K. E.; ZINN, S. A.; REED, S. A. Restricted maternal nutrition alters *MyoGenic* regulatory factor expression in satellite cells of ovine offspring. **Animal: an international journal of animal bioscience**, p. 1-4, 2016.
- REGO NETO, A.A.; SARMENTO, J.L.R.; SANTOS, N.P.S. ; BIAGIOTTI, D. ; SANTOS, G.V. ; CAMPELO, J.E.G. ; SENA, L.S. ; FIGUEIREDO FILHO, L.A.S. Estrutura e distribuição geográfica do rebanho de ovinos Santa Inês no Estado do Piauí. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, 2014.
- RODRIGUES, G.H.; SUSIN, I.; PIRES, A.V.; MENDES, C.Q.; URANO, F.S.; CASTILLO, C. J. C. Polpa cítrica em rações para cordeiros em confinamento: características da carcaça e qualidade da carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 10, p. 1869-1875, 2008.
- ROZEN S.; SKALETSKY, H.J. **Primer3**. (1998). Disponível em: <http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html>
- RUDNICKI, M.A.; SCHNEGELSBURG, P.N.J.; STEAD, R.H.; BRAUN, T.; ARNOLD, H.H.; JAENISCH, R. MyoD or *MyF5* is required in a functionally redundant manner for the formation of skeletal muscle. **Cell**, v.75, p.1351-1359, 1993.
- SAHU, A.R.; SAHU, A. R.; JEICHITRA, V.; RAJENDRAN, R.; RAJA, A. Polymorphism in exon 3 of myostatin (*MSTN*) gene and its association with growth traits in Indian sheep breeds. **Small Ruminant Research**, v. 149, p. 81-84, 2017.
- SAÑUDO, C.; NUTE, G.R.; CAMPO, M.M. Assessment of comercial lamb meat quality by british and spanish taste panels. **Meat Science**, v.48, n.1/2, p.91-100, 1998.
- SAS. **SAS/STAT User's Guide: version 9.3**. SAS Institute, Cary, NC. USA, 2011.
- SILVA, M.D.P.; CARVALHO, R.F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 21-31, 2007.
- SILVA, F.; CARVALHO, Z. G.; SÁ, H. C. M. D.; OLIVEIRA, L. L. D. S.; ALVES, D. D.; SILVA, V. L.; SOARES, F.D.S.; SANTOS, C. C. R. D. Ganho em peso, características de carcaça e carne de ovelhas terminadas em pasto com teores diferentes de suplementação. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 1, 2014.
- STUPKA, R.; CITEK, J.; SPRYSL, M.; OKROUHILA, M.; BRZOBOHATY, L. The impact of *MYOG*, *MYF6* and *MYOD1* genes on meat quality traits in crossbred pigs. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.88, p.15405-15409, 2012.
- SUN, W.; WANG, P.; DING, J.T.; MA, Y.H.; GUAN, W.J.; CHU, M.X.; LI, B.C.; WU, W.Z.; CHEN, L. Development changes of gene expression of Myostatin and Myogenin genes and their association analysis with carcass traits in Hu sheep. **Scientia Agricultura Sinica**, v.41, p.64-72, 2010.
- SUN, W.; SU, R.; LI, D.; MUSA, H. H.; KONG, Y.; DING, J. T, WU, W. Z. Developmental changes in IGF-I and *MyoG* gene expression and their association with meat traits in sheep. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 2772-2783, 2014.
- QUIGLEY, S. P.; GREENWOOD, P. L.; KLEEMANN, D. O.; OWENS, J. A.; BAWDEN, C. S.; NATTRASS, G. S. *MyoGenesis* in small and large ovine fetuses at three stages of pregnancy. **Animal Production Science**, v. 55, n. 2, p. 207-212, 2015.
- TAKEDA, H.; CHARLIER, C.; FARNIR, F.; GEORGES. M. Demonstrating

- polymorphic miRNA-mediated gene regulation in vivo: Application to the g+6223G→A mutation of Texel sheep. **RNA**, v.16, p.1854-1863, 2010.
- TE PAS, M. F. W.; SOUMILLION, A. Improvement of livestock breeding strategies using physiologic and functional genomic information of the muscle regulatory factors gene family for skeletal muscle development. **Current Genomics**, v.2, p.285-304, 2001.
- TEIXEIRA-NETO M. R. T.; DA CRUZ, J. F.; CARNEIRO, P. L. S.; MALHADO, C. H. M.; FARIA, H. H. N.. Parâmetros populacionais da raça ovina Santa Inês no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1589-1595, 2014.
- TIZIOTO, P. C.; COUTINHO, L. L.; MOURÃO, G. B.; GASPARIN, G.; MALAGÓJR, W.; BRESSANI, F. A.; R TULLIO,R.R.; NASSU, R.T.; TAYLOR,J.F.; REGITANO, L. C. A.. Variation in *MyoGenic* differentiation 1 mRNA abundance is associated with beef tenderness in Nelore cattle. **Animal genetics**, v. 47, n. 4, p. 491-494, 2016.
- TRUKHACHEV, V.; BELYAEV, V.; KVOCHKO, A.; KULICHENKO, A.; KOVALEV, D.; PISARENKO, S.; OMAROV, A. Myostatin gene (*MSTN*) polymorphism with a negative effect on meat productivity in Dzhalginsky Merino sheep breed. **Journal of BioScience & Biotechnology**, v. 4, n. 2, 2015.
- TRUKHACHEV, V.; SKRIPKIN, V.; TELEGINA, E.; YATSYK, O. 2017. Associations between newly discovered polymorphisms of the *MyoDI* gene and body parameters in Stavropol breed rams. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. Disponível em: <<http://tru.uni-sz.bg/bjvm/A.%20Krivoruchko%20OnFirst.pdf>> Acessado em 20/10/2017.
- UGARTE, G.; CAPPELLARI, O.; PERANI, L.; PISTOCCHI, A.; COSSU, G. Noggin recruits mesoderm progenitors from the dorsal aorta to a skeletal *MyoGenic* fate. **Developmental biology**, v. 365, n. 1, p. 91-100, 2012.
- UJAN, J.A.; ZAN, L.S.; UJAN, S.A.; WANG, H.B. Association between polymorphism of MyF-5 gene with meat quality traits in indigenous Chinese cattle breeds. **International Conference on Asia Agriculture and Animal IPCBEE**, v.13, p.50-55, 2011^a.
- UJAN, J.A.; ZAN, L.S.; WANG, H.B.; UJAN, S.A. The Effect of *MyoGenic* factor 5 polymorphism on the meat quality in Chinese Bos Taurus. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.76, p.373-377, 2011^b.
- URBAŃSKI, P.; KAPELAŃSKI, W.; WYS, J. An association between the MyoD gene polymorphisms and carcass traits in two- and three-breed crossbred pigs. **Animal Science Papers and Reports**, v.24, p.297-303, 2006.
- VÉLEZ, E. J.; LUTFI, E.; AZIZI, S.; PERELLÓ, M.; SALMERÓN, C.; RIERA-CODINA, M.; IBARZ, A.; FERNÁNDEZ-BORRÀS, J.; BLASCO, J.; CAPILLA, E.; NAVARRO, I.; GUITIÉRREZ, J. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. **Aquaculture**, v. 467, p. 28-40, 2017.
- VERNER, J.; HUMPOLÍČEK, P.; KNOLL, A. Impact of MYOD family genes on pork traits in Large White and Landrace pigs. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 124, n. 2, p. 81-85, 2007.
- WANG, S.; CAI, X.; XUE, K.; CHEN, H. Polymorphisms of MRF4 and H-FABP genes association with growth traits in Qinchuan cattle and related hybrids. **Molecular Biology Reports**, v.38, p.1013-1020, 2011.
- WANG, W.; XUE, W.; ZHOU, X.; ZHANG, L.; WU, J.; QU, L.; XU, X. Effects of candidate genes' polymorphisms on meat quality traits in pigs. *Acta Agriculturae*

- Scandinavica, Section A—**Animal Science**, v.62, p.120-126, 2012.
- WANG, J.; HU, Y.; ELZO, M.A.; SHI, Y.; JIA, X.; CHEN, S.; LAI, S. Genetic effect of *Myf5* gene in rabbit meat quality traits. **Journal of Genetics**, v. 96, p. 673-679, 2017.
- WARNER, R.D.; GREENWOOD, P.L.; PETHICK, D.W.; FERGUSON, D.M. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, v.86, n.1, p.171-183, 2010.
- WYSZYŃSKA-KOKO, J.; PIERZCHAŁA, M.; FLISIKOWSKI, K.; KAMYCZEK, M.; RÓŻYCKI, M.; KURYŁ, J. Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine *MYF6* and *MYOG* genes and expression of the *MYF6* gene in m. longissimus dorsi versus productive traits in pigs. **Journal of Applied Genetics**, v.47, p.131-138, 2006.
- YANG, Z.Q.; QING, Y.; ZHU, Q.; ZHAO, X.L.; WANG, Y.; LI, D.Y.; LIU, Y.P.; YIN, H.D. Genetic effects of polymorphisms in *MyoGenic* regulatory factors on chicken muscle fiber traits. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.28, p.782, 2015.
- YIN H.; LI, D.; WANG, Y.; ZHAO, X.; LIU, Y.; YANG, Z.; ZHU, Q.. *MyoGenic* regulatory factor (MRF) expression is affected by exercise in postnatal chicken skeletal muscles. *Gene*, v. 561, n. 2, p. 292-299, 2015
- ZHANG, W.; BEHRINGER, R. R.; OLSON, E. N. Inactivation of the *MyoGenic* bHLH gene MRF4 results in up-regulation of Myogenin and rib anomalies. **Genes & development**, v. 9, n. 11, p. 1388-1399, 1995.
- ZHONG, T.; JIN, P. F.; DONG, E. N.; LI, L.; WANG, L. J.; ZHANG, H. P.. Caprine sex affects skeletal muscle profile and MRFs expression during postnatal development. **Animal Science Journal**, v. 84, n. 5, p. 442-448, 2013.
- ZOU, G.; ZHU, Y.; LIANG, H.; LI, Z. Association of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and *MyoGenic* factor 6 genes with growth traits in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquacult International**, v.23, p.1217-1225, 2015.

10 ANEXO I

Tabela 1 - Frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos nos genes *MyoDI*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* em ovinos da raça Santa Inês e probabilidade do teste de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) ao comparar as heterosigosidades observada (HO) e predita (HP).

<i>MyoDI</i>	f(+/+)	f(+/-)	f(-/-)	f(+)	f(-)	HO	HP	P-valor (HWE)	Região	Aminoácido alterado	Escore SIFT	Number NCBI
g.34301104T>G	41,0	11,6	47,4	46,8	53,2	0.116	0.498	4.40E-26	3'UTR			rs418127847
g.34301148G>A	93,6	5,2	1,2	96,2	3,8	0.052	0.073	3.41E-02	3'UTR			rs406704545
g.34301171C>A	92,5	5,8	1,7	95,4	4,6	0.058	0.089	5.50E-03	3'UTR			rs592727214
g.34301231G>GGC	93,6	0,0	6,4	93,6	6,4	0.000	0.120	4.94E-18	3'UTR			rs1135847314
g.34301304GA>G	94,8	0,0	5,2	94,8	5,2	0.000	0.099	1.30E-15	3'UTR			rs1135847315
g.34301332C>G	17,9	1,7	80,3	18,8	81,2	0.017	0.307	7.05E-31	3'UTR			rs1135847316
g.34301376G>A	98,8	1,2	0,0	99,4	0,6	0.012	0.012	1.00E+00	3'UTR			rs1135847317
g.34301388A>C	38,2	3,5	58,4	39,9	60,1	0.035	0.478	6.14E-40	3'UTR			rs1135847318
g.34301541A>C	11,6	0,0	88,4	11,6	88,4	0.000	0.206	3.99E-27	3'UTR			rs1135847319
g.34301571G>T	88,4	10,4	1,2	93,6	6,4	0.105	0.120	2.76E-01	3'UTR			rs1135847320
g.34301604G>C	17,9	0,0	82,1	17,9	82,1	0.000	0.295	1.63E-35	Exon-1	His/Gln	*	rs1135847321
g.34301658A>G	93,1	1,2	5,8	93,6	6,4	0.012	0.120	1.75E-14	Exon-1	Ser/Pro	*	rs1135847322
g.34301659C>G	73,4	0,0	26,6	73,4	26,6	0.000	0.392	1.19E-43	Exon-1	Ser/ Thr	*	rs1135847323
g.34301660T>G	74,0	1,7	24,3	74,9	25,1	0.017	0.378	8.91E-37	Exon-1	Ser		rs1135847324
g.34301797T>G	97,7	1,2	1,2	98,3	1,7	0.012	0.034	8.00E-04	Exon-1	Asp/Ala	*	rs1135847325
g.34301824CT>C	80,9	0,0	19,1	80,9	19,1	0.000	0.310	8.51E-37	Exon-1	Ser/Gly	*	rs1135847326
g.34301844G>C	15,6	2,3	82,1	16,8	83,2	0.023	0.280	4.02E-27	Exon-1	Arg		rs1135847327
g.34301846C>G	8,7	2,3	89,0	9,8	90,2	0.023	0.178	9.90E-18	Exon-1	Gly/Arg	*	rs1135847328
g.34301868A>G	97,1	2,9	0,0	98,6	1,4	0.029	0.029	1.00E+00	Intron-1			rs1135847329
g.34301879C>G	5,8	0,0	94,2	5,8	94,2	0.000	0.110	7.59E-17	Intron-1			rs1135847330
g.34301885T>G	6,4	0,0	93,6	6,4	93,6	0.000	0.120	4.94E-18	Intron-1			rs1135847331
g.34301904C>T	6,4	0,0	93,6	6,4	93,6	0.000	0.120	4.94E-18	Intron-1			rs1135847332
g.34301905T>C	6,4	0,0	93,6	6,4	93,6	0.000	0.120	4.94E-18	Intron-1			rs1135847333
g.34301910T>G	6,4	0,0	93,6	6,4	93,6	0.000	0.120	4.94E-18	Intron-1			rs1135847334
g.34301950A>C	6,4	0,0	93,6	6,4	93,6	0.000	0.120	4.94E-18	Intron-1			rs1135847335
g.34301983C>G	5,2	0,0	94,8	5,2	94,8	0.000	0.099	1.30E-15	Intron-1			rs1135847336
g.34302175G>C	4,6	0,6	94,8	4,9	95,1	0.006	0.094	4.25E-13	Exon -2	Pro		rs1135847337
g.34302176C>G	5,8	0,0	94,2	5,8	94,2	0.000	0.110	7.59E-17	Exon -2	Arg/Pro	*	rs1135847338
g.34302181C>G	5,2	0,0	94,8	5,2	94,8	0.000	0.099	1.30E-15	Exon -2	Gly		rs1135847339
g.34302200A>T	98,8	1,2	0,0	99,4	0,6	0.012	0.012	1.00E+00	Intron-2			rs1135847340
g.34302219G>A	6,4	0,0	93,6	6,4	93,6	0.000	0.120	4.94E-18	Intron-2			rs1135847341
g.34302220A>G	5,8	0,0	94,2	5,8	94,2	0.000	0.110	7.59E-17	Intron-2			rs1135847342
g.34302273G>C	61,8	32,4	5,8	78,0	22,0	0.326	0.344	5.85E-01	Intron-2			rs1135847343

Tabela 1 - Frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* em ovinos da raça Santa Inês e probabilidade do teste de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) ao comparar as heterosigosidades observada (HO) e predita (HP).

g.34302274C>G	82,1	13,9	4,0	89,0	11,0	0.140	0.197	2.40E-03	Intron-2			rs1135847344
g.34302277T>G	96,5	2,9	0,6	98,0	2,0	0.029	0.040	1.21E-01	Intron-2			rs1135847345
g.34302278C>G	8,7	7,5	83,8	12,4	87,6	0.076	0.219	6.24E-12	Intron-2			rs1135847346
g.34302343T>G	5,8	0,0	94,2	5,8	94,2	0.000	0.110	7.59E-17	Intron-2			rs1135847347
g.34302349A>G	91,9	5,8	2,3	94,8	5,2	0.058	0.099	6.00E-04	Intron-2			rs1135847348
g.34302374C>G	5,8	0,0	94,2	5,8	94,2	0.000	0.110	7.59E-17	Intron-2			rs1135847349
g.34302380C>G	66,5	30,1	3,5	81,5	18,5	0.297	0.299	1.00E+00	Intron-2			rs1135847350
g.34302401G>A	88,4	9,8	1,7	93,4	6,6	0.099	0.125	5.60E-02	Intron-2			rs1135847351
g.34302403GCA>G	97,1	0,0	2,9	97,1	2,9	0.000	0.056	4.22E-10	Intron-2			rs1135847352
g.34302419T>G	87,9	10,4	1,7	93,1	6,9	0.105	0.130	7.18E-02	Intron-2			rs1135847353
g.34302461GGC>G	62,4	0,0	37,6	62,4	37,6	0.000	0.467	1.40E-49	Intron-2			rs1135847354
g.34302566A>G	72,8	26,6	0,6	86,1	13,9	0.267	0.240	2.42E-01	Intron-2			rs1135847355
g.34302610A>C	9,2	0,6	90,2	9,5	90,5	0.006	0.173	7.10E-22	Intron-2			rs1135847356
g.34302662T>G	4,0	0,0	96,0	4,0	96,0	0.000	0.078	5.48E-13	Intron-2			rs1135847357
g.34302672G>A	86,1	13,9	0,0	93,1	6,9	0.140	0.130	8.45E-01	Intron-2			rs1135847358
g.34302809G>A	8,1	0,0	91,9	8,1	91,9	0.000	0.150	2.36E-21	Exon-3	Ala		rs868996531
g.34302967A>G	65,3	31,2	3,5	80,9	19,1	0.308	0.307	1.00E+00	Exon-3	Leu		rs599663516
g.34303005G>T	23,1	0,6	76,3	23,4	76,6	0.006	0.360	7.03E-39	Exon-3	Ala/Asp	1,00	rs868996532
g.34303011G>T	40,5	8,1	51,4	44,5	55,5	0.081	0.495	1.55E-31	Exon-3	Thr /Asn	0,81	rs868996533
g.34303015G>T	37,0	0,0	63,0	37,0	63,0	0.000	0.467	1.40E-49	Exon-3	Pro/ His	1,00	rs868996535
g.34303016G>C	35,3	0,0	64,7	35,3	64,7	0.000	0.458	7.52E-49	Exon-3	Pro		rs868996536
g.34303024G>C	62,4	13,9	23,7	69,4	30,6	0.140	0.422	6.58E-18	Exon-3	Pro/Arg	0,00	rs868996538
g.34303047C>A	59,5	26,6	13,9	72,8	27,2	0.262	0.395	3.35E-05	Exon-3	Leu		rs868996544
g.34303049G>T	36,4	17,9	45,7	45,4	54,6	0.174	0.496	2.92E-18	Exon-3	Leu/Met	1,00	rs868996545
g.34303089C>T	86,7	13,3	0,0	93,4	6,6	0.134	0.125	9.10E-01	Exon-3	Ala		rs1086681542
g.34303195G>A	96,5	3,5	0,0	98,3	1,7	0.035	0.034	1.00E+00	Exon-3	Pro/Leu	0,03	rs1094726223
<i>MyoG</i>	f(+/+)	f(+/-)	f(-/-)	f(+)	f(-)	HO	HP	P-valor (HWE)	Região	Aminoácido Alterado	Escore SIFT	NCBI
g.196793G>A	49,5	46,4	4,2	72,7	27,3	0.461	0.396	3.66E-02	Intron-1			rs414881660
g.196843CGTGT>C	94,8	4,2	1,0	96,9	3,1	0.042	0.061	1.96E-02	Intron-1			rs404330441
g.196844G>A	85,4	14,1	0,5	92,4	7,6	0.141	0.140	1.00E+00	Intron-1			rs1135847312
g.196984A>G	51,0	44,8	4,2	73,4	26,6	0.445	0.389	6.98E-02	Intron-1			rs417690032
g.197088C>T	75,0	23,4	1,6	86,7	13,3	0.236	0.231	1.00E+00	Intron-1			rs426956376
g.197099T>G	29,7	42,2	28,1	50,8	49,2	0.419	0.500	3.25E-02	Intron-1			rs407552631
g.197231C>T	99,5	0,5	0,0	99,7	0,3	0.005	0.005	1.00E+00	Intron-1			rs593537566

Tabela 1 - Frequências alélicas e genóticas de polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* em ovinos da raça Santa Inês e probabilidade do teste de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) ao comparar as heterosigosidades observada (HO) e predita (HP).

g.197380G>A	56,8	40,1	3,1	76,8	23,2	0.403	0.357	1.17E-01	Intron-2			rs410212255
g.197446T>G	93,8	6,3	0,0	96,9	3,1	0.063	0.061	1.00E+00	Intron-2			rs599563675
g.197660G>A	74,5	22,9	2,6	85,9	14,1	0.230	0.243	6.26E-01	Intron-2			rs419534498
g.197710A>G	16,7	56,3	27,1	44,8	55,2	0.560	0.495	9.73E-02	Intron-2			rs400160301
g.197756C>T	93,2	5,7	1,0	96,1	3,9	0.058	0.075	5.14E-02	Intron-2			rs412989269
g.197845C>G	64,6	30,2	5,2	79,7	20,3	0.298	0.322	4.06E-01	Intron-2			rs422285781
g.197865T>C	0,0	8,3	91,7	4,2	95,8	0.084	0.080	1.00E+00	Intron-2			rs405981477
g.198080G>A	52,6	39,6	7,8	72,4	27,6	0.398	0.401	1.00E+00	Intron-2			rs412105535
g.198101CGG>CG	94,3	0,5	5,2	94,5	5,5	0.005	0.104	5.43E-16	Intron-2			rs1135847313
g.198131T>G	1,0	0,0	99,0	1,0	99,0	0.000	0.021	4.16E-05	Exon-3	His/Pro	0,44	rs425267173
g.198147T>G	1,6	0,0	98,4	1,6	98,4	0.000	0.031	5.51E-07	Exon-3	Arg		rs588545979
g.198149A>T	1,0	0,0	99,0	1,0	99,0	0.000	0.021	4.16E-05	Exon-3	Phe/Tyr	1,00	rs596811725
g.198159C>T	97,9	2,1	0,0	99,0	1,0	0.021	0.021	1.00E+00	Exon-3	Asp/Asn	0,27	rs596534847
g.198160G>A	71,9	20,3	7,8	82,0	18,0	0.204	0.296	1.00E-04	Exon-3	Arg		rs405517044
g.198304C>G	78,6	8,9	12,5	83,1	16,9	0.089	0.282	1.53E-16	Exon-3	Ala/Pro	0,16	rs1085449188
g.198320G>A	97,9	2,1	0,0	99,0	1,0	0.021	0.021	1.00E+00	Exon-3	Cys		rs592370703
g.198394G>T	91,1	8,3	0,5	95,3	4,7	0.084	0.090	6.86E-01	Exon-3	Arg		rs410772203
MyF5	f(+/+)	f(+/-)	f(-/-)	f(+)	f(-)	HO	HP	P-valor (HWE)	Região	Aminoácido alterado	Escore SIFT	NCBI
g.116460214G>A	97,9	1,0	1,0	98,4	1,6	0.011	0.031	6.00E-04	Exon-1	Glu		rs1135847248
g.116460217C>T	99,0	0,5	0,5	99,2	0,8	0.005	0.016	1.58E-02	Exon-1	His		rs1135847249
g.116460223A>C	97,4	1,6	1,0	98,2	1,8	0.016	0.036	1.50E-03	Exon-1	Arg		rs1135847250
g.116460226A>G	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.011	0.021	3.16E-02	Exon-1	Ala		rs1135847251
g.116460247C>G	97,9	1,0	1,0	98,4	1,6	0.011	0.031	6.00E-04	Exon-1	Ala		rs1135847252
g.116460252A>G	97,4	1,6	1,0	98,2	1,8	0.016	0.036	1.50E-03	Exon-1	His/Arg	1,00	rs1135847253
g.116460256C>T	97,4	1,6	1,0	98,2	1,8	0.016	0.036	1.50E-03	Exon-1	Cys		rs1135847254
g.116460257C>T	97,4	1,6	1,0	98,2	1,8	0.016	0.036	1.50E-03	Exon-1	Leu/Phe	0,03	rs1135847255
g.116460259C>A	97,9	1,0	1,0	98,4	1,6	0.011	0.031	6.00E-04	Exon-1	Leu		rs1135847256
g.116460260A>C	97,9	1,0	1,0	98,4	1,6	0.011	0.031	6.00E-04	Exon-1	Met/Leu	1,00	rs1135847257
g.116460274A>G	95,8	2,6	1,6	97,1	2,9	0.026	0.056	3.00E-04	Exon-1	Lys		rs1135847258
g.116460277A>G	96,3	2,1	1,6	97,4	2,6	0.021	0.051	1.00E-04	Exon-1	Ala		rs1135847259
g.116460283G>A	97,4	1,0	1,6	97,9	2,1	0.011	0.041	1.56E-05	Exon-1	Lys		rs1135847260
g.116460284A>C	96,9	1,6	1,6	97,6	2,4	0.016	0.046	4.67E-05	Exon-1	Arg		rs1135847261
g.116460286G>C	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.011	0.021	3.16E-02	Exon-1	Arg/Ser	*	rs1135847262
g.116460290T>A	97,4	1,6	1,0	98,2	1,8	0.016	0.036	1.50E-03	Exon-1	Ser/Ter	*	rs1135847263

Tabela 1 - Frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* em ovinos da raça Santa Inês e probabilidade do teste de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) ao comparar as heterosigosidades observada (HO) e predita (HP).

g.116460292C>G	97,4	1,0	1,6	97,9	2,1	0.011	0.041	1.56E-05	Exon-1	Ser		rs1135847264
g.116460295C>T	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.011	0.021	3.16E-02	Exon-1	Ter		rs1135847265
g.116460297C>A	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.011	0.021	3.16E-02	Exon-1	Thr/Asn	*	rs1135847266
g.116460299A>G	98,4	1,6	0,0	99,2	0,8	0.016	0.016	1.00E+00	Exon-1	Met/Val	*	rs1135847267
g.116460300T>C	96,3	2,6	1,0	97,6	2,4	0.026	0.046	5.20E-03	Exon-1	Met/Ter	*	rs1135847268
g.116460301G>C	97,9	1,0	1,0	98,4	1,6	0.011	0.031	6.00E-04	Exon-1	Met/Ile	*	rs1135847269
g.116460304T>C	95,8	2,6	1,6	97,1	2,9	0.026	0.056	3.00E-04	Exon-1	Asp		rs1135847270
g.116460307G>C	95,8	2,6	1,6	97,1	2,9	0.026	0.056	3.00E-04	Exon-1	Arg		rs1135847271
g.116460310G>C	95,8	1,6	2,6	96,6	3,4	0.016	0.066	7.24E-08	Exon-1	Arg		rs1135847272
g.116460316G>T	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Ala		rs1135847273
g.116460319C>T	94,8	1,0	4,2	95,3	4,7	0.011	0.090	1.69E-12	Exon-1	Ala		rs1135847274
g.116460335A>C	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Arg		rs1135847275
g.116460337A>C	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Arg/Ser	*	rs1135847276
g.116460341C>T	95,3	3,1	1,6	96,9	3,1	0.032	0.061	5.00E-04	Exon-1	Leu		rs1135847277
g.116460345A>G	94,2	2,6	3,1	95,5	4,5	0.026	0.085	4.59E-08	Exon-1	Lys /Arg	0,63	rs1135847278
g.116460346G>C	94,2	5,8	0,0	97,1	2,9	0.058	0.056	1.00E+00	Exon-1	Lys /Asn	0,07	rs1135847279
g.116460349G>A	94,2	2,1	3,7	95,3	4,7	0.021	0.090	8.12E-10	Exon-1	Lys		rs1135847280
g.116460356C>G	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Gln/Glu	*	rs1135847281
g.116460361T>C	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Ala		rs1135847282
g.116460367C>G	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Asp/Glu	*	rs1135847283
g.116460376G>A	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Lys		rs1135847284
g.116460379G>C	94,2	2,1	3,7	95,3	4,7	0.021	0.090	8.12E-10	Exon-1	Arg		rs1135847285
g.116460385C>G	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Ter		rs1135847286
g.116460386A>T	94,2	2,1	3,7	95,3	4,7	0.021	0.090	8.12E-10	Exon-1	Thr /Ser	*	rs1135847287
g.116460388G>T	94,2	2,1	3,7	95,3	4,7	0.021	0.090	8.12E-10	Exon-1	Ter		rs1135847288
g.116460390C>G	94,2	1,6	4,2	95,0	5,0	0.016	0.095	1.06E-11	Exon-1	Thr /Ser	*	rs1135847289
g.116460397T>A	94,2	5,8	0,0	97,1	2,9	0.058	0.056	1.00E+00	Exon-1	Pro		rs1135847290
g.116460404A>C	93,7	1,6	4,7	94,5	5,5	0.016	0.104	6.84E-13	Exon-1	Arg		rs1135847291
g.116460427C>G	97,4	0,5	2,1	97,6	2,4	0.005	0.046	9.46E-08	Exon-1	Leu		rs1135847292
g.116460428A>C	97,4	1,0	1,6	97,9	2,1	0.011	0.041	1.56E-05	Exon-1	Arg		rs1135847293
g.116460430G>C	97,4	1,0	1,6	97,9	2,1	0.011	0.041	1.56E-05	Exon-1	Arg/Ser	0,01	rs1135847294
g.116460433T>C	97,4	1,0	1,6	97,9	2,1	0.011	0.041	1.56E-05	Exon-1	Asn		rs1135847295
g.116460436C>A	97,9	1,0	1,0	98,4	1,6	0.011	0.031	6.00E-04	Exon-1	Ala		rs1135847296
g.116460445C>T	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.011	0.021	3.16E-02	Exon-1	Tyr		rs1135847297
g.116460448T>C	99,0	1,0	0,0	99,5	0,5	0.011	0.010	1.00E+00	Exon-1	Ile		rs1135847298

Tabela 1 - Frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos nos genes *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6* e *MSTN* em ovinos da raça Santa Inês e probabilidade do teste de equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) ao comparar as heterosigosidades observada (HO) e predita (HP).

g.116460451G>A	99,0	1,0	0,0	99,5	0,5	0.011	0.010	1.00E+00	Exon-1	Glu		rs1135847299
g.116460452A>G	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.011	0.021	3.16E-02	Exon-1	Ser/Gly	0,23	rs1135847300
g.116460462A>C	99,0	1,0	0,0	99,5	0,5	0.011	0.010	1.00E+00	Exon-1	Glu/Ala	0,84	rs1135847301
g.116460588T>C	94,2	5,8	0,0	97,1	2,9	0.058	0.056	1.00E+00	Intron-1			rs416158998
g.116460689G>T	96,9	3,1	0,0	98,4	1,6	0.031	0.031	1.00E+00	Intron-1			rs409920562
g.116460778G>A	95,8	4,2	0,0	97,9	2,1	0.042	0.041	1.00E+00	Intron-1			rs421299802
g.116460827T>C	94,8	5,2	0,0	97,4	2,6	0.052	0.051	1.00E+00	Intron-1			rs1135847302
g.116460955G>C	92,1	7,9	0,0	96,1	3,9	0.079	0.075	1.00E+00	Intron-1			rs399775445
g.116461988C>G	98,4	1,6	0,0	99,2	0,8	0.016	0.016	1.00E+00	Exon-3	Ser/ Cys	0,02	rs412277497
g.116462045C>G	98,4	1,0	0,5	99,0	1,0	0.010	0.020	1.00E+00	Exon-3	Ser/ Cys	0,02	rs1135847303
g.116462083G>C	94,2	5,8	0,0	97,1	2,9	0.058	0.056	1.00E+00	3' UTR			rs401351612
g.116462262C>T	95,3	4,7	0,0	97,6	2,4	0.047	0.047	1.00E+00	3' UTR			rs412427068
MyF6	f(+/+)	f(+/-)	f(-/-)	f(+)	f(-)	HO	HP	P-valor (HWE)	Região	Aminoácido alterado	Escore SIFT	NCBI
g.116445836G>A	6,8	38,2	55,0	25,9	74,1	0.384	0.385	1.00E+00	Intron-2			rs595997498
g.116445837T>G	7,3	37,7	55,0	26,2	73,8	0.379	0.388	8.58E-01	Intron-2			rs591524187
g.116445882A>C	0,5	11,0	88,5	6,0	94,0	0.111	0.114	1.00E+00	Intron-2			rs409632361
g.116446029T>C	1,6	11,0	87,4	7,1	92,9	0.111	0.132	1.07E-01	Exon-3	Cys		rs399504900
MSTN	f(+/+)	f(+/-)	f(-/-)	f(+)	f(-)	HO	HP	P-valor (HWE)	Região	Aminoácido alterado	Escore SIFT	NCBI
g.118140810G>T	27,6	53,7	18,7	54,5	45,5	0.541	0.497	4.48E-01	Intron-1			rs119102825
g.118141033T>C	69,9	28,5	1,6	84,1	15,9	0.287	0.269	7.47E-01	Intron-1			rs119102826
g.118141035G>A	46,3	48,8	4,9	70,7	29,3	0.484	0.413	9.47E-02	Intron-1			rs427811339
g.118141041T>C	80,5	17,9	1,6	89,4	10,6	0.180	0.190	7.95E-01	Intron-1			rs417602601
g.118141051G>T	44,7	37,4	17,9	63,4	36,6	0.377	0.466	5.12E-02	Intron-1			rs119102828
g.118141115C>T	73,2	25,2	1,6	85,8	14,2	0.254	0.246	1.00E+00	Intron-1			rs407388367
g.118141355G>A	69,1	29,3	1,6	83,7	16,3	0.295	0.274	6.69E-01	Intron-1			rs408710650
g.118141705A>G	91,1	8,9	0,0	95,5	4,5	0.090	0.086	1.00E+00	Intron-1			rs413881846
g.118141981A>G	72,4	26,0	1,6	85,4	14,6	0.254	0.246	1.00E+00	Intron-1			rs420853334
g.118142503T>C	76,4	22,8	0,8	87,8	12,2	0.230	0.216	8.73E-01	Intron-1			rs1135847247

f(+/+) – frequência do genótipo homocigoto para o alelo referência; f(+/-) frequência do genótipo heterocigoto; f(-/-) – frequência do genótipo homocigoto para o alelo mutante; f(+)- frequência do alelo referência; f(-) – frequência do alelo mutante.

* A versão disponível do VEP ainda não informa o escore SIFT para estes polimorfismos.