ROBERTA DORIGUELLO FONSECA

**Avaliação de marcadores moleculares associados à qualidade da carne de bovinos
Simental Sul Africano x Nelore**

- Versão Corrigida -

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro

PIRASSUNUNGA

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F676a Fonseca, Roberta Doriguello
Avaliação de marcadores moleculares associados à
qualidade da carne de bovinos Simental Sul Africano
x Nelore / Roberta Doriguello Fonseca ; orientador
Júlio César de Carvalho Balieiro. -- Pirassununga,
2016.
72 f.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.
1. Melhoramento Genético. 2. Qualidade de Carne.
I. Balieiro, Júlio César de Carvalho, orient. II.
Título.

ROBERTA DORIGUELLO FONSECA

Avaliação de marcadores moleculares associados à qualidade da carne de bovinos Simental
Sul Africano x Nelore

Dissertação apresentada a Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como parte
dos requisitos para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Data de aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora

Júlio César de Carvalho Balieiro

Professor, Dr - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo -FMVZ/USP, Brasil
Orientador

Mirele Daiana Poleti

Dra. - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de São Paulo - ESALQ/USP, Brasil

Alessandra Fernandes Rosa

Dra. - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Universidade de São Paulo - FZEA/USP, Brasil

Aos meus sobrinhos, Tomás, Helena, Manu e Júlia
pelos abraços e risadas.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Durante este trabalho tive o prazer de estar junto com diversas pessoas que me ajudaram, apoiaram, ensinaram, brigaram, conversaram, explicaram e riram comigo. E é graças a essas pessoas e muita força de vontade que hoje posso entregar essa dissertação nas mãos dos mestres que irão me avaliar.

Agradeço aos meus pais, por terem me acompanhando, incentivando e ensinando durante toda a minha vida, sem eles eu não seria a pessoa que sou hoje e não teria a oportunidade de presenteá-los com essa dissertação.

A toda a minha família, irmãos, cunhados, avós, tios, primos e sobrinhos que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e acreditando no meu futuro, mesmo quando estávamos longe.

Ao Prof. Júlio Balieiro que possibilitou que eu entrasse em seu grupo e tivesse o prazer de trabalhar junto com ele.

A Alessandra Rosa, pois graças a ela e ao seu convite que estou no mestrado e, foi com ela que aprendi muitas das coisas que sei hoje e amadureci.

Ao Prof. Saulo, pois além de ter cedido o espaço do seu laboratório também me ensinou muito na graduação e, me fez criar um carinho especial pelas carnes e seu estudo.

Ao Prof. Luis Felipe por ceder o seu laboratório para as análises genômicas, e pela sua ajuda em vários momentos de dúvida.

Ao Minos e a Mirele, com eles que aprendi como as análises genéticas são simples.

A Lígia, minha amiga e professora, que me ensinou tanto desde 2008 durante a graduação e agora no mestrado não ficaria de fora, sendo graças a ela e a todo o seu empenho que hoje posso dizer que tenho um amor chamado biologia molecular.

Aos funcionários a Agropecuária Zurita, e do Frigorífico Olhos d'água que tornaram todas as coletas de amostras possíveis e tranquilas, mesmo alterando a sua rotina de trabalho.

Aos funcionários e técnicos da universidade, em especial a Thays, o Márcio, a Lígia e o Elso, pois sem os seus equipamentos e orientações este trabalho não estaria completo.

Aos estagiários que me deram o prazer de trabalhar com eles, Brenno, Nathalia, Cintia, Bruna, Lorian, Fernanda, César, Juan, Maurício e Mário.

Aos meus amigos que nos momentos mais complicados estiveram disponíveis para me ajudar, Bettah, Henrique, Dipsy, Bárbara, Mika, Bruno, Brenno, Verônica e Alana.

Aos meus amigos que se fizeram presentes nos momentos de descontração Dipsy, Henrique, Lina, Dani, Qui, Ju Diniz, Lari, Ju Mega, Milena, Laura, Bettah, Panda, Brocha, Aline (Happy), Rafa, Edimarco, Angu, Giga, Bolonha, Mika, Mada, Bárbara e Bruno, sem as risadas esse trabalho seria inviável.

Aos amigos de São Paulo, Victor, Mariana, Julinha, Karime, Karen, Artur, Carla e Marina, devo agradecer todos os momentos que estivemos juntos, mesmo que poucos devido a distância.

As meninas que moraram comigo no decorrer desses três anos de mestrado, Josi, Mayra, Luisa e Aline, e aos nossos animais Lolita, Kiko e Johnny, sem todos vocês nos finais de tarde conversando na cozinha esses anos não seriam tão maravilhosos.

*“Somos o que fazemos, mas somos principalmente,
o que fazemos para mudar o que somos”*

Eduardo Galeano

*“Maravilhar-se é o primeiro passo
para um descobrimento”*

Louis Pasteur

RESUMO

FONSECA, R. D. **Avaliação de marcadores associados à qualidade da carne de bovinos Simental Sul Africano x Nelore**. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

No Brasil, a perspectiva de aumento do volume de exportações e a exigência dos diferentes mercados faz com que a adaptação da cadeia produtiva da carne seja necessária, assim como a mudança de conceitos e critérios de seleção dos animais, de forma a melhorar as características consideradas pelo consumidor como de primeira importância: aparência e a palatabilidade. Porém existem diversos fatores que podem influenciar na qualidade da carne: sexo, raça (genética), idade, nutrição e estresse durante a vida do animal. Esses fatores influenciam diretamente no produto final, pois têm relação com as mudanças que ocorrem durante o *post mortem*. Desta forma, este trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência do pH, da condição sexual e de polimorfismos genéticos em genes relacionados à qualidade da carne e a resposta ao estresse sobre a variação das características da carne em rebanho bovino comercial Simental Sul Africano x Nelore. Para isso o trabalho foi dividido em duas partes: (a) avaliar os parâmetros de qualidade da carne em dois diferentes tempos de maturação (48 horas e 15 dias), sendo estudadas as variações entre os sexos (fêmeas e machos castrados), e nos diferentes valores de pH (classe 1=pH $\leq$ 5,79 e classe 2=pH $\geq$ 5,8). (b) Associar SNPs de diferentes genes ou marcadores (CAPN, UOGCAST, NR3C1_1, NR3C2_1, TG5) ligados a características de qualidade da carne, visando compreender melhor os efeitos genéticos desses marcadores sobre as características da carne. Para esta pesquisa foram avaliados 485 bovinos (182 fêmeas e 303 machos) recriados e terminados em confinamento. Os resultados mostraram haver relação do sexo como parâmetros de cor e maciez. As classes de pH mostraram relação significativa com a cor da carne. Verificou-se incidência de carnes DFD (pH $\geq$ 5,8) da ordem de 5,3%. Dos polimorfismos estudados foram encontradas associações significativas apenas para CAPN, NR3C1_1 e TG. O CAPN relacionado à cor e, NR3C1_1 e TG com as perdas de água por cocção (PAC). Portanto, é possível inferir que tanto o sexo quanto as classes de pH tem influência direta com os parâmetros de qualidade da carne. Os polimorfismos dos genes CAPN, NR3C1_1 e TG propiciaram mudanças nas características físico-químicas da carne.

Palavras-chave: maciez, estresse, tiroglobulina, polimorfismo de nucleotídeo único, escura-dura-seca.

ABSTRACT

FONSECA, R. D. **Evaluation of molecular markers associated with meat quality in crossbreed South African Simmental x Nellore**. 2016. 76 p. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

In Brazil, the prospect of increased exports and the requirement of different markets makes necessary adaptation of the meat production chain, as the change of concepts and criteria in animal selection to improve the characteristics that the consumer consider as most important: appearance and palatability. However, there are some factors that could influence meat quality: sex, breed (genetics), age, nutrition and stress during the life of the animal. These factors directly influence the final product, since they are related to changes that occur during *post mortem* period. The aim was to evaluate the pH influence, sexual condition and genetic polymorphisms on genes related to meat quality and stress response on meat quality variation of South African Simmental x Nellore beef cattle. Therefore, this research were divided into two parts: (a) to evaluate the meat quality characteristics in two different aging times (2 and 15 days), being studied variations within the sexual condition (females and castrated males), as well as within the pH range ($\text{pH} \leq 5.79$ Class 1 and Class 2 $\geq \text{pH} 5.8$). (b) Associate SNPs of different genes (CAPN, UOGCAST, NR3C1_1, NR3C2_1, TG5) with meat quality characteristics. For this research were evaluated 485 animals (182 heifers and 303 steers) recreated and finished in feedlot. The results shows relation of sex with color and tenderness and, from pH range with color. There was an incidence of DFD meat ($\text{pH} \geq 5.8$) of 5,3%. The CAPN polymorphism was associated with color meat and NR3C1_1 and TG with cooking loss. Therefore, it is possible to infer that both sex and pH value influence in the meat quality. The polymorphisms CAPN, NR3C1_1 and TG led to changes in the physicochemical characteristics of the meat.

Key-words: tenderness, stress, thyroglobulin, single nucleotide polymorphism, dark-firm-dry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Caracterização das bandas esperadas para cada um dos genótipos existentes no marcador TG5 avaliado a partir do protocolo de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). (a) Representação das bandas de acordo com o protocolo de Veneroni & Regitano (2007); (b) Representação gráfica das bandas para cada um dos genótipos com os tamanhos de pares de bases para cada uma delas (VENERONI & REGITANO, 2007)..... 60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de observações (N), Média (MED), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX) para as características avaliadas. ... 45

Tabela 2 - Estimativas médias dos resultados obtidos para os parâmetros de qualidade de carne estudados nos grupos de diferentes sexos (fêmeas e machos) e classe de pH (CLPH 1 $pH \leq 5,79$; CLPH 2 $pH \geq 5,8$ - DFD)..... 46

Tabela 3 - Nome e informações dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados para os genes de calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), receptores de mineralocorticóides (MR) e glicocorticóides (GR), e tiroglobulina (TG), bem como as respectivas referências..... 57

Tabela 4 - Sequência de primers utilizados para sequenciamento da calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), receptores mineralocorticóide (MR) e glicocorticóide (GR), e tiroglobulina (TG). 59

Tabela 5 - Número de observações (N), Média (MED), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX) para as características avaliadas. ... 61

Tabela 6 - Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados nos genes da calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), mineralocorticóide (MR), glicocorticóide (GR) e tiroglobulina (TG). 62

Tabela 7 - Estimativas de médias para as características de qualidade de carne para os polimorfismos de nucleotídeo únicos (SNPs) identificados nos genes da calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), receptores mineralocorticóide (MR) e glicocorticóide (GR), e tiroglobulina (TG). 64

Tabela 8 - Estimativa dos efeitos aditivos (α), desvios de aditividade/dominância (δ), e efeitos de substituições gênicas (β_{1i}) e erro padrão (EP) para as características de qualidade da carne segundo os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene da calpaína (CAPN).....	65
Tabela 9 - Estimativa dos efeitos aditivos (α), desvios de aditividade/dominância (δ), e efeitos de substituições gênicas (β_{1i}) e erro padrão (EP) para as características de qualidade da carne segundo os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene do receptor de glicocorticóide (GR).....	66
Tabela 10 - Estimativa do efeito de substituição gênica (β_{1i}) e erro padrão (EP) para as características de qualidade da carne segundo o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) do gene da tiroglobulina (TG).....	68

SUMÁRIO

1. Introdução	15
2. Revisão bibliográfica.....	16
2.1. Características da qualidade da carne.	16
2.1.1. Cor	16
2.1.2. Gordura na carcaça e marmorização	17
2.3. Raça Simental, Nelore e animais cruzados	19
2.4. Marcadores moleculares associados a qualidade da carne	21
2.4.1. Genes CAPN e UOGCAST	22
2.4.2. Genes MR e GR	24
2.4.3. Gene TG	26
3. Avaliação da qualidade da carne de bovinos Simental Sul Africano X Nelore	38
Resumo	38
Abstract	39
3.1. Introdução	40
3.2. Objetivo	41
3.3. Materiais e métodos	41
3.3.1. Animais e amostras	41
3.3.1. Análises físico-químicas	42
3.3.2. Análise dos resultados	43
3.4. Resultados e Discussão	44
3.5. Conclusão	48
Referências	49
4. Avaliação de polimorfismos relacionados à qualidade da carne de bovinos Simental Sul Africano x Nelore.	52
Resumo	52

Abstract	53
4.1. Introdução	54
4.2. Objetivo	55
4.3. Material e métodos	55
4.3.1. Animais e amostras	55
4.3.1. Análises físico-químicas.....	56
4.3.2. Identificação dos SNPs.....	57
4.3.3. Análise dos resultados.....	60
4.4. Resultados e Discussão	61
4.5. Conclusão	69
Referências	70

1. Introdução

De acordo com a FAO (2013) em 2010 o continente americano detinha mais de 0,5 bilhão de bovinos e bubalinos, o que corresponde a aproximadamente 29% da população mundial, ficando atrás da Ásia (0,6 bilhões de cabeças), sendo que a produção de carne bovina e bubalina do Brasil nesse mesmo ano foi de 9,115 milhões de toneladas, caracterizando crescimento de 3,3% entre os anos 2000 e 2010. De acordo com os dados do efetivo bovino calculado pelo IBGE (2015) em 2013 o Brasil possuía 212 milhões de cabeças.

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015) revelou que em 2014 o Brasil abateu 33,9 milhões de cabeças bovinas, sendo que de acordo com BRASIL (2015) é esperado um crescimento de 2,1% ao ano. A produção de carne bovina calculada pelo BRASIL (2015) em 2015 foi de 9,206 milhões toneladas, com o consumo interno de carne bovina de 7,188 milhões toneladas e exportação de 2,099 milhões toneladas. Para 2016 a projeção é de que esta mesma categoria produza 9,695 milhões toneladas de carne, e o consumo interno seja de 7,628 milhões toneladas. O United States Department of Agriculture (USDA, 2015) classifica o Brasil como potencial segundo maior exportador em 2024, perdendo para Índia.

Com a perspectiva de aumento no volume das exportações e as exigências cada vez maiores dos diferentes mercados consumidores (internos e externos) é necessária a adequação da cadeia produtiva para que esta possa manter esses mercados e ter acesso a outros mais exigentes. Dessa forma mudanças vêm acontecendo nos conceitos e critérios de seleção de animais geneticamente superiores, os quais podem ser demonstrados pela preocupação crescente por parte dos criadores brasileiros em adotar e/ou participar de programas de melhoramento genético, por meio de programas de avaliação genética de reprodutores, matrizes e seus produtos.

Do ponto de vista do consumidor as duas características mais importantes da carne bovina são a aparência e a palatabilidade, sendo que, de acordo com Morgan *et al.* (1991), Boleman *et al.* (1997), Luchiari Filho (2000) e Miller (2011), dentro da palatabilidade a maciez é a mais desejável.

Segundo Koohmaraie *et al.* (1995) a inconsistência na maciez da carne bovina, para o consumidor, é um dos maiores problemas que desafiam a indústria, e a solução desse problema tem sido uma das principais preocupações. Adicionalmente, de acordo com Bonin (2008), a grande variabilidade com relação a essas características da carne bovina geram um

consenso entre os consumidores, que alegam encontrar dificuldades na escolha das carnes por sentirem-se inseguros quanto a sua maciez. Shackelford *et al.* (1991) relatam que a variação da qualidade de carne bovina é devida a pouca padronização dos sistemas de produção, da genética do rebanho, bem como da inabilidade em identificar as carcaças que produzem maior quantidade de carne com melhor qualidade. Morales *et al.* (2003) concordam com essa afirmação e completam dizendo que a falta de padrão quanto a maciez e palatabilidade das carnes no Brasil e no mundo é causado pela falta de uniformidade quanto a idade de abate, a cobertura de gordura e a marmorização da carne.

Portanto, diversos fatores estão relacionados à qualidade da carne e o entendimento desses e de como eles influenciam é fundamental para que o sistema produtivo da carne possa orientar sua produção visando atender a demanda dos consumidores. Assim, esse trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência do pH, da condição sexual e de polimorfismos genéticos em genes relacionados à qualidade da carne e a resposta ao estresse sobre a variação das características da carne em rebanho bovino comercial Simental Sul Africano x Nelore.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Características da qualidade da carne.

2.1.1. Cor

A aparência visual da carne, principalmente a cor, é o fator determinante na aquisição do produto pelos consumidores (SUMAN *et al.*, 2014). Isso se dá pelo fato dela ser o principal indicativo de frescor e qualidade para o consumidor moderno (TRINDADE; ROSA; TAROUCO, 2011). A cor vermelha, característica da carne bovina, é resultado principalmente da hemoglobina presente no sangue, que ela varia com a quantidade e estado químico dessa molécula.

Existem diversos fatores que influenciam a cor da carne, conforme a proporção de cada uma dessas formas de mioglobina no produto final:

- a. Biológicos: tipo de músculo, espécie, raça, sexo, idade, etc.
- b. Bioquímicos: taxa de consumo de oxigênio pelo músculo, oxidação da mioglobina, proporção de mioglobina, oximioglobina e metamioglobina no tecido.
- c. Extrínsecos: alimentação, promotores de crescimento, etc.
- d. Físico-químicos: pH, temperatura, estimulação elétrica, armazenamento, etc.

A interação desses fatores durante a vida do animal e o processamento da carne, levam a variações na cor final.

Existem alguns métodos utilizados para medição da cor. Os métodos subjetivos usam escalas de pontuação, nos quais valores menores representam carnes mais claras e maiores as mais escuras, variando a escala padrão da American Meat Science Association (AMSA, 2001) de 1 à 6. Já os métodos objetivos utilizam equipamentos (colorímetros e espectrofotômetros), um dos sistemas mais utilizados por colorímetros é o CIELAB, que usa o espaço L^* a^* b^* para identificar a cor de um objeto ou uma fonte de luz usando uma notação numérica. Dessa forma L^* indica a luminosidade, branco (+100) a preto (zero) e a^* e b^* indicam a cromaticidade, variando de verde ($-a^*$) a vermelho ($+a^*$) e de azul ($-b^*$) a amarelo ($+b^*$), sendo que para esses indicativos de cor, quanto mais próximo das extremidades (+100 e -100) mais saturada é a cor (FELÍCIO, 1999).

Alguns autores encontraram relação entre os valores de cor e algumas características da carne. Wulf e Page (2000) mostraram haver a diminuição da maciez e das notas por painel sensorial, conforme aumentaram os valores de b^* , mas não obtiveram nenhuma relação da maciez com o aumento de L^* ou a^* . Já Riley *et al.* (2005) obtiveram o aumento da maciez da carne de animais Brahman, conforme aumentaram os valores de cor da carne para vermelho escuro (L^* e a^*). Porém, esses mesmos autores sugerem que os efeitos das diferenças da cor das carnes podem ser confundidos pelo manejo dos animais ou carcaças, pois esses fatores não foram considerados ao realizar as análises de maciez.

Wulf *et al.* (1997), trabalhando com animais *Bos taurus* e *Bos indicus*, tiveram valores diferentes de L^* e a^* para cada uma dessas espécies e Vaz e Restle (2003) trabalhando com novilhos Charolês abatidos aos dois anos de idade, com diferentes tratamentos nutricionais, mostraram que a cor da carne foi prejudicada nos animais que tiveram baixo ganho de peso após o desmame.

2.1.2. Gordura na carcaça e marmorização

Sabe-se que o crescimento dos bovinos nas diversas fases de desenvolvimento está diretamente ligado à qualidade final da carcaça, sendo o ganho de peso a principal forma de medir esse desenvolvimento (DI MARCO, 1994). Além de ser de grande importância para o mercado consumidor, a gordura de acabamento na carcaça é um dos principais agentes na redução as perdas de água durante o resfriamento da mesma após o abate, pois comporta-se

como um isolante térmico, interferindo no processo de conversão do músculo em carne (FELÍCIO, 1997). Trindade, Rosa e Tarouco (2011) dizem que carcaças bovinas com menos de 3 a 4mm de gordura subcutânea têm problemas de conservação como: encurtamento pelo frio (*cold shortening*) e queima ou escurecimento da massa muscular exposta ao frio.

Alguns autores como Müller (1977), Young e Kauffman (1978), Molleta e Restle (1996) e Kerth *et al.* (2007) identificaram que o aumento do grau de gordura intramuscular também influencia nas perdas tanto por descongelamento quanto por cocção, de forma que quanto maior o marmoreio da carne, menor serão as perdas, o que conseqüentemente, leva a carnes mais macias. Porém, Riley *et al.* (2005) não encontraram relação entre a gordura (medido pelo escore de marmoreio, porcentagem de lipídeos e espessura de gordura na 12ª costela) e os valores de maciez das carnes de animais Brahman, com o que Wheeler, Cundiff e Koch (1994) concordam, pois obtiveram baixa relação entre o marmoreio e a maciez da carne em animais *Bos indicus* e *Bos taurus*. Entretanto, Jones e Tatum (1994) afirmam haver influência do marmoreio sobre 9 e 5,1% da força de cisalhamento (WBSF) e da maciez da fibra muscular, respectivamente, após 10 dias de maturação.

Segundo Trindade, Rosa e Tarouco (2011) para o consumidor, há influência da quantidade de gordura intramuscular com fatores como sabor, suculência, maciez, aroma e palatabilidade da carne, e sugerem haver a melhora da maciez quando há um mínimo de 3,5% de marmorização na carne bovina, pois os glóbulos de gordura são menos resistentes à força de cisalhamento do que as fibras musculares e o tecido conjuntivo.

2.1.3. Maciez

De acordo com Weir (1960) a maciez para o consumidor envolve três aspectos: a facilidade de penetração da carne pelos dentes; a facilidade com a qual ela se fragmenta; e a quantidade de resíduo que permanece após a mastigação. Davis *et al.* (1979a) mostraram haver diferença entre a maciez das carnes, mesmo quando elas pertencem a um mesmo USDA quality grade. Field *et al.* (1971) dizem que mesmo controlando os fatores *ante-mortem* (idade, sexo, nutrição, exercício e estresse) e *post-mortem* (temperatura de resfriamento, maturação, aquecimento e método de cozimento), carnes de carcaças com classificações semelhantes apresentaram diferenças de maciez. Isso acontece, porque existem variações nas composições química, física e histológica das carnes, como: teor de colágeno (HERRING; CASSENS; BRISKEY, 1967; GOLL; BRAY; HOEKSTRA, 1963), solubilidade do colágeno (HILL, 1966; GOLL; HOEKSTRA; BRAY, 1964), comprimento de sarcômero (LOCKER,

1960; SMITH *et al.*, 1976), capacidade de retenção de água (HEGARTY; BRATZLER; PEARSON, 1963), teor de umidade (ROMANS; TUMA; TUCKER, 1965), teor de gordura intramuscular (McBEE; WILES, 1967) e índice de fragmentação muscular (BERRY; SMITH; CARPENTER, 1974; REAGAN *et al.*, 1975; OLSON; PARRISH; STROMER, 1976; CULLER *et al.*, 1978; DAVIS *et al.*, 1979b).

Riley *et al.* (2005) acreditam que as diferenças na solubilidade do colágeno em um grupo semelhante, pode estar relacionado ao genótipo dos animais, e Dikeman *et al.* (2005) sugerem cuidado ao selecionar animais para o grau marmoreio na intenção de melhorar a maciez da carne, pois essa melhora é considerada sutil.

Dikeman *et al.* (2005) afirmam que é de se esperar que 20 a 25% dos bifes do músculo *Longissimus* de animais abatidos ao sobreano tenham maciez considerada por eles inaceitável ($\geq 5,0\text{kg}$), a menos que seja utilizado algum método para melhorar a maciez, como: estimulação elétrica, amaciamento mecânico por agulhas e/ou maturação por mais de 14 dias.

2.3. Raça Simental, Nelore e animais cruzados

A raça Simental é considerada uma das raças taurinas mais antigas do mundo (CARVALHO, 1998). Foram encontrados dados de bovinos com características semelhantes entre 1.800 e 6.000 anos a.C., mas historicamente eles são considerados existentes a partir dos anos 500 d.C. (REICH, 1996). Esses animais têm corpo profundo, forte e de tamanho médio, predominando a cor amarela (CARVALHO, 1998), e sua estrutura mostra a sua aptidão para leite (50%), carne (25%) e tração (25%) (REICH, 1996; CARVALHO, 1998).

Atualmente a raça Simental se encontra em todos os continentes com aproximadamente 41 milhões de cabeças no mundo (WSFF), e é considerada uma raça de dupla aptidão, sendo usada tanto na produção de carne quanto de leite. De acordo com a Associação Brasileira de Criadores da Raça Simental e Simbrasil a carne desses animais é considerada macia e marmorizada, conferindo maior sabor ao produto. Desde que chegou ao Brasil a raça é utilizada em cruzamentos, principalmente com animais da espécie zebuína, na intenção de produzir uma nova raça, o Simbrasil, proporcionando excepcional adaptabilidade, vigor e habilidade materna (ABCRS-S; REICH, 1996). A linhagem sul africana da raça Simental foi selecionada para possuir maior adaptabilidade em relação a temperatura e radiação mais altas, dessa forma esses animais possuem maior teor pigmentação e pelo curto. Essas características a tornam a linhagem mais adequada para o clima e condições brasileiras.

A raça Nelore veio da Índia para o Brasil no século XIX e se adaptou rapidamente, influenciando até os anos 2000 mais de 70% do rebanho de corte brasileiro (VIACAVA *et al.*, 2000). Restle *et al.* (1999) disseram que a raça Nelore é a mais expressiva no rebanho brasileiro, sendo conhecida por sua rusticidade e bom desempenho, mesmo em condições alimentares limitadas. Viacava *et al.* (2000) concordam com essa afirmação e acrescentam a fertilidade como uma das características chave para o grande desenvolvimento da raça no Brasil.

Além dessas características o Nelore se destaca pela resistência ao calor, por ter maior superfície corporal em relação ao seu peso, com maior área para irradiação do calor, maior número de glândulas por centímetro quadrado (1300 glândulas/cm²) quando comparados com os animais europeus (994 glândulas/cm²) e pelagem curta, fina, lisa e branca-cinza com pele preta, produzindo um conjunto de características que permitem refletir, absorver, irradiar e filtrar as diversas radiações solares (VIACAVA *et al.*, 2000).

O cruzamento aumenta os níveis produtivos pela complementariedade das características desejáveis de cada uma das raças utilizadas. Como resultado, observa-se o chamado vigor híbrido, ou heterose, resultando no aumento da produtividade (LUCHIARI FILHO, 2000) de progênies cruzadas em relação a raças puras. Para Koger (1980) os valores de heterose mais altos são resultado de cruzamentos entre raças que apresentam maior variabilidade entre suas características. Híbridos, por conterem alelos de diferentes raças, são mais sensíveis as interações genótipo x ambiente que afetam a produção (BENTSEN *et al.*, 1998), podendo ser uma alternativa comercial para tornar o sistema mais prático (LASLEY, 1977). Além de ser considerada uma tecnologia que não necessita de alto investimento (VAZ *et al.*, 2002), pode-se observar melhora das características sensoriais (sabor, aroma, suculência, palatabilidade e maciez) da carne (FELÍCIO, 1997).

Euclides Filho *et al.* (1997) afirmam que cruzamentos são uma boa alternativa para melhorar a inserção da pecuária brasileira no mercado da carne, onde a qualidade tem um papel fundamental. Cruzamentos com *Bos indicus* maximizam a heterose, especialmente para climas semitropicais e tropicais, por proporcionar melhor resistência, como é o caso do Brasil (CROCKETT *et al.*, 1979). Vaz *et al.* (2002) mostraram haver heterose negativa para porcentagem de osso na carcaça quando comparados animais puros Charolês e Nelore com os seus cruzados, fator que fez com que os animais cruzados apresentassem maiores relações músculo/osso e músculo + gordura/osso. De acordo com os trabalhos de Moletta e Restle

(1996) e Bianchini *et al.* (2007) o uso de animais *Bos taurus* no cruzamento melhora a maciez da carne.

Crouse *et al.* (1989) e Whipple *et al.* (1990a) afirmam que a diferença da carne de animais taurinos e zebuínos está no fato dos zebus apresentarem maior concentração de calpastatina na composição muscular, o que aumenta a inibição das enzimas proteolíticas do grupo calpaína, diminuindo consequentemente a maciez da carne desses animais. Shackelford *et al.* (1994) mostraram haver correlação genética de 0,58 para a atividade da calpaína e resistência das fibras ao corte. De acordo com Shackelford *et al.* (1991) e Koohmaraie *et al.* (1994), carnes de animais com mais de 25% de sangue *Bos indicus* devem ser submetidas a períodos mínimos de maturação de 14 dias, porém Morales *et al.* (2003) usando animais cruzados de Aberdeen Angus, Canchim e Simental com Nelore encontraram resultados de força de cisalhamento menor que 5,0kgf, abaixo da faixa considerada aceitável por Felício (1997).

2.4. Marcadores moleculares associados a qualidade da carne

A seleção animal, desde a domesticação das primeiras espécies, acontece da mesma forma, acasalando animais que possuem características fenotípicas específicas que os diferenciam de seus contemporâneos, aumentando assim a frequência de alelos favoráveis desses genes no rebanho (OLIVEIRA; HENKES, 2002). Porém, com o desenvolvimento da biotecnologia, diversas ferramentas para melhorar o controle genético de características quantitativas, principalmente as mais complexas (maciez e marmoreio), vêm sendo disponibilizadas. Dessa forma, ferramentas para identificação de regiões cromossômicas associadas à QTLs (*Quantitative Traits Loci*), até mutações funcionais (casuais) têm sido propostas (CARVALHO, 2008). QTLs são regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres fenotípicos, que possuem distribuição contínua, como por exemplo altura e peso dos animais (TOLEDO *et al.*, 2008), a partir da identificação de um QTL é possível estimar os efeitos genéticos chamados efeito aditivo, efeito de dominância e efeito de substituição.

Neste contexto, a genética molecular surge como complemento aos métodos tradicionalmente empregados por meio da seleção assistida por marcadores (SAM), visando aumentar a acurácia na avaliação e seleção dos animais (PAZ *et al.*, 2004), principalmente o ganho genético na qualidade da carne (HOCQUETTE *et al.*, 2007). De acordo com Bourdon (2000), SAM é a seleção de animais portadores de alelos específicos, usando marcadores

moleculares que estão ligados ou próximos a QTLs de interesse que possam ser usados para identificar alelos desejáveis nesse loci.

Lawrie (2005) diz que genes recessivos contribuem, sem dúvida, para as diferenças esporádicas na composição dos músculos de animais dentro de uma mesma raça. Smith *et al.* (2003) concordam com esta afirmação e declaram que dentro de uma mesma raça podem ocorrer variações que alteram a expressão, atividade ou localização da proteína produzida por um gene. Reecy, Spurlock e Stahl (2006) afirmam que tal acontecimento é devido ao efeito de outros genes. Algumas pesquisas realizadas com animais *Bos taurus* mostraram que a qualidade da carne sofre influencia de diversos cromossomos: 1, 2, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 15, 18, 20, 25 e 29 (ALEXANDER *et al.*, 2007; CASAS *et al.*, 1998, 2000, 2001, 2003; DAVIS *et al.*, 2008; GILL *et al.*, 2009, 2010; IMUMORIN *et al.*, 2011; REARDON *et al.*, 2010).

No Brasil, as iniciativas de utilização de marcadores moleculares associados aos QTLs, em bovinos de corte, foram reportadas por Machado, Alencar e Pereira (2003) que trabalharam com bovinos da raça Canchim; Vasconcellos *et al.* (2003) com Aberdeen Angus; Paro De Paz *et al.* (2004), com bovinos F₁ Canchim-Nelore, Angus-Nelore e Simental-Nelore; Pereira *et al.* (2005) também com a raça Canchim; Marson *et al.* (2005) avaliando populações compostas.

Estudos mostraram que a seleção assistida por marcadores (SAM) possui potencial para melhorar características historicamente relatadas como de difíceis mensurações (WHITE *et al.*, 2005). Os marcadores moleculares, denominados SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*), são a forma mais frequente de variação de DNA em mamíferos e possuem características favoráveis em relação à sua determinação. Marcadores SNP são abundantes, envolvem dois alelos e são facilmente detectáveis por método automático adequado (HOCQUETTE *et al.*, 2007).

2.4.1. Genes CAPN e UOGCAST

O processo de conversão do músculo em carne é regulado por uma série de interações complexas de processos bioquímicos que tomam lugar durante as primeiras horas *post mortem*. A influência destes processos na textura final e maciez da carne ainda não é muito clara. De acordo com Gessink e Koohmaraie (1999), as proteases neutras ativadas por íons de cálcio, denominadas calpaínas, são parcialmente responsáveis pela proteólise *post mortem*, conduzindo ao aumento progressivo da maciez, sendo considerada uma extensão ao processo

de amaciamento. Koohmaraie (1996) observou que a protease μ -calpaína degradava as proteínas miofibrilares do músculo no *post mortem* e que este fato, por si só, já justificaria que tal enzima fosse um importante alvo na investigação para entendimento do complexo mecanismo que estaria associado à característica maciez.

Existem quatro genes codificadores dessas proteínas: CAPN1 referente à μ -calpaína (ou calpaína 1) com três SNPs já identificados (PAGE *et al.*, 2002, 2004; WHITE *et al.* 2005); CAPNS1 para a pequena subunidade da calpaína, CAST e UOGCAST para a calpastatina com um SNP já identificado (SCHENKEL *et al.*, 2006). Alguns estudos com marcadores SNP do gene calpaína (CAPN) já foram analisados e associados com maciez (PAGE *et al.*, 2002, 2004; CASAS *et al.*, 2000, 2005 e 2006; MORRIS *et al.*, 2001, SCHENKEL *et al.*, 2006; WHITE *et al.*, 2005, JOHNSTON; GRASER, 2010, entre outros). No Brasil, Carvalho *et al.* (2007a b; 2009) e Rosa *et al.* (2013) trabalhando com bovinos da raça Nelore relataram associações significativas de marcadores CAPN em análises individuais.

O polimorfismo CAPN4751 associado ao gene CAPN1 resultante da substituição de uma citosina por uma timina no intron 18, foi observado por White *et al.* (2005). Estes mesmos autores mostraram que esse marcador foi significativo sobre a maciez das carnes de animais *Bos taurus*, *Bos indicus* e seus cruzamentos, sendo o alelo C favorável a essa característica. Barendse *et al.* (2007) verificaram que este mesmo marcador teve influência na redução da força de cisalhamento das carnes de animais de diferentes raças, sendo que a redução foi de -0,08, -0,02 e 0,14kg para os respectivos genótipos, CC, CT e TT.

Após alguns estudos Koohmaraie (1998) e Geesink e Koohmaraie (1999) sugeriram que a calpastatina, enzima inibidora das calpaínas, seria a principal reguladora da atividade proteolítica durante o armazenamento. De acordo com Mellgren, Lane e Mericle (1979), as sequências helicoidais da calpastatina inibem a ação das calpaínas ao impedi-las de se ligarem às membranas. No músculo vivo, a ação elevada da calpastatina resulta na redução da degradação das proteínas (MORGAN *et al.*, 1993). No entanto, outras observações da atividade da calpastatina realizadas por Pringle *et al.* (1997), detectaram aumento da atividade da calpastatina e redução da atividade da calpaína, com o aumento da proporção *Bos indicus* (Brahman) usada no cruzamento.

Schenkel *et al.* (2006) encontraram associação entre os polimorfismos do gene da calpastatina (UOGCAST1) e a força de cisalhamento, sendo o alelo C favorável a essa

característica em relação ao G. Niciura *et al.* (2012) trabalhando com este mesmo gene em bovinos cruzados identificou que existe efeito do polimorfismo na expressão do gene CAST. Isso ocorre, porque polimorfismos na região codificadora podem estar em desequilíbrio de ligação com um polimorfismo na região promotora, afetando a eficiência de transcrição ou criando *splicing* alternativo (DEBELJAK *et al.*, 2000; MURÁNI *et al.*, 2009).

Carvalho *et al.* (2007a b, 2009) e Rosa *et al.* (2013) ao realizarem análises conjuntas dos marcadores associados à calpaína (CAPN4751) e à calpastatina (UOGCAST1) relataram a melhora da maciez da carne aos 14 dias de maturação, sendo que Carvalho (2008) relatou que a presença do alelo C no gene da calpaína melhora a maciez em 0,22kg, ou seja o genótipo CC foi 0,44kg mais macio que o TT aos 14 dias de maturação, e aos 21 dias de maturação esse mesmo alelo contribuiu com 0,31kg. O mesmo autor relatou que para UOGCAST1 o alelo favorável seria o C, melhorando em 0,26kg a maciez aos 14 dias e 0,25kg aos 21 dias *post mortem*. Ao avaliar os dois marcadores simultaneamente Carvalho (2008) observou que os animais com genótipos CC para CAPN4751 e UOGCAST1 foram 0,712, 1,017 e 1,179kg mais macios que os genótipos TT (CAPN4751) e GG (UOGCAST), nos tempos 7, 14 e 21 dias de maturação, respectivamente. Estes achados indicam que a SAM pode ser uma ferramenta poderosa para o progresso genético da característica maciez.

2.4.2. Genes MR e GR

Apesar de grandes esforços serem realizados para promover a qualidade da carne, a resposta do animal ao estresse pré-abate, que compreende desde a saída da fazenda até o momento do abate, pode levar à diminuição da qualidade da carne em virtude das respostas fisiológicas que se manifestam em relação ao estresse. De acordo com Immonen *et al.* (2000), o estresse pode ser causado por exaustão física, ou psicológica ou, ainda, ambos. E com isso o organismo reage com reações fisiológicas e mudanças comportamentais para reestabelecimento da homeostase (FERGUSON; WARNER, 2008). Quando isso acontece, os hormônios glicocorticóides (cortisol, cortisona e corticosterona) e os mineralocorticóides (aldosterona) são liberados. Esses são hormônios esteróides, sendo os glicocorticóides sintetizados no córtex da glândula adrenal sob influencia da ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) e afetam o metabolismo dos carboidratos e reduzem a resposta inflamatória (GOODMAN; GILMAN, 2003 *apud* BAVARESCO; BERNARDI; BATTATINI, 2005). Eles têm a capacidade de reduzir a captação e utilização da glicose e

aumentar a gliconeogênese, além de aumentar o catabolismo e reduzir o anabolismo proteico (BAVARESCO; BERNARDI; BATTASTINI, 2005). Já os mineralocorticóides são sintetizados no córtex da glândula supra-renal através da mediação da angiotensina II, ACTH e dos níveis de potássio. A aldosterona age principalmente sobre os tecidos epiteliais do néfron frontal e do cólon causando absorção do sódio e excreção de potássio e hidrogênio (FERNANDES-ROSA; ANTONINI, 2007), ou seja, influencia no equilíbrio eletrolítico do organismo.

O cortisol e a aldosterona se ligam aos receptores intracelulares, glicocorticóides (GR) e mineralocorticóides (MR), sendo que os MR têm a mesma afinidade pelo cortisol e pela aldosterona (CAPRIO *et al.*, 2007), porém a afinidade do MR com o cortisol é dez vezes superior a do GR, o que coloca os MR no posto de avaliação e resposta ao estresse (POLETI, 2013). Já o GR só é ativado quando há altas concentrações de cortisol, caracterizando a finalização da resposta ao estresse e conferindo memória para eventos futuros (DE KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005). Os receptores ligados aos hormônios entram na célula e vão até os genes-alvo no DNA modificando a sua expressão gênica.

Quando o sistema nervoso central reconhece uma situação de estresse é liberado cortisol na corrente sanguínea, por meio do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (MCEWEN, 2000). Com a liberação dos hormônios glicocorticóides ocorre redução da captação e utilização da glicose, aumento da gliconeogênese, aumento do catabolismo e redução do anabolismo proteico. Ou seja, animais estressados tem menor reserva de glicogênio muscular, pois o consumiram durante o estresse, dessa forma a queda do pH não ocorre de maneira adequada (5,8 – 6,0), junto com o estabelecimento do *rigor mortis*, o que faz com que a carne seja classificada como DFD.

Entretanto, os animais apresentam diferentes perfis fisiológicos e comportamentais quando expostos a uma situação de estresse (TERLOUW; RYBARCZYK, 2008; BOURGUET *et al.*, 2000), sendo que essa variabilidade pode ser explicada por fatores genéticos e/ou ambientais, tais como experiências anteriores (LIGHTMAN, 2008). A heterogeneidade existente na resposta ao estresse devido à variabilidade genética é um ponto importante na regulação do eixo HPA podendo levar a alterações de comportamento e diferenças no perfil metabólico. Os receptores glicocorticoides (GR) são codificados pelo gene NR3C1 e os mineralocorticoides (MR) pelo NR3C2 (MCEWEN; DE KLOET; ROSTENE, 1986; DE KLOET, 1991) e, mutações nesses genes acabam por causar diferentes

respostas ao agente estressor. De acordo com Poleti (2013), a evidência de polimorfismos em genes do GR e MR estão relacionados com mudanças na atividade do eixo HPA e perfil metabólico em bovinos, podendo levar a variações individuais em características de qualidade de carne.

Poleti (2013) estudando animais *Bos indicus* e associando análises endócrinas, características de carne e marcadores relacionados aos receptores MR e GR (NR3C1_1, NR3C1_2, NR3C2_1, NR3C2_2 e NR3C2_3) encontrou influencia dessas marcadores com a concentração de cortisol *post mortem* (NR3C1_1), pH 1 hora (NR3C1_2), ACTH plasmático *post mortem* (NR3C2_1 e NR3C2_2), glicogênio muscular (NR3C2_1 e NR3C2_2) e a* 7 dias (NR3C2_3). Neste mesmo estudo o alelo G do marcador NR3C1_1 foi responsável pelo aumento de $1,48 \pm 0,43 \mu\text{g/dL}$ do nível de cortisol plasmático nos animais. Enquanto no marcador NR3C2_1 o alelo T causou o aumento do glicogênio em $1,57 \pm 0,68 \mu\text{mol/g}$ de tecido e o alelo C diminuiu a concentração de ACTH plasmático em $3,09 \pm 1,26 \text{pg/mL}$.

2.4.3. Gene TG

Outra característica de relevância no mercado de carnes é o grau de marmoreio ou gordura intramuscular. Esse tipo de gordura é a mais difícil de ser determinada antes do abate, mesmo que a técnica de ultrassonografia em tempo real possa prever a gordura de cobertura da carcaça e o melhor momento de abate, o grau de marmoreio ainda é uma característica de difícil predição e grande variabilidade. Hocquette *et al.* (2007) relatam que, na intenção de melhorar a maciez e sabor das carnes, alguns setores da indústria da carne têm investido na genética molecular para identificar animais com alto potencial genético para essas características.

Alguns estudos sugerem que o gene da Tiroglobulina (TG) tem relação com o grau de marmoreio (BARENDSE, 1997; JOHNSTON; GRASER, 2010), pois o seu produto é precursor dos hormônios que influenciam o metabolismo de lipídeos (BARENDSE, 1998). Thaller *et al.* (2003) afirmam haver influência do marcador TG sobre o marmoreio do músculo *Longissimus dorsi*. Barendse *et al.* (2004) observaram que o SNP possui influência sobre o grau de marmoreio da carcaça e estimaram em 6,5% a diferença de marmoreio entre os animais.

O gene regulador da TG está localizado no cromossomo 14 dos bovinos (WINTER *et al.*, 2002). Animais com a sequência de alelos GATT - 537 possuem maiores níveis de

marmoreio em relação a animais com a sequência GATC – 537 e seus heterozigotos (ANTON *et al.*, 2008, 2011). Esses mesmos autores no trabalho desenvolvido em 2011 tiveram as seguintes porcentagens de gordura para os genótipos: CC-14,39±1,44%; TC-12,76±1,34%; TT-17,14±1,62%. Dessa forma, essa seleção pode ser utilizada para determinar os cruzamentos mais adequados a serem realizados, possibilitando maior padronização das carcaças no abate.

Referências

- ALEXANDER, L. J. et al. Quantitative trait loci with additive effects on palatability and fatty acid composition of meat in a Wagyu-Limousin F2 population. **Animal Genetics**, Chichester, v. 38, p. 506-513, 2007.
- AMAYATAKUL-CHANTLER, S. et al. Immunocastration of Bos indicus x Brown Swiss bulls in feedlot with gonadotropin-releasing hormone vaccine Bopriva provides improved performance and meat quality. **Journal of Animal Science**, v.90, p.3718-3728, 2012.
- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION – AMSA. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness of fresh meat**. Chicago, IL: American Meat Science Association and National Live Stock and Meat Board, 1995.
- ANDREO, N. et al. Influence of immunocastration (Bopriva) in weight gain, carcass characteristics and meat quality of Nellore. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.34, n.6, suplemento 2, p. 4121-4132, 2013.
- ANTON, I. et al. Effect of DGAT1 and TG gene polymorphism on intramuscular fat and milk production traits in different cattle breeds in Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, Budapest, v. 2, p. 181-186, 2008.
- ANTON, I. et al. Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 135, p. 300-303, 2011.
- ARNOLD, A. M.; PERALTA, J.M.; THONNEY, M.L. Effect of testosterone on differential muscle growth and on protein and nucleic acid concentrations in muscles of growing lambs. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1495-1503, 1997.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DA RAÇA SIMENTAL - SIMBRASIL. **Raças**. Disponível em: <<http://simentalsimbrasil.org.br/raca-simental/>>. Acesso em: 03 fev. 2015.
- BARENDSE, W. et al. Epistasis between calpain1 and its inhibitor calpastatin within breeds of cattle. **Genetics**, Baltimore, v. 176, n. 8, p. 2601-2610, 2007.
- BARENDSE, W. et al. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Clayton, v. 44, p. 669-674, 2004.
- BARENDSE, W. J. **Assessing lipid metabolism**. US n. PI WO1999023248 A1, 30 out. 1997, 14 maio 1999.
- BAVARESCO, L.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A. M. O. Glicocorticóides: usos clássicos e emprego no tratamento do câncer. **Infarma – Ciências Farmacêuticas**, Brasília, v. 17, n. 7/9, p. 58-60, 2005.
- BENTSEN, H. B. et al. Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 160, p. 145-173, 1998.
- BERG, R. T.; BUTTERFIELD, R. M. **New concepts of cattle growth**. Sydney: Sydney University Press, 1976. 240 p.
- BERRY, B. W.; SMITH, G. C.; CARPENTER, Z. L. Relationships of certain muscle, cartilage and bone traits to tenderness of the beef *longissimus*. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 39, n. 4, p. 819-824, 1974.
- BIANCHINI, W. et al. Efeito do grupo genético sobre as características de carcaça e maciez da carne fresca e maturada de bovinos superprecoces. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 2109-2117, 2007.

BOLEMAN, S. J. et al. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1521-1524, 1997.

BONIN, M. N. **Estudo da influência de touro e de genearca da raça Nelore nos aspectos quantitativos e qualitativos de carcaça e da carne**. 2008. 180 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

BOURDON, R. M. Biotechnology and animal breeding. In: BOURDON, R. M. **Understanding animal breeding**. New Jersey: Prentice Hall, 2000. p. 440-446.

BOURGUET, C. et al. Characterizing the emotional reactivity of cows to understand. **Brain Research**, Amsterdam, v. 886, p. 172-189, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio – Brasil 2014/15 a 2024/25 projeções a longo prazo**. 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/PROJECOS_DO_AGRONEGOCIO_2025_WEB.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2016.

CAPRIO, M. et al. Pivotal role of the mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 21, p. 2185-2194, 2007.

CARVALHO, F. A. N. **A saga do Simental no Brasil**. Londrina: Midiograf, 1998. 424 p.

CARVALHO, M. E. **Caracterização da frequência de polimorfismo em genes ligados à maciez da carne de bovinos da raça Nelore**. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

CARVALHO, M. E. et al. Associação de polimorfismos no gene da μ -calpaína com a maciez da carne em animais da raça Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007a. 1 CD-ROM.

CARVALHO, M. E. et al. Association of a single nucleotide polymorphisms in calpastatin gene with meat tenderness in Nellore cattle. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 55., 2009, Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: Danish Meat Research Institute, 2009. v. T1. p. 76-79.

CARVALHO, M. E. et al. Avaliação de diferentes combinações genotípicas para polimorfismos no gene da μ -calpaína e calpastatina associados com a maciez da carne em bovinos da raça Nelore. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 4., 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL/CTC, 2007b. p. 253-255.

CASAS, E. et al. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 1, p. 2661-2668, 2005.

CASAS, E. et al. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 468-473, 1998.

CASAS, E. et al. Comprehensive search for quantitative trait loci affecting growth, and carcass composition of cattle segregating alternative forms of the myostatin gene. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 854-860, 2001.

CASAS, E. et al. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 2976-2983, 2003.

CASAS, E. et al. Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 520-525, 2006.

CASAS, E. et al. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 560-569, 2000.

COLOMER-ROCHER, F.; DELFA, R.; SIERRA-ALFRANCA, I. "Método normalizado para el estudio de los caracteres cuantitativos de las canales, según los sistemas de producción". In: Métodos normalizados para el estudio de los caracteres cuantitativos e cualitativos de las canales caprinas y ovinas. Cuad: **Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias**, 1988. v.17, p.19-41.

CROCKETT, J. R. et al. Preweaning, feed lot and carcass characteristics of calves sired by Continental, Brahman and Brahman-derivative sires in subtropical Florida. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n. 4, p. 900-907, 1979.

CROUSE, J. D. et al. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 10, p. 2661-2668, 1989.

CULLER, R. D. et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine *longissimus* muscle. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 43, p. 1177-1180, 1978.

DAVIS, G. P. et al. QTL for meat tenderness in the M. longissimus lumborum of cattle. **Animal Genetics**, Chichester, v. 39, p. 40-45, 2008.

DAVIS, G. W. et al. Fragmentation of bovine *longissimus* muscle as an index of cooked steak tenderness. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 45, n. 4, p. 880-884, 1979b.

DAVIS, G. W. et al. Tenderness variations among beef steaks from carcasses of the same USDA quality grade. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n. 1, p. 103-114, 1979a.

DE KLOET, E. R. Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control. **Frontiers in Neuroendocrinology**, Maryland Heights, v. 12, n. 2, p. 95-164, 1991.

DE KLOET, E. R.; JOËLS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaption to disease. **Neuroscience**, Kidlington, v. 6, p. 463-475, 2005.

DEBELJAK, M. et al. Allelic differences in bovine kappa-CN gene which may regulate gene expression. **Pflügers Archiv**, Berlin, v. 439, suppl. 3, R4-R6, 2000.

DI MARCO, O. N. **Crecimiento y respuesta animal**. Balcarce: Asociación Argentina de Producción Animal, 1994. 129 p.

DIKEMAN, M. E. et al. Phenotypic ranges and relationships among carcass and meat palatability traits for fourteen cattle breeds, and heritabilities and expected progeny differences for Warner-Bratzler shear force in three beef cattle breeds. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 2461-2467, 2005.

D'OCCHIO, M. J.; ASPDEN, W. J.; TRIGG, T. E. Sustained testicular atrophy in bulls actively immunized against GnRH: potential to control carcass characteristics. **Animal Reproduction Science**, v. 66, p.47-58, 2001.

DRANSFIELD, E. Modelling post-mortem tenderization – IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning **Meat Science**, v. 34, p. 217, 1993.

DRANSFIELD, E.; ETHERINGTON, D. J.; TAYLOR, M. A. J. Modelling post-mortem tenderisation—II: Enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. **Meat Science**, v. 31, p. 75, 1992.

ERDÖS, T. _____. **Student Institute of Medical Chemistry from University of Szeged**, v. 3, p. 51, 1943.

EUCLIDES FILHO, K. et al. Avaliação de animais Nelore e de seus mestiços com Charolês, Fleckvieh e Chianina, em três dietas. 1. ganho de peso e conversão alimentar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 66-72, 1997.

FELÍCIO, P. E. Fatores *ante e post mortem* que influenciam na qualidade da carne bovina. In: SIMPÓSIO SOBRE PECUÁRIA DE CORTE, 4., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1997.

FELÍCIO, P. E. Qualidade da carne bovina: características físicas e organolépticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999.

FERGUSON, D. M.; WARNER, R. D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, Amsterdam, v. 80, p. 12-19, 2008.

FERNANDES-ROSA, F. L.; ANTONINI, S. R. R. Resistência aos mineralocorticóides: pseudo-hipoaldosterodismo Tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 51, p. 373-381, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES - FAO. **Statistical yearbook 2013: World food and agriculture**. 2013.

GEESINK, G. H.; KOOHMARAIE, M. Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by μ -calpain under *postmortem* conditions. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 2685-2692, 1999.

GILL, J. L. et al. Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. **Genetics Selection Evolution**, London, v. 41, art. 36, 2009.

GILL, J. L. et al. Associations between single nucleotide polymorphisms in multiple candidate genes and carcass and meat quality traits in a commercial Angus-cross population. **Meat Science**, Amsterdam, v. 86, p. 985-993, 2010.

GIULIST, G. H., et al. Expression of genes related to quality of *Longissimus dorsi* muscle meat in Nellore (*Bos indicus*) and Chanchim (5/8 *Bos taurus* 3/8 *Bos indicus*) cattle. **Meat Science**, v. 94, p.247-252, 2013.

GOLL, D. E. et al. Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality. In: RECIPROCAL MEAT SCIENCE CONFERENCE, 44., 1992, Chicago. **Proceedings...** Chicago: National Live Stock and Meat Board, 1992a. p. 25-36.

GOLL, D. E. et al. Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, Issy les Moulineaux, v. 74, p. 225-237, 1992b.

GOLL, D. E.; BRAY, R. W.; HOEKSTRA, W. G. Age-associated changes in muscle composition - the isolation and properties of a collagenous residue from bovine muscle. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 28, p. 503-509, 1963.

GOLL, D. E.; HOEKSTRA, W. G.; BRAY, R. W. Age-associated changes in bovine muscle connective tissue - 1. Rate of hydrolysis by collagenase. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 29, p. 608-614, 1964.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2003. p. 422- 424.

HEGARTY, G. R.; BRATZLER, L. J.; PEARSON, A. M. The relationship of some intracellular protein characteristics to beef muscle tenderness. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 28, p. 525-530, 1963.

HERRING, H. K.; CASSENS, R. G.; BRISKEY, E. J. Factors affecting collagen solubility in bovine muscles. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 32, p. 534-538, 1967.

HILL, F. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 31, p. 161-166, 1966.

HOCQUETTE, J. F. et al. Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality. **Animal**, Cambridge, v. 1, p. 159-173, 2007.

IBRAHIM, R.M., et al. Effect of two dietary concentrate levels on tenderness, calpain and calpastatin activities, and carcass merit in Waguli and Brahman steers. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 7, p.1426-1433, 2008.

IMMONEN, K. et al. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. **Meat Science**, Amsterdam, v. 55, p. 25-31, 2000.

IMUMORIN, I. G. et al. Genome scan for parent-of-origin QTL effects on bovine growth and carcass traits. **Frontiers in Genetics**, Lausanne, v. 2, art. 44, 2011.

INGRAM, M. _____. Ann. **Institute Pasteur**, v. 75, p. 139, 1948.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola (LSPA)**. 2015. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

JOHNSTON, D. J.; GRASER, H. U. Estimated gene frequencies of GeneSTAR markers and their size of affects on meat tenderness, marbling, and feed efficiency in temperate and tropical beef cattle breeds across a range of production systems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 1917-1935, 2010.

JONES, B. K.; TATUM, J. D. Predictors of beef tenderness among carcasses produced under commercial conditions. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 1492–1501, 1994.

KANNAN, G. et al. Influence of packaging method and storage time on shear value and mechanical strength of intramuscular connective tissue of chevon. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2383-2389, 2002.

KERTH, C. R. et al. Carcass, sensory, fat color, and consumer acceptance characteristics of Angus-cross steers finished in ryegrass (*Lolium multiflorum*) forage or on a high-concentrate diet. **Meat Science**, Amsterdam, v. 75, p. 324-331, 2007.

KIDWEL, J. F. Muscular hypertrophy and “black cutter” beef. **J. Hered.**, v. 43, p. 157, 1952.

KOGER, M. Effective crossbreeding systems utilizing zebu cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, n. 6, p. 1213-1220, 1980.

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

KOOHMARAIE, M. et al. Beef tenderness: regulation and prediction. In: THE AUSTRALIAN MEAT INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 44., 1994, Australia. **Proceedings...** Australia, 1994.

KOOHMARAIE, M. et al. Calpastatin-based methods for predicting meat tenderness. In: OUALI, A.; DEMEYER, D. I.; SMULDERS, F. J. M. **Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation**. Utrecht: The Netherlands: EC/CE/AMST, p. 395-422, 1995.

KOOHMARAIE, M.; DOUMIT, M. E.; WHEELER, T. L. Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, p. 2935-2942, 1996.

KOUTSOUMANIS, K. et al. Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat, and validation of the model under dynamic temperature conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, p. 124-134, 2006.

LASLEY, E. L. Animal breeding: now and in the future. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 44, p. 307-310, 1977.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LAWRIE, R. A.; GATHERUM, D. P.; HALE, H. P. Abnormally Low Ultimate pH in Pig Muscle. **Nature**, v.182, p. 807, 1958.

LIGHTMAN, S. L. The neuroendocrinology of stress: a never ending story. **Journal of Neuroendocrinology**, Chichester, v. 20, p. 880-884, 2008.

LIVINGSTON, D. J.; BROWN, W. D. The chemistry of myoglobin and its reactants. **Food Technology**, Chicago, v. 35, p. 244-252, 1982.

LOCKER, R. H. Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 25, p. 304-307, 1960.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134 p.

MACHADO, M. B. B. et al. QTL affecting body weight in a candidate region of cattle chromosome 5. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 3, p. 259-265, 2003.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Review current research in meat color. **Meat Science**, Amsterdam, v. 71, p. 100-121, 2005.

MARSH, B. B. _____. Ann. **Meat Industry Research Institute**, p. 16, 1964.

MARSON, E. P. et al. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 3 p. 496-505, 2005.

MARUYAMA, K. et al. In: PARRY, D. A.; CREAMER, L. K. **Fibrous proteins**: scientific, Industrial and medical aspects. London: Academic Press, v. 2. 1979.

MCBEE, J. L.; WILES, J. A. Influence of marbling and carcass grade on the physical and chemical characteristics of beef. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 26, n. 4, p. 701-704, 1967.

MCEWEN, B. S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. **Brain Research**, Amsterdam, v. 886, p. 172-189, 2000.

MCEWEN, B. S.; DE KLOET, E. R.; ROSTENE, W. Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. **Physiological Reviews**, Washington, v. 66, p. 1121-1188, 1986.

MELLGREN, R. L.; LANE, R. D.; MERICLE, M. T. The binding of large calpastatin to biologic membranes is mediated in part by interaction of an amino terminal region with acidic phospholipids. **Biochimica et Biophysica Acta**. 999, p. 71, 1979.

MOLETTA, J. L.; RESTLE, J. Influencia do grupo genético sobre características qualitativas da carne de novilhos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 5, p. 866-875, 1996.

MORGAN, J. B. et al. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in the *Longissimus* muscle of young bulls and steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 1471-1476, 1993.

MORGAN, J. B. et al. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3274-3283, 1991.

MORRIS, C. A. et al. Process in DNA marker studies of beef carcass composition and meat quality in New Zealand and Australia. In : CONFERENCE OF THE ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF ANIMAL BREEDING & GENETICS, 14., 2001, Queenstown. **Proceedings...** Asutralia: AAABG Distribution Service, p. 17-22, 2001.

MÜLLER, L. Perdas no descongelamento e cocção da carne bovina. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 14., 1977, Recife-PE. **Anais...** Recife: SBZ, 1977. p. 80.

MURÁNI, E. et al. Dual effect of a single nucleotide polymorphism in the first intron of the porcine secreted phosphoprotein 1 gene: allele-specific binding of C/EBP beta and activation of aberrant splicing. **BMC Molecular Biology**, London, v. 10, art. 96, 2009.

NEGUSSIE, E.; ROTTMANN, O.J.; PIRCHNER, F. et al. Growth and carcass composition of tropical fat-tailed Menz and Horro sheep breeds. **Animal Science**, v.78, p.245-252, 2004

NICIURA, S. C. M. et al. Polymorfism and parente-of-origin effects on gene expression of CAST, leptina and DGAT1 in cattle. **Meat Science**, Amsterdam, v. 90, p. 507-510, 2012.

NRC-National Research Council. The national science education standards. Washington, DC: **National Academy Press**, 1996.

OLIVEIRA, J. F. C.; HENKES, L. E. Marcadores moleculares em reprodução animal. In: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, p. 261-279, 2002.

OLSON, D. G.; PARRISH, F. C. JR.; STROMER M. H. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during post-mortem storage. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 41, p. 1036-1040, 1976.

ORGANIZAÇÃO PARA COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONOMICO – OCDE;
ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO - FAO. **Perspectivas agrícolas 2015-2024**. 2015. Disponível em:<<https://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

PAGE, B. T. et al. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 3474-3481, 2004.

PAGE, B. T. et al. Evaluation of single nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 3077-3085, 2002.

- PARO DE PAZ, C. C. et al. Adjustment of nonlinear models in study of association between genetic polymorphisms and growth in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1416-1425, 2004.
- PAZ, C. C. P. et al. Influencia de polimorfismos genéticos sobre os parâmetros da curva de crescimento de bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 858-869, 2004.
- PENNY, L. F. In: **Developments in Meat Science.**, v. 1, 1980.
- PEREIRA, A. et al. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 28, n. 2, p. 133-137, 2005.
- POLETI, M. D. **Variação nos genes dos receptores mineralocorticoide e glicocorticoide e suas implicações proteômicas na qualidade da carne de bovinos Nelore**. 2013. 116 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.
- PRESTON, T. R.; WILLIS, M. B. **Intensive beef production**. 2. ed. Oxford: Pergamon Press, 546 p, 1974.
- PRINGLE, T. D. et al. Carcass characteristics, the calpain proteinase system, and aged tenderness of Angus and Brahman crossbred steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2955-2961, 1997.
- REAGAN, J. O. et al. Muscle fragmentation indices for predicting cooked beef tenderness. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 40, p. 1093-1094, 1975.
- REARDON, W. et al. Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine M. longissimus and M. semimembranosus. **Meat Science**, Amsterdam, v. 86, p. 270-275, 2010.
- REECY, J. M.; SPURLOCK, D. M.; STAHL, C. H. Gene expression profiling: insights into skeletal muscle growth and development. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 150-154, 2006.
- REICH, R. **Simmental: linhagens & seleção**. Londrina: Pé Vermelho, 1996. 192 p.
- RESTLE, J. et al. Efeito do desmame precoce na carcaça de novilhos terminados em pastagem e abatidos aos 24 meses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.11, p.2129-2136. 1999.
- RILEY, D. G. et al. Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle. **Meat Science**, Amsterdam, v. 70, p. 347-356, 2005.
- ROÇA, R.O., et al. Imunocastração de bovinos criados em pasto: composição centesimal e propriedades sensoriais da carne. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: COMBRAVET, 2011a.
- ROMANS, J. R.; TUMA, H. J.; TUCKER, W. L. Influence of carcass maturity and marbling on the physical and chemical characteristics of beef. 1. Palatability, fiber diameter and proximate analysis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 24, n. 3, p. 681-685, 1965.
- ROSA, A. F. et al. Association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in capain and calpastatin genes with meat tenderness in Nellore cattle. **Meat Science**, Amsterdam, v. 93, p.1-36, 2013.
- SCHENKEL, F. S. et al. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 291-299, 2006.

SHACKELFORD, S. D. et al. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 171-177, 1991.

SHACKELFORD, S. D. et al. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 3, p. 857-863, 1994.

SMITH, G. C. et al. Fatness, rate of chilling and tenderness of lamb. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 41, p. 748-756, 1976.

SMITH, T. P. L. et al. Theory and application of genome-based approaches to improve the quality and value of beef. **Outlook on Agriculture**, London, v. 32, p. 253-265, 2003.

SUMAN, S. P. et al. Early career achievement award –proteomics of muscle- and species-specificity in meat color stability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, p. 875-882, 2014.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for post-mortem tenderization? **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 1351-1367, 1995.

TERLOW, E. M. C.; RYBARCZYK, P. Explaining and predicting differences in meat quality through stress reactions at slaughter: the case of large white and duroc pigs. **Meat Science**, Amsterdam, v. 79, p. 795-805, 2008.

THALLER, G. et al. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. **Animal Genetics**, Chichester, v. 34, p. 354-357, 2003.

TOLEDO, E. R., et al. Mapeamento de QTLs: Uma abordagem Bayesiana. **Revista Brasileira de Biomedicina**, v. 26, n.2, p.107-114, 2008.

TRINDADE, M. A.; ROSA, A. F.; TAROUÇO, J. U. In: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **USDA Agricultural Projections**. 2015. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/oce081>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

VASCONCELLOS, L. P. M. K. et al. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 2, p. 133-137, 2003.

VAZ, F. N. et al. Efeitos de raça e heterose na composição física da carcaça e na qualidade da carne de novilhos da primeira geração de cruzamento entre Charolês e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 376-386, 2002.

VAZ, F. N.; RESTLE, J. Ganho de peso antes e após os sete meses no desenvolvimento e nas características de carcaça e carne de novilhos Charolês abatidos aos dois anos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 699-708, 2003.

VIACAVA, C. et al. **Nelore: o boi ecológico que está conquistando o mundo**. São Paulo: Peirópolis, p.107, 2000.

WALLACE, W. J. et al. Mechanism of autoxidation for hemoglobins and mioglobins. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 257, n. 9, p. 4966-4977, 1982.

WHEELER, T. L.; CUNDIV, L. V.; KOCH, R. M. Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 3145-3151, 1994.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 2716-2728, 1990b.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 9, p. 2716-2728, 1990a.

WHITE, S. N. et al. A new single nucleotide polymorphism in CAPN extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 9, p. 2001-2008, 2005.

WINTER, A. et al. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-Co A:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 99, p. 9300-9305, 2002.

WULF, D. M. et al. Using objective measures of muscle color to predict beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 684-692, 1997.

WULF, D. M.; PAGE, J. K. Using measurements of muscle color, pH, and electrical impedance to augment the current USDA beef quality grading standards and improve the accuracy and precision of sorting carcasses into palatability groups. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 2595-2607, 2000.

YOUNG, A. W.; KAUFFMAN, R. G. Evaluation of beef from steers fed grain, corn silage or haylage-corn silage diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46, p. 41-47, 1978.

3. Avaliação da qualidade da carne de bovinos Simental Sul Africano X Nelore

Resumo

O mercado consumidor considera que as características mais importantes são a aparência e a palatabilidade, sendo a maciez a mais desejável. Porém, a inconsistência desta característica é um dos maiores problemas que desafiam a indústria. Este trabalho tem como objetivo avaliar os parâmetros de qualidade da carne de bovinos cruzados Simental Sul Africano x Nelore em dois diferentes tempos de maturação (48 horas e 15 dias), considerando as variações da condição sexual (fêmeas e machos castrados) e valores de pH (classe 1=pH $\leq$ 5,79 e classe 2=pH $\geq$ 5,8). Foram avaliados 485 animais (182 fêmeas e 303 machos) recriados e terminados em confinamento. Após o abate e refrigeração das carcaças, essas foram seccionadas na região entre a 12ª e a 13ª costelas e duas amostras do músculo *Longissimus dorsi* foram coletadas. Ao final de cada período de maturação foram determinados pH e temperatura, perdas de água por cocção, cor, marmoreio, força de cisalhamento e porcentagem de gordura das amostras de carne. As análises estatísticas foram realizadas através do MIXED PROCEDURE do SAS, considerando um modelo que contemplou os efeitos fixos de grupo de contemporâneos ao abate, condição sexual e as classes de pH, além do efeito aleatório residual. Verificou-se diferença significativa apenas para características relacionadas à de cor (L^* 48H fêmeas 28,07 *versus* machos 30,39; a^* 48H fêmeas 15,86 *versus* machos 14,17; a^* 15D fêmeas 16,4 *versus* machos 14,91) e maciez aos 15D (fêmeas 5,6 *versus* machos 4,78). As classes de pH apresentaram efeitos significativos apenas para valores relacionados à cor (L^* 48H CLPH1 30,83 *versus* CLPH2 27,63; b^* 48H CLPH1 11,26 *versus* CLPH2 9,59; L^* 15D CLPH1 32,78 *versus* CLPH2 30,51). Foram observados 22 animais com pH alto, sugerindo carnes com potencial DFD. Concluí-se que diferenças nas características de qualidade foram influenciados pela condição sexual e pela classe de pH final da carne.

Palavras-chave: machos, castrados, fêmeas, escura-dura-seca, pH da carne.

Abstract

The consumer believes that most important features are the appearance and palatability, being tenderness the most desirable. However, the inconsistency of this feature on consumer level is one of the biggest problems facing the industry. This work aimed to evaluate the quality parameters of meat from Simmental South African x Nellore crossbred cattle in two different aging times (48 hours and 15 days), being studied variations within sex (heifers and steers), and pH range ($\text{pH} \leq 5.79$ CLPH 1 and $\text{CLPH} 2 \geq \text{pH} 5.8$). For this research were evaluated 485 animals (182 heifers and 303 steers) recreated and finished in feedlot. After slaughter and cooling of the carcasses, these were sectioned in the region between the 12th and 13th ribs and two samples of the *Longissimus dorsi* were collected. At the end of each aging period it was determined pH, temperature, cooking loss, color, marbling, Warner Bratzler Shear Force and percentage of fat from meat samples. The statistical analysis were performed using the MIXED PROCEDURE, the model used as fixed effects the slaughter group, sex and pH range, and includes the residual aleatory effect. Between the gender significant differences were observed only in color characteristics ($L^* 48\text{H}$ heifers 28.07 *versus* steers 30.39, heifers $a^* 48\text{H}$ 15.86 *versus* steers 14.17, heifers $a^* 15\text{D}$ 16.4 *versus* steers 14.91) and tenderness at 15D (heifers 5.6 *versus* steers 4.78). For pH classes differences were significant just for color values ($L^* 48\text{H}$ CLPH1 30.83 *versus* CLPH2 27.63; $b^* 48\text{H}$ CLPH1 11.26 *versus* CLPH2 9.59; $L^* 15\text{D}$ CLPH1 32.78 *versus* CLPH2 30.51). Twenty-two animals considered with high pH suggesting DFD potential. In conclusion, the differences in meat quality characteristics were influenced by sex condition and final pH.

Key-words: steers, castrated, heifers, dark-firm-dry, meat pH.

3.1. Introdução

O consumidor considera que as características mais importantes da carne bovina são a aparência e a palatabilidade, sendo a maciez a mais desejável (MORGAN *et al.*, 1991; BOLEMAN *et al.*, 1997; LUCHIARI FILHO, 2000; MILLER, 2001 *apud* MORALES *et al.*, 2003). Koohmaraie *et al.* (1995) afirmou que a inconsistência na maciez da carne bovina é um dos maiores problemas que desafiam a indústria. Bonin (2008) concorda e acrescenta que a grande variabilidade com relação a essas características da carne bovina gera um consenso entre os consumidores, que têm dificuldades na escolha das carnes por sentirem-se inseguros quanto à sua maciez.

Os fatores que influenciam a qualidade da carne são: sexo, raça, idade, nutrição e estresse durante a vida do animal. Esses fatores têm relação com o crescimento e desenvolvimento dos animais; no caso do sexo, sabe-se que fêmeas atingem a fase de acabamento antes que machos castrados, que, por sua vez, são mais precoces que machos não castrados (LUCHIARI FILHO, 2000). Porém, animais não castrados possuem maior eficiência alimentar e ganho de peso quando comparados aos outros dois grupos (FIELD, 1971). A idade desses animais também afeta a carcaça, pois cada tecido do corpo possui uma taxa de desenvolvimento diferente e conforme a idade aumenta há, até certo ponto, o aumento dos músculos e da gordura nas partes ventrais do corpo. Felício (1997) afirma que animais mais velhos possuem carne mais escura por causa da maior concentração de mioglobina nos músculos e a gordura fica amarelada por causa da deposição de carotenóides vindos da dieta. Dessa forma, observa-se que a nutrição afeta diretamente a qualidade da carne e o desenvolvimento dos animais, e que o uso do confinamento ajuda a garantir o melhor desenvolvimento de todas as porções do corpo e a melhorar a qualidade da carcaça (FELÍCIO, 1997). Müller (1977), Young e Kauffman (1978), Molleta e Restle (1996) e Kerth *et al.* (2007) mostraram que o aumento do grau de gordura intramuscular influencia nas perdas, tanto por descongelamento quanto por cocção, de forma inversamente proporcional (maior marmoreio menores perdas). Além desses fatores, o marmoreio também atua sobre o sabor, suculência, maciez, aroma e palatabilidade da carne, e que quando há um mínimo de 3,5% de marmorização na carne bovina há melhora da maciez, pois os glóbulos de gordura são menos resistentes à força de cisalhamento do que as fibras musculares e o tecido conjuntivo (TRINDADE; ROSA; TAROUÇO, 2011).

A raça influencia principalmente na eficiência reprodutiva dos produtos dos acasalamentos, ou seja, à precocidade, o que está diretamente ligado ao crescimento e desenvolvimento muscular. Animais *Bos taurus* são conhecidos pelo seu melhor desenvolvimento em relação aos *Bos indicus*, o cruzamento entre raças taurinas e zebuínas aumenta os níveis produtivos, por causa da junção das características desejáveis, aumentando a frequência dessas nos animais cruzados.

Todos esses fatores descritos influenciam diretamente no produto final, pois têm relação com as mudanças que ocorrem nos organismos *post mortem*. Ao iniciar a glicólise anaeróbica há a transformação do glicogênio em lactato, causando a queda do pH muscular para valores próximos a 5,4 e 5,5. Se não há glicogênio suficiente no músculo o pH se mantém acima do desejável ($>6,0$) e as enzimas permanecem ativas mantendo a capacidade de retenção de água alta, caracterizando a carne DFD (*dark, firm and dry* – TRINDADE; ROSA; TAROUCO, 2011).

3.2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar as características de qualidade da carne de bovinos cruzados Simental Sul Africano x Nelore em dois diferentes tempos de maturação, segundo duas condições sexuais (fêmeas e machos castrados), e diferentes classes de pH.

3.3. Materiais e métodos

3.3.1. Animais e amostras

Para esta pesquisa foram avaliados 485 animais F1 (rebanho comercial), da raça Simental Sul Africano x Nelore, recriados e terminados em confinamento, no município de Pirassununga/SP, pertencentes ao Programa Carnes Nobres da Agropecuária Zurita. Dos animais utilizados 182 eram fêmeas e 303 machos castrados imulogicamente. Esses animais foram distribuídos em 16 abates, entre julho de 2013 e abril de 2014.

Os animais foram levados ao Frigorífico Olhos d'Água situado na cidade de Ipuã/SP, a uma distância de 211km do confinamento, totalizando aproximadamente 3 horas e meia de viagem. A saída do caminhão aconteceu entre as 12h30 e 13 horas da tarde e a chegada próxima às 16 horas. Os animais passaram a noite no estábulo do frigorífico a espera do abate na manhã seguinte, por volta das 6 horas da manhã, totalizando jejum sólido de 24 horas.

Foi realizado o acompanhamento do abate dos animais, que ocorreu de acordo com procedimentos humanitários, conforme exigido pela legislação brasileira (Instrução Normativa nº3, de 17 de janeiro de 2000), sendo os animais insensibilizados por atordoamento com pistola pneumática penetrante (concussão cerebral) e, em seguida, sangrados pela seção dos grandes vasos do pescoço. Nesta etapa foram coletados dados dos animais como brinco de numeração do confinamento e hora de abate e, posteriormente, foram enumeradas as carcaças para identificação durante a desossa. Os animais foram abatidos com idades entre 16 e 18 meses e peso vivo médio de $391,7 \pm 99,7$ kg para as fêmeas e $494 \pm 84,33$ kg para os machos.

As carcaças foram refrigeradas em câmara fria, com temperatura entre zero e 2°C por 48 horas. Após esse período as carcaças foram seccionadas na região entre a 12ª e a 13ª costelas e foram retiradas duas amostras do músculo *Longissimus dorsi*, identificadas e embaladas a vácuo em filme plástico de alta barreira.

3.3.1. Análises físico-químicas

As amostras de carne foram levadas para o Abatedouro-escola da Prefeitura Dr. Fernando Costa, do Campus Administrativo de Pirassununga, da Universidade de São Paulo onde foram maturadas por 48 horas e 15 dias, em câmara fria a temperatura de zero a 2°C. Ao final de cada período de maturação foram determinados pH e temperatura, perdas de água por cocção, cor e força de cisalhamento das amostras de carne.

Após a abertura da embalagem de cada uma das amostras essas ficaram expostas ao oxigênio por um período de 15 minutos. Enquanto as amostras aguardavam o fim desse período foi removida toda a gordura externa do bife de forma a avaliar apenas o músculo *Longissimus dorsi*. E então, foram feitas as análises de pH e temperatura com auxílio de um medidor digital portátil com sonda de penetração (marca Hanna Instrument, mod. HI99163).

Ao fim dos 15 minutos de exposição ao oxigênio os parâmetros de cor foram determinados utilizando colorímetro portátil (mod. CM2500d, marca Konica Minolta Sensing Inc.), através do sistema CIELab, sendo obtidos os parâmetros de luminosidade (L^*), croma a^* e croma b^* . O grau de marmoreio do *Longissimus dorsi* foi determinado subjetivamente utilizando escala de pontos, conforme os padrões utilizados pelo USDA quality grade (1999), sendo Slight = 1, Small = 2, Modest = 3, Moderate = 4, Slightly Abundant = 5 e Moderately Abundant = 6.

As amostras foram colocadas sobre uma grelha e essa sobre as bandejas descartáveis de alumínio. No centro geométrico de cada amostra foi inserido um termoacoplador ligado a um termômetro digital. Em seguida as amostras foram colocadas em forno elétrico pré-aquecido (160°C). A temperatura das amostras foi monitorada individualmente e quando as mesmas atingiam 40°C foram viradas e permaneceram no forno até atingirem 71°C, quando foram retiradas e deixadas expostas até atingir a temperatura ambiente (AMSA, 1995). As amostras foram pesadas em dois momentos, após a remoção da gordura externa e após alcançarem a temperatura ambiente pós cocção, a determinação da perda de água por cocção (PAC) foi calculada através da seguinte equação:

$$PAC = \frac{\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

Então, as amostras foram embaladas em filme plástico e colocadas em geladeira *overnight* sob temperatura entre 4 e 6°C para avaliação da força de cisalhamento. Após este período foram retirados oito cilindros com 1,27 cm de diâmetro de cada amostra, no sentido paralelo às fibras musculares, para determinação da FC, utilizando um equipamento Warner Bratzler Shear Force, equipado com célula de carga de 25kg (AMSA, 1995). Os valores de FC foram considerados como a média dos cilindros de cada amostra.

Para análise de porcentagem de gordura da carne foram utilizadas as amostras 48h após a determinação da FC através do protocolo de Bligh e Dyer (1959), que é o mais adequado no caso de amostras de carne já cozidas, pois extrai todas as classes de lipídeos, representando melhor o que é consumido.

3.3.2. Análise dos resultados

Para analisar os resultados obtidos, de forma a verificar a qualidade da carne dos animais de acordo com o sexo e a possível presença de carnes DFD, os dados obtidos foram divididos entre, machos e fêmeas e também de acordo com a classe de pH aos 2 dias *post mortem*: classe 1 pH até 5,79 e classe 2 pH igual ou maior que 5,8. A análise estatística dos resultados foi realizada segundo um Modelo Linear Geral do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3 (SAS, 1995), por meio do procedimento PROC MIXED. O modelo estatístico contemplou os efeitos fixos de Grupo de contemporâneos ao abate, Classe de pH e

sexo, além do resíduo como efeito aleatório. Em caso de efeitos significativos para as fontes de variação Classe de pH e/ou Sexo, o Teste F tido como discriminatório. Para a avaliação estatística dos índices de marmoreio foi utilizado um Modelo Linear Generalizado, com função de ligação Logaritmica, associando o grau de marmoreio a parte sistemática do modelo estatístico acima descrito. Para essa análise utilizou-se o procedimento PROC GLIMMIX do programa supracitado.

3.4. Resultados e Discussão

Na Tabela 1 estão disponíveis as informações da estatística descritiva das mensurações realizadas nas amostras de carne maturada. As médias de pH, cor, PAC e FC são consideradas semelhantes as de carnes classificadas como normais por alguns autores (WULF; WISE, 1999; CHMIEL *et al.*, 2012; POLETI, 2013). Porém é possível observar que a maturação das carnes por 15 dias proporcionou a melhora de 3,12kgf na FC das carnes que foi superior à relatada por Poleti (2013) que teve melhora de 2,71kgf neste mesmo período em animais Nelore. O que pode ser explicado por Moletta e Restle (1996) e Bianchini *et al.* (2007) que dizem haver a melhora da maciez da carne de animais Nelore quando cruzados com animais *Bos taurus*.

Tabela 1 - Número de observações (N), Média (MED), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX) para as características avaliadas.

Variável	N	MED	DP	CV	MIN	MAX
PH 48H	415	5,53	0,14	2,60	5,21	5,97
PAC 48H (%) ¹	478	25,91	4,11	15,87	2,60	42,22
L* 48H ²	458	30,50	5,97	19,58	9,71	50,30
a* 48H ³	458	15,34	3,90	25,45	7,86	31,31
b* 48H ⁴	458	11,24	5,13	45,62	2,65	26,11
FC 48H (kgf) ⁵	478	7,92	2,39	30,24	1,90	15,05
PAC 15D (%) ¹	481	27,44	3,44	12,52	15,83	41,25
L* 15D ²	479	32,04	4,99	15,58	14,12	52,19
a* 15D ³	479	15,91	3,25	20,40	6,00	27,11
b* 15D ⁴	479	14,56	4,74	32,55	3,74	24,54
FC 15D (kgf) ⁵	479	4,80	1,66	34,64	1,95	13,80
LIP (%) ⁶	478	3,81	1,72	45,26	1,44	26,06

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) ao preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos. Fonte: Própria autoria.

Estão apresentadas na Tabela 2 as estimativas das médias obtidas para as características de qualidade da carne de acordo com o sexo e pH. Com relação às avaliações entre machos e fêmeas foi identificada diferença significativa para alguns parâmetros de cor (L* e a*) às 48 horas e a* e maciez aos 15 dias. Com relação à cor é possível verificar que as carnes dos machos são mais claras e menos vermelhas em relação às das fêmeas às 48 horas *post mortem* ($p \leq 0,05$). Se cruzarmos estes resultados com os da classe de pH veremos que houve maior número de fêmeas ($n=21$) classificadas como DFD do que machos ($n=1$). Este resultado é contrário ao encontrado por Jones e Tong (1989) e Mach *et al.* (2008) que afirmam haver maior incidência de *dark cutting* em machos. Porém o presente trabalho corrobora com os resultados encontrados por Mahmood *et al.* (2016) que tiveram a incidência de *dark cutting* de $11,36 \pm 4,78\%$ em fêmeas e $4,4 \pm 1,76\%$ nos machos. Outros autores (VOISINET *et al.*, 1997a) explicam que fêmeas tem um temperamento mais facilmente excitável, por resposta ao cio (VOISINET *et al.*, 1997b), isto colabora para o aumento do estresse (FAZIO *et al.*, 2012) e consequente diminuição do glicogênio muscular, favorecendo o aparecimento de *dark cutting*.

O pH mais elevado das fêmeas pode ser a explicação para a maciez das carnes dessa categoria aos 15 dias *post mortem* ter sido pior. Neste caso, a proteólise não foi

suficientemente eficiente, causando menor queda dos valores de maciez da categoria (-2,12kgf). Já nos machos, que tiveram pH normal ($\leq 5,79$), a maturação diminuiu em média -3,52kgf entre os dois tempos de maturação *post mortem* e, possibilitou que essas carnes fossem classificadas como macias de acordo com Dikeman *et al.* (2005), $\leq 5,0$ kgf.

Aos 15 dias foi observada diferença apenas nos valores de a^* das carnes ($P \leq 0,05$), sendo que a média desses valores nas fêmeas continuou a ser superior. Alguns autores relataram haver relação entre os valores de cor e maciez, Wulf e Page (2000) tiveram a diminuição da maciez e das notas por painel sensorial, conforme aumentaram os valores de b^* , mas não observaram nenhuma relação da maciez com o aumento de L^* ou a^* . Entretanto Riley *et al.* (2005) obtiveram o aumento da maciez da carne de animais Brahman, conforme aumentaram os valores de L^* e a^* . Mas, assim como relatado por Wulf *et al.* (1997), animais *Bos taurus* e *Bos indicus* têm valores diferentes de L^* e a^* e, no caso do presente estudo, por se tratar de animais cruzados, é possível que haja interação diferente entre as características de cor e a maciez. Além disso, Riley *et al.* (2005) sugerem que os efeitos das diferenças da cor das carnes possam ser confundidos com o manejo dos animais ou carcaças, principalmente quando esses fatores não foram considerados ao realizar as análises de maciez.

Tabela 2 - Estimativas médias dos resultados obtidos para os parâmetros de qualidade de carne estudados nos grupos de diferentes sexos (fêmeas e machos) e classe de pH (CLPH 1 $pH \leq 5,79$; CLPH 2 $pH \geq 5,8$ - DFD).

	SEXO			pH		
	Fêmeas (n=182)	Machos (n=303)	P valor	Normal (n=463)	DFD (n=22)	P valor
pH 48H	5,61	5,57	0,1186	-	-	-
L^* 48H ¹	28,07	30,39	0,0102	30,83	27,63	0,001
a^* 48H ²	15,86	14,17	0,0294	15,35	14,69	0,4297
b^* 48H ³	10,54	10,31	0,6657	11,27	9,59	0,0037
PAC 48H ⁴	24,37	25,66	0,1821	25,78	24,25	0,1395
FC 48H (kgf) ⁵	7,73	8,30	0,253	8,05	7,98	0,8995
L^* 15D ¹	30,97	32,32	0,1367	32,78	30,51	0,0236
a^* 15D ²	16,40	14,91	0,0307	15,71	15,60	0,8895
b^* 15D ³	13,66	13,32	0,5688	13,68	13,29	0,5439
PAC 15D (%) ⁴	27,55	27,31	0,7449	27,48	27,38	0,9065
FC 15D (kgf) ⁵	5,60	4,78	0,0103	5,00	5,38	0,2905
LIP (%) ⁶	3,92	4,33	0,3259	3,75	4,50	0,0944

MAR ⁷	0,41	0,29	0,63	0,35	0,34	0,9571
------------------	------	------	------	------	------	--------

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) ao preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos; ⁷MAR – Grau de Marmoreio. Fonte: Própria autoria

A partir da classificação das carnes como normais ($\text{pH} \leq 5,79$) ou DFD ($\text{pH} \geq 5,8$) foi possível identificar a incidência de 5,3% de DFD nas amostras avaliadas, resultado esse considerado baixo quando comparado a Mach *et al.* (2008) que avaliou animais machos e fêmeas de diferentes raças, Chmiel *et al.* (2012) que trabalhou com machos e fêmeas Holândeses de dupla aptidão, Poleti (2013) que estudou machos Nelore e Mahmood *et al.* (2016) que avaliou machos e fêmeas Hereford x Angus e puros Chalorês, esses trabalhos utilizaram a mesma faixa de pH para classificação das carnes e obtiveram 13,89; 26; 18,7 e 6,1% de incidência respectivamente. Entretanto, com relação ao Canadá (BEEF CATTLE RESEARCH COUNCIL – BCRC, 2013) e os Estados Unidos (MOORE *et al.*, 2012) essa incidência é alta, pois esses países tem valores como 1,3% e 3,2% respectivamente.

A classificação das carnes de acordo com os seus valores de pH, DFD (escura, dura e seca) ou normal aos 48H *post mortem*, mostrou influenciar nos parâmetros de cor, revelando diferença significativa para L* e b* 48H e L* 15D. O comportamento dos valores de L* é semelhante ao relatado por Chmiel *et al.* (2012), sendo esse inferior nas carnes DFD (27,3) e superior nas carnes de pH normal (34,7). O que concretiza o fato da carne DFD ser mais escura do que as normais.

Para os valores de b* Chmiel *et al.* (2012) não encontraram diferença nos diferentes grupos divididos pelo valor de pH e sua justificativa foi que a exposição das amostras ao oxigênio foi curta, para que houvesse a estabilização desse componente em 20 minutos de oxigenação, pois alguns autores como Haas e Bratzler (1965) e Wulf e Wise (1999) mostraram haver diferença de estabilização dos diferentes componentes da cor da carne; ou seja, eles afirmam que L* se estabiliza em um menor período de tempo após a exposição ao oxigênio (30 minutos; WULF; WISE, 1999), mas a* e b* necessitam de mais tempo para que a estabilização seja completa. De acordo com Wulf e Wise (1999) são necessários 75 minutos para a estabilização dos dois componentes, mas Haas e Bratzler (1965) encontraram estabilização de a* em 180 minutos e b* em 30 minutos. A diferença entre os valores de b* entre as classes aos 48H pode ser justificada pela falta de estabilidade desse componente, o que pode ter gerado uma diferença na cor pela sua delicadeza, por isso sugere-se a utilização

da tabela de conversão de Haas e Bratzler (1965), que traz uma opção para o tempo de oxigenação das amostras, sem que haja prejuízo para a indústria e pesquisa.

3.5. Conclusão

Conclui-se que há diferenças nas características de qualidade de carne avaliados de acordo com a condição sexual e a classe de pH final 48h. Machos castrados apresentam carne com menor força de cisalhamento e melhor coloração, em relação as fêmeas.

Referências

- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION – AMSA. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness of fresh meat**. Chicago, IL: American Meat Science Association and National Live Stock and Meat Board, 1995.
- BEEF CATTLE RESEARCH COUNCIL. **National beef quality audit 2010/11 plant carcass audit**. Canadian Cattlemen's Association, Calgary, AB, 2013. 11 p.
- BIANCHINI W, et al. Efeito do grupo genético sobre as características de carcaça e maciez da carne fresca e maturada de bovinos superprecoces. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36:2109–2117, 2007.
- BLIGHT, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911, 1959.
- BOLEMAN, S. J. et al. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1521-1524, 1997.
- BONIN, M. N. **Estudo da influência de touro e de genearca da raça Nelore nos aspectos quantitativos e qualitativos de carcaça e da carne**. 2008. 180 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.
- CROUSE, J. D., et al. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos rams* inheritance on carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 2661, 1989
- CHMIEL, M. et al. Application of a computer vision system to classify beef as normal or dark, firm and dry. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 4126-4130, 2012.
- DIKEMAN, M. E. et al. Phenotypic ranges and relationships among carcass and meat palatability traits for fourteen cattle breeds, and heritabilities and expected progeny differences for Warner-Bratzler shear force in three beef cattle breeds. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 2461-2467, 2005.
- FAZIO, E. et al. Effect of temperament and prolonged transportation on endocrine and functional variables in young beef bulls. **The Veterinary Record**, London, v. 171, art. 644, 2012.
- FELÍCIO, P. E. Fatores *ante e post mortem* que influenciam na qualidade da carne bovina. In: SIMPÓSIO SOBRE PECUÁRIA DE CORTE, 4., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1997.
- FIELD, R. A. et al. Chemical and histological characteristics of the M. *Longissimus in* young bulls selected for tenderness or leanness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 30, p. 717, 1971.
- HAAS, M. H.; BRATZLER, L. J. Determination of myoglobin oxygenation rates in pork, beef, and lamb by Munsell and reflectance colorimetry. **Journal of Food Science**, v. 30, p.64-68, 1965.
- JONES, S. D. M.; TONG, A. K. W. Factors influencing the commercial incidence of dark cutting beef. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 69, p. 649-654, 1989.
- KERTH, C. R. et al. Carcass, sensory, fat color, and consumer acceptance characteristics of Angus-cross steers finished in ryegrass (*Lolium multiflorum*) forage or on a high-concentrate diet. **Meat Science**, Amsterdam, v. 75, p. 324-331, 2007.
- KOOHMARAIE, M. et al. Calpastatin-based methods for predicting meat tenderness. In: OUALI, A.; DEMEYER, D. I.; SMULDERS, F. J. M. **Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation**. Utrecht: The Netherlands: EC/CE/AMST, 1995b. p. 395-422.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134 p.

MACH, N. et al. Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. **Meat Science**, Amsterdam, v. 78, p. 232-238, 2008.

MAHMOOD, S. et al. Can potential for dark cutting be predicted by phenotype? Relationship between sex, carcass characteristics, and the incidence of dark cutting beef. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 96, p. 19- 31, 2016.

MOLETTA, J. L.; RESTLE, J. Influencia do grupo genético sobre características qualitativas da carne de novilhos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 5, p. 866-875, 1996.

MOORE, M. C. et al. National Beef Quality Audit 2011: in-plant survey of targeted carcass characteristics related to quality, quantity, value, and marketing of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 5143-5151, 2012.

MORGAN, J. B. et al. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3274-3283, 1991.

MÜLLER, L. Perdas no descongelamento e cocção da carne bovina. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 14., Recife-PE. **Anais...** Recife: SBZ, 1977. p. 80.

MORALES, D. C. et al. Avaliação da qualidade da carne de bovinos de diferentes grupos genéticos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 171-175, 2003.

POLETI, M. D. **Variação nos genes dos receptores mineralocorticoide e glicocorticoide e suas implicações proteômicas na qualidade da carne de bovinos Nelore**. 2013. 116 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

RILEY, D. G. et al. Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle. **Meat Science**, Amsterdam, v. 70, p. 347-356, 2005.

TRINDADE, M. A.; ROSA, A. F.; TAROUÇO, J. U. In: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

VOISINET, B. D. et al. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science**, Amsterdam, v. 46, p. 367-377, 1997a.

VOISINET, B. D. et al. Feedlot cattle with calm temperaments have higher average daily gain than cattle with excitable temperaments. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 892-896, 1997b.

WHIPPLE et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in bos taurus and bos indicus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 68, 1990.

WULF, D. M.; PAGE, J. K. Using measurements of muscle color, pH, and electrical impedance to augment the current USDA beef quality grading standards and improve the accuracy and precision of sorting carcasses into palatability groups. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 2595-2607, 2000.

WULF, D. M. et al. Using objective measures of muscle color to predict beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 684-692, 1997.

WULF, D. M.; WISE, J. W. Measuring muscle color on beef carcasses using the L* a* b* color space. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 2418-2427, 1999.

YOUNG, A. W.; KAUFFMAN, R. G. Evaluation of beef from steers fed grain, corn silage or haylage-corn silage diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46, p. 41-47, 1978.

4. Avaliação de polimorfismos relacionados à qualidade da carne de bovinos Simental Sul Africano x Nelore.

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar a associação de marcadores SNPs de diferentes genes ligados à características de qualidade da carne em uma população de bovinos cruzados Simental Sul Africano x Nelore. Foram utilizados 485 animais, dos quais foram coletadas amostras de sangue e do músculo *Longissimus dorsi* na altura das 12^a e 13^a costelas. Nas amostras de carne foram realizadas avaliações de pH, temperatura, cor, grau de marmoreio, perdas por cocção, força de cisalhamento e porcentagem de gordura em dois diferentes tempos de maturação (48 hora e 15 dias *post mortem*). As amostras de sangue foram utilizadas para genotipagem dos animais nos seguintes SNPs: CAPN4751, UOGCAST1, NR3C1_1, NR3C2_1 e TG5. Diferenças significativas foram encontradas apenas nos genes para: CAPN, GR e TG. O marcador para CAPN apresentou efeitos aditivo ($P=0,001$) e de dominância ($P=0,0003$) sobre valores de cor a*48H *post mortem*. Já os marcadores para GR e TG apresentaram associação significativa com as perdas de água por cocção (PAC) aos 15 dias *post mortem*. Para essa característica foi observado aumento de $5,98 \pm 1,71\%$ para o genótipo AA. Neste caso o alelo G diminui em $-1,04 \pm 0,49\%$ as PAC aos 15 dias de maturação. Para o marcador TG5, verificou-se efeito de substituição significativo ($P=0,045$), onde cada alelo T aumenta-se $1,79 \pm 0,89\%$ a PAC. Portanto, os genes avaliados demonstram ter influencia sobre algumas características de qualidade da carne de bovinos cruzados Simental Sul Africano x Nelore.

Palavras-chave: maciez, marmoreio, perdas de água por cocção, cor, polimorfismo de nucleotídeo único.

Abstract

The aim of this work was to evaluate the association between SNPs markers from different genes related to meat quality in a crossbreed beef cattle population (South African Simmental x Nellore). For this research were evaluated 485 animals (182 heifers and 303 steers) and blood samples were collected from each of them, and the region between the 12th and 13th ribs from *Longissimus dorsi* were sectioned where beefs were collected. Evaluations of pH, temperature, color, marbling, water loss, shear force and percentage of fat were made in meat samples in two different aging times (48 hours and 15 days). Blood samples were used to genotype the animals in this SNPs: CAPN4751, UOGCAST1, NR3C1_1, NR3C2_1 e TG5. Significant differences were observed for CAPN, GR and TG markers. The marker for CAPN had additive ($P=0.001$) and dominance effects ($P=0.0003$) in a*48H. However, the makers for GR and TG were significant at cooking loss at 15D. For this characteristic, an increase of $5.98\pm1.71\%$ at cooking loss in the genotype AA for GR marker. In this case the allele G decreases in $-1.04\pm0.49\%$ the cooking loss in aging time of 15 days. For TG marker the substitution effect were significant ($P=0.045$). For each T allele added to the genotype the cooking loss increases $1.79\pm0.89\%$. In conclusion, the evaluated genes influence on the meat quality characteristics at crossbreed South African Simmental x Nellore beef cattle.

Key-words: tenderness, marbling, cooking loss, color, single nucleotide polymorphism.

4.1. Introdução

A adaptação da cadeia produtiva e a mudança nos conceitos e critérios de seleção dos animais geneticamente superiores é uma das formas de garantir o melhor aperfeiçoamento e a rentabilidade do sistema de produção. Sabendo-se que o consumidor atual considera a maciez a característica mais desejável na carne bovina (MORGAN *et al.*, 1991; BOLEMAN *et al.*, 1997; LUCHIARI FILHO, 2000; MILLER, 2001 *apud* MORALES *et al.*, 2003).

Alguns dos fatores que influenciam diretamente a qualidade da carne são o estresse e a gordura. Animais com uma boa qualidade nutricional podem ter a qualidade da carne comprometida quando submetidos ao estresse, pois para que a carne tenha as características agradáveis para o consumidor é necessário que haja a queda do pH muscular após o abate alcançando valores próximos a 5,4 e 5,5 (BATE-SMITH, 1948; RAMSBOTTOM; STRANDINE, 1948). Porém, animais estressados consomem as reservas de glicogênio durante o estresse o que faz com que a queda do pH *post mortem* não seja normal ($>5,8$), atribuindo características não agradáveis ao produto final, como carne DFD (*dark, firm and dry*).

A gordura na carcaça é uma característica importante porque evita o encurtamento pelo frio (*cold shortening*) e queima ou escurecimento da massa muscular exposta ao frio (TRINDADE; ROSA; TAROUÇO, 2011). Já a gordura intramuscular influencia nas perdas tanto por descongelamento quanto por cocção de forma inversamente proporcional (MÜLLER, 1977; YOUNG; KAUFFMAN, 1978; MOLLETA; RESTLE, 1996; KERTH *et al.*, 2007). Além de favorecer as características de sabor, suculência, maciez, aroma e palatabilidade (TRINDADE; ROSA; TAROUÇO, 2011).

Os marcadores moleculares, denominados SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*), são a forma mais frequente de variação de DNA em mamíferos e possuem características favoráveis em relação à sua determinação. No Brasil, as primeiras pesquisas utilizando marcadores moleculares associadas aos QTLs, em bovinos de corte, foram reportadas por Machado, Alencar e Pereira (2003), Vasconcellos *et al.* (2003), Paro De Paz *et al.* (2004), Pereira *et al.* (2005) e Marson *et al.* (2005). Alguns autores já pesquisaram alguns SNPs relacionados às características de qualidade de carne e carcaça comercialmente importantes (MCEWEN; DE KLOET; ROSTENE, 1986; DE KLOET, 1991; BARENDSE, 1997 e 1999; WHITE *et al.*, 2005; SCHENKEL *et al.*, 2006; BARENDSE *et al.*, 2007; JOHNSTON; GRASER, 2010; ANTON *et al.*, 2011; POLETI *et al.*, 2013).

4.2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a associação entre SNPs dos genes da calpaína, calpastatina, receptor de glicocorticóides, receptor de mineralocorticóides e tiroglobulina com diferentes características de qualidade da carne de bovinos cruzados Simental Sul Africano x Nelore.

4.3. Material e métodos

4.3.1. Animais e amostras

Para esta pesquisa foram avaliados 485 animais F1 (rebanho comercial), da raça Simental Sul Africano x Nelore, recriados e terminados em confinamento, no município de Pirassununga/SP, pertencentes ao Programa Carnes Nobres da Agropecuária Zurita. Dos animais utilizados 182 eram fêmeas e 303 machos castrados imulogicamente. Esses animais foram distribuídos em 16 abates, sendo o primeiro em Julho de 2013 e o último em Abril de 2014.

Após o confinamento e antes do embarque dos animais para o frigorífico foram realizadas coletas de sangue em tubos com EDTA, para análises genômicas. Logo após eles foram levados ao Frigorífico Olhos d'Água situado na cidade de Ipuã/SP, a 211km do confinamento, totalizando aproximadamente 3 horas e meia de viagem dos animais. A saída do caminhão aconteceu entre as 12h30 e 13 horas da tarde e a chegada próxima às 16 horas. Os animais passaram a noite no estábulo do frigorífico a espera do abate na manhã seguinte, por volta das 6 horas da manhã, totalizando jejum sólido de 24 horas.

Foi realizado o acompanhamento do abate dos animais, que ocorreu de acordo com procedimentos humanitários, conforme exigido pela legislação brasileira (Instrução Normativa nº3, de 17 de janeiro de 2000), sendo os animais insensibilizados por atordoamento com pistola pneumática penetrante (concussão cerebral) e, em seguida, sangrados pela seção dos grandes vasos do pescoço. Nesta etapa foram coletados dados dos animais como brinco de numeração do confinamento e hora de abate, e posteriormente foram numeradas as carcaças para identificação durante a desossa. Os animais foram abatidos com idades entre 16 e 18 meses e peso vivo médio de $391,7 \pm 99,7$ kg para as fêmeas e $494 \pm 84,33$ kg para os machos.

As carcaças foram refrigeradas em câmara fria, com temperatura entre zero e 2°C por 48 horas. Após esse período as carcaças foram seccionadas na região entre a 12ª e a 13ª

costelas e foram retiradas duas amostras do músculo *Longissimus dorsi*, identificadas e embaladas a vácuo em filme plástico de alta barreira.

4.3.1. Análises físico-químicas

As amostras de carne foram levadas para o Abatedouro-escola da Prefeitura Dr. Fernando Costa, do Campus Administrativo de Pirassununga, da Universidade de São Paulo onde foram maturadas por 48 horas e 15 dias, em câmara fria a temperatura de zero a 2°C. Ao final de cada período de maturação foram determinados pH e temperatura, perdas de água por cocção, cor e força de cisalhamento das amostras de carne.

Após a abertura da embalagem de cada uma das amostras essas ficaram expostas ao oxigênio por um período de 15 minutos. Enquanto as amostras aguardavam o fim desse período foi removida toda a gordura externa do bife de forma a avaliar apenas o músculo *Longissimus dorsi*. E então, foram feitas as análises de pH e temperatura com auxílio de um medidor digital portátil com sonda de penetração (marca Hanna Instrument, mod. HI99163).

Ao fim dos 15 minutos de exposição ao oxigênio os parâmetros de cor foram determinados utilizando colorímetro portátil (mod. CM2500d, marca Konica Minolta Sensing Inc.), através do sistema CIELab, sendo obtidos os parâmetros de luminosidade (L*), croma a* e croma b*. O grau de marmoreio do *Longissimus dorsi* foi determinado subjetivamente utilizando escala de pontos, conforme os padrões utilizados pelo USDA quality grade (1999), sendo Slight = 1, Small = 2, Modest = 3, Moderate = 4, Slightly Abundant = 5 e Moderately Abundant = 6.

As amostras foram colocadas sobre uma grelha e essa sobre as bandejas descartáveis de alumínio. No centro geométrico de cada amostra foi inserido um termoacoplador ligado a um termômetro digital. Em seguida as amostras foram colocadas em forno elétrico pré-aquecido (160°C). A temperatura das amostras foi monitorada individualmente e quando as mesmas atingiam 40°C foram viradas e permaneceram no forno até atingirem 71°C, quando foram retiradas e deixadas expostas até atingir a temperatura ambiente (AMSA, 1995). As amostras foram pesadas em dois momentos, após a remoção da gordura externa e após alcançarem a temperatura ambiente pós cocção, a determinação da perda de água por cocção (PAC) foi calculada através da seguinte equação:

$$PAC = \frac{\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

Então, as amostras foram embaladas em filme plástico e colocadas em geladeira *overnight* sob temperatura entre 4 e 6°C para avaliação da força de cisalhamento. Após este período foram retirados oito cilindros com 1,27 cm de diâmetro de cada amostra, no sentido paralelo às fibras musculares, para determinação da FC, utilizando um equipamento Warner Bratzler Shear Force, equipado com célula de carga de 25kg (AMSA, 1995). Os valores de FC foram considerados como a média dos cilindros de cada amostra.

Para análise de porcentagem de gordura da carne foram utilizadas as amostras 48H após a determinação da FC através do protocolo de Bligh e Dyer (1959), que é o mais adequado no caso de amostras de carne já cozidas, pois extrai todas as classes de lipídeos, representando melhor o que é consumido.

4.3.2. Identificação dos SNPs

A extração do DNA foi realizada a partir de amostras de sangue utilizando o protocolo de extração com NaCl (Olerup & Zetterquist, 1992). Os SNPs avaliados na população foram CAPN4751, UOCAST1, NR3C1_1, NR3C2_1 e TG5, conforme descrito na tabela 3.

Tabela 3 - Nome e informações dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados para os genes de calpaína (CAPN), calpastatina (UOCAST), receptores de mineralocorticóides (MR) e glicocorticóides (GR), e tiroglobulina (TG), bem como as respectivas referências.

Marcador	Nome SNP	Posição	Região	SNP	Referência
CAPN1	CAPN4751	6545	Intron 18	T/C	White <i>et al.</i> (2005); Carvalho <i>et al.</i> (2007 e 2008)
UOCAST	UOCAST1	282	Intron 5	G/C	Schenkel <i>et al.</i> (2006); Carvalho <i>et al.</i> (2007 e 2008)
MR	NR3C2_1	g.115	Exon 1	C/T	Poleti (2013)
GR	NR3C1_1	g.3293	Exon 2	G/A	Poleti (2013)
TG	TG5	422	Exon 1	C/T	Barendse (1997)

Fonte: Própria autoria.

Para caracterização e determinação dos genótipos para os marcadores CAPN, UOCAST, MR e GR, foi utilizado o método PCR em Tempo Real, através do equipamento

ABI Prism[®] 7500 *Sequence Detection System* da *Applied Biosystems*. O sistema de detecção utilizado foi TaqMan[™] em que *primers* e sonda que pareiam na região do DNA permitem a identificação dos diferentes alelos (Tabela 4). As sondas foram sintetizadas de forma a parear seletivamente no DNA molde onde se encontra o polimorfismo de interesse. A diferenciação de indivíduos heterozigotos e homozigotos para um de seus genótipos são estimadas por meio das leituras de fluorescências das sondas.

Tabela 4 - Sequência de primers utilizados para sequenciamento da calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), receptores mineralocorticóide (MR) e glicocorticóide (GR), e tiroglobulina (TG).

Marcador	SNP	Primers	Probe
CAPN1	C/T	F: TGGCATCCTCCCCTTGACT R:CCCCCGTCACTTGACACA	VIC: CGCCTC G GTTTTTC FAM: CGCCTCAGTTTTTC
UOGCAST	C/G	F: CTGAATTTGGAAGGAAGGAATTGCA R: GTGAGAATTAAATTAGTATGATTTACATGTGACAA	VIC: TTTGGGTAGAAAATTT FAM: TTGGGTACAAAATTT
MR	T/C	F: GCCCTGGGACCCGTAC R: GTCGACGATCTCCATGTAGTTACTC	VIC: CACGGAGCAGT C CGACGA FAM: CGGAGCAG C CCGACGA
GR	A/G	F: TGATGTGTCTTCAGAACAGCAGAAT R: TGCTTTGGTCTGTGGTATACAACTT	VIC: CTGCCCTTCT T GGCCTT FAM: TGCCCTTCCGGCCTT
TG	T/C	F: GGGGATGACTACGAGTATGACTG R:GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA	- -

Fonte: Própria autoria.

No caso do marcador TG a técnica utilizada para genotipagem dos animais foi RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), a partir da adaptação dos protocolos de Barendse *et al.* (2001) e Veneroni & Regitano (2007) e utilizando como padrão para identificação dos genótipos os tamanhos de bandas representados na Figura 1.

Figura 1 - Caracterizaçãodas bandas esperadas para cada um dos genótipos existentes no marcador TG5 avaliado a partir do protocolo de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). (a) Representação das bandas de acordo com o protocolo de Veneroni & Regitano (2007); (b) Representação gráfica das bandas para cada um dos genótipos com os tamanhos de pares de bases para cada uma delas (VENERONI & REGITANO, 2007).

(a) ¹ Padrão de tamanho 100pb; ² Homozigoto CC; ³ Homozigoto TT; ⁴ Heterozigoto TC. Fonte: Regitano *et al.* (2007)

4.3.3. Análise dos resultados

Para analisar os resultados obtidos de forma a verificar a possível associação entre os diferentes genótipos dos genes avaliados e as características de qualidade da carne foi utilizado o programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3 (SAS, 1995), por meio do procedimento MIXED PROCEDURE, avaliando os diferentes efeitos genéticos: aditivo, de dominância (ou desvio de aditividade) e de substituição. O modelo contemplou os efeitos fixos Grupo de contemporâneos ao abate (animais abatidos no mesmo dia e do mesmo sexo) e o efeito do marcador, além do efeito aleatório residual. No caso dos índices de marmoreio foi utilizado o Modelo Linear Generalizado, uma vez que os escores atribuídos às amostras apresentaram distribuição de Poisson. Para essa análise utilizou-se o procedimento PROC GLIMMIX do programa supracitado.

4.4. Resultados e Discussão

A Tabela 5 traz a estatística descritiva das características de pH, PAC, cor (L*, a* e b*), força de cisalhamento, porcentagem de lipídeos e marmoreio avaliadas nas carnes. Já a partir da Tabela 6 podemos observar a frequência de cada um dos genótipos e alelos para os marcadores estudados. Para CAPN e GR vemos que houve maior frequência do genótipo TT (76,51%) e AA (92,82%) respectivamente. Já para UOGCAST, MR e TG os genótipos mais frequentes nessa população foram os heterozigotos, que apresentaram frequências genotípicas de 52,44%, 70,33%, 69,81%, respectivamente.

Tabela 5 - Número de observações (N), Média (MED), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), valores mínimo (MIN) e máximo (MAX) para as características avaliadas.

Variável	N	MED	DP	CV	MIN	MAX
PH 48H	415	5,53	0,14	2,60	5,21	5,97
PAC 48H (%) ¹	478	25,91	4,11	15,87	2,60	42,22
L* 48H ²	458	30,50	5,97	19,58	9,71	50,30
a* 48H ³	458	15,34	3,90	25,45	7,86	31,31
b* 48H ⁴	458	11,24	5,13	45,62	2,65	26,11
FC 48H (kgf) ⁵	478	7,92	2,39	30,24	1,90	15,05
PAC 15D(%) ¹	481	27,44	3,44	12,52	15,83	41,25
L* 15D ²	479	32,04	4,99	15,58	14,12	52,19
a* 15D ³	479	15,91	3,25	20,40	6,00	27,11
b* 15D ⁴	479	14,56	4,74	32,55	3,74	24,54
FC 15D (kgf) ⁵	479	4,80	1,66	34,64	1,95	13,80
LIP (%) ⁶	478	3,81	1,72	45,26	1,44	26,06

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) to preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos. Fonte: Própria autoria.

White *et al.* (2005) estudaram três diferentes populações e as avaliaram de acordo com diversos marcadores moleculares SNP, o marcador CAPN 4751 apresentou as seguintes frequências de alelos nas populações: Brahman 89,2% T e 10,8% C; *Bos taurus* 42,5% T e 57,5% C; *Bos taurus* x *Bos indicus* 36,1% e 63,9% C. Carvalho (2008) também utilizou este marcador porém a população avaliada era de animais Nelore e encontrou as seguintes frequências alélicas: 82,31% T e 17,69% C. No presente trabalho as frequências identificadas para este marcador foram 87,5% T e 12,5% C.

Tabela 6 - Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados nos genes da calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), mineralocorticóide (MR), glicocorticóide (GR) e tiroglobulina (TG).

Gene	Frequência Genotípica			Frequência Alélica	
CAPN	TT	TC	CC	T	C
	0,765	0,221	0,014	0,875	0,125
UOGCAST	GG	CG	CC	G	C
	0,385	0,524	0,091	0,647	0,353
MR	CC	TC	TT	C	T
	0,007	0,703	0,290	0,359	0,641
GR	GG	AG	AA	G	A
	0,007	0,065	0,928	0,039	0,961
TG	CC	TC	TT	C	T
	0,302	0,698	0,000	0,651	0,349

Fonte: Própria autoria.

Com relação ao marcador SNP UOGCAST o autores Schenkel *et al.* (2006) observaram as seguintes frequências alélicas para as raças que avaliaram: Angus 62,5% C e 37,5% G; Limosin 73,2% C e 26,8% G, Charolês 68,8% C e 31,2% G; Simental 36,4% C e 63,6% G; Outros 63,9% C e 36,1% G. Carvalho (2008) ao estudar uma população de animais Nelore com este mesmo marcador obteve as seguintes frequências: 62,1% C e 37,9% G. Assim, pode-se observar que os resultados obtidos neste trabalho foram mais semelhantes aos encontrados por Schenkel *et al.* (2005) na população de Simental, pois as frequências alélicas para a população de cruzados Simental Sul Africano x Nelore foram: 35,3% C e 64,7% G.

Entretanto diferenças nos valores médios das características fenotípicas da carne só foram observadas nos genes CAPN, GR e TG (Tabela 7). Lawrie (2005) mostrou que genes recessivos contribuem para as diferenças esporádicas na composição dos músculos de animais dentro de uma mesma raça. Smith *et al.* (2003) complementam esta afirmação dizendo que dentro de uma mesma raça podem ocorrer variações que alteram a expressão, atividade ou localização da proteína produzida por um gene. Isto ocorre pois características quantitativas não são controladas exclusivamente por um *locus* (ou poucos *loci* – REECY; SPURLOCK; STAHL, 2006), sofrendo grande influencia ambiental. Portanto mesmo que um gene esteja relacionado à determinada característica, é possível que o ambiente ou mesmo outros genes

tenham efeitos adversos alterando o padrão de expressão fenotípica de determinada característica.

Os genótipos do gene CAPN influenciou nos valores de a^* 48H, b^* 15D e lipídeos. Porém, na Tabela 8, verifica-se que não foi encontrado efeito substituição e dominância significativos sobre b^* 15D e lipídeos, respectivamente. Este fato ocorreu em virtude de médias dos homozigotos para essas características serem semelhantes, o que não gera efeito significativo dos diferentes genótipos homozigotos. Entretanto para a^* 48H houve diferença significativa para efeito aditivo ($P=0,001$) e para desvio de dominância ($P=0,0003$). O genótipo CC causou o aumento de $3,95 \pm 1,95$ unidades no índice a^* de cor (Tabela 8).

Outros trabalhos realizados utilizando este mesmo marcador avaliaram apenas a sua relação com a maciez da carne (WHITE *et al.*, 2005; BARENDSE *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2009), mas Pinto *et al.* (2011) utilizando deste mesmo marcador também avaliou a cor da carne de animais Nelore encontrando relação entre o genótipo e o fenótipo dessa característica. Porém, esses mesmos autores chegaram a resultados diferentes dos obtidos neste trabalho. Pinto *et al.* (2011) concluiu que o genótipo TT aumenta os valores tanto de a^* quanto b^* nos tempos de maturação de 7, 14 e 21 dias, e sugerem cuidado ao utilizar este marcador na intenção de melhorar a maciez das carnes, pois esse teria efeito contrário sobre a cor (menor índice vermelho – a^*). Contudo, no presente trabalho o genótipo favorável ao aumento de a^* foi CC, que de acordo com os trabalhos de White *et al.* (2005), Barendse *et al.* (2007) e Carvalho *et al.* (2012) é o genótipo favorável a maciez. Desta forma, mais estudos relacionando o CAPN4751 aos índices de cor são necessários para confirmar o efeito deste marcador.

No caso do GR a Tabela 7 mostra que houve diferença entre as médias das características de PAC 15D e b^* 15D. No caso do b^* 15D não houveram efeitos aditivo, desvio de aditividade ou de substituição, uma vez que as médias dos homozigotos foram consideradas semelhantes. Na Tabela 9 observamos os efeitos aditivos ($P=0,0005$), desvio de aditividade ($P=0,0057$) e substituição ($P=0,0361$) para PAC 15D, o que mostra que o genótipo AA teve $5,98 \pm 1,71\%$ de perdas a mais em relação ao genótipo GG. Portanto, para cada substituição do alelo A pelo G há a diminuição de $-1,04 \pm 0,49\%$ de perdas.

Tabela 7 - Estimativas de médias para as características de qualidade de carne para os polimorfismos de nucleotídeo únicos (SNPs) identificados nos genes da calpaína (CAPN), calpastatina (UOGCAST), receptores mineralocorticóide (MR) e glicocorticóide (GR), e tiroglobulina (TG).

	CAPN			UOGCAST			MR			GR			TG		
	TT	CT	CC	GG	CG	CC	CC	TC	TT	GG	AG	AA	CC	TC	TT
pH 48H	5,52	5,53	5,54	5,52	5,52	5,54	5,47	5,53	5,53	5,49	5,55	5,52	5,52	5,53	-
PAC 48H (%)¹	26,23	25,77	24,84	26,03	26,28	25,50	25,75	26,12	26,19	24,55	26,38	26,11	25,82	26,10	-
L* 48H²	30,76	30,84	29,92	30,74	30,83	30,71	32,84	30,92	30,47	27,39	30,20	30,84	30,82	30,91	-
a* 48H³	15,07 ^b	14,66 ^b	19,03 ^a	15,01	15,02	15,04	14,54	14,94	15,19	15,25	15,49	14,99	15,35	14,89	-
b* 48H⁴	11,19	11,17	11,65	11,26	11,16	10,96	12,04	11,21	11,16	9,12	11,17	11,20	11,21	11,25	-
FC 48H (kgf)⁵	8,20	7,81	7,79	8,28	8,01	8,06	8,00	8,07	8,23	8,50	8,46	8,10	8,03	8,14	-
pH 15D	5,60	5,59	5,57	5,59	5,60	5,64	5,52	5,59	5,62	5,60	5,60	5,60	5,61	5,59	-
PAC 15D (%)¹	27,38	27,63	28,35	27,59	27,34	27,44	28,36	27,36	27,66	21,51 ^b	27,35 ^a	27,49 ^a	26,26 ^b	28,05 ^a	-
L* 15D²	32,26	32,28	31,36	32,08	32,45	31,93	34,66	32,24	32,30	31,17	32,63	32,24	31,94	32,51	-
a* 15D³	15,69	16,01	16,08	15,85	15,69	15,74	13,25	15,76	15,81	16,58	15,00	15,80	15,69	15,70	-
b* 15D⁴	14,05 ^b	14,69 ^a	13,63 ^{ab}	14,14	14,23	13,98	11,76	14,28	14,06	14,76 ^{ab}	13,15 ^b	14,24 ^a	14,16	14,15	-
FC 15D (kgf)⁵	5,04	4,92	4,36	5,14	4,94	4,76	5,24	4,98	5,06	4,23	5,04	5,01	4,75	5,14	-
LIP (%)⁶	3,64 ^b	4,06 ^a	3,01 ^{ab}	3,72	3,75	3,53	4,21	3,68	3,80	4,23	3,88	3,71	3,80	3,65	-
MAR⁷	1,36	1,38	1,54	1,33	1,40	1,32	1,65	1,35	1,39	1,38	1,23	1,37	1,26	1,43	-

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) ao preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos; ⁷MAR – Grau de Marmoreio. Fonte: Própria autoria.

Tabela 8 - Estimativa dos efeitos aditivos (α), desvios de aditividade/dominância ($\bar{\alpha}$), e efeitos de substituições gênicas (β_{1i}) e erro padrão (EP) para as características de qualidade da carne segundo os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene da calpaína (CAPN).

CAPN															
	Efeito Aditivo					Desvio de Aditividade/Dominância					Efeito de Substituição				
	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t
pH 48H	1,00	0,041	343	0,49	0,626	-0,008	0,023	343	-0,37	0,711	0,004	0,011	344	0,33	0,742
PAC 48H (%) ¹	-1,388	1,610	403	-0,86	0,389	0,230	0,891	403	0,26	0,797	-0,517	0,422	404	-1,23	0,221
L* 48H ²	-0,840	1,486	384	-0,57	0,572	0,498	0,823	384	0,6	0,546	-0,037	0,389	385	-0,1	0,923
a* 48H ³	3,954	1,195	384	3,31	0,001	-2,397	0,662	384	-3,62	0,000	0,134	0,318	385	0,42	0,674
b* 48H ⁴	0,462	0,894	384	0,52	0,606	-0,247	0,495	384	-0,5	0,619	0,041	0,234	385	0,18	0,860
FC 48H (kgf) ⁵	-0,413	0,811	403	-0,51	0,611	-0,182	0,449	403	-0,41	0,686	-0,346	0,212	404	-1,63	0,104
pH 15D	-0,033	0,065	378	-0,51	0,608	0,007	0,036	378	0,18	0,857	-0,012	0,017	379	-0,68	0,499
PAC 15D (%) ¹	0,970	1,261	406	0,77	0,442	-0,236	0,697	406	-0,34	0,735	0,302	0,327	407	0,92	0,356
L* 15D ²	-0,905	1,475	404	-0,61	0,540	0,475	0,815	404	0,58	0,560	-0,085	0,383	405	-0,22	0,824
a* 15D ³	0,390	1,111	404	0,35	0,726	0,128	0,614	404	0,21	0,835	0,294	0,288	405	1,02	0,309
b* 15D ⁴	-0,417	0,971	404	-0,43	0,668	0,851	0,536	404	1,59	0,114	0,449	0,253	405	1,78	0,076
FC 15D (kgf) ⁵	-0,673	0,550	404	-1,22	0,222	0,225	0,304	404	0,74	0,460	-0,163	0,143	405	-1,14	0,255
LIP (%) ⁶	-0,629	0,684	403	-0,92	0,358	0,739	0,379	403	1,95	0,052	0,253	0,180	404	1,41	0,160
MAR ⁷	0,127	0,318	401	0,4	0,691	-0,047	0,179	401	-0,26	0,793	0,029	0,090	402	0,32	0,751

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) to preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos; ⁷MAR – Grau de Marmoreio. Fonte: Própria autoria.

Tabela 9 - Estimativa dos efeitos aditivos (α), desvios de aditividade/dominância (δ), e efeitos de substituições gênicas (β 1i) e erro padrão (EP) para as características de qualidade da carne segundo os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene do receptor de glicocorticóide (GR).

GR															
	Efeito Aditivo					Desvio de Aditividade/Dominância					Efeito de Substituição				
	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t
pH 48H	0,031	0,052	345	0,6	0,550	0,038	0,031	345	1,23	0,221	0,010	0,015	346	0,65	0,517
PAC 48H (%) ¹	1,567	2,218	405	0,71	0,480	1,052	1,325	405	0,79	0,428	-0,061	0,633	406	-0,1	0,923
L* 48H ²	3,455	2,043	386	1,69	0,092	1,085	1,235	386	0,88	0,381	-1,001	0,599	387	-1,67	0,095
a* 48H ³	-0,262	1,677	386	-0,16	0,876	0,376	1,014	386	0,37	0,711	0,383	0,491	387	0,78	0,436
b* 48H ⁴	2,086	1,226	386	1,7	0,090	1,014	0,741	386	1,37	0,172	-0,364	0,360	387	-1,01	0,312
FC 48H (kgf) ⁵	-0,395	1,125	405	-0,35	0,725	0,166	0,672	405	0,25	0,806	0,311	0,321	406	0,97	0,332
pH 15D	-0,005	0,090	380	-0,06	0,952	0,000	0,054	380	0,01	0,994	0,003	0,026	381	0,12	0,908
PAC 15D (%) ¹	5,980	1,712	408	3,49	0,001	2,845	1,023	408	2,78	0,006	-1,036	0,493	409	-2,1	0,036
L* 15D ²	1,068	2,029	406	0,53	0,599	0,925	1,213	406	0,76	0,446	0,101	0,579	407	0,17	0,862
a* 15D ³	-0,784	1,530	406	-0,51	0,609	-1,195	0,915	406	-1,31	0,192	-0,428	0,437	407	-0,98	0,328
b* 15D ⁴	-0,524	1,336	406	-0,39	0,695	-1,354	0,799	406	-1,69	0,091	-0,667	0,382	407	-1,74	0,082
FC 15D (kgf) ⁵	0,779	0,759	406	1,03	0,305	0,421	0,454	406	0,93	0,355	-0,101	0,217	407	-0,47	0,642
LIP (%) ⁶	-0,525	0,947	405	-0,55	0,580	-0,093	0,566	405	-0,16	0,869	0,199	0,270	406	0,73	0,463
MAR ⁷	-0,010	0,417	403	-0,02	0,982	-0,114	0,262	403	-0,43	0,665	-0,068	0,133	404	-0,51	0,613

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) to preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos; ⁷MAR – Grau de Marmoreio. Fonte: Própria autoria.

Animais estressados possuem menor pH final da carne, caracterizando carnes DFD, que por sua vez são carnes com maior capacidade de retenção de água ou menor perda de água, pois a água fica presa dentro das miofibrilas. Neste trabalho o alelo G proporcionou menor perda de água, este resultado pode ser considerado complementar ao encontrado por Poleti (2013) e Muráni *et al.* (2010) que identificaram o alelo G como responsável pelo aumento do nível de cortisol plasmático em bovinos Nelore e suínos, respectivamente. Como o presente trabalho não realizou análises de cortisol e sua relação com os diferentes genótipos não pode ser avaliada. Entretanto a presença de carnes DFD e diferenças quanto as PAC entre os genótipos do marcador GR podem sugerir tal relação com os níveis de cortisol plasmático.

Como observa-se na Tabela 10, o marcador para tiroglobulina não apresentou o genótipo TT na população estudada, e por este fato, não foi possível realizar os cálculos de efeito aditivo e desvios de dominância, pois para o cálculo desses é necessário que os três genótipos estejam presentes.

A Tiroglobulina é conhecida por influenciar na taxa de gordura intramuscular da carne (BARENDSE, 1997, 1999, 2004; THALLER *et al.*, 2003; JOHNSTON; GRASER, 2010), mas no presente trabalho não foi observado diferença significativa. Entretanto, foram observadas diferenças nas PAC aos 15D (Tabela 10). Não foram encontrados na literatura efeitos desse gene influenciando as perdas de água. No entanto, tal característica deveria ser mais estudada, dado que diversos autores (MÜLLER, 1977; YOUNG; KAUFFMAN, 1978; MOLETA; RESTLE, 1996; KERTH *et al.*, 2007) encontraram relação entre PAC e o grau de marmoreio da carne, sendo que perdas de água têm influencia sobre a suculência e qualidade da carne.

Autores afirmam que quanto maior o grau de marmoreio da carne menores serão suas perdas por descongelamento e cocção (BARENDSE, 1997; JOHNSTON; GRASER, 2010; ANTON *et al.*, 2008 e 2011) sendo o alelo T relacionado à maior marmoreio nas carnes quando comparado ao alelo C. Estes resultado corroboram com os apresentados no presente trabalho, onde o genótipo CC proporcionou a diminuição das PAC. Na Tabela 10 vemos que o efeito de substituição ($P=0,045$) mostra que para cada alelo C substituído pelo alelo T neste gene temos o aumento de $1,79 \pm 0,89\%$ na PAC das carnes.

Tabela 10 - Estimativa do efeito de substituição gênica (β li) e erro padrão (EP) para as características de qualidade da carne segundo o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) do gene da tiroglobulina (TG).

TG															
	Efeito Aditivo					Desvio de Aditividade/Dominância					Efeito de Substituição				
	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t	Efeito	EP	DF	Valor t	Pr > t
pH 48H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,013	0,026	327	0,5	0,618
PAC 48H (%) ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,280	1,114	388	0,25	0,802
L* 48H ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,096	1,025	369	0,09	0,926
a* 48H ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,458	0,836	369	-0,55	0,584
b* 48H ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,039	0,617	369	0,06	0,950
FC 48H (kgf) ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,118	0,564	388	0,21	0,834
pH 15D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,020	0,045	362	-0,45	0,652
PAC 15D (%) ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,792	0,890	391	2,01	0,045
L* 15D ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,563	0,996	389	0,57	0,572
a* 15D ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,009	0,766	389	0,01	0,990
b* 15D ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,006	0,676	389	-0,01	0,993
FC 15D (kgf) ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,393	0,380	389	1,03	0,301
LIP (%) ⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,147	0,477	388	-0,31	0,758
MAR ⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,122	0,247	385	0,49	0,623

¹PAC – Perdas de Água por Cocção; ²L* - Do branco (+) to preto (-); ³a* - Do vermelho (+) ao verde (-); ⁴b* - Do amarelo (+) ao azul (-); ⁵FC – Força de Cisalhamento por Warner Bratzler Shear Force; ⁶LIP – Porcentagem de Lipídeos; ⁷MAR – Grau de Marmoreio. Fonte: Própria autoria.

4.5. Conclusão

A partir dos resultados descritos nesse trabalho é possível concluir que os marcadores CAPN, GR e TG avaliados tiveram influência sobre as características de cor e perdas de água por cocção da carne.

Referências

- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION – AMSA. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness of fresh meat**. Chicago, IL: American Meat Science Association and National Live Stock and Meat Board, 1995.
- ANTON, I. et al. Effect of DGAT1 and TG gene polymorphism on intramuscular fat and milk production traits in different cattle breeds in Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, Budapest, v. 2, p. 181-186, 2008.
- ANTON, I. et al. Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 135, p. 300-303, 2011.
- BARENDSE, W. et al. Epistasis between calpain1 and its inhibitor calpastatin within breeds of cattle. **Genetics**, Bethesda, v. 176, n. 8, p. 2601-2610, 2007.
- BARENDSE, W. et al. The TG5 marker test for marbling capacity in Australian feedlot cattle. **Marbling Symposium**, p. 52-57, 2001.
- BARENDSE, W. et al. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Clayton, v. 44, p. 669-674, 2004.
- BARENDSE, W. J. **Assessing lipid metabolism**. US n. PI WO1999023248 A1, 30 out. 1997, 14 maio 1999.
- BOLEMAN, S. J. et al. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1521-1524, 1997.
- BLIGHT, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911, 1959.
- CARVALHO, M. E. Avaliação de diferentes combinações genotípicas para polimorfismos no gene da μ -calpaína e calpastatina associados com a maciez da carne em bovinos da raça Nelore. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 4., 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL, 2007.
- CARVALHO, M. E. et al. Association of a single nucleotide polymorphisms in calpastatin gene with meat tenderness in Nellore cattle. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 55., 2009, Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: Danish Meat Research Institute, 2009. v. T1. p. 76-79.
- CARVALHO, M. E. **Caracterização da frequência de polimorfismo em genes ligados à maciez da carne de bovinos da raça Nelore**. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.
- CARVALHO, M. E. **Estudo de genes associados com a maciez da carne em bovinos da raça Nelore**. 2012. 66 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.
- DE KLOET, E. R. Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control. **Frontiers in Neuroendocrinology**, Maryland Heights, v. 12, p. 95-164, 1991.
- JOHNSTON, D. J.; GRASER, H. U. Estimated gene frequencies of GeneSTAR markers and their size of effects on meat tenderness, marbling, and feed efficiency in temperate and tropical beef cattle breeds across a range of production systems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 1917-1935, 2010.

KERTH, C. R. et al. Carcass, sensory, fat color, and consumer acceptance characteristics of Angus-cross steers finished in ryegrass (*Lolium multiflorum*) forage or on a high-concentrate diet. **Meat Science**, Amsterdam, v. 75, p. 324-331, 2007.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134 p.

MACHADO, M. B. B. et al. QTL affecting body weight in a candidate region of cattle chromosome 5. **Genetics Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 3, p. 259-265, 2003.

MARSON, E. P. et al. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 3 p. 496-505, 2005.

MCEWEN, B. S.; DE KLOET, E. R.; ROSTENE, W. Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 66, p. 1121-1188, 1986.

MOLETTA, J. L.; RESTLE, J. Influencia do grupo genético sobre características qualitativas da carne de novilhos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 5, 866-875, 1996.

MORALES, D. C. et al. Avaliação da qualidade da carne de bovinos de diferentes grupos genéticos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 171-175, 2003.

MORGAN, J. B. et al. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3274-3283, 1991.

MÜLLER, L. Perdas no descongelamento e cocção da carne bovina. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 14., 1977, Recife-PE. **Anais...** Recife: SBZ, 1977. p. 80.

MURÁNI, E. et al. Association of HPA axis-related genetic variation with stress reactivity and aggressive behavior in pigs. **BMC Genetics**, v. 11, p. 74-85, 2010.

OLERUP, O.; ZETTERQUIST, H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSCP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient, matching in cadaveric transplantation. **Tissue Antigens**, v. 39, p. 225-235, 1992.

PARO DE PAZ, C. C. et al. Adjustment of nonlinear models in study of association between genetic polymorphisms and growth in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p.1416-1425, 2004.

PEREIRA, A., et al. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 28, n. 2, p. 133-137, 2005.

PINTO, L. F. B., et al. Single nucleotide polymorphisms in CAPN and leptina genes associated with meat color and tenderness in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 3, p. 2057-2064, 2011.

POLETI, M. D. **Variação nos genes dos receptores mineralocorticoide e glicocorticoide e suas implicações proteômicas na qualidade da carne de bovinos Nelore**. 2013. 116 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

REECY, J. M.; SPURLOCK, D. M.; STAHL, C. H. Gene expression profiling: insights into skeletal muscle growth and development. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 150-154, 2006.

SCHENKEL F. S. et al. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 291-299, 2006.

THALLER, G. et al. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. **Animal Genetics**, Chichester v. 34, p. 354-357, 2003.

TRINDADE, M. A.; ROSA, A. F.; TAROUÇO, J. U. In: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias**: composição e controle de qualidade. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

VASCONCELLOS, L. P. M. K., et al. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 2, p. 133-137, 2003.

REGITANO, L. C. A. et al. **Protocolos de biologia molecular aplicada à produção animal**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007.

WHITE, S. N. et al. A new single nucleotide polymorphism in CAPN extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 9, p. 2001-2008, 2005.

YOUNG, A. W.; KAUFFMAN, R. G. Evaluation of beef from steers fed grain, corn silage or haylage-corn silage diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46, p. 41-47, 1978.