

**UNIVERSIDADE DE MARÍLIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**ÁREAS: SAÚDE ANIMAL, PRODUÇÃO E AMBIENTE**

**ÁREA: PRODUÇÃO ANIMAL**  
**CATEGORIA: DISSERTAÇÃO**

**USO DE MARCADOR MOLECULAR PARA A AVALIAÇÃO DE MARMOREIO**  
**EM BOVINOS DA RAÇA SENEPOL**

**Silte Aparecido de Oliveira Fadel**

**MARÍLIA - SP**  
**2022**

**UNIVERSIDADE DE MARÍLIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**USO DE MARCADOR MOLECULAR PARA A AVALIAÇÃO DE MARMOREIO  
EM BOVINOS DA RAÇA SENEPOL**

**ALUNO: Silter Aparecido de Oliveira Fadel**  
**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. MD. PhD. Isabela Bazzo da Costa**  
**COORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leticia Peternelli da Silva**

Trabalho de conclusão de Mestrado Profissional apresentado à Universidade de Marília – UNIMAR, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE em CIÊNCIAS – Área: Produção Animal.

**MARÍLIA - SP**  
**Dezembro de 2022**

F144u Fadel, Silter Aparecido de Oliveira  
Uso de marcador molecular para a avaliação de marmoreio em bovinos da raça Senepol / Silter Aparecido de Oliveira Fadel. - Marília: UNIMAR, 2022.  
35f.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Saúde Animal, Produção e Ambiente) – Universidade de Marília, Marília, 2022.

Orientação: Profa. Dra. Isabela Bazzo da Costa

1. Bovinocultura de Corte 2. Expressão Genética  
3. Melhoramento Animal 4. Tireoglobulina I. Fadel, Silter Aparecido de Oliveira

CDD – 636.2

**UNIVERSIDADE DE MARÍLIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CERTIFICAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**USO DE MARCADOR MOLECULAR PARA A AVALIAÇÃO DE MARMOREIO**  
**EM BOVINOS DA RAÇA SENEPOL**

**ALUNO: Silter Aparecido de Oliveira Fadel**

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. MD. PhD. Isabela Bazzo da Costa**

**COORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leticia Peternelli da Silva**

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do Título de MESTRE –  
ÁREA: PRODUÇÃO ANIMAL pela Comissão Examinadora:

Prof<sup>a</sup>. MD. PhD. Isabela Bazzo da Costa \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Paulo Cezar Novais \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Rodolfo Cláudio Spers \_\_\_\_\_

Marília, 09 de dezembro de 2022.

---

Presidente da Comissão Examinadora  
Prof<sup>a</sup>. MD. PhD. Isabela Bazzo da Costa

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**SILTER APARECIDO DE OLIVEIRA FADEL** – nascido em 15 de março de 1976, na cidade de Palmital, Estado de São Paulo, Brasil, é médico veterinário formado pela Universidade de Marília - UNIMAR, Curso de Medicina Veterinária, graduado em janeiro de 2000. Possui curso de especialização e aperfeiçoamento em *International Course on Technical Management of Artificial Insemination Programs* pela *Swedish University of Agricultural Sciences*, 2002; especialização em Educação Continuada em Epidemiologia Básica pela Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 2005; especialização em Educação Continuada Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2005 pela Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 2005; Formação de Técnico Agropecuário, com ensino médio segundo grau pelo Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, 1993; Discente do Programa de Mestrado Profissional em Saúde Animal, Produção e Ambiente pela Universidade de Marília – UNIMAR, 2022; Atua como consultor técnico, médico veterinário e Gerente Senior de Serviços da Central Pró Ventre, na Central de Produção e Reprodução Bovina, em mesmo na Central Pró Ventre Receptoras de Embriões Bovina, desde 1999; Inspetor Técnico de Serviço de Registro Genealógico da Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos da Raça Senepol, ABCBSenepol, desde 2018; exerce função de Assistente Agropecuário junto a Secretaria de Agricultura do estado de São Paulo, atualmente ativo como Assistente de Planejamento do Escritório de Desenvolvimento Rural da Regional de Assis/SP da Coordenadoria de Desenvolvimento Rural Sustentável, CATI, desde 2011; possui experiência profissional na área de Medicina Veterinária, saúde animal, produção e meio ambiente, com ênfase em reprodução e produção bovina, com atividades de consultoria e mentorias diretas de Fertilização *in vitro* (FIV), TE (Transferência de embriões), IA (Inseminação Artificial) e MN (Monta Natural); desenvolve projetos e programas de seleção genética em bovinos de corte, com destaques na raça Senepol; realiza ações e mentoria de seleção genética PO (puro por origem) para desenvolvimento de linhas específicas de programas de seleção genética para qualidade de carne em linhas *gourmet*, com ações complementares de consultoria em *US Meet* (Ultrassonografia de carcaça), programas de melhoramento genético e

desenvolvimento genômico em características específicas para qualidade de carne; atua em desenvolvimento de projetos Biossistêmicos e Biotecnologia em SAFI (Sistemas de produção Agropecuários Florestal Integrados), ILP (Integração lavoura pecuária) e ILPF (integração lavoura pecuária e floresta).

**“Dedico essa conquista a todos que já fizeram, todos que seguem comigo fazendo e todos que continuarão a fazer parte da minha história. Que possamos encontrar as portas, as companhias e as oportunidades certas e que nossos esforços tragam ao que merecermos, coisas incríveis acontecerão onde dermos nosso melhor.”**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por minha vida, repleta de saúde, proteção; por ser sempre meu guia, me permitindo seguir de cabeça erguida por honra a suas bênçãos em todas minhas conquistas.

*“Para tudo há um tempo, para cada coisa há um momento” (Eclesiastes, 3: 1-8)*

Ao Lucas Freitas Fadel, meu filho, meu bebezinho, meu gigante irmão, que me fez desde o dia de sua chegada me sentir e perceber a dádiva da vida; por me permitir seguir ao seu lado inquestionavelmente sempre como se não houvesse o amanhã; por ser a fonte de minhas forças; por hoje, estando mais radiante ainda em ter a oportunidade de ser novamente um acadêmico, ao meu caso junto e com você na mesma Universidade.

Ao meu querido amor, Nancy de Freitas Fadel, minha parceira de vida, que me inspira a cada dia ser melhor... uma guerreira nata, para mim com coração de mel; por todo seu amor e dedicação que sempre tem ao longo de nossas caminhadas; pela compreensão nas horas de minhas ausências; pelos incríveis momentos que passamos juntos; por este momento de também juntos seguirmos até em mesma pós-graduação.

Aos meus pais, Valter Aparecido Fadel e Silene de Oliveira Fadel, por todo carinho e amor; por estarem presentes em minha caminhada; por sempre se orgulharem, acreditando em cada jornada.

À Prof<sup>a</sup>. MD. PhD. Isabela Bazzo da Costa, pelo privilégio de ter sido minha orientadora; pela honra em me permitir ser seu orientado; por me incentivar frente ao desavio desse estudo, ter a percepção, compartilhar seus conhecimentos com direção a despertar meu desempenho e a vontade de seguir adiante, que foi capaz de chegarmos a esse momento; por ter sido guiado como numa verdadeira valsa, durante os estudos, o experimento, o projeto e agora na conclusão. À minha colega de turma de graduação, hoje uma especial e querida

parceira. Minha “pé na areia predileta”, que me fez acreditar que o sonho de ser Mestre poderia ser possível.

Aos queridos professores do Programa, Prof. Dr. Raul, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia, Prof. Dr. Daniel, Prof. Dr. Lucas, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia, em especial à minha coorientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leticia Peternelli da Silva; a todos que tive o privilégio de conhecer e de estarem presentes em nosso desenvolvimento acadêmico atual. A outros professores também muitos queridos, que tive o prazer de rever e novamente a honra de estar em sala de aulas, nas diversas dinâmicas neste desenvolvimento de curso, em especial Prof. Dr. Rodolfo, Prof. Dr. Fábio, Prof. Dr. Ronan, Prof. Dr. Carlos, Prof. Dr. Marcílio e Prof. Dr. Valdecir.

Aos meus amigos colegas de turma de pós-graduação, que tornaram esse período ainda mais agradável, nas trocas de experiências durante nossa convivência; por todo carinho e respeito; pôr em mesmos, nas diversas áreas de cada um, de forma multidisciplinar, nossa jornada tornaram-se incrível.

A todos os amigos, parceiros, familiares que não foram citados, mas que sempre estiveram presentes em minha vida, jamais seriam esquecidos e a todos que contribuíram de alguma maneira para meus êxitos, meu muito obrigado.

*"O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando..." (Cora Coralina)*

# USO DE MARCADOR MOLECULAR PARA A AVALIAÇÃO DE MARMOREIO EM BOVINOS DA RAÇA SENEPOL

## RESUMO

A bovinocultura de corte tem um papel muito relevante nos cenários econômicos do Brasil. Com rebanho de 218,2 milhões de cabeças, o país se apresenta com o maior número de animais comercial do mundo e atualmente ocupa o *ranking* de maior exportador mundial. A pecuária de corte nacional consolidou-se nos últimos anos como forte produtora de alimentos e, portanto, se inseriu no mercado mundial como grande competidor dentre os maiores produtores. Além do aumento da produtividade, o aumento da qualidade dos bovinos de corte tem sido amplamente perseguido, no intuito de se obter animais que atendam às exigências do mercado consumidor. O marmoreio, uma das principais características relacionadas à qualidade de carne bovina, tem levado ao desenvolvimento de inúmeras técnicas para sua mensuração, como a utilização da ultrassonografia de carcaça, identificando raças e/ou linhagens que apresentam maior marmoreio sem a necessidade do abate dos animais, e ainda a utilização de marcadores moleculares, que conferem os genes alelos que podem possuir efeito negativo ou positivo para determinada característica. Atualmente, a Tireoglobulina (TG) tem sido estudada como um gene relacionado ao marmoreio na espécie bovina portanto, o objetivo desse trabalho foi verificar a expressão de polimorfismos no gene da TG em 62 novilhos da raça Senepol, utilizando a técnica de PCR- RFLP. Para tanto, foram coletadas amostras de pêlos da vassoura da cauda dos animais para a extração do DNA genômico. O par de primers utilizado nas reações de PCR foram desenhados de acordo com o *GenBank* e a enzima de restrição escolhida foi a endonuclease XmnI, Para a visualização dos resultados, foi realizada a eletroforese em gel de agarose a 2%. Dos 62 animais avaliados, 49 se mostraram positivos para a expressão da Tireoglobulina, sugerindo a veracidade da associação deste gene com o marmoreio, o que pode permitir a seleção de animais da raça Senepol com maior aptidão para o marmoreio.

Palavras-chave: Bovinocultura de corte, Expressão gênica, Tireoglobulina, Melhoramento animal.

## **USE OF A MOLECULAR MARKER FOR THE EVALUATION OF MARBLING IN SENEPOL BREED CATTLE**

### **ABSTRACT**

Beef cattle has a very important role in Brazil's economic scenarios. With a herd of 213.2 million heads, the country has the largest number of commercial animals in the world and currently ranks as the world's largest exporter. The national beef cattle industry has consolidated in recent years as a strong food producer and, therefore, has entered the world market as a major competitor among the largest producers. In addition, both the increase in productivity as the increase in the quality of beef cattle has been widely pursued, to obtain animals that meet the demands of the consumer market. Marbling, one of the main characteristics related to beef quality, has led to the development of numerous techniques for its measurement, such as the use of carcass ultrasound, identifying breeds and/or strains that present greater marbling without the need to slaughter the animals and the use of molecular markers, which confer the genes alleles that may have a negative or positive effect for a given trait. Currently, Thyroglobulin (TG) has been studied as a gene related to marbling in bovine species, therefore, the objective of this work was to verify the expression of polymorphisms of TG gene in 62 Senepol steers, using the PCR-RFLP technique. For that, samples of broom hairs from the tail of the animals were collected for the extraction of genomic DNA. The pair of primers used in the PCR reactions were designed according to GenBank and the restriction enzyme chosen was the XmnI endonuclease. To visualize the results, electrophoresis in a 2% agarose gel was performed. Of the 62 animals evaluated, 49 were positive for Thyroglobulin gene expression, suggesting the veracity of the association of this gene with marbling, which may allow the selection of Senepol animals with greater aptitude for marbling.

Keywords: Beef cattle, Gene expression, Thyroglobulin, Animal breeding.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotodocumentação representativa do gel de agarose demonstrando a presença de DNA genômico (seta) em algumas amostras dos animais identificados de acordo com a sequência numérica, onde de 1 a 5 e 7 a 8 apresentaram o material genético procurado. A amostra 6 se apresentou negativa para a presença de DNA genômico, por possível deficiência na técnica de extração de DNA, sendo excluída e novamente experimentada ..... 27

Figura 2. Fotodocumentação representativa do gel de agarose de parte dos resultados das análises de PCR com os primers escolhidos para a TG com 709 pares de bases (seta) ..... 28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições de amplificação do gene da Tireoglobulina na Reação em Cadeia pela Polimerase em termociclador ..... 25

Tabela 2. Demonstrativo da análise estatística realizada da comparação entre o grupo de animais que apresentou a expressão gênica da TG e do grupo que não a apresentou ..... 28

## **LISTA DE ANEXOS**

Certificado de aprovação CIAEP-01.0218.2014 pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade de Marília – UNIMAR do trabalho, conforme as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA); de acordo com os preceitos da lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, sob o protocolo 058/2021 (Anexo 1).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCBSenepol: Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos da Raça Senepol

AOL: Área de olho de lombo

BamHI: Enzima de restrição

CATI: Coordenadoria de Desenvolvimento Rural Sustentável

CEUA: Comitê de Ética em Uso Animal

cm: centímetro

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DEP: Desempenho esperado nas progênes

DGAT1: Enzima diacilglicerol aciltransferase 1

DNA: Ácido desoxirribonucleico

dNTP: Desoxirribonucleotídeo trifosfato

Dr./Dr<sup>a</sup>.: Doutor/Doutora

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

EGS: Espessura de gordura de subcutâneo

*et al*: e colaboradores

FABP3: Gene da proteína de ligação a ácidos graxos

FIV: Fertilização *in vitro*

GH: Hormônio do crescimento

IA: Inseminação Artificial

ID: Numeração do animal

ILP: Integração lavoura pecuária

ILPF: Integração lavoura pecuária e floresta

LEP: Leptina

M: Molar

MAR: marmoreio

MAS: marcadores moleculares

MD: Mestre/Doutor(a)

MgCl<sub>2</sub>: Cloreto de Magnésio

mL: mililitro

mM: milimolar

MN: Monta Natural

PCI: fenol-clorofórmio-álcool isoamílico  
PCR- RFLP. polimorfismo no comprimento do fragmento de restrição (RFLP)  
PCR: Reação em cadeia pela polimerase  
pH: Potencial hidrogeniônico  
PhD: *Philosophy Doctor*  
PO: Puro por origem  
Prof./Prof<sup>a</sup>.: Professor/Professora  
QTLs: *Quantitative Trait Loci*  
rpm: Rotações por minuto  
SAFI: Sistemas de produção Agropecuários Florestal Integrados  
SAM: Seleção Assistida por Marcadores  
SNP: *Single Nucleotide Polymorphism*  
SP: São Paulo  
TBE: Tris, EDTA e Ácido Bórico  
TE-TWEEN: Tris, EDTA e Tween 20  
TE: Transferência de embriões  
TG: Tireoglobulina TG  
T°C: Temperatura em graus Celsius  
U: Unidade  
US: Ultrassonografia  
V: Volts  
XmnI: Enzima de Restrição  
µg: micrograma  
µL: microlitro  
µM: micromolar

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	17
3. OBJETIVOS .....	22
3.1 Objetivo geral .....	22
3.2 Objetivos específicos .....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	23
4.1 Aprovação do Comitê de Ética de Uso Anima – CEUA .....	23
4.2 Animais avaliados.....	23
4.3 Coleta de material para extração de DNA .....	23
4.4 Amplificação do material genético .....	25
4.5 Análise estatística .....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
6. CONCLUSÕES .....	30
7. REFERÊNCIAS .....	31
*ANEXO	

## 1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura de corte possui um papel de extrema relevância dentro do cenário econômico do Brasil. Com rebanho de 218,2 milhões de cabeças, (IBGE, 2020), o país tem o maior número de cabeças de bovinos do mundo e atualmente ocupa o *ranking* de maior exportador mundial (ABIEC, 2021).

A pecuária de corte nacional consolidou-se nos últimos anos como importante produtora de alimentos e conseqüentemente se inseriu no mercado mundial como grande competidor, representando um dos maiores produtores mundiais. Essa atividade transformou-se em um seguimento importante na captação financeira do país, com isso, sofrendo constantes pressões resultantes da posição ocupada (FILHO, 2013). Mesmo tendo o maior rebanho mundial comercial de bovinos, a taxa de desfrute brasileira foi estimada em 21,74 %, expressivamente menor em comparação com os países concorrentes no mercado global de carne bovina (ABIEC, 2021) detalhe que ressalta a importância de providência de melhorias no processo de produção.

Mesmo com os avanços, nos aspectos gerenciais, nos índices zootécnicos e índices econômicos, ainda se fazem necessárias evoluções para garantir a manutenção da sua competitividade e conseqüente permanência como empreendimento economicamente atraente (DEPEC, 2022).

A manutenção da competitividade da bovinocultura de corte nacional nos mercados interno e externo implica a produção de carne com máxima eficiência e com um padrão de qualidade que atenda aos mercados, cada vez mais exigentes (PEREIRA; SILVA, 2004).

Por sua vez, as exigências dos consumidores por produtos de qualidade, obriga a mobilização dos produtores e a indústria da carne, à adequarem seus sistemas de produção, objetivando o oferecimento de produtos que apresentem as características qualitativas de maciez, suculência, gordura e sabor, aos quais dentre os fatores que determinam a excelência da carne estão os atributos organolépticos, sobre esse aspecto, a maciez é uma das características mais buscadas neste processo dentre o principal quesito de avaliação ou apreciação por parte do consumidor (PEREIRA; SILVA, 2004).

O marmoreio (MAR) pode ser destacado como uma das principais características relacionadas à qualidade de carne bovina, o qual tem levado ao desenvolvimento de inúmeras técnicas para sua mensuração, como por

exemplo, a utilização da ultrassonografia de carcaça, identificando quais raças e/ou linhagens apresentam maior tendência ao desenvolvimento da característica sem a necessidade do abate dos animais.

Dentre outras tecnologias que podem ser utilizadas no âmbito de pesquisas em qualidade de carne, a rastreabilidade de genes responsáveis por determinadas características, utilizando marcadores moleculares (MAS) que reconhecem genes alelos, os quais podem possuir efeito negativo ou positivo para determinada característica, incorporados em programas de seleção e melhoramento genético.

Pesquisas descrevem que a Tireoglobulina (TG) é um gene relacionado ao marmoreio na espécie bovina. Seu estudo necessita de atualizações para torná-lo um marcador importante na prática a campo e diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a possível expressão do polimorfismo do gene TG para a avaliação do marmoreio em animais da raça Senepol, com a finalidade de identificar características que possam auxiliar na seleção destes animais.

Utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e o polimorfismo no comprimento do fragmento de restrição (RFLP), os resultados contribuem para o processo de evolução genética de forma acelerada, possibilitando a formação de rebanhos mais eficientes, homogêneos quanto às características estudadas, com a integração de informações sobre as bases genéticas e moleculares que regulam estas características, potencializarão os programas de melhoramento genético atuais e conseqüentemente a obtenção de produtos derivados de melhores qualidade.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

As raças zebuínas (*Bos taurus indicus*), representam 80% da composição do rebanho comercial nacional (ANUALPEC, 2005) com destaque a raça Nelore, sendo a de maior relevância dentro desse plantel. As raças taurinas (*Bos taurus taurus*) com 20%, dentre elas as raças Angus e Senepol ocupam na atualidade as maiores posições produtivas e financeiras (ABIEC, 2021; SCOT CONSULTORIA, 2021).

A predominância de raças zebuínas, por exemplo, Nelore, ocorre por questões da adaptabilidade às condições climáticas, resistência parasitária, rusticidade, tolerância ao calor e aproveitamento de pastagens, compondo a grande base da bovinocultura de corte nacional, entretanto a consequência destes fatores proporciona carcaças de qualidades inferiores. No entanto, ao se mensurar índices qualitativos da carne, nas raças taurinas e seus cruzados (Angus e Senepol), observa-se melhores qualificações de carcaças, advindos de superiores desempenhos, conseqüentemente aumento da maciez por características específicas inerentes, dentre elas a presença de MAR (SILVA, 2012; PEREIRA, 2008).

A cadeia de produção bovina tem direcionado esforços no sentido de estar cada vez mais atenta para os atributos apreciados na carne, trabalhando junto dos programas de melhoramento genético animal, a fim de gerar informações e conhecimentos que irão garantir novos avanços qualitativos e quantitativos em médio e longo prazos nos rebanhos zebuínos, taurinos e cruzados (SIQUEIRA *et al.*, 2007).

As novas tecnologias devem ser incorporadas aos programas de melhoramento genético animal, para garantir os avanços qualitativos e quantitativos nos rebanhos zebuínos, taurinos e cruzados, visando o desenvolvimento de novos produtos ou processos que sejam capazes de gerar informações, conhecimentos para agregar qualidade e valor econômico ao produto (MENEZES, 2013).

Pesquisas de Silva e colaboradores (2019), demonstraram os atributos ligados à carne do gado Senepol, seja puro ou cruzado com outras raças; com destaque nas variáveis de elevado padrão de carcaça nos quesitos: a) perímetro do músculo *Longissimus dorsi* ou Área de olho de lombo (AOL), b) espessura de gordura de subcutâneo (EGS), c) MAR, d) maciez, f) valores influenciados pelo

pH > 5,8 da carne; apresenta tributos para atingir mercados superiores por se tratar de uma carne extremamente macia, tenra e com sabor de ótima aceitação ao mercado consumidor *gourmet*; portanto a utilização da raça em programas de melhoramento genético atinge os padrões necessários para seguimento de seleção e conseqüentemente na agregação de valores.

Outros atributos complementares relacionados às características da raça Senepol, esclarecem que apesar de ser taurino, possui aptidão tropical com semelhante superioridade ao zebuínio, o qual lhe garante melhor adaptabilidade às condições climáticas, aos parasitas, elevada tolerância ao calor, rusticidade, ótima conversão alimentar e melhor aproveitamento de pastagens, podendo ser muito eficiente em curto espaço de tempo para compor a grande base da bovinocultura de corte nacional (SILVA *et al.*, 2019).

O conceito de qualidade da carne é muito amplo com variâncias diversas, dentre eles, o MAR, uma das características mais desejadas dentro dos parâmetros da qualidade na carcaça animal. Dentre as ferramentas tecnológicas disponíveis para a caracterização e mensuração das qualidades presentes em uma carcaça, a ultrassonografia (US), se consolida como uma importante técnica, por sua viabilidade e eficiência prática, permitindo a determinação dos importantes valores relacionados a qualidade de carcaça animal sem a necessidade de abate (SUGISAWA *et al.*, 2012).

Outras tecnologias que podem ser utilizadas no âmbito de pesquisas e processo de seleção animal para qualificação de carne, dentre elas a rastreabilidade de genes, que permitem a incorporação em programas de seleção em índices de desempenho superiores; a incorporação de programas de genética molecular aplicada à qualidade da carne, através da adoção de técnica de extração e análise do ácido desoxirribonucleico (DNA), incorporados ao uso de teste de reação em cadeia da polimerase (PCR), método que nos permite a amplificação de determinadas regiões da cadeia de DNA deste animal, apontando as posições genômicas que correspondem à característica desejada, no caso o MAR (SIQUEIRA *et al.*, 2007).

Para tanto, faz-se o uso de seleção genética assistida por MAS. Estes marcadores são fragmentos do DNA responsáveis por determinada característica que pode ser transmitida de geração para geração, colaborando para a evolução do desempenho esperado nas progênes (DEP); opção

estratégica para o melhoramento das características de qualidade de carne e carcaça, ou seja, a Seleção Assistida por Marcadores (SAM) ou MAS, por meio da análise de polimorfismos localizados em genes candidatos que desempenham alguma função biológica de interesse e posteriormente a inclusão destes em painéis de *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) para melhoramento de raças bovinas (BARENDSE, 1999). Estes conjuntos de genes que influenciam caracteres quantitativos possibilitam identificar através de *Quantitative Trait Loci* (QTLs) na utilização dos marcadores genéticos em uma população base com delineamento experimental específico (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os principais MAS descritos são: 1) as inserções e deleções de parte do material genético; 2) os polimorfismos de base única (SNP) e 3) as regiões repetitivas. Quando estão localizados em regiões codificantes dos genes, os polimorfismos podem levar à alteração no aminoácido da sequência protéica e nesse caso, são chamados de polimorfismo “não sinônimo”, capazes de determinar diferenças na função protéica, conseqüentemente variação fenotípica. As vantagens no uso dos MAS listadas são, o grau de polimorfismo, não sofrerem influência do meio ambiente, geralmente são codominantes poderem ser analisados em qualquer estágio do desenvolvimento do indivíduo e o material teste sendo células ou tecidos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Vários genes foram previamente identificados por pesquisas como possíveis responsáveis pela qualidade de carcaça e carne em bovinos de corte: enzima diacilglicerol aciltransferase 1 (DGAT1) (THALLER *et al.*, 2003), gene da proteína de ligação a ácidos graxos (FABP3), hormônio do crescimento (GH) e a proteína leptina (LEP) (BUCHANAN *et al.*, 2002). Dentre eles o hormônio da tireoglobulina (TG) (BARENDSE 1999), que segundo este autor trata-se de um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) no gene da tireoglobulina (TG5) ao qual está associado com marmoreio (MAR) em bovinos, da qual ocorre na região 5' UTR do gene da TG e apresenta duas variantes alélicas, chamadas de alelo “2” e alelo “3”; com o objetivo de confirmar relatos anteriores o autor Barendse (2004), relaciona a associação do alelo “3” com o grau de marmorização da carne bovina em animais *Bos taurus*.

Em revisões seguintes, os autores observaram que nos indivíduos que possuíam o genótipo “23” e o genótipo “33” apresentaram maiores graus de MAR

do que aqueles que possuíam o genótipo “22”, concluindo que um teste de DNA com o MAS deste polimorfismo, permitira a detecção de animais com potencial para produção de carne de qualidade (BARENDSE *et al.*, 2004; SIQUEIRA *et al.*, 2007).

Pesquisas atuais no setor de bovinocultura de corte brasileiro, demonstraram a preocupação com o aumento da produção imediata, ao mesmo tempo adequando-se a seleção de animais de melhores qualificações genéticas e conseqüentemente qualidade de carne, mesmo com as grandes barreiras a serem vencidas em virtude das dificuldades a curto prazo, em obterem imediata resposta da qualidade da carne produzida, a busca e adesão para a melhoria fomenta projetos direcionados a evolução seletiva de melhoramento genético para as características de qualidade de carne e acabamento de carcaças, como o MAR, EGS e AOL (SOUSA *et al.*, 2017). Mesmo existindo diferentes padrões de deposição de gordura EGS, MAR que contribuem para a maciez dentre as raças, a variação mais importante é aquela que ocorre em uma mesma raça (KOOHMARAIE *et al.*, 2003).

A incorporação deste índice dentro dos padrões de carcaça bovina vem sendo fortemente explorada, a fim de alcançar um produto mais rentável e eficiente. Testes de DNA para maciez e MAR, com base no uso de MAS, tem demonstrado alternativa promissora em programas de seleção de bovinos de corte, o qual permite um melhor planejamento dos sistemas de acasalamento, objetivando o aumento ou a diminuição da frequência de determinados alelos na população (SIQUEIRA, 2007).

Revisões descrevem várias aplicações dos polimorfismos genômicos e concluem que a seleção genética assistida por marcadores, MAS será a aplicabilidade de maior impacto e potencial na produção animal (SIQUEIRA, 2007).

A necessidade de conhecimentos dos MAS relevantes para a seleção de características economicamente importantes, possibilita sua integração às demais biotecnologias no Brasil, como ferramenta de identificação dos melhores animais e após ela, multiplicar através de inseminação artificial (IA), transferência de embriões (TE), produção *in vitro* de embriões (FIV) e sexagem espermática. Seu avanço permitira o aperfeiçoamento e evolução dos ganhos genéticos das gerações, impulsionando a eficiência produtiva da pecuária (FRANCO, 2006).



### **3. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

O objetivo desse trabalho foi verificar a expressão de polimorfismos no gene da Tireoglobulina (TG) em novilhos da raça Senepol.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Extrair o DNA genômico de amostra dos animais, no intuito de isolar e amplificar um fragmento correspondente ao éxon 5 do gene da TG utilizando a técnica de PCR e confirmar a existência de polimorfismos nos produtos obtidos através da técnica RFLP. Correlacionar dados característicos genéticos intrínsecos da qualidade de carne para obter informações capazes de auxiliar no processo de seleção e melhoramento animal.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Aprovação do Comitê de Ética de Uso Animal – CEUA**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade de Marília - UNIMAR, conforme as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA); de acordo com os preceitos da lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009; através de CERTIFICADO identificado como CIAEP-01.0218.2014 e sob o protocolo 058/2021 (Anexo 1).

### **4.2 Animais avaliados**

Foram avaliados 62 novilhos da raça Senepol, Puros por Origem (PO), sendo estes pertencentes à prova de ganho de peso do Centro de Aperfeiçoamento e Performance Animal, realizada desde o mês de setembro de 2021 a agosto de 2022 na Fazenda Experimental da Universidade de Marília – UNIMAR. Os animais experimentados são oriundos de técnicas reprodutivas assistida diversas como monta natural (MN), Inseminação Artificial (IA) e/ou Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), Transferência de Embriões (TE) e Fertilização *in vitro* (FIV).

Os animais foram conduzidos sob regime alimentar em manejo semi-intensivo de criação e seleção; tendo como principal fonte de alimento pastagens de Braquiária, com complementação de silagem de milho. Os suplementos minerais foram balanceados para cada categoria específica e fornecidos a partir de cochos distribuídos pelos piquetes.

### **4.3 Coleta de material para extração de DNA**

Após os animais serem predispostos em tronco de contenção, foram coletadas manualmente amostras de pêlos da vassoura da cauda dos mesmos, onde foram retiradas frações de aproximadamente 40 pêlos de cada animal. Após a coleta o excesso dos pêlos foi cortado com tesoura, restando fios de aproximadamente 5 cm preservados com a presença dos folículos pilosos. As amostras foram acondicionadas em microtubos estéreis 1,5 mL devidamente identificados de acordo com a numeração do animal (ID), armazenadas na sequência para transporte em recipientes térmicos, sem necessidade de

criopreservação e em seguida encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular da Universidade de Marília – UNIMAR.

Para a extração do DNA genômico, foi utilizada a técnica PCI (fenol-clorofórmio-álcool isoamílico) adaptada de Lima (2003). Em cada microtubo contendo os folículos pilosos, foi adicionado 500 µL de solução TE-TWEEN (Tris 50 mM, EDTA 1 mM, 0,5% Tween 20), seguido de incubação em banho-maria a 65°C por 1,5 horas com agitação manual periódica. Feito isso, foi adicionado 15 µL de proteinase K (20 µg/µL) e as amostras foram incubadas novamente a 55°C por 6 horas, agitando as por inversão a cada 30 minutos. Após o período de incubação foi realizada uma reação *overnight* a 37°C. Após a primeira etapa da extração, foi adicionado 1 volume de PCI (fenol-clorofórmio-álcool isoamílico – 25:24:1) para 1 volume de amostra e os tubos passaram por agitação vigorosa durante 10 segundos em agitador automático tipo vórtex. Posteriormente, foi realizada a centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos a 23°C, sendo o sobrenadante transferido para um novo tubo, este também devidamente identificado, gerando um volume final de aproximadamente 300 µL.

A precipitação do DNA ocorreu com 1/10 do volume da amostra de Acetato de sódio 0,3 M (cerca de 30 µL) e etanol absoluto gelado (1000 µL), sendo feita a mistura por imersão seguida de repouso durante 1 hora e meia a -20°C com uma nova centrifugação a 12.000 rpm por 60 minutos a 4°C. O DNA remanescente, após a precipitação, foi seco em temperatura ambiente e ressuspendido com 100 µL de água ultrapura e em seguida, armazenado a 4°C até o momento das análises posteriores.

No intuito de verificar a eficácia da metodologia da extração de DNA, as amostras foram misturadas com 3 µL de tampão de corrida (azul de bromo - fenol, xileno-cyanol e glicerol) e submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2% com brometo de etídio, em tampão TBE 1X (Tris-HCl 89 mM; EDTA 2,5 mM e Ácido Bórico 89 mM e pH 8,3) a 75 V, por aproximadamente 45 minutos. A visualização foi feita sob luz ultravioleta em Sistema de Fotodocumentação L-Pix EX® (*Loccus Biotecnologia*) e as imagens dos géis foram capturadas com o software L-Pix Imagem Ex®.

#### **4.4 Amplificação do material genético**

O par de *primers* utilizado nas reações de PCR foram desenhados de acordo com as informações disponíveis no *GenBank*, possuindo as seguintes sequências de nucleotídeos:

TG - Forward 5' – TCCCAGAGTTAGCCTCCAAG - 3'

TG – Reverse 5' – TGAATGAGAGGTGGTGAGGTC - 3'

As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 25µL por amostra, contendo 2µL de DNA gnômico, 0,5µM de cada primer, tampão PCR 1X, 0,5µM de MgCl<sub>2</sub>, 100µM de dNTPS, 0,75U EasyTaq® DNA Polymerase (Trans Gen Biotech®). Os ciclos de amplificação foram realizados em Termociclador Biometra® nas condições descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Condições de amplificação do gene da Tireoglobulina na Reação em Cadeia pela Polimerase em termociclador.

	<u>Etapa 1 (10 ciclos)</u>		<u>Etapa 2 (35 ciclos)</u>	
	T °C	Tempo	T °C	Tempo
<b>Denaturação</b>	96	5 minutos	95	5 minutos
<b>Anelamento</b>	65	1 minuto	55	1 minuto
<b>Extensão</b>	70	1 minuto	70	1 minuto

Para verificar o resultado da amplificação uma alíquota de 3 µL de cada amostra foi misturada a 3µL de tampão de corrida (azul de bromo-fenol, xileno-cyanol e glicerol) e submetida à eletroforese em gel de agarose a 2% com brometo de etídio (0,05 µg/ml), utilizando tampão TBE 1X a 70V por aproximadamente 40 minutos. O gel visualizado sob luz ultravioleta em Sistema de Fotodocumentação L-Pix EX® (*Loccus Biotecnologia*) e as imagens foram capturadas por meio do software L-Pix Imagem Ex®. Após o isolamento e amplificação da região de interesse do gene da Tireoglobulina pela PCR, as amostras foram submetidas à técnica de PCR-RFLP. A enzima de restrição escolhida foi a endonuclease XmnI que possui os seguintes sítios de corte:

Xmnl - 5'-GAANN\*NNTTC – 3' 3'CTTNN\*NNAAG – 5'

A digestão foi realizada em volume final de 20 µL/amostra, contendo 10 µL do produto da PCR, 1/10 de tampão para enzima de restrição e 10 unidades das enzimas BamHI e Xmnl. O procedimento foi realizado em termociclador Biometra®. A digestão da enzima Xmnl foi feita por 15 minutos a 37°C e posteriormente a 65°C por 20 minutos para inativação e por último a 4°C para conservação das amostras até a fotodocumentação.

Para a visualização do resultado, 7µL de cada amostra foram misturadas a 3µL de tampão de corrida (azul de bromo-fenol, xileno-cyanol e glicerol) para realização da eletroforese em gel de agarose a 2% com brometo de etídio (0,05 µg/ml), em tampão TBE 1X a 70V, por 1 hora e 40 minutos. A visualização do padrão eletroforético de migração das bandas ocorreu sob luz ultravioleta em Sistema de Fotodocumentação L-Pix EX® (*Loccus Biotecnologia*) e as imagens registradas com auxílio do software L-Pix Imagem Ex®.

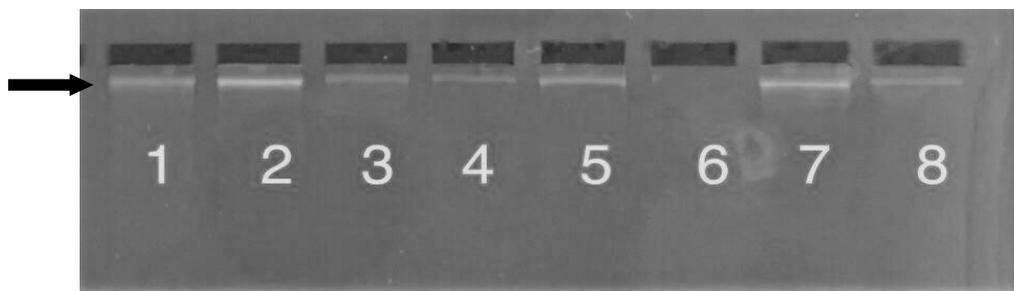
#### **4.5 Análise estatística**

As análises estatísticas para os resultados dos possíveis polimorfismos identificados, foram realizadas através da utilização do teste Qui-quadrado pelo Software R.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

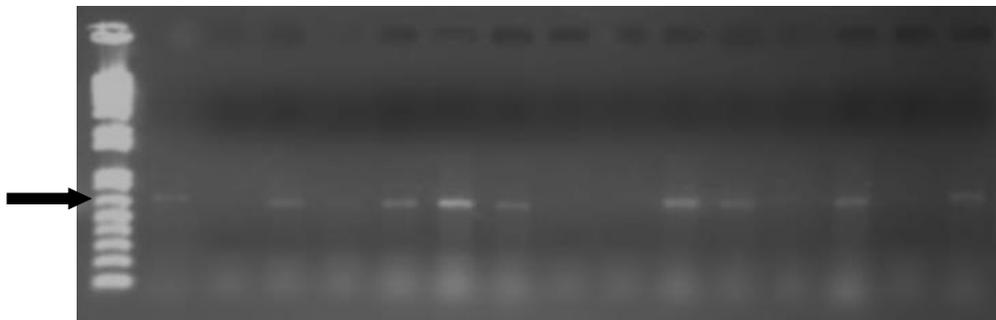
Como apresentado na Figura 1, pode-se afirmar que a técnica de extração de DNA genômico escolhida para desenvolvimento desse estudo, mostrou-se eficaz. As amostras que se apresentaram positivas no padrão de migração de bandas no gel de eletroforese confirmou que houve uma quantidade satisfatória de DNA extraído. Os resultados obtidos na extração estão de acordo com os estudos de Laureano e colaboradores (2006), os quais também utilizaram a técnica adaptada de Lima (2003) para extração de pêlos da cauda de bovinos novilhos.

**Figura 1.** Fotodocumentação representativa do gel de agarose demonstrando a presença de DNA genômico (seta) em algumas amostras dos animais identificados de acordo com a sequência numérica, onde de 1 a 5 e 7 a 8 apresentaram o material genético procurado. A amostra 6 se apresentou negativa para a presença de DNA genômico, por possível deficiência na técnica de extração de DNA, sendo excluída e novamente experimentada.



Já nas análises de amplificação do material genético com o anelamento dos primers da TG, os fragmentos apresentaram bandas positivas em 709pb, indicando o funcionamento dos primers desenhados para a região estudada, conforme demonstrado na Figura 2.

**Figura 2.** Fotodocumentação representativa do gel de agarose de parte dos resultados das análises de PCR com os primers escolhidos para a TG com 709 pares de bases (seta).



A partir dos resultados obtidos pela técnica de PCR foi possível a realização da PCR-RFLP, onde as amostras continham apenas a região de interesse do gene da Tireoglobulina e esta foi digerida com a enzima XmnI, conforme descrito anteriormente na metodologia de execução desse trabalho.

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram que os produtos amplificados de PCR foram digeridos em 49 das 62 amostras analisadas, ou seja, somente 13 amostras se apresentaram negativas para a expressão gênica da Tireoglobulina. Os dados se mostraram estatisticamente diferentes quando comparados entre eles, em relação a presença ou ausência desta expressão (Tabela 2), confirmando, portanto, a contribuição significativa do gene estudado para a análise da característica de marmoreio em novilhos da raça Senepol.

**Tabela 2.** Demonstrativo da análise estatística realizada da comparação entre o grupo de animais que apresentou a expressão gênica da TG e do grupo que não a apresentou.

		Teste binomial		
		Nº de amostras	Proporção	Valor de p
<b>Expressão gênica</b>	SIM	49	0,790	< 0,001
	NÃO	13	0,210	< 0,001

Nota: A proporção  $H_a$  é  $\neq 0,5$

Os resultados de Wu e colaboradores (2005) analisaram polimorfismos em diversos genes, incluindo o gene da TG em populações de acasalamentos de touros e vacas das raças Limousin e Wagyu. Todos os genes estudados contribuíram significativamente para a característica de marmoreio. O trabalho de Barendse (2004), demonstrou que um SNP no gene da Tireoglobulina está associado com marmoreio em bovinos. Ainda corroborando com os dados obtidos nesse estudo, Siqueira e colaboradores (2007) avaliaram as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo TG em touros das raças taurinas Senepol, Bonsmara e Caracu.

Barreto e colaboradores (2012) também obtiveram resultados semelhantes quando analisaram a identificação do gene da TG em bovinos da raça Pantaneira. Nos estudos realizados por Qian-Fu e colaboradores (2008) foram identificados os mesmos polimorfismos ao utilizarem a mesma metodologia em 271 animais distribuídos entre as raças Simental, Angus, Charolês e Limousin. Estes pesquisadores identificaram a presença do polimorfismo em regiões distintas do gene destes animais, evidenciando a potencial associação do gene da TG com o marmoreio.

A utilização de testes de DNA e o uso de marcadores moleculares tem se mostrado uma alternativa promissora em programas melhoramento de bovinos de corte, pois permite um melhor planejamento dos sistemas de acasalamento, objetivando o aumento ou a diminuição da frequência de determinados alelos na população.

## **6. CONCLUSÕES**

A partir do exposto, podemos concluir que a verificação da expressão dos polimorfismos no gene da TG em novilhos da raça Senepol, utilizando a técnica de PCR – RFLP, foi verdadeira. Além disso, os resultados encontrados na busca dos MAS pode favorecer a seleção e aprimoramento de animais com maior aptidão para a deposição do marmoreio, fornecendo a criação de ferramentas focadas por avaliação genômica, capazes de direcionar e ditar o ritmo evolutivo de desenvolvimento de seleção genética na raça Senepol.

## 7. REFERÊNCIAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes; Sumário Beef report, perfil da pecuária do Brasil, 2021.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira, São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, p.340, 2005.

BARENDSE, W. J. Assessing lipid metabolism. Int. WO 99/23248. US n. 638751. 23 Oct. 1998, 14 May 1999.

BARENDSE, W. J.; BUNCH, R.; THOMAS, M.; ARMITAGE, S.; BAUD, S.; DONALDSON, N. The TG5 Thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait locus evaluated in feedlot cattle. Australian Journal of Experimental Agriculture, Collingwood, VI, v. 44, n.7, p. 669-674, 2004.

BARRETO, C.; WALKER, C.; JULIANO, R.; RAMOS, A.; BARBOSA, E.; ALVES, A.; EGITO, A. A. Polimorfismo de base única no gene da tireoglobulina relacionado ao marmoreio cárneo em bovinos da raça pantaneira. Embrapa Gado de Corte – artigo, 2012.

BUCHANAN, F. C.; FITZSIMMONS, C. J.; VAN KESSEL, A G.; THUE, T. D.; WINKELMAN-SIM, D. C.; SCHMUTZ, S. M. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. Genetic Selection Evolution, Les Ulis Cedex, v. 34, n. 1, p. 105-116, 2002.

DEPEC – Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos. Cenário Macroeconômico, 2022.

FILHO, K.E. Cenários para a cadeia produtiva da carne bovina no Brasil. Embrapa Gado de Corte, 2013.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 220, Documentos, 20, 1998.

FRANCO, M. M.; MELO, E. O. Melhoramento animal: uso de marcadores moleculares e da reprodução assistida. Brasília. EMBRAPA recursos genéticos e biotecnologia, 188, p.0102-0110, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/31722-ppm-2020-rebanho-bovino-cresce-1-5-e-chega-a-218-2-milhoes-de-cabecas>> Acesso em: abr. 2022.

LAUREANO, M. M. M. Polimorfismos nos genes da Prolactina e do IGF-I em bovinos da raça Nelore. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético Animal, Universidade Estadual Paulista, FCAV, 2006.

LIMA, S. P. G. Estudo do polimorfismo da região promotora do gene do hormônio de crescimento bovino (bGH), em rebanhos Nelore selecionados para peso pós-desmama. 2003. 46f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

KOOHMARAIE, M.; VEISETH, E.; KENT, M. P.; SHACKELFORD, S. D. Understanding and managing meat tenderness. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. Otimizando a produção animal: anais. Santa Maria: SBZ, 2003.

MENEZES, G. R. O., NIETO, L. M., ROSA, A. N., NOBRE, P.R. C., SILVA, L.O. C., GONDO, A. Tendências genéticas para características de carcaça ao sobreano na raça Nelore - Programa Embrapa - Geneplus. Anais, X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. Uberaba, Minas Gerais, 2013.

PEREIRA, J.C.C. Melhoramento genético aplicado à produção animal. 5. ed. Belo Horizonte, 618p, 2008.

PEREIRA, A. S. C.; SILVA, S. L. Avaliação de características de carcaça e da qualidade de carne de novilhos Senepol. Relatório Técnico. 2004 9f. Faculdade de Zootecnia, Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, p. 1 – 9, 2004.

SCOTCONSULTORIA;<<https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/53475/indices-zootecnicos:-vamos-falar-da-taxa-de-desfrute>>. Acesso em: abr. 2021.

SILVA, A. L.; BORDIN, R. A.; BUENO, R. Atributos relacionados à carne do gado Senepol; Characteristics attributes to Senepol beef cattle. Revista Tekhne e Logos, Botucatu, SP, v.10, n.1, 2019.

SILVA, V. A. M. Estudo proteômico da carne de bovinos castrados da raça Nelore com genótipos contrastantes para CAPN e UOGCAST em diferentes períodos de maturação. 2012. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SIQUEIRA, F.; TORRES JUNIOR, R. A. de A.; REGITANO, L. C. de A.; ALENCAR, M. M.; SILVA, L. O. C.; SOARES, C. O.; EUCLIDES FILHO, K.; ARAÚJO, F. R.; ROSINHA, G. M. S.; OLIVEIRA, R. M. Determinação das frequências alélicas e genótípicas do gene da tireoglobulina em bovinos de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 4., 2007, Campinas, SP. Mercados do século XXI qualidade, segurança alimentar, certificação e rastreabilidade: anais. Campinas, SP: ITAL: CTC, p. 295-29, 2007.

SOUSA, I. I.; MAIUMI, I.; BLECHA, Z.; MACIEL, S.; BEATRIZ, A.; FERREIRA, R.; LUÍS, G.; FEIJÓ, D.; FAVERO, R.; SANTIAGO, G. G.. Embrapa Gado de Corte, Universidade Federal do Mato Grosso; GADO. Genes LEP e TG com características de qualidade de carne e carcaça em bovinos da raça Canchim; Genes with beef and carcass quality characteristics in *Materiais e Métodos Resultados e Discussão*. vol. 5, p. 3–5, 2017.

SUGUISAWA, L. Ultrassonografia para predição das características e composição da carcaça de bovinos. Universidade de São Paulo, 2012.

Thaller, G., Krämer, W., Winter, A., Kaupe, B., Erhardt, G. e Fries, R. 2003. Effects of *DGAT1* variants on milk production traits in German cattle breeds. J. Anim. Sci., 81: p.1911-1918, 2003.

WU, X. L.; MACNEIL, M. D.; DE, S.; XIAO, Q. J.; MICHAL, J. J.; GASKINS, C. T.; REEVES, J. J.; BUSBOOM, J. R.; WRIGHT JR, R. W.; JIANG, Z. Evaluation of candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection. Genetica, The Hague, v. 125, n. 1, p. 103-113, 2005.

## Anexo 1. Certificado de Aprovação do Comitê de Ética de Uso Animal - CEUA

### CERTIFICADO CIAEP-01.0218.2014

Certificamos que o projeto intitulado “**Associação de características obtidas por ultrassonografia de carcaça com a avaliação do uso de marcador molecular para marmoreio em bovino da raça Senepol**” (Protocolo 058/2021), sob a responsabilidade da Profa. Dra. Isabela Bazzo da Costa, que envolve produção, manutenção e /ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pelo COMITÊ DE ÉTICA EM USO ANIMAL (CEUA) DA UNIVERSIDADE DE MARÍLIA.

Vigência do projeto	Dezembro 2021 a Março de 2022
Espécie/linhagem	Bovinos Senepol
Número de animais	80
Peso / Idade	
Sexo	Machos

Marília, 11 de Novembro de 2021,



**Profa. Dra. Cláudia Sampaio Fonseca Repetti**

**Coordenadora do CEUA**