



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL**

# **DETECÇÃO DOS GENES HALOTANO E RENDIMENTO NÁPOLE EM PLANTÉIS DE SUÍNOS NO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO.**

**DÉBORA CRISTINA ALVES DAS CHAGAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL**

**BRASÍLIA/DF  
Julho 2014**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL**

# **DETECÇÃO DOS GENES HALOTANO E RENDIMENTO NÁPOLE EM PLANTÉIS DE SUÍNOS NO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO.**

**DÉBORA CRISTINA ALVES DAS CHAGAS**

**ORIENTADORA: PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> SIMONE PERECMANIS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL**

**PUBLICAÇÃO: 098/2014**

**BRASÍLIA/DF**

**Julho 2014**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

**DETECÇÃO DOS GENES HALOTANO E RENDIMENTO NÁPOLE EM PLANTÉIS DE  
SUÍNOS NO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO.**

DÉBORA CRISTINA ALVES DAS CHAGAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL, COMO  
PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM  
SAÚDE ANIMAL

APROVADA POR:

SIMONE PERECMANIS, PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> (Universidade de Brasília)  
(ORIENTADORA)

ÂNGELA PATRÍCIA SANTANA, PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> (Universidade de Brasília)  
(EXAMINADORA INTERNA)

ALEXANDRE FLORIANI RAMOS, PESQUISADOR. DR.<sup>o</sup> (EMBRAPA)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF, 01 DE JULHO DE 2014.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

CHAGAS, D.C.A. **Detecção dos Genes Halotano e Rendimento Nápole em plantéis de suínos no Distrito Federal e Entorno.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 48 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Chagas, Débora Cristina Alves

Estudo da Presença dos Genes Halotano e Rendimento Nápole em Suínos no Distrito Federal e Entorno/ Débora Cristina Alves das Chagas, orientação de Simone Perecmanis – Brasília, 2014. 48 p.: II. Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

1. Doenças Genéticas de Suínos. 2. Gene Halotano. 3. Gene Rendimento Nápole. 4. PCR-RFLP. Perecmanis, S.

CDD ou CDU

Agris / FAO

Dedico este trabalho:

Ao meu marido Giancarlo, com amor, admiração e gratidão, por sua compreensão, carinho e incansável apoio ao longo do período de desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, Mauro e Maura, e irmão Daniel, que mesmo distantes souberam me confortar, apoiar e motivar com suas palavras de carinho e sabedoria. Vocês são as inspirações e forças que busco diariamente para percorrer o meu caminho.

À minha querida Vó Maria (*in memoriam*), que com sabedoria, amor e generosidade, pôde me proporcionar à formação de princípios e ensinamentos que estarão sempre presentes nos meus dias.

Aos meus amigos e familiares, que não pouparam incentivos e palavras de carinho, me proporcionando inúmeros momentos de alegria e descontração ao longo desta trajetória.

## AGRADECIMENTOS

À professora Simone Perecmanis, exemplo a ser seguido, pela orientação, confiança, oportunidade, serenidade transmitida e ensinamentos concedidos durante esta caminhada.

Aos participantes da banca examinadora, professora Ângela Patrícia, professor Gino Chaves e Drº Alexandre Floriani, pelo aceite, aprendizado e conhecimento compartilhado.

Às propriedades, Fazenda Sucupira da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Escola Agrotécnica do Instituto Federal de Brasília (IFB) e frigorífico comercial, pela disponibilidade dos animais e ajuda nas coletas realizadas neste trabalho.

Aos membros da equipe (técnicos, residentes e estagiários) do Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária da Universidade de Brasília, Hudson Holanda, Ana Paula Faria, Cléia Nunes, Marcela Tokatjian, Luciana Lobo, Diego Ribeiro, Marcus Portugal, Fernando Maidana e Dalila Gonzaga, pela amizade, motivação, apoio e colaboração direta e indireta na execução deste trabalho.

À equipe técnica do laboratório de Patologia Clínica Veterinária, em especial à Marcela Scalon, pela ajuda técnica na condução do experimento e incentivo.

Aos colegas de orientação e de jornada, Manuela Rodrigues, Anne Dianne (in memoriam), Gustavo Martins, Ivanildo Santos e Bidiah Mariano, pelo compartilhamento de ideias, angústias e conhecimento.

Aos demais colegas e funcionários da Universidade de Brasília, que de alguma forma auxiliaram na realização deste trabalho.

À Universidade de Brasília, pela oportunidade e pela qualidade de ensino proporcionada aos alunos.

***“Se vi mais longe é porque estava apoiada nos ombros de gigantes”.***

***Isaac Newton***

***“Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa todo o entendimento”.***

***Clarice Lispector***

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações .....</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xii</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>2</b>
1. Classificação dos Suínos .....	2
2. Histórico da Domesticação de Suínos.....	3
3. A Produção de Suínos no Brasil.....	4
4. Melhoramento Genético .....	6
5. Qualidade da Carne e Efeitos Genéticos .....	8
6. Alterações Genéticas .....	9
7. Relação entre a Síndrome do Estresse Suíno (PSS) e a Carne Pálida, Macia e Exsudativa (PSE).....	9
7.1 Caracterização do Gene Halotano .....	11
8. Carne Ácida .....	15
8.1 Caracterização do Gene Rendimento Nápole .....	16
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>Geral .....</b>	<b>20</b>
<b>Específicos.....</b>	<b>20</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>29</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
1. Animais Utilizados.....	31
2. Coleta e Processamento das Amostras Sanguíneas.....	31



3. Detecção dos Genes Halotano e Rendimento Nápole pela técnica de Reação de Polimerização em Cadeia do DNA (PCR) .....	32
3.1. Gene Halotano (HAL).....	32
3.2. Gene Rendimento Nápole (RN) .....	34
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
1. Detecção do Genótipo Halotano (HAL) pela técnica de PCR .....	35
2. Detecção do Genótipo Rendimento Nápole (RN) pela técnica de PCR.....	37
3. Genótipo Halotano x Genótipo Rendimento Nápole .....	40
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>47</b>

## LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

<b>Tabela 1:</b> Gene de origem, sequência de oligonucleotídeos, tamanho dos produtos de amplificação e referência bibliográfica das reações de PCR utilizadas .....	<b>32</b>
<b>Tabela 2:</b> Frequência genotípica do Gene Halotano de 52 suínos oriundos da coleta em três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno.....	<b>36</b>
<b>Tabela 3:</b> Frequência do genótipo HAL <sup>NN</sup> e do alelo n do Gene Halotano de 52 suínos oriundos três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno.....	<b>37</b>
<b>Tabela 4:</b> Frequência genotípica do Gene Rendimento Nápole de 52 suínos oriundos da coleta em três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno.....	<b>39</b>
<b>Tabela 5:</b> Apresentação dos resultados de acordo com as propriedades, animais coletados, raça e a frequência genotípica do Gene Halotano e Rendimento Nápole de 52 suínos provenientes da coleta de sangue de propriedades do Distrito Federal e Entorno .....	<b>47</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Eletroforese em gel de agarose 0,03% corado com brometo de etídio do gene HAL amplificado por PCR e digerido com a enzima HhaI. M) marcador molecular de 100pb; 1) Fragmento de 81pb de animal homocigoto recesivo ou mutante ( $HAL^{nn}$ ); 2) Fragmentos de 81pb, 49pb e 32pb de animal heterocigoto ( $HAL^{Nn}$ ); 3) Fragmentos de 49pb e 32pb de suíno homocigoto dominante ( $HAL^{NN}$ ). ..... **36**
- Figura 2:** Eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio 0,018% do gene RN amplificados por PCR e digeridos com a enzima BsrBI. M) marcador molecular de 100pb; 1) Fragmento com 616pb referente ao genótipo  $RN^+$ , 2) Fragmentos com aproximadamente 200pb e 416pb após digestão, referentes ao genótipo  $rn^+$ . ..... **38**

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

ABIEPCS	- Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína.
ABCS	- Associação Brasileira de Criadores de Suínos
ATP	- Adenosina Trifosfato
pb	- Pares de base
°C	- Graus Celcius
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	- Desoxinucleotídeotrifosfato
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GP	- Potencial Glicolítico
HAL	- Gene Halotano
HAL <sup>NN</sup>	- Gene Halotano Homozigoto Normal
HAL <sup>Nn</sup>	- Gene Halotano Heterozigoto
HAL <sup>nn</sup>	- Gene Halotano Homozigoto Recessivo Mutante
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MicroMedVet	- Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária
MgCl <sub>2</sub>	- Cloreto de magnésio
mM	- Mili Molar
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase
PCR-RFLP	- Reação em cadeia de polimerase com digestão enzimática
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PRKAG3	- Proteína quinase, AMP-ativada, gama 3 subunidade não catalítica
PSE	- Carne Pálida, Flácida e Exsudativa
PSS	- Síndrome do Estresse Suíno
RFLP	- Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição
RN	- Gene Rendimento Nápole
RN <sup>NRN</sup>	- Gene Rendimento Nápole Homozigoto Dominante
RN <sup>nrn</sup>	- Gene Rendimento Nápole Heterozigoto
rn <sup>nrn</sup>	- Gene Rendimento Nápole Homozigoto Recessivo

RYR1	- Rianodina
U	- Unidade
μL	- Micro litros
VP	- VogesProskauer

## RESUMO

As características genéticas não desejadas para a produção de suínos ainda são pouco estudadas no plantel brasileiro. O gene Rendimento Nápole (gene RN) e o gene Halotano (gene HAL) são exemplos de seleção gênica de genes que apresentam influência direta na qualidade tecnológica da carne. O objetivo deste trabalho foi identificar a presença dos genes HAL e RN em rebanhos suínos do DF e Entorno, utilizando a técnica de PCR-RFLP. Os animais estudados foram provenientes de três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno, que apresentavam diferentes finalidades de produção, as quais foram analisadas no Laboratório de Microbiologia (MicroMedVet) da Universidade de Brasília. De 52 amostras analisadas, utilizando-se a enzima de restrição Hhal, 75% foram provenientes de suínos com genótipo HAL<sup>NN</sup>, com produção de dois fragmentos de 49 e 32pb; 21,1% foram oriundos de animais HAL<sup>Nn</sup>, apresentando a formação de três fragmentos de 81, 49 e 32pb; e 3,8% de suínos com genótipo Halotano recessivo ou mutante (HAL<sup>nn</sup>), com produção de somente um fragmento de 81pb. Para o genótipo Rendimento Nápole, 84,6% apresentaram a digestão do fragmento original de 616pb com a enzima BsrBI originando 2 fragmento de aproximadamente 416pb e 200pb (rn<sup>+</sup>) e em 15,4%, não houve digestão, mantendo o fragmento original com 616pb (RN<sup>-</sup>). A análise da população total mostra que um animal da raça Moura, apresentou genótipo HAL<sup>nn</sup> e RN<sup>-</sup>. Com a realização do presente trabalho, foi possível concluir que os genes Halotano e Rendimento Nápole estão presentes em plantéis de suínos do Distrito Federal e Entorno.

**Palavras-chave:** Doenças Genéticas de Suínos, Gene Halotano, Gene Rendimento Nápole, PCR-RFLP.

## ABSTRACT

The unwanted genetic traits for pig raising are still poorly studied in the Brazilian breeding stock. Rendement Napole (RN gene) and Halothane genes (HAL gene) are examples of gene selection that have direct influence on the technological quality of pork. This study aimed at identifying the presence of HAL and RN genes in pig herds in the Federal District and surrounding areas, using PCR-RFLP. The animals were from three different origins in the Federal District and surrounding areas, having different farming systems, and then, samples were analyzed in the Microbiology Laboratory (MicroMedVet) at the University of Brasilia. Fifty-two samples were analyzed using the restriction enzyme HhaI and 75% of them were from pigs with HAL<sup>NN</sup> genotype, producing two fragments with 49 and 32bp; 21.1% were from HAL<sup>Nn</sup> animals, with the formation of three fragments with 81, 49 and 32bp; and 3.8% with recessive or mutant Halothane genotype (HAL<sup>nn</sup>), producing a single fragment with 81bp. For the Rendement Napole genotype, 84.6% showed digestion of the original fragment with 616bp with the BsrBI enzyme yielding 2 fragment with approximately 416bp and 200bp (rn<sup>+</sup>) and for 15.4%, there was no digestion, keeping the original fragment with 616bp (RN<sup>-</sup>). The analysis of the total population shows a Moura breed pig presenting HAL<sup>nn</sup> and RN<sup>-</sup> genotypes. In accomplishing this study, it was concluded that Halothane and Rendement Napole genes are present in swineherds of the Federal District and surrounding areas.

**Keywords:** Swine Genetic Diseases, Halothane Gene, Rendement Napole gene, PCR-RFLP.

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne suína e o quarto maior exportador mundial. Dados da ABIEPCS (2012) informam que em 2012 foram produzidos 3,49 milhões de toneladas de carne suína, com índices de empregabilidade do setor em torno de 605 mil empregos gerados, produzindo uma receita de 1,49 bilhões de dólares (ABIEPCS, 2012). A carne suína é a proteína animal mais consumida no mundo, tendo ultrapassado a preferência dos consumidores pela carne bovina no ano de 1979 (ELAM, 1997). No Brasil, a atividade da suinocultura está concentrada nos estados do RS, PR, SC, MT, MS, GO, MG e SP (ABIEPCS, 2012). Em especial a região centro oeste vem crescendo em produção, principalmente com a vinculação a oferta de alimento para estes animais. A maioria das granjas industriais produtoras de suínos, nestes estados, utiliza material genético obtido de granjas de reprodutores suídeos certificadas, cuja preocupação maior é com quesitos sanitários como: ser livre de peste suína clássica, doença de Aujeszky, brucelose, tuberculose, sarna e livre ou controlada para leptospirose, de acordo com a Instrução Normativa SDA - 19, de 15/02/2002, do MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2009).

Raças como Duroc, Pietran, Large White e Landrace, assim como seus cruzamentos, são as raças mais comuns criadas no Brasil pelo perfil industrial para massa muscular que os mesmos apresentam. Algumas granjas de reprodutores de suínos certificadas já realizam a seleção pelo gene Halotano, mas sem realizar para outros genes a investigação (FÁVERO e PEREIRA DE FIGUEIREDO, 2009). Além da suinocultura industrial encontramos em todos os estados brasileiros pequenos criadores de suínos, que mantêm raças industriais e raças localmente adaptados (Piau, Nilo, Moura, Porco Monteiro, Casco de Burro entre outras) que, na maioria das vezes, não contam com o uso de critérios de seleção para características indesejáveis (SILVA FILHA, 2008).



As doenças genéticas, ou também denominadas características genéticas não desejadas para a produção de suínos, ainda são pouco estudadas no plantel brasileiro. A mais estudada em animais de produção ainda é a presença do gene Halotano (BASTOS et al., 2001; BRIDI et al., 2003) que induz a síndrome PSE (pale soft exsudative), inviabilizando a carcaça para consumo. Outras características não desejadas, principalmente para a indústria, também são citadas, como o gene Napole, hérnia escrotal e umbilical, atresia anal, criptorquidia, hermafrodita, tremores, anormalidade dos tetos, *splayleg*, “*bentlegs*”, polidactilia (SEE et al., 2010).

Neste contexto, pesquisas são necessárias para o aprimoramento das técnicas de produção de carne de boa qualidade, a fim de se alcançar mercados mais exigentes e maior rentabilidade sobre o produto nacional (ANTUNES, 2002). Visando traçar estratégias de cruzamentos para se reduzir ao máximo a incidência de problemas de qualidade da carne que afete diretamente os ganhos da indústria brasileira, produtor rural e consumidor final.

Assim, a proposta deste projeto foi detectar a presença genes Halotano e Rendimento Nápole em plantéis de suínos do Distrito Federal e Entorno, utilizando para tanto a técnica da reação de polimerização em cadeia.

## **REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1. Classificação dos Suínos**

Suínos são mamíferos que surgiram há 40 milhões de anos e que apresentam-se classificados como (LOVATTO, 2002):

- Reino *Animalia*
- Filo *Chordata*
- Classe *Mamalia*
- Ordem *Artiodactyla*
- Família *Suidae*

- Gênero *Sus*
- Espécies *Sus scrofa*, *Sus vittatus*, *Sus mediterraneus*

## 2. Histórico da Domesticação de Suínos

Segundo Amills e colaboradores (2010), a provável história de domesticação de suínos iniciou-se em vários pontos diferentes na Eurásia entre 9000 a 10000 YBP (yearsbeforepresent) e provavelmente foi o suíno o primeiro dos animais a serem domesticados, conforme demonstrado em sítios mesolíticos no norte da Europa (KRAUSE-KYORA et al., 2013).

De acordo com Sarcinelli e colaboradores (2007), o suíno doméstico (*Sus domesticus*) é originário do javali selvagem, sendo supostos descendentes dos *Sus scrofa*, uma espécie de javali que habitava as regiões da Europa e Ásia. O suíno *Sus scrofa* apresenta grande tamanho, robusta constituição, grande capacidade torácica e grande habilidade de procurar alimento. Estes animais atendiam as necessidades dos homens, viviam acima de 20 anos, as fêmeas possuíam 12 tetas, produziam carne de boa qualidade e eram facilmente adaptados aos diversos ambientes da época, tornando-se a espécie domesticada mais importantes da Eurásia (RUVINSKY e ROTHSCCHILD, 1998). Outras espécies de suínos modernos, como *Sus vittatus*, habitavam grandes quantidades na Ásia e na bacia do Mar Mediterrâneo. Eram de porte menor, habitava regiões férteis e encontravam grandes facilidades em conseguir alimento, adquiriu um temperamento mais dócil e grande propensão à engorda (SARCINELLI et al., 2007) .

O início do consumo da carne suína foi alvo de discordância entre os pesquisadores. Chegou-se à conclusão que o europeu, os habitantes da Ásia e de parte do Mediterrâneo comiam carne de porco desde a Idade da Pedra Polida (18.000 a 5.000 a.C.). Sua domesticação, que antes se creditava aos chineses ou aos mesopotâmios, foi datada há 10.000 anos. nessa época, os primeiros homens, moradores de aldeias fixas, tinham como principal fonte de alimento os suínos e não cereais (BRANDÃO, 2014).

A compreensão sistêmica da suinocultura implica em conhecer as bases históricas que fundamentam a origem e evolução das raças. No contexto mundial, estão catalogadas mais de 350 raças, sendo que um pequeno número tem distribuição universal. Do ponto de vista comercial, o Brasil se sustenta com raças exógenas. As raças nacionais têm uma importância relevante àquelas propriedades que executam a suinocultura de subsistência. A chegada do suíno *light* diminuiu consideravelmente a rejeição e preconceitos sobre a carne suína. Percebe-se que o preço deste produto é mais elevado devido à tecnologia aplicada na produção, mas o produto tem forte apelo devido aos mitos sobre a carne de porco e às preocupações com a saúde (BRAGAGNOLO et al., 2002).

### **3. A Produção de Suínos no Brasil**

As primeiras raças introduzidas e criadas no Brasil foram as raças então existentes em Portugal. Do tipo ibérico vieram as raças Alentejana e Transtagana; do tipo céltico, a Galega, a Bizarra e a Beiroa; do tipo asiático, a Macau e a China. Todas elas cruzaram-se desordenadamente e depois se mestiçaram com raças originárias da Espanha, Estados Unidos, Itália, Inglaterra e Holanda; houve, ainda, influência do meio e da alimentação (SEBRAE, 2008).

De acordo com Fávero e colaboradores (2014), com a criação da Associação Brasileira de Criadores de Suínos (ABCS) em 1958, teve início o controle genealógico dos suínos e a importação de raças exóticas, com o objetivo de melhorar a produtividade da criação e aumentar a produção de carne, já que a banha, principal produto das raças nativas, começava a perder espaço para os óleos vegetais. Porém, foi somente no início do século XX que realmente começou o melhoramento genético das raças, com a importação de animais das raças Berkshire, Tamworth e Large Black, da Inglaterra e, posteriormente, das raças Duroc e Poland, da China. Em 1930 e 1940 chegaram as raças Wessex e Hampshire, em 1950 o Landrace e, na década de 60, os Large White. Outras introduções de material genético, da América do Norte e Europa, deram origem a vários grupamentos genéticos, que nas décadas de 1960 e 1970

formavam um mosaico de genótipos criados em condições que não permitiam a obtenção da produtividade alcançada nos países de origem.

De acordo com Albuquerque e colaboradores (1990), a suinocultura brasileira é constituída de animais que podem ser classificados em três grupos: 1, os de raças exóticas ou especializadas, incluindo os produtos de cruzamentos e os híbridos; 2, os de raças nacionais, também denominados de raças localmente adaptadas, indígenas, nativas ou autóctones e seus mestiços; 3, os produtos oriundos do cruzamento exótico X autóctone. Os suínos do grupo 1 são, geralmente, criados em sistemas que empregam níveis de tecnologia elevados. Constituem animais de maior interesse para o abate industrial, dada a exigência do mercado, especialmente nos grandes centros consumidores, em carnes com menores teores de gordura. Os suínos dos grupos 2 e 3 são criados em condições mais extensivas, com características, na maioria das vezes, de subsistência familiar. São animais de menos exigentes que os do grupo 1, principalmente no que diz respeito ao manejo e à alimentação. As raças localmente adaptadas sofreram bastante mestiçagem e são utilizadas, principalmente, para produção de banha ou para o estudo de genética e nutrição, entre outros usos.

De acordo com o MAPA (2014), especialistas brasileiros investem na evolução genética há mais de 20 anos, fato que reduziu em 31% a gordura da carne, 10% do colesterol e 14% de calorias, tornando a carne suína brasileira mais magra e nutritiva, além de saborosa.

A produção de suínos em algumas regiões do Brasil pode ser considerada como uma das mais tecnificadas da América do Sul, atingindo bons índices de produtividade, colocando o país entre os quatro maiores produtores e exportadores mundiais de carne suína. Cerca de 70% da carne suína produzida no Brasil é consumida sob a forma de produtos industrializados, entretanto, o consumo da carne suína "in natura" tem demonstrado elevação nos últimos anos. O mercado consumidor está cada vez mais exigente, demandando produtos de melhor qualidade produzidos sob critérios de segurança alimentar, respeito ao meio ambiente e ao bem estar animal. Estas exigências têm feito com que a carne suína mereça maior atenção por parte da

cadeia produtiva, principalmente no que diz respeito às alterações e conseqüentemente ao aspecto que o produto possa vir apresentar após o abate (FREITAS, 2009).

O rebanho suíno brasileiro tem sua maior representação numérica, econômica e tecnológica na região Sul; tendo em vista a influência europeia na criação de suínos, é nessa região que se concentra a maior parte das indústrias, boa arte delas utilizando tecnologia de ponta. As regiões Sudeste e Centro-Oeste também têm se destacado na suinocultura brasileira; grandes investimentos que estão sendo feitos em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (IBGE, 2006).

A suinocultura brasileira vem investindo em reprodução, sanidade, manejo e, principalmente, em programas genéticos que priorizam o valor econômico das características fenotípicas desejáveis, contribuindo para aumentar a oferta interna e colocar o País em destaque no cenário mundial. O complexo agroindustrial de suínos em parceria com a comunidade científica trabalha incessantemente para melhorar a eficiência na produção de carne e atender as exigências constantes do mercado consumidor, combinando adequadamente a qualidade e quantidade, com o objetivo de garantir a viabilidade econômica da indústria (MONTEIRO, 2007).

Estima-se que a produção de carne suína atinja média anual de 2,84%, no período de 2008 a 2019, e o seu consumo, 1,79%. Em relação às exportações, a representatividade do mercado brasileiro de carne suína saltará de 10,1%, média alcançada em 2008, para 21% em 2019 (MAPA, 2014).

#### **4. Melhoramento Genético**

A primeira mudança direcionada para melhorar a qualidade da carne suína e atender as novas exigências do mercado ocorreu na década de 1960, com o início da produção de suínos do “tipo carne” (MACHADO, 1961), em lugar dos suínos do “tipo banha” e do “tipo misto” (carne e banha). Em termos de melhoramento genético foram substituídas as raças localmente adaptadas de suínos, tais como Nilo, Piau, Caruncho e Canastra, grandes produtoras de banha e pouco produtoras de carne, por raças com maior teor de carne na carcaça, como Wessex e Duroc, depois Landrace e Large White,

e Pietrain, na década de 1990. A organização de programas de melhoramento genético locais, a produção de suínos mestiços das raças melhoradas e a intensificação do sistema de tipificação de carcaças pelas indústrias de abate permitiram reduzir a espessura de toucinho e aumentar o rendimento de carne, resultando no que o mercado denomina de “suíno light” (IRGANG, 2004).

Outro avanço obtido está relacionado ao conhecimento dos marcadores do genoma suíno, capazes de predizerem alterações gênicas importantes para resistência aos patógenos e características de produção. A produção de carne de suínos vem sendo influenciada por fatores de ordem genética e de meio ambiente. Na genética destacam-se os genótipos, produzidos por distintos programas com diferentes critérios de seleção, os genes maiores e o sexo, cada um contribuindo de forma diferenciada e em função do ambiente a que são submetidos os animais (FAVERO, 2003).

Na China, onde a carne suína é a preferida da população, suas qualidades organolépticas estão associadas à presença de gordura na carne, ao ponto das raças nativas de suínos do país terem sofrido pouco melhoramento no sentido de aumentar a porcentagem de carne magra na carcaça. Em outros países, notadamente na Dinamarca, maior exportador mundial de carne suína, o melhoramento genético para aumentar a quantidade de carne em lugar da gordura na carcaça dos suínos foi iniciado no final do século 19, com a realização de Testes de Progênie (FREDEEN, 1984).

A raça ou a linhagem genética utilizada contribuem positiva ou negativamente para a qualidade da carne. Dessa forma, atualmente, as grandes indústrias nacionais trabalham não mais com raças puras ou cruzadas, mas sim com linhagens específicas para produção de carne de melhor qualidade. As linhagens modernas são responsáveis por melhorias diretas tanto na carcaça (maior rendimento de carne magra e menor espessura de gordura subcutânea), quanto na própria carne (cor – aspecto mais observado no ato da compra, textura - desejável que seja firme, mas não dura e sem perda de água no cozimento – fator que interfere na maciez e no rendimento da carne). Entretanto, com as diversas e diferentes linhagens disponíveis no mercado, ainda não

se possui o exato conhecimento do comportamento dos parâmetros acima citados para cada uma das linhagens comerciais (FREITAS, 2009).

Vários são os fatores que podem afetar as características de qualidade da carne, como a raça ou a linhagem, o sexo, o peso ao abate, a presença dos genes Halotano e Rendimento Napole, o pH post mortem final e o manejo pré-abate (BEATTIE et al., 1999, BREWER et al., 2002, LATORRE et al., 2003).

Até os anos 90, os programas de melhoramento genético de suínos eram essencialmente voltados para a melhoria nas taxas de crescimento, a eficiência de conversão alimentar e a qualidade da carcaça e, com exceção dos problemas relacionados com a presença do gene Halotano, a qualidade da carne não era levada em consideração (BEATTIE et al., 1999). A partir desse momento, a melhoria da qualidade da carne suína representa uma das principais metas a serem alcançadas pela indústria.

As informações obtidas por meio de testes e estudos do DNA, juntamente com os registros fenotípicos, podem ser extremamente úteis no aumento da acurácia na predição dos valores genéticos e, conseqüentemente, da resposta obtida no processo de seleção (DE VRIES et al., 1998).

## **5. Qualidade da Carne e Efeitos Genéticos**

A necessidade de se obter linhagens genéticas suínas com maior percentual de carne magra na carcaça trouxe como consequência o fato destes animais serem mais susceptíveis ao estresse e seu produto final apresentar problemas de qualidade (LAVILLE et al., 2005).

De acordo com Peloso (1999), o comprometimento de qualidade da carne suína pode ocorrer pela associação de fatores genéticos e ambientais, cujas relações de causa e efeito mais evidentes são, principalmente, a Síndrome do Estresse Suíno (PSS) e a carne pálida, flácida e exsudativa (PSE). Dentre os fatores genéticos, os dois principais genes que têm influência direta na qualidade tecnológica da carne, são o gene Rendimento Nápole (gene RN) e o gene Halotano (gene HAL), sendo o último

altamente correlacionado com a incidência de carne PSE (ROSENVOLD e ANDERSEN, 2001).

## **6. Alterações Genéticas**

A procura por genes que influenciam a qualidade da carne suína cresce de forma muito rápida, devido à facilidade da genotipagem e redução de seu custo. O arquivo de dados do genoma suíno inclui mais de 3.000 genes e mais de 1.400.000 marcadores moleculares (DAVOLI e BRAGLIA, 2008). No entanto, dois genes com efeito maior são bem conhecidos: o gene receptor de rianodina ou gene Halotano (HAL), que regula o transporte de  $Ca^{++}$  através da membrana celular das fibras musculares, e o gene Rendimento Napole (RN), que afeta o conteúdo muscular de glicogênio (ANTUNES, 1997).

Dentre os fatores genéticos, esses dois genes são os que têm influência direta na qualidade tecnológica da carne (ROSENVOLD e ANDERSEN, 2001). Dessa forma, a estratégia dos melhoristas para evitar os efeitos danosos na qualidade da carne dos dois genes tem sido de removê-los dos principais genótipos onde se encontravam em frequência considerável, especialmente de algumas linhas mais musculares de Landrace (FÁVERO et al., 1997). A questão de remover do alelo HAL<sup>n</sup> do gene Halotano de suínos da raça Pietrain, na qual se encontra normalmente em alta frequência, é controversa, uma vez que o gene tem efeito aditivo no aumento do rendimento de carne (FÁVERO et al., 1997). A mesma situação ocorre com o alelo RN<sup>n</sup> do gene Rendimento Nápole, cuja consequência é maior em suínos Hampshire (MOELLER et al., 2003).

## **7. Relação entre a Síndrome do Estresse Suíno (PSS) e a Carne Pálida, Macia e Exsudativa (PSE)**

O aumento na produção de carne magra, exigido na criação de suínos acarretou em modificações substanciais tanto na composição proximal como nas características bioquímicas do músculo. Constatou-se que essas alterações foram



provocadas por uma mutação genética na proteína reguladora do fluxo de cálcio, a rianodina, causadora da PSS (“Porcine Stress Syndrom”) ou Síndrome do Estresse Suíno, com conseqüente comprometimento da qualidade pela formação das carnes PSE (“Pale, Soft, e Exsudative”), ou Pálida, Mole, e Exsudativa. Estas carnes apresentam variações em suas colorações e alterações de suas propriedades funcionais (MAGANHINI et al., 2007).

Uma das principais perdas econômicas na indústria suinícola está relacionada com a produção de carne PSE (pálida, mole e exsudativa). Animais portadores da PSS (Síndrome do Estresse Suíno) têm maior tendência a apresentar essa carne de baixa qualidade (SANTANA et al., 1998).

A carne PSE representa o principal problema de qualidade na indústria de carne suína, devido às suas características como baixa capacidade de retenção de água, textura flácida e cor pálida que levam às elevadas perdas de água durante o processamento. A carne é indesejável tanto para os consumidores como para a indústria de processamento e a principal causa do desenvolvimento dessa condição é uma decomposição acelerada do glicogênio após o abate, que causa um valor de pH muscular baixo, geralmente inferior a 5,8, enquanto a temperatura do músculo ainda esta próxima do estado fisiológico (>38 °C), acarretando um processo de desnaturação proteica comprometendo as propriedades funcionais da carne (D’SOUZA et al., 1998).

As carnes do tipo PSE apresentam variações em suas colorações e alterações de suas propriedades funcionais, com conseqüentes perdas econômicas calculadas, preliminarmente, em cerca de US\$ 4,5 milhões (ODA et al, 2004). Assim, a atenção especial por parte da indústria em monitorar a qualidade do manejo dos suínos desde a genética até o produto final são fatores decisivos para garantir a qualidade da carne.

Em um trabalho, Sayre e colaboradores (1963) descreveram que certas raças como Pietran, Poland China, ou certas linhagens genéticas com raças Landrace, apresentavam alta incidência de carne PSE, enquanto, outras raças ou linhagens genéticas estavam praticamente livres deste defeito. Outros fatores que podem influenciar sua incidência, além dos fatores genéticos são: o tempo de transporte dos

animais da granja ao frigorífico (ANDRADE JÚNIOR et al., 1992), o manejo utilizado no período pré-abate do frigorífico o tempo de descanso dos animais antes do abate (ANDRADE JÚNIOR et al., 1992), os métodos de atordoamento (VELARDE et al., 2000), o intervalo de tempo entre sangria e a entrada da carcaça na câmara de resfriamento (BRESSAN et al., 1992), entre outros.

A ocorrência de carne PSE tem sido reportada em torno de 10 a 30%. (O'NEILL et al., 2003). Estudos indicam que esta taxa varia entre 6 e 33% nos Estados Unidos, dependendo das condições de cada plantel de abate (OWEN et al., 2000). Pesquisadores brasileiros verificaram incidência de carne PSE da ordem de 22,83% (MAGANHINI et al., 2007), 30,69% (CULAU et al., 1994) e 46,36% (CULAU et al., 2002) na região sul do país.

Fávero (2003) afirmou que o gene Halotano, também conhecido como gene do estresse, surgiu de uma mutação no cromossomo 6. Sua presença contribuiu para o aumento do percentual de carne na carcaça suína, porém tornou o animal susceptível à Síndrome do Estresse Suíno (PSS), com consequente morte súbita, especialmente durante a movimentação e transporte.

Segundo Davolio e Braglio (2008), a PSS está ligada ao gene autossomal Halotano e ao seu alelo recessivo HAL<sup>n</sup>, ou receptor de rianodina (RYR1), que regula o transporte de Ca<sup>++</sup> entre as membranas das fibras musculares.

## **7.1 Caracterização do Gene Halotano**

Os conhecimentos adquiridos até o momento em relação ao genótipo Halotano (HAL) são frutos da integração de várias áreas de pesquisa, que iniciou-se na década de 60, com observação e mais tarde comprovação, de que alguns suínos possuíam uma predisposição maior ao estresse, a qual era geneticamente herdada. Na década de 70 desenvolveu-se um teste, no qual os suínos eram submetidos a anestesia inalatória por Halotano, que permitia separar os animais com maior predisposição ao estresse daqueles resistentes. Utilizando-se do teste foi possível delinear cruzamentos e determinar o modo de herança do então denominado gene HAL. Na década de 80,

várias pesquisas foram conduzidas com a intenção de caracterizar as diferenças a nível fisiológico, bioquímico e genético, entre esses dois grupos de animais (ANTUNES, 2002).

Concomitantemente, outras pesquisas mostravam que o gene HAL, além de determinar a maior predisposição ao estresse, em suínos, era responsável pela produção de carcaças com maior produção de carne magra, mas ao mesmo tempo era relacionado à produção de carne PSE, um problema sério para a industrialização de carnes. E finalmente, na década de 90, estudos de biologia molecular, conseguiram mapear, clonar e sequenciar um gene, que codifica uma proteína fazendo parte de um canal de cálcio, podendo ser a responsável pela síndrome do estresse suíno e suas consequências (FUJII et al., 1991).

Fujii e colaboradores (1991) encontraram uma mutação no gene que codifica para o receptor rianodina do músculo esquelético, correlacionada com a hipertermia maligna. Os autores desenvolveram um teste não invasivo, baseado em PCR-RFLP (reação em cadeia de polimerase - polimorfismos do comprimento dos fragmentos de restrição), que permite diferenciar três genótipos: HAL<sup>NN</sup> (normal, dominante), HAL<sup>Nn</sup> (heterozigoto) e HAL<sup>nn</sup> (sensível, recessivo) e com este material é possível, atualmente, fazer estudos de consequência do gene Halotano, nas diferentes raças de suínos, para que melhores estratégias de cruzamentos sejam traçadas.

A técnica de PCR-RFLP permitiu detectar que o DNA extraído de amostras de tecidos é produzido um fragmento de 81 pares de bases que, submetido à digestão pela enzima de restrição Hhal (CGC/C) produz dois fragmentos de 49 e 32 pares de bases em suínos homozigotos normais com dois alelos dominantes (HAL<sup>NN</sup>). Em suínos heterozigotos (HAL<sup>Nn</sup>), obtêm-se três fragmentos de 49, 32 e 81 pares de bases respectivamente e somente um fragmento de DNA de 81 pares de bases para suínos PSS, mutantes homozigotos recessivos (HAL<sup>nn</sup>) (FUJI et al., 1991).

Segundo Antunes (1997) e Culau (1999), o gene halotano tem efeito pleiotrópico sobre a susceptibilidade ao estresse, conteúdo de carne na carcaça e qualidade da carne, sendo que em homozigose recessiva (nn) o gene está associado

com o aparecimento das características de PSE. A existência de correlação entre animais portadores do gene halotano e produção de carne PSE (SILVEIRA, 1996), não é explicado apenas pelo genótipo na ocorrência de carne PSE (WARRIS, 1995). Sabe-se que os procedimentos de abate por si só constituem em fatores estressantes muito fortes para os animais (GRANDIN, 1994). A presença do gene Halotano nos suínos intensifica mais ainda a influência desse importante componente de estresse que é o abate e que inclui os instantes que o precedem, ou seja, o deslocamento dos animais das pocilgas de matança até o momento da sensibilização (SELLIER, 1995; CULAU, 1999).

Na Austrália, Trout (1994) mostrou que, em carcaças com escores baixos de PSE, houve pouca relação entre a consequência do gene Halotano e incidência desse tipo de carne. O autor concluiu que o gene Halotano é um dos fatores de maior contribuição somente em casos severos de PSE. Carnes com PSE menos intenso podem ser originadas, provavelmente, por mau manejo pré-abate ou processamento pós-abate inadequado.

Os suínos de genótipo HAL<sup>Nn</sup> apresentam propriedades intermediárias na liberação de cálcio pelos receptores rianodina em relação a animais HAL<sup>NN</sup> e HAL<sup>nn</sup>. A súbita elevação de íons Ca<sup>++</sup> no sarcoplasma aumenta a velocidade de utilização do ATP muscular e da glicogenólise e com isso, a velocidade de declínio do pH é acelerada. A carne pode atingir valores iguais ou mesmo inferiores a 5,8 em menos de uma hora post mortem (pH<sub>4,5</sub> ± 5,8). Neste momento, a temperatura da carcaça encontra-se em torno de 36°C ou mais, dependendo dos estímulos recebidos pelo animal antes do abate e de como o animal responde aos mesmos. A consequência deste efeito é o aparecimento de músculos pálidos, flácidos que perdem muita água (ANTUNES, 2002).

Quanto a aparência da carne de suínos heterozigotos e homozigotos recessivos a mesma caracteriza-se pela baixa retenção de água, e cor pálida quando comparada com a de suínos de genótipo HAL<sup>NN</sup> (DE SMET et al., 1998). Segundo De Smet e colaboradores (1996), o gene Halotano não somente afeta a qualidade da carne de

suínos homocigotos recessivos ( $HAL^{nn}$ ), como também afeta a qualidade da carne de carcaças suínas heterocigotas  $HAL^{Nn}$  (SATHER et al., 1991). Os suínos heterocigotos apresentam um rendimento de carne significativamente maior que os homocigotos dominantes, e isso tem efeito significativo para a espessura de toucinho, mostrando que o genótipo  $HAL^{Nn}$  é superior ao genótipo  $HAL^{NN}$ , quanto à composição das carcaças (ANTUNES, 1997). Já as pesquisas realizadas por De Smet e colaboradores (1996) indicam que suínos de genótipo  $HAL^{nn}$  apresentaram carcaça com maior porcentagem de carne, porém com qualidade de carne inferior quando comparados com suínos  $HAL^{NN}$  e  $HAL^{Nn}$ . Quanto ao pH final, nenhuma diferença entre os três genótipos tem sido observada. Diferenças entre raças (Landrace Belga e Pietrain) e entre sexos (fêmeas e castrados) não foi importante quando comparado com o efeito do genótipo Halotano.

As alterações provenientes do gene Halotano na carne suína têm grande impacto econômico, uma vez que estas carnes são inadequadas para a industrialização e são de aspecto desagradável ao consumidor. Os principais músculos afetados são o lombo e pernil, os principais músculos da carcaça em termo de venda (ANTUNES, 1997).

A literatura apresenta contradição a respeito de ser recessiva ou aditiva a ação do gene Halotano sobre o desempenho e a qualidade da carne (ANTUNES, 1997; BRIDI et al., 2003). Comercialmente, o gene Halotano é de interesse porque melhora a conversão alimentar (ELLIS, 1998), aumenta o conteúdo de carne e diminui a deposição de gordura na carcaça (GISPERT et al., 2000). De Vries e colaboradores (1998) afirmaram que ainda não é possível chegar a uma conclusão definitiva em razão das grandes diferenças observadas nas condições de abate (interação genótipo x meio ambiente) e no tipo de processamento da carne nos vários trabalhos que estudaram o gene Halotano e sua influência sobre a qualidade da carne. Os autores sugeriram que a melhor estratégia ainda é eliminar o gene das linhas fêmea e monitorar nas linhas de machos terminais, o que é possível utilizando o teste de DNA desenvolvido por Fujii e colaboradores (1991).

Mesmo diante das contradições levantadas, a tendência, a longo prazo, é a eliminação do gene dos plantéis de seleção com o objetivo de reduzir ao máximo os riscos de estresse nos animais, que afetam diretamente o bolso do produtor, bem como garantir a produção de carne sem uma predisposição genética que possa comprometer suas qualidades até chegar no consumidor final. Essa premissa é particularmente importante para um país como o Brasil onde muito ainda precisa ser feito para melhorar as condições de manejo pré abate dos suínos. O eventual decréscimo na produção de carne, provocado pela retirada do gene Halotano, pode ser facilmente compensado pela incorporação de animais de raças e/ou linhas livres, com potencial de deposição de carne tão elevado quanto o verificado nos animais portadores do alelo Hal<sup>n</sup> (FÁVERO et al., 1997).

## **8. Carne Ácida**

As características de qualidade das “carnes ácidas” são semelhantes às das carnes PSE sendo detectadas porém, somente no final do resfriamento das carcaças, quando apresentam valores de pH final muito abaixo do normal, igual a 5,4 ou menos. A velocidade de declínio do pH nestas carnes é normal mas a intensidade com que ocorre o desdobramento do glicogênio muscular é muito maior do que em suínos normais. Por isso, esta característica se manifesta tardiamente após o abate (EMBRAPA, 2001).

O Gene Nápole está associado diretamente com as “carnes suínas ácidas”. Este gene, denominado “Rendimento Nápole”, é associado ao potencial glicolítico, que afeta a capacidade de retenção de água dos músculos ricos em fibras brancas causando perda de água (4–6%) durante o resfriamento e durante o cozimento provocando uma diminuição do rendimento tecnológico de produtos curados cozidos na ordem de 56% em comparação com carnes suínas normais (GARIÉPY et al., 1997).

## 8.1 Caracterização do Gene Rendimento Nápole

Primeiro observado na França por Monin e Sellier (1985), o gene Rendimento Nápole (RN) causa um efeito indesejável sobre carne suína. O gene afeta negativamente o ganho econômico no processamento de carne devido ao baixo rendimento na produção de presuntos resultantes de um pH final baixo, que leva diretamente à diminuição da capacidade de retenção de água (MOELLER et al., 2003).

A importância econômica da eficiência da produção, ganho da carcaça e qualidade muscular para a indústria de suínos resultou na necessidade de compreender melhor o impacto do gene sobre esses traços. Antes da descoberta da mutação causal e da disponibilidade de Técnicas de análise de DNA, os pesquisadores investigaram o Gene RN em suínos através de um método indireto para determinar o genótipo RN com base em uma medida de potencial glicolítico (GP) do músculo. A partir do trabalho de Milan e colaboradores (2000) foi desenvolvido um teste de DNA que permite identificar os animais portadores do gene RN<sup>-</sup>, o que permitiu eliminá-lo nos plantéis de seleção.

A produção de carne ácida está associada ao alelo dominante RN<sup>-</sup> na comparação com seu recessivo rn<sup>+</sup> (LUNDSTRÖM et al., 1998). Os animais com alto potencial glicolítico nos músculos são classificados como homozigotos dominantes (RN<sup>-</sup> RN<sup>-</sup>) ou heterozigotos (RN<sup>-</sup>rn<sup>+</sup>). Animais homozigotos recessivos (rn<sup>+</sup>rn<sup>+</sup>) são classificados como normais, produzindo carne com características de qualidade normais. O efeito do gene RN<sup>-</sup> se manifesta pelo aumento da concentração de glicogênio muscular, em torno de 70% acima do valor normal, no músculo *Longissimus dorsi*, típico “músculo branco” (SELLIER, 1995).

A presença da mutação dominante, chamado RN<sup>-</sup>, em suínos da raça Hampshire foi o primeiro reconhecimento dos grandes efeitos na carne de qualidade e processamento ocasionados pelo gene. A carne dos suínos RN<sup>-</sup> tem um baixo final pH (medida 24 horas após o abate), e reduzida capacidade de retenção de água. O alelo RN<sup>-</sup> foi encontrado apenas em porcos Hampshire, sendo provável que a mutação surgiu na raça e tem aumentado em frequência, devido aos seus efeitos favoráveis sobre a taxa de crescimento e conteúdo de carne da carcaça (MILAN et al., 2000). Até bem

pouco tempo acreditava-se tratar-se de um problema restrito a populações de Hampshire, porém um trabalho conduzido por Meadus e colaboradores (2000) no Canadá, mostrou a presença do gene RN<sup>-</sup> em populações comerciais de suínos brancos, provavelmente devido ao intenso uso de machos terminais da raça Hampshire (FÁVERO e PEREIRA DE FIGUEIREDO, 2009). O alelo RN<sup>-</sup> é de considerável importância econômica na suinocultura industrial, sendo desejado a eliminação da mutação por causa de seus efeitos negativos sobre o processamento da carne (MILAN et al., 2000).

De Vries e colaboradores (1998) referem-se a uma perda de 5 a 6% no processamento de presunto cozido derivado de genótipos portadores do gene RN<sup>-</sup>, além de uma perda significativa durante o fatiamento. O fato da frequência desse gene ser alta na raça Hampshire, levou alguns pesquisadores a identifica-lo como efeito Hampshire. Essa relação com a raça pode ser comprovada pelo estudo de Milan e colaboradores (2000), que encontraram uma frequência genotípica de 0,397 (RN<sup>-</sup>RN<sup>-</sup>), 0,466 (RN<sup>-</sup>rn<sup>+</sup>) e 0,137 (rn<sup>+</sup>rn<sup>+</sup>) nos suínos Hampshire e 100% de homocigotos normais (rn<sup>+</sup>rn<sup>+</sup>) nos suínos Yorkshire. Os mesmos autores mostram ainda que os animais RN<sup>-</sup>RN<sup>-</sup> e RN<sup>-</sup>rn<sup>+</sup> apresentaram baixo pH no lombo, menor gordura intramuscular, menor escore de marmoreio, maior percentagem de umidade no lombo e maior perda por gotejamento do que nos Hampshires de genótipo rn<sup>+</sup>rn<sup>+</sup> do que em Yorkshires. Esses achados caracterizam o grau de influência negativa do gene da carne ácida sobre a qualidade da carne.

Desde o seu descobrimento, muitos estudos têm sido realizados sobre o gene Rendimento Nápole. Estrade e colaboradores (1993a) com base em biópsias realizadas em suínos afetados pelo gene RN relataram uma alteração na aparência retículo sarcoplasmático, com acúmulo de glicogênio facilmente observado. Em outro estudo observou-se alteração na morfologia mitocondrial relacionada com fibras glicolíticas, que sugeriu uma modificação do metabolismo energético (ESTRADE et al, 1993b). Porém, as observações derivadas desses estudos não explicaram sobre a microestrutura da carne suína afetada com o gene RN<sup>-</sup>.



A presença do gene RN em suínos de ascendência Hampshire e o impacto do gene na qualidade de carne de porco tem sido demonstrados por um certo número de investigadores (ENFALT et al., 1997). Milan e colaboradores (2000) descreveu a mutação causal pelo alelo a RN<sup>-</sup>, permitindo a avaliação do genótipo direto e uma investigação mais aprofundada do efeito da mutação RN<sup>-</sup> em populações suínas.

Segundo Moeller e colaboradores (2003), o gene RN localiza-se no cromossoma 15 dos suínos, causando formação de depósitos elevados de glicogênio muscular e baixo pH final. Os danos que causa à qualidade da carne (maior perda de água por gotejamento e maior índice de refletância de luz devido à cor pálida da carne) assim como suas vantagens (maior rendimento de carne na carcaça) são semelhantes aos do gene Hal<sup>n</sup>. Diferencia-se, porém, por não apresentar queda de pH inicial tão brusca e por apresentar maior extensão da queda do pH final, que pode alcançar valores menores do que no caso da carne PSE, causando perdas maiores de água e menor rendimento de presunto cozido.

A principal questão observada na carne com presença do gene RN é um aumento acentuado no potencial glicolítico, devido ao acúmulo de glicogênio afetando o processo post-mortem, com desenvolvimento de carne PSE (JOSELL et al., 2000). Vários estudos têm indicado o gene PRKAG3 como um dos principais genes que causam variação da carne de porco no que se refere ao pH, coloração da carne e perda por gotejamento entre os animais. A proteína codificada pelo gene PRKAG3 do músculo esquelético é específico de células da subunidade reguladora gama 3 da proteína quinase AMP-ativada (AMPK). AMPK é um sensor de energia que, quando ativado em resposta a estresse metabólico celular, visa fosforilar e inativar as principais enzimas que regulam os envolvidos da biossíntese de ácidos graxos e colesterol. Uma mutação dominante identificada pelo gene PRKAG3 causa uma substituição de arginina por glutamina correspondente ao gene RN<sup>-</sup> (MILAN et al., 2000).

Outro polimorfismo observado é a substituição de isoleucina na posição 199 por valina, juntamente com a mutação no locus 200, implicando no acúmulo de glicogênio (CIOBANU et al., 2001). A mutação mais conhecida no PRKAG3 é a 200Q, encontrada

apenas na raça porco Hampshire. A substituição não conservada (R200Q) no gene PRKAG3, inicialmente caracterizada em suínos da raça Hampshire (MILAN et al., 2000), resultou num aumento de aproximadamente 70% no conteúdo de glicogênio muscular, com grandes efeitos na qualidade, rendimento e processamento da carne (LE ROY et al., 2000). O alelo 200Q provoca um alto conteúdo de glicogênio armazenado nos músculos esqueléticos brancos, que resulta em baixo pH muscular post mortem, fraca capacidade de retenção de água e baixo rendimento do processamento, fatores que influenciam na qualidade da carne (MILAN et al., 2000).

A incidência do gene RN tem sido relatada na Europa e na América do Norte (MEADUS et al., 1998), mas não existem relatos da outras regiões geográficas. Guevara (2005) relata uma incidência de 10,13% do gene RN<sup>-</sup> em um matadouro local em Chihuahua, México. Em alguns países, como o Canadá, a Suécia e os Estados Unidos são relatados para ter sido capaz de estabelecer zonas livres RN gene (FERNANDEZ e MONIN, 1994; MEADUS et al., 1998)

A indústria de suínos dos Estados Unidos tem mostrado um interesse crescente no gene Rendimento Napole (ENFALT et al., 1994; SUTTON, 1997). De acordo com Fernandez e colaboradores (1992) esse é um único gene dominante em que os animais portadores do alelo prejudicial (RN<sup>-</sup>) aumenta o glicogênio no interior do músculo, convertido em lactato em estado post-mortem, resultante em baixo pH final.

Alguns autores discutem a aceitação das características da carne afetada pelo gene RN por produzir um sabor mais suave, devido à sua acidez (GUEVARA, 2005). No entanto, essa não é uma aceitação generalizada e não é economicamente acessível. Atualmente, as indústrias e os produtores de suínos destinam-se a eliminar a frequência do gene RN, a fim de fornecer carne de qualidade superior.

## OBJETIVOS

### Geral

Identificar e estudar a presença de alterações gênicas nos genes Halotano e Rendimento Nápole em plantéis de suínos do Distrito Federal e Entorno.

### Específicos

- Detectar nas amostras coletadas o gene Halotano (HAL), com uso da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e, por meio do uso da técnica de Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP) com a enzima de restrição HhaI, identificar a presença de animais homocigotos normais ( $HAL^{NN}$ ), heterocigotos ( $HAL^{Nn}$ ) e homocigotos mutantes ( $HAL^{nn}$ );
- Detectar nas amostras coletadas em diferentes propriedades o gene Rendimento Nápole (RN), com uso da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e, por meio do uso da técnica de RFLP com a enzima de restrição BsrBI, identificar a presença de animais  $RN^-$  e os animais  $rn^+$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCS - Associação Brasileira de Criadores de Suínos. **História dos Suínos**. Disponível em: <http://www.abcs.org.br/producao/genetica/175-historia-dos-suinos>. Acesso em abril de 2014.

ABIPECS - Associação Brasileira da indústria Produtora e Exportadora da Carne Suína. **Relatório de Produção de Carne Suína de 2012**. Disponível em: <http://www.abipecs.org.br>. Acesso em 18 de janeiro de 2014.

ALBURQUERQUE, M.S.M., MARIANTE, A.S., CASTRO, S.T.R. E TROVO, J.B.F. 1990. **Projeto: Identificação e caracterização de grupamentos de suínos nacionais**. 1990. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pp.

AMILLS, MARCEL; CLOP, ALEX; RAMÍREZ, OSCAR; AND PE´REZ-ENCISO, MIGUEL (September 2010) **Origin and Genetic Diversity of Pig Breeds**. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0022884.

ANDRADE JÚNIOR, R.; NICOLAIEWSKY, S.; OURIQUE, J.M.R.; CULAU, P.O.V.; BRESSAN, M.C. **Análise de alguns fatores determinantes da qualidade da carne suína. I. Efeito da distância Granja-Frigorífico, tempo de descanso, sexo e peso vivo**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 22., 1992, Curitiba. Anais... Curitiba, 1992. p.216.

ANTUNES, R. C. **O efeito do genótipo HAL sobre o rendimento de carne em partes da carcaça de suínos cruzados**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1997. 64p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, 1997.

ANTUNES, R. C. **Efeito das Linhas Maternas e Paternas do Genótipo HAL e do Aminoácido Sintético Taurina Sobre a Qualidade da Carne de Suínos**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2002.

BASTOS, R. G., FEDERREZZI, J., DESCHAMPS, J. C., et al.. **Efeito do gene do estresse suíno sobre características de quantidade e qualidade de carcaça**. Rev. Bras. Zootec., 30(1):37-40, 2001.

BEATTIE, V.E. et al. **The effect of increasing carcass weight of finishing boars and gilts on joint composition and meat quality.** Meat Science, v.52, p.205-211, 1999.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v.1, n.22, p.98-104, 2002.

BRANDÃO, V. **Carne suína: história dos suínos.** Correio Gourmand. São Paulo, s.d. Disponível em: [http://correiogourmand.com.br/produtos\\_glossario\\_alimentos\\_carnes\\_mamiferos\\_porco\\_historia.htm](http://correiogourmand.com.br/produtos_glossario_alimentos_carnes_mamiferos_porco_historia.htm). Acesso em 12 maio 2014.

BRESSAN, M.C.; CULAU, P.O.V.; OURIQUE, J.M.R.; NICOLAIEWSKY, S. **Effect of between bleeding and the entry of carcasses in chilling chamber and chilling rates on pork quality.** In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 38., 1992. Clermont-Ferrand. Proceeding. Clermont-Ferrand, v.2, p.165-168. France, 1992.

BREWER, M.S. et al. **The effect of pig genetics on palatability, color and physical characteristics of fresh pork loin chops.** Meat Science, v.61, p.249-256, 2002.

BRIDI, A. M.; RÜBENSAM J. M.; NICOLAIEWSKY S.; LOPES R. F.; LOBATO, F.. **Efeito do genótipo halotano e de diferentes sistemas de produção na qualidade da carne suína.** Revista Brasileira de Zootecnia vol.32 no. 6 Viçosa Nov./Dec. 2003.

CIOBANU D., BASTIAANSEN J., MALEK M., HELM J., WOOLLARD J., PLASTOW G. ROTHSCHILD M.. **Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphateactivated.3-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality.** Genetics 159, 1151-1162. 2001.

CULAU, P.O.V.; OURIQUE, J.M.R.; NICOLAIEWSKY, S. **Incidence of PSE in commercial pig carcasses in Rio Grande do Sul state.** In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 40., 1994, The Hague. Abstracts... The Hague: ICoMST, 1994. S-IVA.01. 1994.

CULAU, P.O.V. **A contribuição do gene halotano sobre as características de qualidade da carne suína.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. 77p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999.

CULAU, P. O. V.; LÓPEZ, J.; RUBENSAM, J. M.; LOPES, R. F. F.; NICOLAIEWSKY, S. **Influência do Gene Halotano sobre a Qualidade da Carne Suína**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.2, p.954-961, 2002.

DAVOLI, R., BRAGLIA, S. **Molecular approaches in pig breeding to improve meat quality**. Briefing in Functional Genomics and Proteomics, January 2008, 9p.

DE SMET, S.M.; PAUWELS, H.; DE BIE, S. et al. **Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal and lairage on pork quality of Belgian slaughter pigs**. Journal of Animal Science, v.74, p.1854-1863, 1996.

DE SMET, S.M; BLOEMEN, H.; VOORDE, G., et al. **Meat and carcass quality in two pigs lines of different stress susceptibility genotype and their crosses**. Animal Science, Barking, v.66, n.2, p.441-447, 1998.

DE VRIES, A.G. et al. **The role of major genes and DNA technology in selection for meat quality in pigs**. Meat Science, v. 49, suppl. 1, s245-s255, 1998.

D'SOUZA, D.N.; DUNSHEA, F.R.; WARNER, R.D.; LEURY, B.J. **The effect of handling pre-slaughter and carcass processing rate post-slaughter on pork quality**. Meat Science, v.50, p.429-437, 1998.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária. Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína. - Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2001.253p.:(Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 69).

ELAM, T. E. **The world pork industry-rapid change and re-structurintr implications for a global pork makket**. In: Elanco Animal Health International Symposium. Indianápolis, Indiana, EUA, 1997.

ELLIS, M. **Genetic and nutritional influence on pork quality**. In: Simpósio sobre Rendimento e Qualidade da Carne Suína, 1., 1998, Concórdia. Anais... Concórdia: EMBRAPA, 1998. p.25-54.

ENFALT, A. C., K. LUNDSTROM, I. HANSSON, S. JOHANSEN, AND P. NYSTROM. **Comparison of non-carriers and heterozygous carriers of the RN-allele for carcass composition, muscle distribution, and technological meat quality in Hampshire-sired pigs**. Livest. Prod. Sci. 47:221–229. 1997.

ESTRADE, M., X. VIGNON Y G. MONIN. 1993a. **Effect of the RN gene on ultrastructure and protein fraction in pig muscle**. Meat Science. 35:313- 319.

ESTRADE, M., X. VIGNON, E. ROCK Y G. MONIN. 1993b. **Glycogen hyperaccumulation in white muscle fibres of RN- carrier pigs.** A biochemical and ultrastructural study. *Comp. Biochem. Physiol.* 104B:321-326.

FÁVERO, J.A. **Carne suína de qualidade: uma exigência do consumidor moderno.** *Porkworld.*, ano2, n.14, jul-ago/2003, p.56-65.

FÁVERO, J.A., COUTINHO, L.L., IRGANG, R. **Influência do gene Halotano sobre o desempenho produtivo de suínos.** In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, 7., 1997, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: ABRAVES, 1997, p. 395-396.

FÁVERO, J.A.; PEREIRA DE FIGUEIREDO, E.A. **Evolução do melhoramento genético de suínos no Brasil.** *Revista Ceres*, vol. 56, núm. 4, julho-agosto, 2009, pp. 420-427 Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil.

FERNANDEZ, X.; MONIN, G., 1994 **-A major gene affecting pork quality, the RN gene.** *Meat Focus International* 3(8), 332-334.

FERNANDEZ, X.; TORNBERG, J.; NAVEAU, A.; TALMANT, G. MONIN.1992. **Bimodal distribution of muscle glycolytic potential in French and Swedish populations of Hampshire crossbred pigs.** *J. Sci.Food Agric.* 59:307–311.

FREDDEN, H.T. **Selection limits: have they been reached with pigs?** *Canadian Journal of Animal Science*, v. 64, p. 223-234, 1984.

FREITAS, P.F.A. **Influência do gene halotano sobre a qualidade da carne suína em dois cruzamentos comerciais.**2009. 53 f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

FUJII, J.; OTSU, K.; ZORZATO, F. et al. **Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia.** *Science*, v.253, n.2, p.448-451, 1991.

GARIÉPY, C., GODBOUT, D., FERNANDEZ, X., TALMANT, A., & HOUDE, A. 1999. **“The effect of RN gene on yields and quality of extended cooked cured hams.”** *Meat Science*, 52, 57–64.

GISPERT, M.; FAUCITANO, L.; GUARDIA, M.D.; OLIVER, M.A.; SIGGENS, K.; HARVEY, K.; DIESTRE, A. **A survey on pre-slaughter conditions, halothane gene**

**frequency and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs.** Meat Science, v. 55, p.97-106, 2000.

GRANDIN, T. **Methods to reduce PSE and Blood splash.** Proc. Allen D. Lemay Swine Confr. University of MN. v.21, p.206-209, 1994.

GUEVARA, L.Q.I.Z. **Microestructura y Fracción Proteica de Carne con gen RN.** Tesis presentada como requisito parcial para acreditar el grado de Maestro en Ciencias - Universidad Autónoma de Chihuahua - Facultad de Zootecnia. México, 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal** – Brasil. Rio de Janeiro. v.34, 52 p, 2006.

IRGANG, R., PELOSO, J.V., ZANUZZO, A.J., LORANDI, A. **Rendimento e qualidade da carne de suínos machos castrados e fêmeas de diferentes genótipos paternos.** In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, 7., 1997, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: ABRAVES, 1997, p. 401-402.

JOSELL Í., MARTINSSON L., BOGAARD C., ANDERSEN J.R., TORNBORG E., **Determination of RN phenotype in pigs at slaughter-line using visual and near-infrared spectroscopy.** Meat Science 55, 273-278, 2000.

KRAUSE-KYORA, B.; MAKAREWICZ, C.; EVIN, A.; FLINK L. G.; DOBNEY, K.; LARSON, G.; HARTZ, S.; SCHREIBER, S.; BORNHEIM, C. C.; WURMB-SCHWARK, N.; NEBEL, A. **Use of domesticated pigs by Mesolithic hunter-gatherers in northwestern Europe.** Nature Communications. DOI: 10.1038/ncomms3348, 2013.

LATORRE, M.A. et al. **Effect of sex and terminal sire genotype on performance, carcass characteristics, and meat quality of pigs slaughtered at 117 kg body weight.** Meat Science, v.65, p.1369-1377, 2003.

LAVILLE, E.; SAYD, T.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; LABAS, M.M.R.; FRANCK, M.; CHAMBON, C.; MONIN, G. **Characterization of PSE zones in semimembranosus pig muscle.** Meat Science, v.7, n.1, p.167-172, 2005.

LE ROY, P.; ELSEN, J.M.; CARITEZ, J.C.; TALMANT, A.; JUIN, H.; SELLIER, P.; MONIN, G. **Comparison between the three porcine RN genotypes for growth, carcass composition and meat quality traits,** Genet. Sel. Evol. 32 (2000) 165–186.

LOVATTO, P.A. **Nutrição e alimentação, Suinocultura geral.** cap. 05 p.63-83, 2002.



LUNDSTRÖM K., ENFÄLT A.C., TORNBERG E., AGERHEM H., 1998 – **Sensory and technological meat quality in carriers of the RN- allele in Hampshire crosses and in purebred Yorkshire pigs.** Meat Science 48, 115-124, 2008.

MACHADO, L.C.P. **Tipificação e classificação porcina: importância como métodos para aferir o melhoramento suinícola.** 1961, 117p. Tese (Cátedra de Zootecnia Especial) – Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1961.

MAGANHINI, M.B.; MARIANO, B.; SOARES, A.L.; GUARNIERI, P.D.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I. **Carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) e DFD (Dark, Firm, Dry) em lombo suíno numa linha de abate industrial.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27(supl.), p.69-72, 2007.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de Legislação: Programas Nacionais de Saúde animal do Brasil.** Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. – Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2009.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Suínos.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>. Acesso em 22/04/2014.

MEADUS W.J., MCINNIS R., DUGAN M.E.R., 1998 – **The frequency of the PRKAG3 mutation (RN<sup>+</sup>) in the commercial pig population and its' cost to ham production,** Disponível em: [http //www.cpc-ccp.com/res/frequency\\_of\\_the\\_prkag3\\_mutation.htm](http://www.cpc-ccp.com/res/frequency_of_the_prkag3_mutation.htm). Acesso em 18 novembro 2013.

MILAN, D., J. T. JEON, C. LOOFT, V. AMARGER, A. ROBIC, M. THELANDER, C. ROGEL-GAILLARD, S. PAUL, N. IANNUCELLI, L. RASK, H. RONNE, K. LUNDSTROM, N. REINSCH, J. GELLIN, E. KALM, P. LE ROY, P. CHARDON, AND L. ANDERSSON. 2000. **A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle.** Science 288:1248–1251, 2000.

MOELLER, S. J.; BAAS, T. J.; LEEDS, T. D.; EMNETT, R. S.; IRVIN, K. M. **Rendement Napole gene effects and a comparison of glycolytic potential and DNA genotyping for classification of Rendement Napole status in Hampshire-sired pigs.** J ANIM SCI 2003, 81:402-410, 2003.

MONIN, G.; SELLIER, P. **Pork of low technological meat quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate postmortem period. The case of the Hampshire pigs.** MeatSci. 13:49–63, 1985.

MONTEIRO, J. M. C. **Desempenho, composição da carcaça e características de qualidade da carne de suínos de diferentes genótipos**. Tese Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Campus de Jaboticabal. 2007.

ODA, S. H. I.; BRIDI, A. M.; SOARES, A. L.; GUARNIERI, P. D.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) e DFD (Dark, Firm, Dry) em aves e suínos - diferenças e semelhanças**. Rev. Nac. Carne, v. 28, n. 325, p. 108-113, 2004.

O'NEILL D.J.; LYNCH, P.B.; TROY, D.J.; BUCKLEY, D.J.; KERRY, J.P. **Influence of the time of year on the incidence of PSE and DFD in Irish pig meat**. Meat Science, v.64, p.105-111, 2003.

OWEN, L.B.; MONTGOMERY, L.J.; RAMSEY, B.C. et al. **Preslaughter resting and hot-fat trimming effects on the incidence of pale, soft and exudative (PSE) pork and ham processing characteristics**. Meat Science, v.54, p.221-229, 2000.

PELOSO, J.V. **Qualidade da Carne**. Revista Suinocultura. Ind.138: 138-139, 1999.

ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H.J. **Factors of significance for pork quality: a review**. Meat Science, v 59, p. 397-406, 2001.

RUVINSKY, A.; ROTHSCHILD, M.F. Systematics and evolution of the pig, 1998. **The genetics of the pigs**, Wellinford, p. 1-16, 1998. Ed. M. F. ROTHSCHILD & A. RUVINSKY

SANTANA, B. A. A. BORGES, G. S. N., FRANCO, M. M., et al. . **Aplicação da genotipagem do gene halotano ao melhoramento genético suíno**. Anais... II Simpósio Nacional da SBMA, 453, 1998.

SAYRE, R. N.; BRISKEY, E. J.; HOEKSTRA, W. G. **Comparison of muscle characteristics and post-mortem glycolysis in the three breeds of swine**. Journal of Animal Science, v.22, p.1012-1020, 1963.

SATHER, A.P.; MURRAY, A.C; ZAWADSKI, S.M. et al. **The effect of the halothane genotype on pork production and meat quality of pigs reared under commercial conditions**. Canadian Journal of Animal Science, v.71, p.959-967, 1991.

SARCINELLI, M. F. BENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. Características da Carne Suína. Espírito Santo: Universidade Federal do Espírito Santo, 2007. 7p. (Boletim Técnico, PIE-UFES: 00907).

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Suinocultura carne in natura, embutidos e defumados**. Estudos de Mercado Sebrae/ESPM, Estudo Completo, Série Mercado, 2008.

SEE, M. T.; ROTHSCHILD, M. F.; CHRISTIANS C. J., **Swine Genetic Abnormalities**. April 26, 2010. Disponível em: <http://www.extension.org/pages/27432/swine-genetic-abnormalities>. Acesso em maio de 2013.

SELLIER, P. **Genetics of pork quality**. In: Conferência Internacional sobre Ciência e Tecnologia de Produção e Industrialização de Suínos, 1., 1995, Campinas. Anais ... Campinas: ITAL, 1995. p. 1–36.

SILVA FILHA, O.L. **Experiências Brasileiras na Criação de Suínos Locais**. Revista Computadorizada de Producción Porcina. Suínos nativos brasileiros/Local Brazilian pigs. Volumen 15 (número 1), 2008.

SILVEIRA, E.T.F. **Impacto da qualidade na industrialização da carne suína**. In: Conferência Internacional sobre Ciência e Tecnologia de Produção e Industrialização de Suínos, 2., 1996. Campinas. Anais....: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1996. p.99-122.

SUTTON, D. S. 1997. **The meat quality and processing characteristics of RN carrier and non-carrier pigs**. Ph.D. Thesis, Univ. of Illinois, Urbana.

VELARDE, A.; GISPERT, M.; FAUCITANO, L.; MANTECA, X.; DIESTRE, A. **The effect of stunning method on the incidence of PSE meat and hemorrhages in pork carcasses**. Meat Science, v.55, p.309-314, 2000.

WARRIS, P. **New developments in preslaughter handling of pigs**. In: Conferência Internacional sobre Ciência e Tecnologia de Produção e Industrialização de Suínos, 1., 1999, Campinas. Anais ...: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1995. p.81-107.

## CAPÍTULO II

### INTRODUÇÃO

Por décadas, a indústria e o comércio da carne suína preocuparam-se com a produção de carcaças com grande quantidade de carne, mas atualmente, o sistema de produção busca também metas para qualidade de carne. A suinocultura mundial está passando por grandes mudanças, nas quais os consumidores possuem uma maior capacidade de discriminação e não aceitam carnes de qualidade inferior, fazendo com que a indústria de carne torne disponível um produto com a qualidade sensorial compatível com a demanda e os requisitos dos consumidores (BRIDI et al. 2003).

Para tanto, o uso de linhagens suínas modernas vêm elevando a produtividade da suinocultura, tornando-a mais eficiente, reduzindo os custos de produção, com maior prolificidade das matrizes e redução da conversão alimentar dos cevalos. Para isso, as empresas de genética têm procurado combinar diferentes genótipos que imprimam características determinadas (SILVA, 2000).

Com o auxílio de estudos genéticos moleculares, características relacionadas ao produto final podem ser selecionadas, podendo analisar e modificar aspectos como a qualidade da carne, que representa uma das principais preocupações dos consumidores, cada vez mais exigentes (ANTUNES et al., 2001). Exemplos de seleção gênica podem ser encontrados com o estudo de dois principais genes que apresentam influência direta na qualidade tecnológica da carne, a saber: o gene Rendimento Nápole (gene RN<sup>+</sup>) e o gene Halotano (gene HAL) (ROSENVOLD e ANDERSEN, 2001).

O gene Halotano, além de determinar a maior predisposição a Síndrome do Estresse em Suínos (PSS), é responsável por carcaças com maior proporção de carne magra, mas relacionado à produção de carne pálida, macia e exsudativa (PSE) não somente afetando a qualidade da carne de suínos homocigotos recessivos (HAL<sup>nn</sup>),

como também a qualidade da carne de carcaças suínas heterozigotas HAL<sup>Nn</sup> (SATHER et al., 1991). Causa um problema grave para a industrialização de carnes, pois ambos os fenótipos animais quando expostos a fatores estressantes, podem apresentar alterações musculares, morte ou produzir carne PSE (FUJI et al. 1991). Mesmo em situações não críticas como quanto a espessura de toucinho, o genótipo HAL<sup>Nn</sup> é superior ao genótipo HAL<sup>NN</sup>, quanto à composição das carcaças (ANTUNES, 1997; DE SMET et al., 1998).

O gene Nápole é um gene dominante que caracteriza-se por causar um decréscimo no rendimento industrial durante o processamento de produtos curados e cozidos, devido ao baixo conteúdo de proteína na carne e a um pH último reduzido, provocado pelo alto conteúdo de glicogênio nas fibras brancas dos músculos. Foi denominado de RN<sup>-</sup> pelo fato de ter sido estudado pela primeira vez em avaliações do Rendimento Nápole de presuntos (MILAN et al., 2000).

A frequência desse gene é alta na raça Hampshire, o que levou alguns pesquisadores a identificá-lo como efeito Hampshire. Até bem pouco tempo acreditava-se tratar-se de um problema restrito a populações de Hampshire, porém um trabalho recente conduzido por Meadus e colaboradores (1998) no Canadá, mostrou a presença do gene RN<sup>-</sup> em populações comerciais de suínos brancos, provavelmente devido ao intenso uso de machos terminais da raça Hampshire. A partir do trabalho de Milan e colaboradores (2000), foi desenvolvido um teste de DNA que permite identificar os animais portadores do gene RN<sup>-</sup>, o que permite eliminá-lo nos plantéis de seleção (MILAN et al., 2000; MOELLER et al., 2003; GUEVARA, 2005).

Este trabalho teve como objetivo a identificação da presença dos genes Halotano (HAL) e Rendimento Nápole (RN) em rebanhos suínos do DF e Entorno, utilizando a técnica de reação de polimerização em cadeia do DNA (PCR) seguida da técnica do estudo de polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. Animais Utilizados**

Os animais utilizados no experimento foram originados de duas diferentes propriedades (denominadas origem A e B), que apresentavam distintas finalidades de produção, e de um frigorífico do Distrito Federal e Entorno (denominado origem C). Foram obtidas 52 amostras de sangue de suínos. As amostras foram organizadas em 3 grupos, de acordo com a origem dos animais:

**a) ORIGEM A** – 10 animais cruzados, pertencentes à propriedade da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia da Fazenda Sucupira. A propriedade consistia na produção de suínos localmente adaptados, com predominância de animais da raça Moura, Piau.

**b) ORIGEM B** – 10 animais cruzados, originários de propriedade da Escola Agrotécnica do Instituto Federal de Brasília (IFB), com produção baseada para fins comerciais e de pesquisa. Os animais eram mestiços, oriundos da raça branca industrial.

**c) ORIGEM C** – 32 animais cruzados, oriundos de frigorífico localizado no Distrito Federal. Os animais abatidos são provenientes de diferentes criadouros do sistema de integração de uma empresa comercial, sendo os animais levados na fase de recria e terminação para a mesma propriedade. Assim, os animais abatidos foram trazidos de uma mesma propriedade. Os suínos eram mestiços e de raça branca industrial.

### **2. Coleta e Processamento das Amostras Sanguíneas**

Os animais foram escolhidos de forma aleatória, independentemente de idade, raça, sexo ou condição clínica. Foram coletadas 52 amostras de sangue de suínos de diferentes origens em tubo coletor estéril, contendo solução anticoagulante, previamente identificado, concomitantemente à coleta de dados do animal. As amostras

foram armazenadas em bolsa refrigerada até o transporte ao Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária (MicroMedVet) da UnB, onde foram armazenadas em geladeira e posteriormente processadas.

Para a realização da análise molecular, reação em cadeia de polimerase (PCR), foi extraído DNA genômico das amostras de sangue com kits comerciais, Purelink® e GE Healthcare® seguindo as recomendações dos fabricantes. O DNA extraído ficou armazenado a -20°C até o momento da realização da PCR.

### 3. Detecção dos Genes Halotano e Rendimento Nápole pela técnica de Reação de Polimerização em Cadeia do DNA (PCR)

Na PCR, para os genes Halotano e Rendimento Napole foram utilizados oligonucleotídeos descritos na Tabela 1:

**Tabela 1:** Gene de origem, sequência de oligonucleotídeos, tamanho dos produtos de amplificação e referência bibliográfica das reações de PCR utilizadas

Gene	Primer	Sequência 5´-3´	Tamanho do produto	Referência
Halotano	MH-F	5'-GTTCCCTGTGTGTGTGCAATGGTG-3'	81pb	Fujii et al., 1991
	MH-R	5'-ATCTCTAGAGCCAGGGAGCAAGTTCTCAGTAA T-3'		
Rendimento Nápole	NAP-F	5'-GAGGCCCAAATAAGTCAATGTA-3'	616pb	Moeller et al., 2003
	NAP-R	5'-ACCGGGGTCAAATGCTC-3'		

#### 3.1. Gene Halotano (HAL)

Para a determinação do genótipo Halotano, utilizou-se o par de oligonucleotídeos específicos (primers) para a amplificação da sequência de DNA do gene do receptor rianodina suíno, conforme descrito na Tabela 1 (FUJII et al., 1991).

Após a incubação, 2µL de cada DNA extraído foram adicionados a tubos com 23µL de uma solução contendo: 2,5µL tampão (Platinum®) 10XPCR (200 mM Tris-HCl (pH 8,4), 500 mM KCl); 1µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 0,25µL da solução dNTP; 0,25µL de Taq DNA polimerase (Platinum®); 1µL de cada oligonucleotídeo, descritos na Tabela 4 (*forward e reverse*); e 17µL de água ultrapura estéril. As amostras contendo o volume de 25µL da reação foram acondicionadas no termociclador automático e submetidas ao seguinte protocolo de amplificação por PCR: a) 94°C por 5 minutos; b) 40 ciclos consecutivos de 94°C por 1 minuto, 56°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto; e c) 72°C por 8 minutos (CULAU et al, 2002). As amostras foram colocadas em um termociclador da marca BIO-RAD®. A desnaturação, extensão e anelamento sofrem variações de acordo com cada primer.

Os produtos da amplificação da PCR foram submetidos à eletroforese (Biotech®) em gel de agarose a 1,8%. A eletroforese foi realizada em cuba horizontal (Major Science®) com a fonte ajustada para 80V; 95mA; 100W por 40 minutos. Foi utilizado como padrão de massa molecular de 100bp (EasyGen®). Em seguida o gel foi banhado em uma solução de água destilada com Brometo de Etídio (5mg/ml) por 20 minutos e posteriormente submetido à luz ultravioleta em transiluminador (UVP®), para a visualização das amplificações. O aparecimento de bandas, de acordo com a visualização da altura dos pares de bases esperadas, foi considerado o parâmetro para classificar as amostras como positivas e submetê-las à posterior digestão.

Para realizar a digestão do Gene Halotano, após a amplificação do DNA por PCR, foram adicionados a cada 10µL de amostra amplificada do gene HAL 10U (1µL) de enzima HhaI (Amersham Life Science®), 2µL de tampão de reação 10X HhaI e 7µL de água ultra pura estéril, perfazendo um volume final de 20µL. Os tubos foram submetidos à incubação à 37°C por 90 minutos e 65°C por 10 minutos (BRIDI et al., 2003). Os 20µL de amostra, contendo o DNA amplificado por PCR e submetidos ao ensaio de restrição com HhaI, foram levados à eletroforese em gel de agarose 3% em tampão TBE 0,5X (SAMBROOK et al., 1989).



A digestão do amplicon de 81pb, com a enzima de restrição Hhal, produz dois fragmentos de 49 e 32pb para animais homozigotos normais (HAL<sup>NN</sup>), três fragmentos de 49, 32 e 81pb para heterozigotos (HAL<sup>Nn</sup>) e somente um fragmento de 81pb para indivíduos homozigotos mutantes (HAL<sup>nn</sup>) (BRIDI et al., 2003).

### 3.2. Gene Rendimento Nápole (RN)

O teste de PCR para determinar o genótipo Rendimento Nápole foi projetado conforme Moeller (2003) que utilizou informações de sequência disponível no GenBank (adesão No. AF214521). O par de oligonucleotídeos específicos para a reação de amplificação da sequência de DNA do Nápole, conforme descrito na Tabela 1, foram concebidos para amplificar uma região de 616pb, incluindo a substituição não conservativa R200Q no domínio cistationina  $\beta$  - sintase - 1 da isoforma PRKAG3 e reguladora da subunidade de adenosina 5' - monofosfato ativado por proteína quinase (MILAN et al., 2000).

As reações de PCR para o gene Rendimento Nápole foram realizadas utilizando 2 $\mu$ L de DNA genômico extraído, 2,5 $\mu$ L de tampão de PCR (200 mM Tris-HCl (pH 8,4), 500 mM KCl), 1 $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0,25 $\mu$ L de dNTPs, 1 $\mu$ L de cada oligonucleotídeos (primers) *forward* e *reverse* (citados na tabela 4), 0,25 $\mu$ L de *Taq* DNA polimerase (Platinum®) e 17 $\mu$ L de água ultrapura estéril. A reação contendo 25 $\mu$ L, após um período de incubação inicial de 4 minutos a 94°C, o perfil de ciclos térmicos foi repetido 35 vezes, sob as seguintes condições: desnaturação a 94°C durante 45 segundos, anelamento a 62°C durante 1 minuto e extensão a 72°C durante 1,5 minuto. Um período de incubação final de 5 minutos a 72°C, seguidos por uma espera a 4°C para uma completa amplificação (MOELLER et al. 2003). Para a amplificação das amostras utilizou-se um termociclador da marca BIO-RAD®.

Posteriormente, os produtos das PCRs foram analisados por eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídiol por 20 minutos e observados sob transiluminador (UVP®), de fluorescência ultravioleta. Utilizou-se marcador molecular (EasyGen®) com intervalos de pesos moleculares de 100pb. Sendo que o

aparecimento de bandas na altura dos pares de bases esperadas foi considerado o parâmetro para classificar as amostras como positivas.

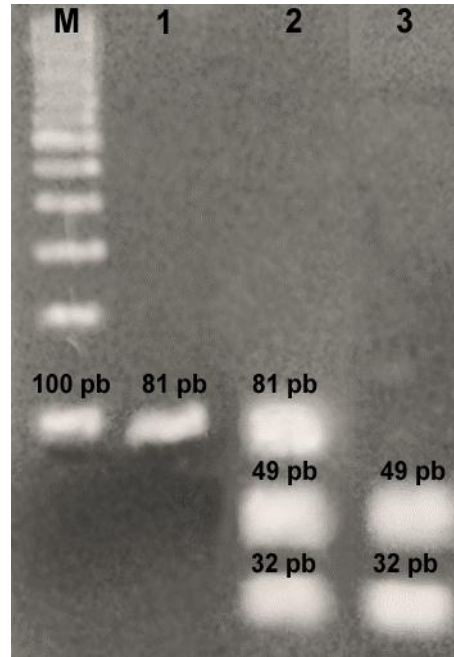
Após a PCR, 10µL do produto de PCR foi digerido com 1µL de endonuclease de restrição BsrBI (New England Biolabs®), 2µL de tampão de 10X (50 mM Potassium Acetate, 20 mM Tris-acetate, 10 mM Magnesium Acetate, 100 µg/ml BSA, pH 7,9) e 7µL de água. A substituição não conservativa do nucleotídeo A/G introduz um sítio de restrição na sequência, para a determinação do genótipo Nápole, permitindo a separação dos fragmentos de restrição via eletroforese em gel de agarose (1,8%), seguido por coloração com brometo de etílico e visualização sob luz UV (MOELLER et al., 2003).

A digestão do amplicon de 616pb, com a enzima de restrição Bsrbl, produz dois fragmentos de aproximadamente 200 e 416pb para animais homozigotos normais ( $rn^+$ ), e somente um fragmento de 616pb para indivíduos homozigotos mutantes ( $RN^-$ ).

## RESULTADOS

### 1. Detecção do Genótipo Halotano (HAL) pela técnica de PCR

De 52 amostras analisadas, 39 (75%) foram detectadas de suínos com genótipo Halotano Normal ( $HAL^{NN}$ ), sendo destes 8 (15,5%) da origem A, 6 (11,5%) da origem B e 25 (48%) da origem C; 11 (21,1%) de animais heterozigotos ( $HAL^{Nn}$ ), nos quais 1 (1,9%) da origem A, 3 (5,8%) da origem B e 7 (13,4%) da origem C; e 2 (3,8%) de genótipo Halotano Recessivo ( $HAL^{nn}$ ), sendo 1 (1,9%) da origem A e 1 (1,9%) da origem B.



**Figura 1:** Eletroforese em gel de agarose 0,03% corado com brometo de etídio do gene HAL amplificado por PCR e digerido com a enzima Hhal. M) marcador molecular de 100pb; 1) Fragmento de 81pb de animal homocigoto recessivo ou mutante ( $HAL^{nn}$ ); 2) Fragmentos de 81pb, 49pb e 32pb de animal heterocigoto ( $HAL^{Nn}$ ); 3) Fragmentos de 49pb e 32pb de suíno homocigoto dominante ( $HAL^{NN}$ ).

**Tabela 2:** Frequência genotípica do Gene Halotano de 52 suínos oriundos da coleta em três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno

Origem	GENOTIPO						TOTAL	%
	$HAL^{NN}$	%	$HAL^{Nn}$	%	$HAL^{nn}$	%		
<b>A</b>	8	15,5	1	1,9	1	1,9	10	19,2
<b>B</b>	6	11,5	3	5,8	1	1,9	10	19,2
<b>C</b>	25	48	7	13,4	0	0	32	61,6
<b>TOTAL</b>	39	75	11	21,1	2	3,8	52	100

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, 80% dos animais analisados da origem A, caracterizada por suínos localmente adaptados, apresentaram

genótipo normal ( $HAL^{NN}$ ), enquanto que os outros 20% analisados apresentaram a presença do alelo n, proveniente de animais de genótipo  $HAL^{Nn}$  e  $HAL^{nn}$ . Na origem B, 40% dos animais analisados foram provenientes do alelo n e 60% apresentaram o genótipo Halotano homocigoto dominante ( $HAL^{NN}$ ). Já na origem C, 78% dos animais analisados apresentaram o gene Halotano normal ( $HAL^{NN}$ ). Assim, dos animais mestiços brancos analisados, pertencentes às origens B e C, 31 animais (73,8%) apresentaram genótipo normal para o gene Halotano, NN, enquanto que o restante (26,1%) apresentou pelo menos um alelo recessivo n para o genótipo analisado.

**Tabela 3:** Frequência do genótipo  $HAL^{NN}$  e do alelo n do Gene Halotano de 52 suínos oriundos três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno

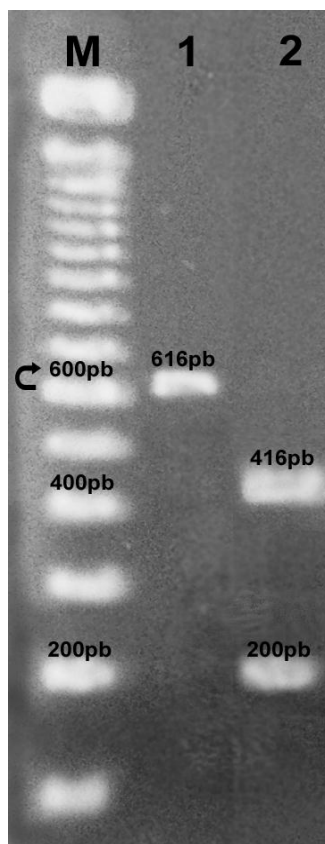
Origem	GENOTIPO					
	$HAL^{NN}$	%	Alelo n	%	TOTAL	%
<b>A</b>	8	80	2	20	10	100
<b>B</b>	6	60	4	40	10	100
<b>C</b>	25	78	7	22	32	100
<b>TOTAL</b>	39	75	13	25	52	100

Com relação aos animais testadas, a presença da mutação do genótipo Halotano ( $HAL^{nn}$ ) foi detectada em 1 animal (2%) da raça Moura, proveniente da origem A, e outro em animal (2%) mestiço branco, pertencente à origem C, conforme representado na Tabela. O alelo  $HAL^n$  esteve presente em 2 animais da raça Moura e em 11 suínos mestiços brancos, pertencentes às origens B e C.

## 2. Detecção do Genótipo Rendimento Nápole (RN) pela técnica de PCR

Para o genótipo Rendimento Nápole, das 52 amostras analisadas, 44 (84,6%) apresentaram a digestão do fragmento original de 616pb com a enzima BsrBI originando 2 fragmento de aproximadamente 416pb e 200pb ( $rn^+$ ), sendo 8 (15,3%) da

origem A, 9 (17,3%) da origem B e 27 (52%) da origem C. Com relação às 8 amostras restantes, equivalentes a 15,4% do total, não houve digestão, mantendo o fragmento original com 616pb (RN<sup>-</sup>). Destas, 2 (3,8%) foram da origem A, 1 (1,9%) da origem B e 5 (9,6%) da origem C.



**Figura 2:** Eletroforese em gel de agarose 0,018% corado com brometo de etídio do gene RN amplificados por PCR e digeridos com a enzima BsrBI. M) marcador molecular de 100pb; 1) Fragmento com 616pb referente ao genótipo RN<sup>-</sup>; 2) Fragmentos com aproximadamente 200pb e 416pb após digestão, referentes ao genótipo rn<sup>+</sup>.

**Tabela 4:** Frequência genotípica do Gene Rendimento Nápole de 52 suínos oriundos da coleta em três diferentes origens do Distrito Federal e Entorno

Origem	GENOTIPO				TOTAL	%
	RN <sup>-</sup>	%	rn <sup>+</sup>	%		
A	2	3,8	8	15,3	10	19,2
B	1	1,9	9	17,3	10	19,2
C	5	9,6	27	52	32	65,6
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>15,4</b>	<b>44</b>	<b>84,6</b>	<b>52</b>	<b>100</b>

Segundo os dados apresentados na Tabela 5, dos suínos localmente adaptados testados, pertencentes à origem A, 20% apresentaram genótipo RN<sup>-</sup>, enquanto que dos animais mestiços brancos analisados, oriundos das origens B e C, 14% ou 6 dos suínos foram provenientes do genótipo indicador de carne ácida, RN<sup>-</sup>. Deste resultado, pertencem a origem C 5 animais, perfazendo-se um total de 15,6% dos suínos testados desta origem.

**Tabela 5:** Frequência do genótipo Rendimento Nápole (RN) em animais localmente adaptados e mestiços brancos de 52 suínos oriundos de coleta do Distrito Federal e Entorno

Suínos	GENOTIPO				TOTAL	%
	RN <sup>-</sup>	%	rn <sup>+</sup>	%		
<b>LOCALMENTE ADAPTADOS</b>	2	20	8	80	10	100
<b>MESTIÇOS BRANCOS</b>	6	14	36	86	10	100
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>15,4</b>	<b>44</b>	<b>84,6</b>	<b>52</b>	<b>100</b>

A presença de fragmento de 616pb para o genótipo Rendimento Nápole (RN<sup>-</sup>), característico de carnes ácidas, foi detectada em 2 suínos (4%) da origem A, um da raça Moura e outro da raça Piau; e em 6 animais (12%) mestiços brancos, sendo que 1 (2%) é oriundo da propriedade B e 5 (10%) da propriedade C (Tabela 5).

### 3. Genótipo Halotano x Genótipo Rendimento Nápole

O resumo dos resultados apresentados pelos genótipos Halotano (HAL) e Rendimento Nápole (RN) estão representados em anexo. A análise da população total utilizada no estudo mostra que 1 animal (2%), pertencente a propriedade A caracterizado da raça Moura, apresentou genótipo Halotano recessivo ou mutante ( $HAL^{nn}$ ) e genótipo Rendimento Nápole ( $RN^{\cdot}$ ) com produção de 1 fragmento de 616pb.

Cruzando-se a produção do alelo  $n$  presente no gene Halotano ( $HAL^n$ ) com a produção de 1 fragmento de 616pb do gene RN, nota-se que a prevalência de 1 animal (2%), pertencente a propriedade C caracterizada com animais híbridos comerciais.

## DISCUSSÃO

Os resultados encontrados neste trabalho para o genótipo Halotano, a partir das 52 amostras analisadas, com a detecção de 75% de suínos com genótipo Halotano Normal ( $HAL^{NN}$ ), 21,1% de animais heterozigotos ( $HAL^{Nn}$ ) e 3,8% de genótipo Halotano Recessivo ( $HAL^{nn}$ ) diferem dos estudos realizados por Bridi e colaboradores (2003). Esses pesquisadores ao analisar 96 suínos machos castrados da genética AGROCERES®, encontraram 50% dos animais com o genótipo  $HAL^{NN}$  e 50% de suínos heterozigotos ( $Hal^{Nn}$ ). Assim, o estudo não aponta animais do genótipo Halotano mutante ( $HAL^{nn}$ ). O mesmo ocorre nas pesquisas relatadas por Freitas (2009), que analisando 115 carcaças de suínos híbridos, com presença das raças Pietran e Duroc, para o genótipo halotano, detectou que 46 (40%) foram provenientes de animais  $HAL^{NN}$ , 69 (60%) de  $HAL^{Nn}$  e nenhuma (0%) do genótipo recessivo  $HAL^{nn}$ . A explicação para a divergência nos dados encontrados por esses pesquisadores e aqueles obtidos neste trabalho pode estar na adoção de medidas de controle para o gene Halotano nas propriedades analisadas.

Já outros resultados apontados nos estudos realizados por Culau e colaboradores (2002), Pormmiee e Houde (1993), Luercee colaboradores (2009) demonstram maior relação com os dados encontrados neste trabalho, com a presença de suínos homozigotos recessivos ou mutantes ( $Hal^{nn}$ ). Culau e colaboradores (2002), ao genotipar 151 carcaças analisadas, encontrou 93 carcaças (61,59%) provenientes de suínos com genótipo Halotano normal ( $Hal^{NN}$ ), 51 de carcaças (33,77%) de suínos heterozigotos ( $Hal^{Nn}$ ) e 7 carcaças (4,64%) de suínos com genótipo halotano recessivo ( $Hal^{nn}$ ). Enquanto que Pormmiee e Houde (1993) encontraram 88,4% de  $HAL^{NN}$ , 11% de  $HAL^{Nn}$  e 0,6% de  $HAL^{nn}$ . Dos 165 animais testados para a presença do Gene Halotano no estudo realizado por Luerce e colaboradores (2009), 49% eram NN, 50% Nn e 1% foi nn. Segundo o relatado pelo autor, a alta frequência do alelo n é o resultado das diferentes raças utilizadas no programa de melhoramento em fazendas comerciais.

A presença de animais de genótipo mutante também foi citado por outros pesquisadores. Bastos e colaboradores (2001) relataram que a frequência genotípica do gene HAL na população estudada foi de 84 (52,58%) animais NN, 67 (41,80%) Nn e 9 (5,62%) nn. Outro estudo em uma população de suínos escolhida aleatoriamente, a frequência do gene HAL foi de 23% para  $HAL^{Nn}$  e 1,8% para animais  $HAL^{nn}$  (MURRAY et al.,1989), Zang e colaboradores (1992) estudando 131 suínos de sete grupos raciais diferentes e de três genótipos diferentes para o gene Halotano, observaram 48 animais do genótipo Halotano homozigoto positivo ( $HAL^{nn}$ ) e 83 suínos dentre os genótipos  $HAL^{NN}$  e  $HAL^{Nn}$ . Este elevado número de trabalhos e pesquisadores que relataram os dados com a presença do genótipo  $HAL^{nn}$ , bem como do genótipo  $HAL^{Nn}$ , pode refletir o fato que o alelo n e as características indesejadas provocadas pelo gene Halotano ainda estão no plantel de suínos mundial.

Os dados encontrados neste trabalho demonstraram que 80% dos animais suínos localmente adaptados apresentaram genótipo  $HAL^{NN}$ , enquanto que os outros 20% analisados apresentaram a presença do alelo n. Dos animais mestiços brancos analisados, 73,8% apresentaram genótipo  $HAL^{NN}$  e os outros 26,1% apresentaram pelo



menos um alelo recessivo  $rn$  para o genótipo analisado. Os dados sugerem que os critérios de seleção e melhoramento genético deverão permanecer, já que as alterações provenientes deste gene na carne suína têm grande impacto econômico, uma vez que estas carnes são inadequadas para a industrialização e são de aspecto desagradável ao consumidor, sendo genótipo  $HAL^n$  indicativo da presença de carnes do tipo PSE ou de animais PSS.

Quanto aos dados obtidos neste trabalho para o gene Rendimento Nápole (RN), das 52 amostras analisadas, 84,6% apresentaram a digestão do fragmento original de 616pb com a enzima BsrBI originando 2 fragmento de aproximadamente 416pb e 200pb ( $rn^+$ ). Em 15,4% das amostras testadas, não houve digestão, mantendo o fragmento original com 616pb ( $RN^-$ ). Esses dados encontrados diferem dos resultados apresentados por Moeller e colaboradores (2003) na avaliação do Genótipo RN, pelo fato dos animais serem da raça Hampshire ou mestiços dessa raça. Os estudos realizados pelos pesquisadores utilizaram testes de PCR-RFLP, em progênie descendentes de cruzamentos com suínos da raça Hampshire, com identificação de 81 animais apresentando genótipo  $RN^-$ , os quais apresentam o genótipo positivo para o gene Rendimento Nápole, e 37 suínos normais, de genótipo  $rn^+$ .

Já o trabalho desenvolvido por Guevara (2005), utilizando-se a sequência de NAP-F 5'-GGAACGATTCACCTCAACT-3' e NAP-R 5'-AGCTCTGCTTCTTGCTGTCC-3', produto de PCR de 114pb que inclui os códons 199 e 200 do gene PRKAG3, obteve maior correlação com os resultados e a origem das amostras observadas neste trabalho, mesmo com a utilização de primers diferentes daqueles utilizados neste trabalho. Utilizando-se do sitio da mutação R200Q com a digestão pela enzima de restrição BsrBI (Biolabs), o pesquisador identificou que os animais normais ( $rn^+$ ) resultaram em uma sequência com dois fragmentos de 81pb e 33pb e que a frequência do gene  $RN^-$  testado, considerado o gene associado a presença da carne ácida, foi de 4,6%. Estes dados demonstram compatibilidade aos achados deste trabalho, provavelmente devido à origem dos animais. Os resultados obtidos por meio dos suínos

mestiços brancos da origem C, oriundos de um frigorífico comercial, demonstraram que 9,6% destes animais apresentaram o genótipo associado à carne acida.

A população analisada neste trabalho para o genótipo Rendimento Nápole, com a detecção um animal da raça Moura e outro da raça Piau de genótipo RN<sup>-</sup>, que apresenta forte relação com as carnes ácidas, sugerem que estes animais podem ter sido oriundos de cruzamentos com animais industrializados, ou que ainda a presença do genótipo RN<sup>-</sup> também pode ser encontrada nestas raças, além da Hampshire. Já a presença de 12% do genótipo RN<sup>-</sup> nas raças industrializadas analisadas sugere que os programas de seleção e melhoramento genético deverão permanecer, com o intuito de controlar e eliminar a produção de carnes ácidas no plantel brasileiro.

## **CONCLUSÃO**

Com a realização do presente trabalho, foi possível concluir que os genes Halotano e Rendimento Nápole estão presentes em plantéis de suínos do Distrito Federal e Entorno.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, R.C. **O efeito do genótipo hal sobre o rendimento de carne em partes da carcaça de suínos cruzados.** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1997. 64p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, 1997.

ANTUNES RC, BORGES M, GOULART FILHO LR, FRANCO MM, et al. (2001). **Uma nova metodologia para estimar o rendimento de carne magra na carcaça de suínos de maneira rápida, simples e confiável.** Rev. Tec. Carnes 3: 27-32.

BASTOS, R. G., FEDEREZZI, J., DESCHAMPS, J. C., et al.. **Efeito do gene do estresse suíno sobre características de quantidade e qualidade de carcaça.** Rev. Bras. Zootec., 30(1):37-40, 2001.

BRIDI, A. M.; RÜBENSAM J. M.; NICOLAIEWSKY S.; LOPES R. F. F.; LOBATO. **Efeito do genótipo halotano e de diferentes sistemas de produção na qualidade da carne suína.** Revista Brasileira de Zootecnia vol.32 no. 6 Viçosa Nov./Dec. 2003.

CULAU, P. O. V.; LÓPEZ, J.; RUBENSAM, J. M.; LOPES, R. F. F.; NICOLAIEWSKY, S. **Influência do Gene Halotano sobre a Qualidade da Carne Suína.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.2, p.954-961, 2002.

DE SMET, S.; BLOEMEN, H.; VOORDE, G., et al. Meat and carcass quality in two pigs lines of different stress susceptibility genotype and their crosses. Animal Science, Barking, v.66, n.2, p.441-447, 1998.

FÁVERO, J.A., COUTINHO, L.L., IRGANG, R. **Influência do gene Halotano sobre o desempenho produtivo de suínos.** In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, 7., 1997, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: ABRAVES, 1997, p. 395-396.

FREITAS, P.F.A. **Influência do gene halotano sobre a qualidade da carne suína em dois cruzamentos comerciais.** 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

FUJII, J.; OTSU, K.; ZORZATO, F. et al. **Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia.** Science, v.253, n.2, p.448-451, 1991.

GUEVARA, L.Q.I.Z. **Microestructura y Fracción Proteica de Carne com gen RN.** Tesis presentada como requisito parcial para acreditar el grado de Maestro em Ciencias - Universidad Autónoma de Chihuahua - Facultad de Zootecnia. México, 2005.

LUERCE, T. D.; GALLI V.; CERQUEIRA, G. M.;SIMIONATTO, S.; DELLAGOSTIN, O. A. **An improved method for characterization of the mutation associated to porcine stress syndrome by PCR amplification followed by restriction analysis.** Ciência Rural, Santa Maria, V39, p. 1577-1580, ago, 2009.

MEADUS W.J., MCINNIS R., DUGAN M.E.R., 1998 – **The frequency of the PRKAG3 mutation (RN) in the commercial pig population and its' cost to ham production.** At: [http //www.cpc-ccp.com/res/frequency\\_of\\_the\\_prkag3\\_mutation.htm](http://www.cpc-ccp.com/res/frequency_of_the_prkag3_mutation.htm), Acesso em Maio 2014.

MILAN, D., J. T. JEON, C. LOOFT, V. AMARGER, A. ROBIC, M. THELANDER, C. ROGEL-GAILLARD, S. PAUL, N. IANNUCELLI, L. RASK, H. RONNE, K. LUNDSTROM,N. REINSCH, J. GELLIN, E. KALM, P. LE ROY, P. CHARDON, AND L. ANDERSSON. 2000. **A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle.** Science 288:1248.

MOELLER, S. J.; BAAS, T. J.; LEEDS, T. D.; EMNETT, R. S.; IRVIN, K. M.; **Rendement Napole gene effects and a comparison of glycolytic potential and DNA genotyping for classification of Rendement Napole status in Hampshire-sired pigs.** J ANIM SCI 2003, 81:402-410.

MURRAY, A.C., JONES, S.D.M., SATHER, A.P. 1989. **The effect of preslaughter feed restriction and genotype for stress suscetibility on pork quality and composition.** Can. J. Anim. Sci., 69:83-91.

POMMIER, S. A. HOUDE, A. 1993. **Effect of the genotype for malignant hyperthermia as determined by a restriction endonuclease assay on the quality characteristics of commercial pork loins.** J. Anim. Sci. 71: 420–425.

ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H.J. **Factors of significance for pork quality: a review.** Meat Science, v 59, p. 397-406, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989. v. 3.

SATHER, A.P.; MURRAY, A.C; ZAWADSKI, S.M. et al. **The effect of the halothane genotype on pork production and meat quality of pigs reared under commercial conditions**. Canadian Journal of Animal Science, v.71, p.959-967, 1991.

SILVA, T.B. **Estudo Comparativo de Carcaças de Suínos dos diferentes Grupos genéticos produzidos na Região Centro-Sul do Paraná**. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, 2000.

ZHANG, W.; KUHLLERS, D. L.; REMPEL, W. E. **Halothane gene and swine performance**. J. Anim. Sci., Champaign, v. 70, n. 5, p. 1307-1313, 1992.

## ANEXO A

**Tabela 5:** Apresentação dos resultados de acordo com as propriedades, animais coletados, raça e a frequência genotípica do Gene Halotano e Rendimento Nápole de 52 suínos provenientes da coleta de sangue de propriedades do Distrito Federal e Entorno

RESULTADO				
Propriedade	Animal	Raça	Genótipo Halotano	Genótipo Rendimento Nápole
PROPRIEDADE A	1	Moura	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	2	Moura	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
	3	Piau	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	4	Moura	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	5	Piau	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	6	Piau	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	7	Piau	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	8	Moura	HAL <sup>nn</sup>	RN <sup>-</sup>
	9	Piau	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	10	Piau	HAL <sup>NN</sup>	RN <sup>-</sup>
PROPRIEDADE B	11	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
	12	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	RN <sup>-</sup>
	13	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
	14	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	15	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	16	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	17	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	18	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
	19	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
	20	Mestiça branca	HAL <sup>nn</sup>	rn <sup>+</sup>
PROPRIEDADE C	21	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	RN <sup>-</sup>

22	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
23	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
24	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
25	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	RN <sup>-</sup>
26	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
27	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
28	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
29	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
30	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
31	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
32	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
33	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
34	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
35	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
36	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
37	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	RN <sup>-</sup>
38	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
39	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
40	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
41	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
42	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
43	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
45	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	RN <sup>-</sup>
46	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
47	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
48	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	RN <sup>-</sup>
49	Mestiça branca	HAL <sup>Nn</sup>	rn <sup>+</sup>
50	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
51	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>
52	Mestiça branca	HAL <sup>NN</sup>	rn <sup>+</sup>

