

1 **UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**

2

3

4

5

6

7

8 **PEDRO ALEXANDRE GOMES LEITE**

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20 **CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO, QUALIDADE DE CARNE,**
21 **RENDIMENTO DE CARÇAÇA E GENES DE REFERÊNCIA PARA FRANGOS**
22 **DE LINHAGENS NATIVAS**

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

Ilhéus- Bahia

33

2020

1 **PEDRO ALEXANDRE GOMES LEITE**

2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

**CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO, QUALIDADE DE CARNE,
RENDIMENTO DE CARÇA E GENES DE REFERÊNCIA PARA FRANGOS
DE LINHAGENS NATIVAS**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Amauri Arias Wenceslau

**Ilhéus- Bahia
2020**

L533

Leite, Pedro Alexandre Gomes.

Características de produção, qualidade de carne, rendimento de carcaça e genes de referência para frangos de linhagens nativas / Pedro Alexandre Gomes Leite. – Ilhéus, BA: UESC, 2020.

xxi, 76 f.: il.

Orientador: Amauri Arias Wenceslau.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Inclui referências.

1. Frango de corte – Criação. 2. Carne – Qualidade. 3. Carcaça animal. 4. Expressão gênica. I. Título.

CDD 636.513

PEDRO ALEXANDRE GOMES LEITE

**CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO, QUALIDADE DE CARNE,
RENDIMENTO DE CARÇA E GENES DE REFERÊNCIA PARA FRANGOS
DE LINHAGENS NATIVAS**

Ilhéus – BA, 31/07/2020

Amauri Arias Wenceslau – DSc.
UESC/DCAA (Orientador)

Bianca Mendes Maciel – DSc.
UESC/DCB

Eva Clicia de Jesus Almeida – DSc.
Faculdade Anísio Teixeira

Paulo Luiz Souza Carneiro – DSc.
UESB/DCB

Antônio Amandio Pinto Garcia Junior – DSc.
UESB/DTRA

**Ilhéus-Bahia
2020**

DEDICATÓRIA

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

**À minha esposa Leila e
aos meus filhos Luna e Theo,
amores da minha vida.**

Dedico

AGRADECIMENTOS

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

Agradeço primeiramente a Deus, por esta oportunidade em minha vida. Ele sabe o quanto essa experiência foi importante e como me enriqueceu em todos os sentidos.

Ao meu orientador, colega, amigo e ex-aluno Amauri Arias Wenceslau pela oportunidade, confiança, orientação e ensinamentos.

À UESC por permitir realizar mais este sonho.

Ao professor Ronaldo Vasconcelos, pelas contribuições, orientações e suporte durante todo o período experimental e por nos ceder o setor de Avicultura da UESB, campus Itapetinga, para realizarmos o trabalho.

À minha família, meus pais, Esmeraldo e Cristina, e irmãos, Cristiane e Júnior por todo o apoio e compreensão nos momentos em que estive ausente. À minha esposa Leila pela força, amor, dedicação e estímulo principalmente nos momentos difíceis e aos meus filhos Luna e Theo por todo o amor e compreensão quando eu não podia estar por inteiro.

A Carol Barbosa pela amizade de sempre, desde quando era minha aluna na graduação, pelo apoio, incentivo e estímulo, principalmente, durante as análises no laboratório. A Josivanda Almeida pela amizade, ensinamentos e ajuda no experimento a campo e no laboratório. A Juliana Gromboni e Teillor Machado pela amizade e ajuda no laboratório. Ao Iago Oliveira por toda colaboração no laboratório, na organização das planilhas e imagens. A minha colega de experimento Nathanna Figueiredo por todo o companheirismo, contribuição e pela amizade construída.

Aos colegas e amigos Antônio Amandio, Sérgio Fernandes, Márcio Pedreira e Moisés Nery por me abrigar, durante os meses em que estive em experimento.

A todos os meus colaboradores do experimento a campo: Thalna Magalhães, Tainá Pessoa, Teillor Machado, Michele Brito, Everton Patrocínio, Alana Venâncio, Luane Etienne, Bruno Malta, Cláudio Azevedo, Palas Trindade, Kelly Fernandes, Danilo, Iandra, Matheus Nolasco, Gisele Dias, Viviane Lagariça, Antônio, Eva e Nathanna.

Luane Etienne e Mariana Franco pela ajuda com as análises físico-químicas.

1 Ao professor Willian por ceder o laboratório de física da UESB. A professora
2 Cristiane Leal, por ceder o laboratório de análises da Unidade Experimental de
3 Caprinos e Ovinos - UECO, da UESB Itapetinga e à técnica Sagra por todo o
4 apoio e ajuda com as análises. A professora Sônia Teodoro, da UESB
5 Itapetinga, pelo suporte durante o experimento.

6 A professora Poliana de Castro e Daniele Rocha pela ajuda com as disciplinas
7 de graduação do curso de Medicina Veterinária da UESC. A professora Paola
8 Snoeck e Elisângela Barbosa pelas colaborações.

9 A professora Bianca Maciel pelas dicas na construção do projeto.

10 A Eva Clicia, pela amizade construída desde a execução do projeto a campo e
11 por todo o apoio e ajuda prestada.

12 Ao Paulo Carneiro pelo apoio na desenvolvimento do projeto e a toda banca
13 por aceitar o convite e pelas contribuições.

14 Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UESC pela
15 oportunidade. E a todos os colegas, professores, pelos ensinamentos e
16 contribuições.

17 À Reginaldo, funcionário do Setor de Avicultura da UESB. Aos funcionários do
18 Hospital Veterinário da UESC, Luana, Mácia, Silvina, Fabiana, Gabriela, Ivo,
19 Givaldo, Graziela, "Muquita" e Ricardo por toda a ajuda que me prestou.

20 Aos animais utilizados no experimento.

21 A todos que direta e indiretamente colaboraram para que este trabalho fosse
22 realizado com êxito.

23

24 Obrigado!!!!!!

25

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

**“Os sonhos são projetados por
nosso arquiteto interior, mas a
realização está em nossas mãos.”**

Nietzsche

1 no sistema intensivo. Para os animais com 90 dias de idade, encontramos, na
2 cor L* (66,25) e b* (11,08), independente do sistema de criação, um valor maior
3 na média da linhagem Peloco, significando uma carne mais clara e um tom
4 mais amarelado, em relação à média da linhagem Canela Preta. O frango da
5 linhagem nativa Canela Preta apresentou um valor maior na força de
6 cisalhamento (8,94kgf/cm²), o que reflete em uma firmeza da carne, em relação
7 à carne da linhagem Caneludo (5,58kgf/cm²). O maior rendimento de peito foi
8 encontrado na linhagem Caneludo (26,16%) no sistema semi-intensivo que
9 diferiu (P<0,05) da linhagem Peloco (24,40%). As aves da linhagem Caneludo,
10 aos 120 dias, apresentaram maior rendimento de peito (27,19%), sendo que a
11 Peloco (12,60%) e Canela Preta (12,92%) apresentaram maior rendimento de
12 asas. O perfil de expressão dos oito genes normalizadores de RT-qPCR foi
13 analisado com base nos três algoritmos (BestKeeper, geNorm e NormFinder) e
14 ranqueado pela ferramenta RankAggreg, que indicou como genes de referência
15 mais estáveis o *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27*.

16

17 **Palavras-chave:** Carcaça. Frango. Gene de referência. Qualidade de carne.

18

1 **PRODUCTION CHARACTERISTICS, MEAT QUALITY, CARCASS YIELD**
2 **AND REFERENCE GENES FOR CHICKENS FROM NATIVE LINES**

3
4 **ABSTRACT**

5
6 National poultry farming is of great importance in agribusiness, with Brazil
7 being the second largest producer of chicken meat and largest exporter,
8 recognized today as one of the most developed poultry farms in the world. The
9 breeding of backyard chickens for meat production is one of the segments of
10 alternative poultry that has been shown to be potentially profitable, given the
11 market share made up of consumers who demand more natural products. In the
12 State of Bahia there are groups of naturalized chickens, where production,
13 genetic and phenotypic data are unknown and need studies on this, as these
14 animals are a possibility for the support of small farmers and their qualities can
15 be used in poultry production. The objective of this work was to evaluate and
16 compare the weight gain, carcass yield and commercial cuts of naturalized
17 chickens (Peloco, Caneludo do Catolé and Canela Preta), to study the physical-
18 chemical parameters of the quality of breast meat, as well as how to identify
19 stable reference genes for normalizing the relative expression of target genes in
20 breast muscle of naturalized chickens compared to two commercial strains
21 (Cobb 500[®] and CBC). 162 male and female of broilers of native lines and two
22 commercial lines were used, which were bred in two rearing systems (intensive
23 and semi-intensive) and slaughtered at different ages (30, 60, 90 and 120
24 days). The performance characteristics were evaluated: carcass, breast, legs
25 (thigh and drumstick), wings, back and weight of abdominal fat. As for the
26 physical-chemical parameters, color, weight loss by cooking, shear force, water

1 retention capacity and pH were analyzed. The data were submitted for analysis
2 of variance (ANOVA). We found a higher yield of breast (24,02%) and legs
3 (31,64%), at 60 days, in animals raised in the semi-intensive system, and a
4 higher yield in the back (31,64%), for animals raised in the intensive system. At
5 90 days of age, we found, in the color L* (66,25) and b* (11,08), regardless of
6 the rearing system, a higher value in the mean of Peloco ecotype, meaning a
7 lighter flesh and more yellowish tone, compared to the average of the Canela
8 Preta ecotype. The Canela Preta ecotype showed a higher value, in shear force
9 (8,94kgf/cm²), which reflects in a firmness of the meat, in relation to the meat of
10 the Caneludo ecotype (5,58kgf/cm²). Higher breast yield was found in the
11 Caneludo ecotypes (26,16%) in the semi-intensive system that differed
12 (P<0,05) from the Peloco ecotype (24,40%). The birds of the Caneludo ecotype,
13 at 120 days, showed higher breast yield (27,19%) and Peloco (12,60%) and
14 Canela Preta (12,92%) showed higher wing yield. The expression profile of the
15 eight candidate genes was analyzed based on the three algorithms
16 (BestKeeper, geNorm and NormFinder) and ranked by the RankAggreg
17 package, which indicated *RPL5*, *HPRT1* and *MRPS27* as the most stable
18 reference genes.

19

20 **Keywords:** Carcass. Chicken. Meat quality. Reference gene.

21

22

23

LISTA DE FIGURAS

1

2

Figura		Página
1	Animal da linhagem nativa Peloco com 90 dias de idade.	9
2	Animal da linhagem nativa Caneludo do Catolé com 90 dias de idade.	10
3	Animal da linhagem nativa Canela Preta com 90 dias de idade.	11
4	Diagrama esquemático da CIE (1976). Espaço de cores LAB usado para descrever cores. Cada cor pode ser expressa por 3 números, indicando sua posição em uma esfera esférica tridimensional espaço. Os eixos verticais mostram da claridade à escuridão na escala de 0 (preto) a 100 (branca). O a^* vai de +60 (vermelho) a -60 (verde) e b^* de +60 (amarelo) a -60 (azul).	14

3

4

5

6

7

8

LISTA DE TABELAS

1
2

Tabela		Página
1	Composição da ração usada para os animais, durante o período experimental.	26
2	Média do peso ao abate e ganho de peso de três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas até aos 60, 90 e 120 dias de idade.	30
3	Média dos rendimentos de carcaça e suas partes e da gordura abdominal de três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas aos 60, 90 e 120 dias de idade.	32
4	Desdobramento da interação para as médias dos rendimentos de peito e dorso de três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas aos 90 dias de idade.	33
5	Média para as características de qualidade de carne em três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas aos 60, 90 e 120 dias de idade.	35
6	Desdobramento da interação para as médias da capacidade de retenção de água (CRA%) aos 90 dias e coloração da carne (Cor L*) aos 120 dias, em três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas aos 90 e 120 dias de idade.	36
7	Dados médios dos valores de pH do músculo de peito de frangos, com relação a idade e ao sistema de criação.	36
8	Descrição dos genes de referência de <i>Gallus gallus</i> e seus <i>primers</i> específicos utilizados nas análises de RT-qPCR.	53
9	Parâmetros dos <i>primers</i> específicos dos Genes de Referência para animais de 30 dias de idade, obtidos a partir das análises de curva de Eficiência em RT-qPCR.	56
10	Parâmetros dos <i>primers</i> específicos dos Genes de Referência para animais de 120 dias de idade, obtidos a partir das análises de curva de Eficiência em RT-qPCR.	57
11	Estatística descritiva dos níveis de expressão dos genes de referência para animais com 30 dias de idade, obtidos pelo BestKeeper (n=30).	58
12	Estatística descritiva dos níveis de expressão dos genes de referência para animais com 120 dias de idade, obtidos pelo BestKeeper (n=36).	58
13	Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem e sexo) em músculo do peito de frangos com 30 dias de idade, obtidos através da ferramenta BestKeeper e ranqueado pelo pacote RankAggreg.	59
14	Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem, sexo e sistema de criação) em músculo do peito de frangos com 120 dias de idade, obtidos através da ferramenta BestKeeper e ranqueado pelo pacote RankAggreg.	60

15	Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem e sexo) em músculo do peito de frangos com 30 dias de idade, obtidos através da ferramenta geNorm e ranqueado pelo pacote RankAggreg.	61
16	Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem, sexo e sistema de criação) em músculo do peito de frangos com 120 dias de idade, obtidos através da ferramenta geNorm e ranqueado pelo pacote RankAggreg.	61
17	Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem e sexo) em músculo do peito de frangos com 30 dias de idade, obtidos através da ferramenta NormFinder e ranqueado pelo pacote RankAggreg.	62
18	Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem, sexo e sistema de criação) em músculo do peito de frangos com 120 dias de idade, obtidos através da ferramenta NormFinder e ranqueado pelo pacote RankAggreg.	62
19	Ranking geral dos genes de referência em músculo de peito de frangos com 30 dias de idade, obtidos com as diferentes ferramentas (Bestkeeper, geNorm e NormFinder) e ranqueado pelo pacote RankAggreg de acordo com os fatores (grupo genético, sistema de criação e sexo).	63
20	Ranking geral dos genes de referência em músculo de peito de frangos com 120 dias de idade, obtidos com as diferentes ferramentas (Bestkeeper, geNorm e NormFinder) e ranqueado pelo pacote RankAggreg de acordo com os fatores (grupo genético, sistema de criação e sexo).	64

LISTA DE ABREVIATURAS

1

2

CRA: Capacidade de retenção de água

pH: Potencial hidrogeniônico

DEPC: Dietil-pirocarbonato

CBC: Caboclo frango capoeira

PPC: Perda de peso por cocção

FC: Força de Cisalhamento

DNA: Ácido desoxirribonucleico

cDNA: DNA complementar

RNA: Ácido ribonucleico

mRNA: RNA mensageiro

GR: Gene de referência

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

RT-qPCR: Transcriptase Reversa em PCR quantitativa

ATP: Adenosina Trifosfato

UESC: Universidade Estadual de Santa Cruz

CEUA: Comitê de Ética no uso de Animais

UESB: Universidade Estadual do Sudoeste Baiano

UECO: Unidade Experimental de Caprinos e Ovinos

FAO: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ABPA: Associação Brasileira de Proteína Animal

DTNA: alfa distrobrevina

RB1CC1: RB1-inducible coiled-coil 1

ACTB: beta actina

HPRT1: hipoxantina

fosforibosiltransferase1

MRPS27: proteína ribossômica mitocondrial S27

TFRC: receptor de transferrina

MRPS30: proteína ribossômica mitocondrial S30

RPL5: proteína ribossomal L5

EEF1: fator de alongamento de tradução eucariótica alfa1

LDHA: lactato desidrogenase A

µg: micrograma

µL: microlitro

Ct: ciclo de "Treshold"

mL: mililitro

mM: milimolar

ng: nanograma

KCl: Cloreto de Potássio

g: força da gravidade

g: grama

GR: Gene de Referência

GA: Gene Alvo

°C: Graus Celsius

Kcal: quilocalorias

HCl: Ácido Clorídrico

NaCl: Cloreto de sódio

Kgf: Quilograma-força

cm: centímetro

* L: teor de luminosidade

* a: teor de vermelho

* b: teor de amarelo

3

4

SUMÁRIO

1
2
3

1	INTRODUÇÃO GERAL	1
2	OBJETIVOS	5
	2.1. Objetivo Geral	5
	2.2. Objetivos Específicos	5
3	REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1	Avicultura Familiar	6
3.2	Frangos de Linhagens Nativas	7
3.3	Características de Qualidade da Carne	12
	3.3.1. Rendimento de Carcaça e Cortes	16
3.4	Genes de Referência	17
4	CAPÍTULO I - Desempenho e Qualidade Físico-Química da Carne de Frangos de Linhagem Nativa	20
4.1	Introdução	21
4.2	Material e Métodos	24
	4.2.1. Animais e Condições Experimentais.....	24
	4.2.2. Rendimento de Carcaça e Cortes Comerciais.....	26
	4.2.3. Determinação Física e Parâmetros de Qualidade da Carne do Peito.....	26
	4.2.3.1. Determinação da Cor.....	27
	4.2.3.2. Perda de Peso por Cocção (PPC).....	27
	4.2.3.3. Força de Cisalhamento (FC).....	28
	4.2.3.4. Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	28
	4.2.3.5. Potencial Hidrogeniônico (pH).....	29
	4.2.4. Análises Estatísticas.....	29
4.3	Resultados	30
4.4	Discussão	37
4.5	Conclusão	45
5	CAPÍTULO II - Genes de Referência em Tecido Muscular do Peito de Frangos de Linhagens Nativas	46
5.1	Introdução	47

5.2	Material e Métodos	48
5.2.1.	Animais.e Condições Experimentais.....	48
5.2.2.	Coleta de Tecidos, Extração e Quantificação do RNA Total.....	50
5.2.3.	Transcrição Reversa do mRNA.....	51
5.2.4.	Seleção dos Genes de Referência.....	51
5.2.5.	PCR Quantitativo em Tempo Real.....	53
5.2.6.	Determinação da Expressão dos Genes de Referência...	54
5.3	Resultados	56
5.3.1.	Eficiência e Especificidade dos <i>primers</i>	56
5.3.2.	Estabilidade Descritiva dos Genes de Referência.....	57
5.3.3.	Estabilidade de Expressão dos Genes de Referência.....	59
5.4	Discussão	65
5.5	Conclusão	68
	REFERÊNCIAS	69

1

2

3

1. INTRODUÇÃO GERAL

A carne de frango é uma das carnes mais consumidas no mundo. A produção em menor espaço e em curto período de tempo caracteriza a dinâmica da avicultura industrial moderna e aumenta a acessibilidade econômica. A dinamicidade deste setor é destaque dentro do complexo produtivo de carnes brasileiras, tendo o Brasil mantido uma postura bastante competitiva de produção frente a uma demanda interna e externa cada vez mais crescente.

O expressivo desenvolvimento da avicultura foi possível devido aos progressos ocorridos nas áreas da nutrição, manejo, sanidade, ambiência, mas principalmente pelos progressos obtidos pelo melhoramento genético. Contudo, associado a esse avanço, as aves nativas foram sendo substituídas por aves de linhagens comerciais, e assim, o sistema de criação passou a ser um sistema intensivo.

O aumento continuado da eficiência de produção, otimizando a resposta biológica, leva o animal a ser explorado em sistemas intensivos. Esse sistema de produção não explora características diversas do produto, carne e ovos. Pretende ir ao encontro da necessidade de produção, para atender ao mercado. A expansão do sistema intensivo de criação, juntamente com a densidade de aves por metro quadrado, gera uma otimização da produção, mas leva a um ambiente desfavorável ao bem-estar das aves que pode promover uma queda nos seus índices produtivos, devido ao estresse provocado pela alta densidade. No setor cárneo, tem se verificado aumento da demanda de carnes oriundas de animais criados em sistemas que privilegiam o bem-estar animal e que empregam técnicas humanitárias de manejo.

A base do desenvolvimento de sistemas naturais e locais de produção exige outra atitude produtiva que explore a riqueza da biodiversidade e as características genuínas do produto animal. Estes sistemas são outra forma de produzir alimentos, aproveitando os recursos disponíveis e até mesmo adaptados às condições de produção.

A criação das aves em sistemas alternativos de subsistência com mão de obra familiar tem sido utilizada buscando eficiência e qualidade em um

1 sistema de criação mais natural. Com o intuito de agregar valor a um produto
2 diferenciado, objetivando atender a demanda dos consumidores por produtos
3 mais naturais, sustentáveis e de melhor qualidade, buscam a melhoria dos
4 índices zootécnicos de criação dentro do sistema alternativo.

5 Porém, apenas a mudança do sistema de criação, oferecendo melhores
6 condições ambientais, não garante uma alta produtividade. É preciso aliar a
7 esse sistema de criação alternativo, animais com boa rusticidade,
8 adaptabilidade e bom potencial genético, além de um esquema adequado de
9 nutrição.

10 As aves caipiras ou de linhagens nativas foram submetidas a processos
11 de seleção natural por décadas, apresentando alta capacidade de
12 sobrevivência, excelente adaptabilidade com boa prolificidade e rusticidade.
13 Apesar da boa adaptabilidade desenvolvida às condições de criação, estes
14 animais são geralmente menos produtivos que as aves de linhagens
15 comerciais, melhoradas geneticamente. Dessa forma, essas aves nativas se
16 encontram em rebanhos reduzidos criados por pequenos agricultores em
17 agricultura familiar, representando fonte de alimento e renda para muitas
18 dessas famílias de agricultores.

19 Os frangos de linhagens nativas Peloco, Caneludo do Catolé e Canela
20 Preta, são uma boa alternativa para as criações familiares do Nordeste por já
21 serem adaptados ao clima da região e aos sistemas de criação de baixo nível
22 tecnológico e com poucos recursos disponíveis. A avicultura familiar além de
23 representar uma fonte alimentar segura é também uma alternativa de atividade
24 viável com potencial de geração de renda bastante eficiente para comunidades
25 rurais, contribuindo para o desenvolvimento econômico de regiões menos
26 favorecidas.

27 No entanto, por possuírem baixos índices produtivos quando
28 comparadas às linhagens comerciais melhoradas geneticamente, muitos
29 desses frangos estão ameaçados de extinção. Os frangos de linhagens nativas
30 são importantes recursos genéticos, podendo servir de reservatórios de genes
31 de interesse, para a melhoria dos índices produtivos de outras aves caipiras,
32 além de protegerem o meio ambiente e tornarem viáveis a agricultura familiar,
33 mantendo os agricultores no campo.

1 A maioria dos pequenos agricultores não dispõe de condições para
2 competir com a produção da avicultura industrial. Dessa forma, deve-se
3 observar a avicultura tradicional e seus produtos (carne e ovos), oriundos da
4 produção familiar, como uma atividade diferenciada que agrega valor aos
5 produtos. Apesar dos frangos nativos apresentarem potencial mais lento de
6 crescimento, desempenho e rendimento de cortes quando comparados aos
7 frangos de corte comerciais, sua criação é baseada em atributos diferenciados
8 como sabor, textura e cor da carne.

9 O estímulo à produção de galinhas nativas fortalece a agricultura
10 familiar, promovendo a conservação e a utilização sustentável desses animais.
11 Criadas em sistema semelhante ao orgânico, essas aves tornaram-se
12 potencialmente lucrativas, devido a procura por alimentos mais naturais e
13 tradicionais, aumentando a valorização de galinhas nativas, necessitando,
14 assim, de maior exploração produtiva e comercial dessas aves e seus
15 produtos.

16 A criação de frangos de linhagens nativas, geralmente em atividade de
17 agricultura familiar, permanece a campo em sistema extensivo e sem controle
18 zootécnico, em instalações simples e explorando recursos disponíveis na
19 região, resultando em baixos rendimentos, portanto devem receber práticas de
20 manejo que as permitam expressar todo o seu potencial produtivo, de modo a
21 reduzir os riscos de extinção. A base do desenvolvimento dos sistemas
22 naturais e locais de produção explora a riqueza da biodiversidade e as
23 características genuínas do produto final. Estes sistemas aproveitam recursos
24 disponíveis e adaptados a diversas condições de produção. Conservar e utilizar
25 essas linhagens nativas são formas ativas de ampliar as relações comerciais
26 entre produtores locais. Tudo sem necessidade de grandes tecnologias e altos
27 custos para a sua criação.

28 Assim, o estudo e a conservação dessas aves nativas tem sido útil para
29 garantir a sustentabilidade da produção animal, direta ou indiretamente,
30 principalmente em países em desenvolvimento. Dessa forma, pesquisas que
31 divulguem esses animais são muito importantes para garantir a conservação e
32 utilização sustentável dos recursos genéticos e melhoramento animal dessas
33 aves.

1 Objetivou-se avaliar e comparar o ganho de peso, rendimento de
2 carcaça e cortes comerciais e ainda os parâmetros físico-químicos de
3 qualidade da carne dos frangos de linhagens nativas (Peloco, Caneludo do
4 Catolé e Canela Preta), abatidas em diferentes idades (60, 90 e 120 dias) e
5 criadas em dois sistemas de criação (sistema intensivo e semi-intensivo).
6 Adicionalmente, objetivou-se identificar genes de referência estáveis em
7 músculo do peito, considerando os fatores: sexo, idade e sistemas de criação.

8

9

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o ganho de peso, o rendimento de carcaça, as características físico-químicas e identificar genes de referência em frangos de linhagens nativas Peloco, Caneludo do Catolé e Canela Preta em diferentes idades e criados em dois sistemas de criação.

2.2. Objetivos Específicos:

- Comparar o ganho de peso e os parâmetros de rendimento de carcaça e partes de frangos de linhagens nativas criados em dois sistemas de criação e abatidos em diferentes idades;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos dos músculos do peito de frangos de linhagens nativas criados em dois sistemas de criação e abatidos em diferentes idades;
- Identificar genes de referência estáveis para a normalização da expressão relativa dos genes alvos em músculo do peito em diferentes linhagens de frangos nativos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Avicultura Familiar

A agricultura familiar faz parte da história do Brasil e da própria humanidade, mas sofreu redução ao longo dos séculos pelo grande desenvolvimento tecnológico do setor agropecuário e de outros setores da economia (GUILHOTO et al., 2006). Reichert et al. (2011) afirmam que a agricultura familiar está sustentada nos processos de transformação dos meios de produção, do manejo, da mudança nos sistemas produtivos e do envolvimento desde o produtor ao consumidor.

Segundo Demattê Filho (2014), a própria dinâmica da avicultura industrial brasileira e sua inserção no comércio mundial passou a estimular um debate e uma reflexão sobre modelos diferenciados de criação que pudessem ser alternativas produtivas. Tais modelos, com especificidades de seus produtos, podem promover o desenvolvimento local de forma positiva no que diz respeito à valorização de tipicidades territoriais.

Guelber Sales et al., (2013) afirmam que a avicultura familiar é considerada de grande relevância social e econômica e caracteriza-se pela predominância da criação das galinhas naturalizadas, assim apresenta-se como guardião de um patrimônio biocultural, representado pelas aves e pela biodiversidade, diferenciando a avicultura familiar radicalmente da industrial.

A avicultura familiar apresenta algumas vantagens como a utilização de terras desvalorizadas, baixo investimento em instalações e equipamentos, melhoria na qualidade da dieta do produtor e sua família, fixação do produtor na propriedade, além de garantir uma renda complementar ao orçamento familiar, não representando somente uma fonte alimentar segura na dieta da comunidade rural, mas também uma alternativa viável com um grande potencial de contribuição para o desenvolvimento econômico de regiões menos favorecidas e distantes dos grandes centros (CRUZ et al., 2013).

Segundo Sagrilo et al. (2003), as criações de galinhas caipiras, na agricultura familiar, são geralmente realizadas de forma extensiva, com instalações rústicas e pouco manejo reprodutivo, nutricional e sanitário. Ainda

1 assim, é uma atividade cujo mercado é bastante promissor, onde geralmente a
2 oferta é menor que a demanda. A sua importância está não apenas nos
3 aspectos da produção de alimentos, mas, principalmente, em relação às
4 questões ambientais e sociais que ela representa (DECKER; GOMES, 2016).

6 **3.2. Frangos de Linhagens Nativas**

8 As galinhas domésticas (*Gallus gallus*) foram introduzidas no Brasil em
9 meados do ano 1500 pelos colonizadores portugueses. Elas se multiplicaram
10 através de cruzamentos aleatórios e deram origem aos frangos de linhagens
11 nativas brasileiras distribuídas em todas as regiões do país e passaram a ser
12 conhecidas como “crioulas”, “locais” ou “naturalizadas” (MARIANTE et al.,
13 2011).

14 Os frangos de linhagens nativas são aqueles que se formaram em um
15 determinado país ou região, originárias de animais trazidos de outros países ou
16 regiões, em uma época não muito distante (CASTRO; EGITO, 2012). Como
17 exemplos podemos citar as linhagens formadas no Brasil trazidas pelos
18 colonizadores: Canela Preta, Peloco, Caneludo, Barbuda entre outras. Essas
19 linhagens não existiam e nem existem nos países colonizadores do Brasil, mas
20 se formaram em território nacional a partir de animais introduzidos na época
21 (CARVALHO et al., 2020).

22 Encontrados principalmente no meio rural, os frangos de linhagens
23 nativas criados em sistema extensivo e familiar representa cerca de 80% do
24 rebanho avícola dos países com baixa renda (FAO, 2014). Esses animais são a
25 fonte de renda para as famílias que realizam um comércio local, além de servir
26 como uma fonte de proteína animal na dieta, como a carne e os ovos (PADHI,
27 2016)

28 Os frangos de linhagens nativas foram adaptados às pressões bióticas e
29 abióticas típicas dos diferentes ecossistemas brasileiros, adquirindo
30 características únicas como rusticidade, prolificidade e, provavelmente,
31 resistência à endo e ectoparasitas e/ou doenças encontradas nas mais
32 distintas regiões brasileiras. Desde o início do século XX, algumas linhagens
33 comerciais, selecionadas em clima temperado foram importadas. Embora mais

1 produtiva, a maioria dessas linhagens comerciais, foi substituindo
2 gradualmente as galinhas nativas a tal ponto que, estão em perigo de extinção
3 (EGITO et al., 2002; MARIANTE et al., 2009). De acordo com a FAO-
4 Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, das 8.774
5 raças de aves catalogadas, mais de 20% apresenta algum risco de extinção
6 (FAO, 2015).

7 Para Alderson (2018), a conservação das linhagens nativas ameaçadas
8 de extinção, abrange questões além da genética, porque compreende fatores
9 culturais, sociais e patrimoniais, além de ser parte integrante da pluralidade de
10 uma região. Apesar da baixa produtividade das aves nativas, a produção e
11 criação dessas aves em sistema caipira é o mais apropriado (MENGHESHA;
12 TSEGA, 2011).

13 A crescente demanda de produtos de origem animal nos países em
14 desenvolvimento, visando à obtenção de um substancial aumento na
15 produtividade, deu origem a vários programas de melhoramento que tinham
16 como base o uso intensivo de cruzamentos do germoplasma local com raças
17 exóticas, altamente produtivas, desenvolvidas para os países de clima
18 temperado (EGITO et al., 2002).

19 No Estado da Bahia há grupos de frangos de linhagens nativas. Entre
20 estes, estão os frangos da linhagem nativa Peloco (Figura 1), caracterizado
21 pela coloração escura da carne e pela ausência de penas durante um longo
22 período da sua fase de crescimento, motivo pelo qual também é conhecida,
23 como Pelado ou Buguelo. A maioria das aves apresenta penas arrepiadas nas
24 mais variadas plumagens. Atualmente, existe no Setor de Avicultura da UESB
25 um pequeno núcleo dessas aves e outros são mantidos por produtores na Vila
26 de Banco Central-Ilhéus-BA, Região do Curisco-Uruçuca-BA e Quilombo
27 Itacaré-BA. Essas aves são predominantemente criadas em sistema extensivo,
28 com pouco investimento tecnológico (ALMEIDA, 2016).

29



1
2 **Figura 1-** Animal da linhagem nativa Peloco com 90 dias de
3 idade. (Arquivo pessoal).
4

5 Os frangos de linhagem nativa Caneludo do Catolé (Figura 2)
6 compreendem aves que estão em processo inicial de identificação e
7 caracterização fenotípica. O Caneludo do Catolé é originário da região do
8 sudoeste da Bahia, entre os municípios de Itapetinga, Macarani, Itarantim e
9 Maiquinique. Provém de cruzamentos entre diversas raças de galinhas criadas
10 soltas em pequenas criações. São aves de grande porte apresentando
11 plumagem escura, com variações cinza e vermelha em menor número.
12 Geralmente, são utilizadas para a produção de ovos e de frangos, consumidos
13 diretamente nas propriedades e também vendidos quando excedentes. Apesar
14 de não haver estudos na literatura sobre capacidade produtiva e diversidade
15 genética desses animais, mostram-se boas produtoras de carne e ovos
16 (OLIVEIRA et al., 2015).
17



1
2 **Figura 2-** Animal da linhagem nativa Caneludo do Catolé
3 com 90 dias de idade. (Arquivo pessoal).
4

5 Os frangos da linhagem Canela Preta (Figura 3), também conhecidos
6 como “galinhas jacu”, são galinhas nativas brasileiras, encontradas em
7 pequenas comunidades rurais, quilombolas e indígenas em todo o estado do
8 Piauí e provavelmente em outros estados do Nordeste. Caracteriza-se por
9 possuir carne de coloração escura, sua plumagem e dorso são
10 predominantemente pretos. São criadas em sistema tradicionais a campo e
11 apresentam pouca exigência em manejo, aparentemente são rústicas e
12 resistentes às doenças e parasitas, são adaptadas a climas mais quentes e
13 tem porte corporal médio (CARVALHO, 2016). De acordo com a EMBRAPA
14 (2017), esses animais têm potencial para serem selecionadas para produção
15 de ovos ou carne. Os machos são maiores e mais pesados do que as fêmeas e
16 suas plumagens também são mais coloridas. São aves mansas, de fácil
17 manejo, com relevante potencial produtivo e reprodutivo.
18



1
2 **Figura 3:** Animal da linhagem nativa Canela Preta com 90
3 dias de idade. (Arquivo pessoal).
4

5 As galinhas nativas são uma alternativa para a sustentabilidade do
6 pequeno agricultor, e suas características podem ser aproveitadas na produção
7 avícola desde que esta, seja planejada e administrada de forma correta
8 (ALMEIDA et al., 2013, MACHADO, 2018). As principais características
9 desejadas nesses tipos de criação são: a segurança do alimento, qualidade
10 sensorial do produto, preocupação com o meio ambiente, sustentabilidade,
11 bem-estar das aves e saúde do consumidor (MADEIRA et al., 2010).

12 O estudo das potencialidades, das galinhas nativas, torna-se necessário
13 (ALMEIDA et al., 2019). A avaliação das características de cada raça, bem
14 como, a associação das suas funcionalidades com os sistemas de criação
15 apropriados são importantes estratégias de conservação (ALDERSON, 2018).

16 A oferta da carne de galinha caipira, no Brasil, tem sido menor que a
17 demanda, tornando-se uma atividade de mercado bastante promissora. Diante
18 disso, é importante a busca por conhecimentos com relação à produtividade,
19 para que possam ser desenvolvidas práticas de manejo mais adequadas,
20 contribuindo para a manutenção e conservação das características de
21 interesse que se enquadre com a finalidade da criação e com as exigências
22 dos consumidores (MACHADO, 2018).

3.3. Características de Qualidade da Carne

Devido à qualidade e palatabilidade da sua carne, a galinha caipira, se tornou um dos pratos mais valorizados no Brasil (BARBOSA et al., 2007). Além disso, as características sensoriais, como aparência e maciez são exigidas pelo consumidor (BERAQUET, 1999). O grau de maciez e a coloração da carne são características marcantes para a qualidade da carne de ave caipira e extremamente valorizadas pelo consumidor, que a considera uma iguaria (SANTOS et al., 2005; MADEIRA et al., 2010).

A qualidade de carne é um conceito amplo que envolve aspectos diversos e se inter-relacionam, englobando todas as etapas da cadeia produtiva (PRATA; FUKUDA, 2001). Os recursos de controle da qualidade vêm se aprimorando em função de novas exigências e da mudança no estilo de vida dos consumidores. Assim, as orientações produtivas transcendem ao campo da gestão da qualidade intrínseca do produto para o campo do sistema produtivo visando obtenção de produtos economicamente sustentáveis, socialmente corretos e ecologicamente viáveis, além de serem seguros do ponto de vista sanitário (PINTO, 2008).

Os principais atributos de qualidade da carne de aves são aparência, textura, suculência, sabor e funcionalidade. Destes, os mais importantes são tradicionalmente aparência e textura já que eles influenciam a seleção inicial dos consumidores e a satisfação final com produtos tradicionais de carne de aves (FLETCHER, 2002).

De acordo com Lawrie, (2005), a cor da carne está relacionada com as fibras musculares, o pigmento mioglobina e a hemoglobina presente no sangue. Estas duas substâncias são proteínas associadas ao ferro e têm a possibilidade de reagir com oxigênio, alterando a cor da carne. A quantidade de mioglobina varia com a espécie, sexo, idade, localização anatômica do músculo e atividade física. Os animais selvagens ou que vivem ao ar livre possuem mais pigmento muscular do que seus correspondentes estabulados.

A carne do peito de frango é composta principalmente de fibras musculares brancas, com baixo nível de mioglobina, enquanto a carne da coxa

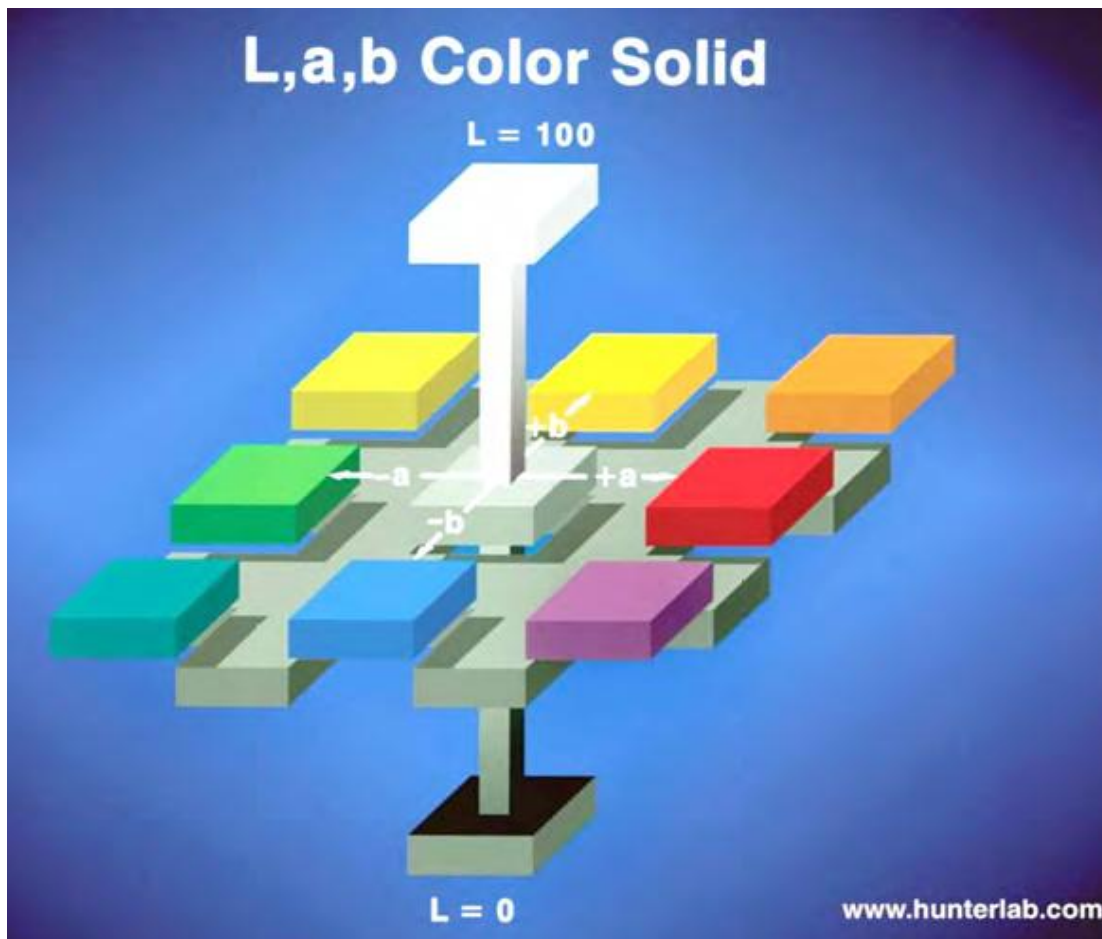
1 é composta de fibras vermelhas, que tem uma quantidade maior de mioglobina,
2 fazendo com que pareçam mais escuras (BARBUT, 2015).

3 De acordo com Kgwatalala et al. (2012) o grau de maciez e a coloração
4 da carne de frango são características que devem ser levadas em
5 consideração, já que o mercado consumidor está mais exigente.

6 A cor da carne pode ser descrita segundo o conceito psicológico de
7 tonalidade (vermelho, verde, azul, etc.), saturação (intensidade de cor) e brilho
8 (posição entre totalmente clara e totalmente escura). Qualquer cor, sob
9 determinada iluminação, é definida conforme essas três características.

10 A partir dos dados de luz refletida, os valores da cor da amostra de
11 carne são calculados de acordo com escalas tridimensionais de cor. O sistema
12 CIELAB (1976) é o mais empregado e utiliza a representação de três
13 coordenadas L^* , a^* e b^* , para definir a posição da cor em um espaço
14 tridimensional esférico. É a escala recomendada pela “Comission Internationale
15 de l’Eclairage”. Esse sistema apresenta similaridade à uniformidade visual
16 humana (PRATA; FUKUDA, 2001).

17 Na análise de cor, pelo Sistema CIELAB (L^* , a^* , b^*) medida com
18 colorímetro, o valor L^* , mede a luminosidade ou a percentagem de refletância,
19 variando de 0 (preto) para 100 (branco). O valor de a^* mede a variação entre a
20 cor vermelha e verde e o valor b^* mede a variação entre o amarelo e o azul
21 (Figura 4). A razão a^*/b^* pode ser utilizado para estimar o teor de mioglobina
22 em uma amostra. A palidez da carne está relacionada com o baixo pH. Existe
23 correlação inversa entre os valores de pH e de L^* , ou seja, quanto menor o pH,
24 maior será o valor de L^* e vice-versa. Como as propriedades funcionais da
25 carne dependem do seu pH final, quanto maior for o valor de L^* , menor será a
26 capacidade de retenção de água, um parâmetro relevante para a qualidade da
27 carne (SHIMOKOMAKI et al., 2006).



1
2
3
4
5
6
7

Figura 4: Espaço de cores LAB usado para descrever cores. Cada cor pode ser expressa por 3 números, indicando sua posição em uma esfera esférica tridimensional espaço. Os eixos verticais mostram da claridade à escuridão na escala de 0 (preto) a 100 (branca). O a^* vai de +60 (vermelho) a -60 (verde) e b^* de +60 (amarelo) a -60 (azul). Diagrama esquemático da CIE (1976).

8 Segundo Shimokomaki et al. (2006), o pH é um dos principais
9 parâmetros para a qualidade da carne, uma vez que influencia a estabilidade
10 das proteínas cárneas e sua capacidade de retenção de água. O pH do
11 músculo de frangos é de aproximadamente 7,0 em condições consideradas
12 normais, o teor de glicogênio presente no músculo no momento do abate é o
13 principal componente para a glicólise *post mortem*, que se realiza pela via
14 metabólica anaeróbica acumulando ácido láctico resultando no declínio do pH
15 muscular das aves. Em filés de frango, o pH pode variar de 5,5 a 6,3,
16 dependendo das práticas de manejo pré-abate, fisiologia e bioquímica da
17 carne.

1 A mudança no pH muscular é uma das alterações mais significativas que
2 ocorrem durante o desenvolvimento do *rigor mortis* e que podem afetar
3 atributos de qualidade da carne, como a textura, cor e a capacidade de
4 retenção de água (CRA). O pH muscular diminui durante a progressão do *rigor*
5 *mortis* devido ao acúmulo de ácido lático no músculo (MEHAFFEY et al., 2006).

6 Segundo Barbut (2015), a queda do pH em músculo do peito de aves,
7 ocorre duas vezes mais rápido que na carne bovina e suína. A média do pH
8 final pode ter efeitos importantes sobre a qualidade da carne e
9 desenvolvimento da cor.

10 O tecido muscular contém aproximadamente 75% de água, essa água
11 está associada a seus componentes de forma diversa, ainda que o principal
12 responsável seja o elemento proteico. Para cada 100g de proteína, no tecido
13 muscular, encontram-se de 350 a 360g de água. Os fatores que modificam a
14 capacidade de retenção de água são variados, as mudanças *post mortem*, tem
15 grande influência, pois levam à produção de ácido lático, à perda de ATP, à
16 instauração do *rigor mortis* e a mudanças da estrutura celular ligadas à
17 atividade proteolítica enzimática (ORDÓÑEZ et al., 2007).

18 De acordo com Shimokomaki et al. (2006), durante a conversão do
19 músculo em carne, quando da instalação do *rigor mortis*, ocorre o abaixamento
20 do pH, devido à glicólise anaeróbica. Neste momento pode ocorrer alteração na
21 CRA, dependendo da velocidade da instalação do rigor e do valor do pH final.

22 A maciez de uma porção ou de cortes desossados de frango é
23 influenciada pelo tempo de desossa após o abate. Os músculos desossados
24 durante o tempo inicial após abate, ainda tem energia disponível para
25 contração. Quando estes músculos são removidos da carcaça, eles se
26 contraem e ficam rígidos. Para evitar este endurecimento *pré-rigor*, a carne
27 pode ser maturada por 6 a 24 horas antes da desossa. Quando a carne for
28 desossada cedo, 50 a 80% ficará rígida. Em aves, o rigor se desenvolve de 30
29 minutos a quatro horas após o abate (CASTILLO et al., 2006).

30
31
32
33

3.3.1. Rendimento de Carcaça e Cortes

O rendimento de carcaça e das partes varia dentro da mesma linhagem, de acordo com o peso e a idade ao abate (MOREIRA et al., 2003; MADEIRA et al., 2010).

A grande competitividade da indústria avícola brasileira tem levado a constantes buscas da melhoria do material genético das linhagens. Estudos avaliando esses produtos são desenvolvidos a fim de identificar linhagens de animais com características de produção, de interesse comercial, superiores em relação a outras, selecionando, assim, aves que apresentem não apenas um bom desempenho, mas também melhores rendimentos de carcaça e de cortes nobres (STRINGHINI et al., 2003; CRUZ et al., 2018). De acordo com Veloso et al. (2014), é importante conhecer o desempenho dos animais para que o produtor possa planejar aspectos fundamentais da sua criação.

A conservação e caracterização de galinhas naturalizadas deve receber atenção porque elas contêm genes valiosos (resistência a doenças e genes de tolerância ao calor). Informações adequadas sobre o potencial de crescimento de várias linhagens de galinhas naturalizadas também é essencial para os avicultores, a fim de orientar ou auxiliar na escolha dos animais (KGWATALALA et al., 2012).

Segundo Almeida et al. (2013), esses estudos sobre as características de carcaça são muito importantes para auxiliar nos programas de melhoramento e contribuir para a caracterização zootécnica das aves naturalizadas.

O frango caipira não compete com o frango industrial em escala de produção e custo, mas em qualidade de carne sim, especialmente no sabor (SAVINO et al., 2007). No sistema caipira, devido à ingestão de pasto, verduras, insetos e minhocas etc., pela ave, que são abundantes no sistema de criação semi-intensivo ou extensivo, a carne desses animais apresenta um sabor mais pronunciado.

3.4. Genes de Referência

A normalização é um componente essencial de um teste qPCR confiável, porque esse processo controla variações no rendimento da extração, rendimento da transcrição reversa e eficiência da amplificação, permitindo comparações das concentrações de mRNA em diferentes amostras. O uso de genes de referência como controles internos é o método mais comum para normalizar dados de mRNA celular. A normalização envolve o relato das proporções das concentrações de mRNA dos genes de interesse para as dos genes de referência. Os mRNAs do gene de referência devem ser expressos de maneira estável, e suas abundâncias devem mostrar forte correlação com as quantidades totais de mRNA presentes nas amostras (BUSTIN et al., 2009).

Genes de referência são controles endógenos que possuem sequências diferentes dos genes alvos. Para ser considerado uma referência confiável, ele deve atender a vários critérios importantes. O mais importante é que ele não altere seu nível de expressão diante dos fatores experimentais. Além disso, deve mostrar variabilidade mínima em sua expressão entre tecidos e estados fisiológicos do organismo. O gene de referência deve, por sua vez, demonstrar a variabilidade resultante de imperfeições da tecnologia usada e dos procedimentos preparatórios, isso garante que qualquer variação na quantidade de material genético relacionam-se na mesma medida que o objeto de pesquisa e controle (KOZERA; RAPACZ, 2013).

Até pouco tempo, a estratégia de normalização que era utilizada envolvia padronização para um único gene. No entanto, nos últimos anos, tornou-se claro que nenhum gene isolado é constitutivamente expresso em todos os tipos de células e em todas as condições experimentais, implicando que a estabilidade da expressão do gene de controle pretendido deve ser verificada antes de cada experimento (ANDERSEN et al., 2004).

Geralmente são selecionados como normalizadores genes expressos que participam do metabolismo primário e manutenção da estrutura celular, como por exemplo, *RPL5* (ribosomal protein L5), *ACTB* (β -actina), *HPRT1* (hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1) entre outros. Sequências de dez genes de referência foram selecionados da literatura (NASCIMENTO et al.,

1 2015) para análise da estabilidade de expressão a serem usados no estudo de
2 RT-qPCR. Nascimento et al., (2015) indicaram os genes *HMBS* e *HPRT1* como
3 mais estáveis para serem usados como normalizadores em estudos de
4 expressão gênica em músculo de peito de frangos.

5 Cedraz de Oliveira et al. (2017) estudando genes de referência (GR)
6 estáveis para a normalização de genes alvos em tecido muscular de três
7 grupos de aves geneticamente divergentes (Peloco, Caneludo e Cobb 500[®]),
8 recomendou o uso de *RPL5*, *MRPS27*, *MRPS30*, *EEF1*, *HPRT1* e *LDHA*.
9 Indicando o uso de três GR para uma melhor normalização da expressão
10 relativa em estudos de RT-qPCR em frangos. Já Macário (2016), identificou,
11 em seu experimento com codornas, o uso do *MRPS30*, *EEF1* e *HMBS* em
12 músculo da coxa como sendo os mais estáveis. A recomendação de genes
13 estáveis facilita a execução de estudos genéticos posteriores que necessitem
14 avaliar os animais, influenciando, conseqüentemente, no desenvolvimento de
15 toda a cadeia produtiva.

16 Para a normalização dos dados, geralmente é utilizado o método de
17 quantificação relativa que é conhecido como “dois elevado a menos Delta Delta
18 Ct” ($2^{-\Delta\Delta CT}$), onde é aplicada uma fórmula em que a razão de expressão
19 relativa do gene alvo é normalizada pelo gene de referência (LIVAK;
20 SCHMITTGEN, 2001).

21 A estabilidade de expressão dos genes de referência pode ser analisada
22 de diversas maneiras. Atualmente há programas e software específicos para
23 isso. Dentre os mais utilizadas e confiáveis podemos citar o BestKeeper
24 (PFAFFL et al., 2004), o geNorm (VANDESOMPELE et al., 2002) e o
25 NormFinder (ANDERSEN et al., 2004).

26 O programa geNorm é uma poderosa ferramenta a ser usada na seleção
27 dos melhores genes para normalização usando o princípio de que a taxa de
28 expressão de genes normalizadores deva ser a mesma entre todas as
29 amostras testadas, independentemente das condições experimentais. Para a
30 análise da estabilidade, o algoritmo geNorm classifica os genes a partir da sua
31 estabilidade de expressão média (M). Vandesompele et al. (2002), definem
32 como parâmetro para quantificar a estabilidade de genes candidatos a gene
33 normalizador o valor de M (“M-value”), onde os valores mais baixos indicam

1 uma expressão mais estável, sendo que esse valor deve situar-se abaixo de
2 1,5 para que o gene seja considerado estável.

3 O Bestkeeper é um software que analisa a estabilidade de expressão
4 empregando a análise de correlação de pares de todos os genes candidatos e
5 calcula a média geométrica dos "mais adequados". O índice ponderado é
6 correlacionado com até dez genes alvo usando a mesma análise de correlação
7 de pares a fim de decidir se os genes de referência testados são expressos
8 diferencialmente sob um tratamento aplicado (PFAFFL et al., 2004). Essa
9 ferramenta se baseia no desvio padrão que deve ser menor ou igual a um (≤ 1).
10 Assim, o software calcula a variação para todos os genes de referência
11 baseadas na média geométrica do valor de Cq.

12 O software NormFinder também pode ser aplicado para avaliar a
13 adequação de qualquer candidato a gene de normalização em qualquer tipo de
14 delineamento experimental permite estimar não apenas a variação geral dos
15 genes de normalização candidatos, mas também a variação entre subgrupos
16 de amostras do conjunto de amostras (ANDERSEN et al., 2004).

17 O princípio do programa NormFinder é baseado na escolha de genes
18 que tenham a menor variação de expressão tanto nas situações inter como na
19 intra-grupos (DE ANTÔNIO, 2010).

20

21

22

23

24

25

26

27

28

4. CAPÍTULO I

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

**DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇA E QUALIDADE FÍSICO-
QUÍMICA DA CARNE DE FRANGOS DE LINHAGENS NATIVAS**

1 4.1. INTRODUÇÃO

2
3 A análise do comportamento produtivo e características fenotípicas,
4 juntamente com a diversidade genética, desempenho reprodutivo e adaptativo,
5 são, portanto, estratégias relevantes na inclusão de raças locais em programas
6 de conservação (ZANETTI et al., 2010). Necessitando, desta forma, de estudos
7 dos potenciais, das galinhas naturalizadas (ALMEIDA et al., 2019).

8 Os frangos de linhagens nativas são considerados patrimônio genético
9 nacional, pois são aves com características de rusticidade e adaptabilidade às
10 condições ambientais. Contudo, são essas linhagens nativas as geradoras de
11 linhagens comerciais. A seleção de linhagens especializadas é uma tecnologia
12 moderna quando comparada à existência das linhagens nativas, pois
13 demonstra a relevância da conservação dessas linhagens, não só pela sua
14 importância histórico-cultural e patrimonial, mas pela sua importância para a
15 avicultura de subsistência e industrial, além de ser parte integrante da
16 pluralidade de uma região (DAMBRÓS JUNIOR, 2010; ALDERSON 2018).

17 De acordo com Carvalho et al. (2016), o foco principal no
18 estabelecimento de estratégias para conservação deve ser a caracterização
19 das linhagens e populações, fornecendo assim uma visão mais ampla da
20 diversidade genética existente.

21 Os frangos de linhagens nativas como, por exemplo, o Peloco, Caneludo
22 e Canela-preta são uma alternativa para a sustentabilidade do pequeno
23 agricultor, e suas características podem ser aproveitadas na produção avícola
24 desde que esta, seja planejada e administrada de forma correta (ALMEIDA et
25 al., 2013; MACHADO, 2018). E segundo Sarica et al. (2014), a escolha do
26 grupo genético é essencial para se obter um bom retorno econômico e planejar
27 a atividade avícola, visto que a taxa de crescimento pode influenciar o
28 rendimento e composição da carcaça. Os estudos sobre as características de
29 carcaça são muito importantes para auxiliar nos programas de melhoramento e
30 contribuir para a caracterização zootécnica das aves naturalizadas (ALMEIDA
31 et al., 2013).

32 A criação das aves pode ser realizada em diferentes sistemas de
33 criação: extensivo, semi-intensivo e intensivo. O sistema extensivo determina-

1 se pela criação de animais em áreas sem construções, geralmente com
2 alimentação natural e sem uso de medicamentos. No sistema semi-intensivo as
3 aves são alojadas em galpões com acesso livre a piquetes, além de
4 alimentação com uso de rações comerciais balanceadas e medicamentos. Já o
5 sistema intensivo é o que adota o maior nível de tecnificação, com animais
6 alojados em galpões de alvenaria, fazendo uso de sistema de controle de luz,
7 além da alimentação balanceada seguindo as diferentes fases de crescimento
8 (MACHADO, 2018).

9 Mikulski et al. (2011) afirmam que o sistema semi-intensivo favorece
10 uma maior liberdade de locomoção e é mais semelhante ao habitat natural das
11 aves, proporcionando uma menor agressão aos animais e ao meio ambiente.
12 Quando criados nesse tipo de sistema, as aves conseguem um
13 desenvolvimento muscular melhor, ficam mais resistentes ao estresse, sua
14 carne é considerada de melhor sabor e apresentam menor teor de colesterol
15 (CASTELLINI et al., 2002; BARBOSA et al., 2007).

16 De acordo com Domingues; Diehl (2012) as galinhas caipiras demoram
17 em serem abatidas porque levam mais tempo a atingirem o peso ideal. Estudos
18 avaliando esses produtos são desenvolvidos a fim de identificar linhagens de
19 animais com características de produção, de interesse comercial, superiores
20 em relação a outras, selecionando, assim, aves que apresentem não apenas
21 um bom desempenho, mas também melhores rendimentos de carcaça e de
22 cortes nobres (STRINGHINI et al., 2003; CRUZ et al., 2018). O rendimento de
23 carcaça e das partes varia dentro da mesma linhagem, oferecendo dados para
24 orientar os produtores quanto às opções de idade ao abate que atendam aos
25 consumidores, com alto rendimento das partes (MOREIRA et al., 2003; FARIA
26 et al., 2010; MADEIRA et al., 2010; KGWATALALA et al., 2012).

27 Tão importante quanto o rendimento de carcaça e de cortes nobres é a
28 qualidade da carne. Portanto a maior parte dos fatores que influenciam a
29 qualidade de carne pode ser controlada nas diversas etapas de sua produção,
30 pois fatores como nutrição, manejo, transporte, temperatura ambiente, tempo
31 de jejum e métodos de apanha das aves, reconhecidamente, afetam a
32 qualidade da carcaça e da carne de aves (MENDES; KOMIYAMA, 2011).

1 A criação de frangos nativos está tornando-se uma atividade de grande
2 relevância, principalmente para os pequenos agricultores, tanto para
3 subsistência familiar como para fins comerciais. Deste modo, objetivou-se
4 avaliar o ganho de peso médio e comparar os parâmetros de rendimento de
5 carcaça e partes, os parâmetros físico-químicos dos músculos do peito, de
6 frangos de linhagens (Peloco, Caneludo e Canela Preta) criadas em dois
7 sistemas de criação e abatidas em diferentes idades.

8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Animais e condições experimentais

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no município de Itapetinga, BA, situado a 293 metros de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 15° 15' 23" Sul, Longitude: 40° 15' 27" Oeste.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UESB, registrado com o nº 166/2017.

Foi utilizado um total de 108 aves (54 machos e 54 fêmeas), sendo: 36 aves da linhagem nativa Peloco, 36 aves da linhagem nativa Caneludo do Catolé e 36 aves da linhagem nativa Canela Preta.

Foram adquiridos pintos de um dia da linhagem nativa Canela Preta oriundos de um núcleo de conservação desses animais no estado do Piauí. Os animais chegaram uma semana antes dos ovos de frangos de linhagem nativa Peloco e Caneludo do Catolé eclodirem no Setor de Avicultura da UESB, campus Itapetinga, onde foram criadas sob as mesmas condições ambientais, no período entre novembro de 2017 a março de 2018.

Todas as aves seguiram o protocolo de vacinação contra Gumboro, Bronquite Infecciosa, *New Castle* e Boubá aviária, vermifugação e uso de complexo vitamínico.

A temperatura dos galpões foi monitorada diariamente em dois horários (8 e 14h), por meio de termômetro de máxima e mínima. No período experimental os termômetros registraram a média de temperatura máxima de 32,8°C e de mínima de 23,2°C.

Até o sétimo dia, todas as aves foram mantidas em gaiolas coletivas com luz (calor), água e ração à vontade, eram utilizados bebedouros e comedouros tubulares infantis na proporção de dois equipamentos por gaiola, atendendo a indicação do manual do fabricante do equipamento. A partir do oitavo dia, os animais foram alojados em boxes experimentais, sendo quatro boxes por linhagem com uma lotação de 12 animais/boxe, sendo seis machos

1 e seis fêmeas. E até a idade de 30 dias, foram utilizadas lâmpadas
2 incandescentes (72 Watts) para aquecimento das aves, uma para cada boxe.
3 Cada boxe possuía um m² de área interna forrado com maravalha. A água foi
4 fornecida em bebedouros do tipo pendular e a ração em comedouros tubulares
5 para aves adultas.

6 Ração e água foram fornecidas *ad libitum* para as aves durante todo o
7 período experimental. As rações utilizadas nas fases, inicial (até 30 dias) e de
8 criação (a partir de 30 dias) foram à base de milho e farelo de soja, seguindo as
9 exigências das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO; GOMES,
10 2011), sendo produzida no Setor de Avicultura da UESB (Tabela 1).

11 Quando as aves atingiram 30 dias de idade, passaram a ser criadas em
12 dois sistemas de criação (intensivo e semi-intensivo), metade dos animais de
13 cada linhagem permaneceu no galpão, caracterizando o sistema intensivo.
14 Enquanto a outra metade foi levada para o sistema de criação semi-intensivo.
15 O sistema semi-intensivo foi composto por uma área coberta com acesso à
16 área de pastagem em um piquete de 5 x 16m², área superior a 3m² por ave,
17 com cobertura vegetal constituída predominantemente por gramínea Tifton 85
18 com livre acesso dos animais durante todo o período, dispondo de água,
19 forragem e ração *ad libitum*.

20 Semanalmente as aves foram pesadas, individualmente, para
21 determinação do ganho de peso médio (g/ave). Os dados foram avaliados aos
22 60, 90 e 120 dias em cada um dos grupos genéticos e nos dois sistemas de
23 criação.

24 As aves foram abatidas em três momentos, com 60, 90 e 120 dias de
25 idade. Nas idades estabelecidas, foram abatidas seis aves por sistema de
26 criação (três machos e três fêmeas), totalizando 12 aves por grupo genético.
27 Todos os animais foram submetidos a um período de 8 a 10 horas de jejum
28 alimentar e dieta hídrica, antes do procedimento de abate. O abate dos animais
29 foi realizado em condições humanitárias, por deslocamento cervical, seguido
30 da sangria, secção manual dos principais vasos do pescoço (artérias carótidas
31 e veias jugulares) por um tempo aproximado de três minutos. Posteriormente,
32 foi realizada a evisceração (para coleta dos tecidos) e na sequência
33 escaldagem (60°C por dois minutos) e depenagem.

1 **Tabela 1.** Composição da ração usada para os animais, durante o período
2 experimental.

Ingredientes	Fase	
	Inicial	Crescimento
Milho	62,60%	67,83%
Farelo de soja	32,50%	26,21%
Fosfato bi cálcico	1,76%	1,68%
Calcário calcítico	1,12%	0,85%
NaCl	0,40%	0,50%
DL – metionina	0,17%	0,09%
L-lisina HCL	0,25%	0,21%
Óleo vegetal	1,12%	2,43%
Mistura vitamínica	0,1%	0,1%
Mistura mineral	0,1%	0,1%

3

4 4.2.2. Rendimento de carcaça e cortes comerciais

5

6 As carcaças das aves (incluindo apenas o pescoço), após a evisceração,
7 foram pesadas e os cortes comerciais realizados por uma única pessoa
8 treinada, sendo pesados para avaliação do rendimento da carcaça (peito,
9 perna (coxa + sobrecoxa), asa, dorso e gordura abdominal).

10 Os parâmetros de rendimento de carcaça avaliados foram: rendimento
11 de carcaça, pernas (comumente denominadas coxa e sobrecoxa), asas, peito,
12 dorso e porcentagem de gordura abdominal. Para o cálculo do rendimento de
13 carcaça e gordura abdominal, foi tomado como base o peso vivo em jejum
14 obtido individualmente antes do abate e para as demais partes, o peso da
15 carcaça eviscerada (sem cabeça e pés). Foi considerada como gordura
16 abdominal, a gordura presente na região da cloaca e aquela aderida à moela.
17 Os cortes e a gordura abdominal foram pesados em balança com precisão de 1
18 g.

19

20 4.2.3. Determinação Física e Parâmetros de Qualidade da Carne do Peito

21

22 Foi coletado o peito com osso, sendo este, embalado em sacos plásticos
23 de polietileno, previamente identificados por grupo genético e sistema de
24 criação, sendo, imediatamente resfriados à temperatura entre 0 e 4°C por um

1 período de 24 horas. Após esse período, os cortes do peito foram
2 armazenados à temperatura de -18°C , até a realização das análises
3 laboratoriais, no Laboratório de Análise da Unidade Experimental de Caprinos e
4 Ovinos – UECO, da UESB.

5 Os cortes do peito foram descongelados sob-refrigeração a 4°C , por 12
6 horas, para determinação dos parâmetros físico-químicos na ordem lógica das
7 análises, sendo obtida a cor, seguida da perda de peso por cocção (PPC),
8 força de cisalhamento (FC) e em paralelo, determinadas a capacidade de
9 retenção de água (CRA) e potencial hidrogeniônico (pH).

10

11 **4.2.3.1. Determinação da Cor**

12

13 Para a determinação da cor a carne foi descongelada e deixada exposta
14 a luz natural por 30 minutos para que pudesse retornar a cor normal após o
15 descongelamento, e em seguida, a mesma foi colocada em um local fechado,
16 com pouca luminosidade, em uma bandeja branca. Utilizou-se o colorímetro
17 Mini SCam XE PLUS, modelo 45/0-L, por meio da escala do sistema de
18 avaliação CIE $L^* a^* b^*$ (CIE, *Commission Internationale de l'Eclairage*, 1986;
19 MCLAREN, 1976), em que L^* fornece luminosidade, variando do branco ($L=$
20 100) ao preto ($L= 0$); o valor de a^* caracteriza a coloração do vermelho (+60)
21 ao verde (-60); o valor b^* indica coloração no intervalo do amarelo (+60) ao
22 azul (-60). Foram realizadas três leituras por amostra, utilizado o valor médio
23 para análise dos dados.

24

25 **4.2.3.2. Perda de Peso por Cocção (PPC)**

26

27 Para a Perda de Peso por Cocção, foram utilizadas três fatias da mesma
28 amostra medindo-se dois centímetros de espessura, mensurada com auxílio de
29 paquímetro. As amostras foram pesadas em uma balança semi-analítica,
30 embaladas em papel alumínio, e postas sob cocção em chapa aquecedora pré-
31 aquecida a uma temperatura de 150°C . Ao atingir 35°C , as amostras foram
32 viradas e mantidas na chapa até a temperatura interna (centro geométrico)
33 atingir $72 \pm 2^{\circ}\text{C}$, temperatura que foi monitorada com o auxílio de um

1 termômetro digital. Em seguida, as amostras foram colocadas em um
2 dessecador por 20 a 30 minutos e pesadas quando alcançaram a temperatura
3 ambiente. A diferença entre o peso inicial e peso final da amostra indicou a
4 perda de peso por cocção em gramas, de acordo com o recomendado por
5 Duckett et al. (1998).

6

7 **4.2.3.3. Força de Cisalhamento (FC)**

8

9 A força de cisalhamento do músculo do peito foi determinada através do
10 texturômetro TA HDplus Texture Analyser (Canton, MA, EUA), com uma lâmina
11 de corte Warner-Bratzler (WB) em forma de V (Parto-No HDP/WBV; Batch No
12 12625), a uma velocidade de cruzeta de 100 mm min⁻¹. Utilizaram-se as
13 amostras resultantes da determinação da perda de peso por cocção e a
14 medida foi realizada numa escala de zero a 10 kgf/segundo, utilizando a
15 velocidade que varia de cinco milímetros/segundo a 10 milímetros/segundo.
16 Cada amostra foi cortada duas ou três vezes e a força máxima necessária para
17 cortar a amostra através das fibras foi registrada.

18

19 **4.2.3.4. Capacidade de Retenção de Água (CRA)**

20

21 A Capacidade de Retenção de Água foi determinada através da
22 metodologia de Nakamura; Katoh (1985), em que 1,0 grama da amostra foi
23 pesada em papel filtro, colocada em uma centrífuga por quatro minutos a 1500
24 rpm, pesada novamente, seca em estufa a 70°C por 12 horas, e após esse
25 processo realizou-se a pesagem final do material. A Capacidade de Retenção
26 de Água foi determinada pela diferença entre o peso da amostra após a
27 centrifugação, e o peso da amostra seca, dividindo-se pelo peso inicial, sendo
28 o valor expresso em porcentagem.

29

$$30 \text{ CRA \%} = \frac{\text{peso da amostra centrifugada} - \text{peso da amostra seca}}{\text{peso inicial da amostra antes da centrifugação}}$$

31

32

33

34

1 **4.2.3.5. Potencial Hidrogeniônico (pH)**

2
3 Para a determinação do pH foi utilizado o equipamento peagâmetro
4 portátil (Hanna Modelo HI99163) com eletrodo de inserção. Em um Becker,
5 misturou-se 10 g de carne previamente moída em multiprocessador e
6 homogeneizada com 10 mL de água destilada para facilitar a penetração do
7 eletrodo. A medição foi realizada em triplicata e o valor final se deu pela média
8 dos valores obtidos. A cada medida e mudança de amostra o eletrodo foi limpo
9 (principalmente o bulbo), com cloreto de potássio (KCl), papel toalha e
10 posteriormente foi lavado com água destilada utilizando um piceta, a fim de
11 evitar resultados alterados.

12 13 **4.2.4. Análises estatísticas**

14
15 Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), pelo
16 programa Statistical Analysis System (2004), versão 9.1, para avaliar os efeitos
17 de raça e sistema de criação nas variáveis estudadas. As médias foram
18 comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se o modelo
19 estatístico, $Y_{ijtr} = \mu_t + L_{it} + S_{jt} + (R_{it} \times S_{jt}) + e_{ijtr}$, em que: Y_{ijtr} é o valor da
20 característica t, na raça i, no sistema j, no animal r; μ_t é a média da
21 característica t; R_{it} é o efeito da raça i, na característica t; S_{jt} é o efeito do
22 sistema de criação j, na característica t; $(R_{it} \times S_{jt})$ é o efeito da interação da
23 raça i e sistema de criação j na característica t; e e_{ijtr} é o efeito do erro aleatório
24 atribuído à observação Y_{ijtr} .

25
26
27
28
29

1 4.3. RESULTADOS

2

3 Na avaliação do peso vivo ao abate e do ganho de peso diário, nas três
4 idades avaliadas (60, 90 e 120 dias) e nos dois sistemas, não houve interação
5 significativa (Tabela 2).

6

7 **Tabela 2.** Média do peso ao abate e ganho de peso de três linhagens de
8 frangos nativos criados em diferentes sistemas até aos 60, 90 e 120 dias de
9 idade.

Variáveis (g)	Linhagem			Sistema	
	Peloco	Caneludo	Canela Preta	Intensivo	Semi-intensivo
60 dias					
PV	610,00a	747,08a	693,33a	633,39ns	733,06ns
GPD	2,61a	3,18a	3,37a	2,89ns	3,22ns
90 dias					
PV	1045,42a	1290,83a	1277,08a	1145,00ns	1263,89ns
GPD	3,46a	4,30a	4,13a	4,18ns	3,75ns
120 dias					
PV	1508,75	1927,50	1669,17	1682,78ns	1720,83ns
GPD	3,43	4,97	3,68	3,65ns	4,10ns

10 Médias seguidas de letras iguais nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de
11 probabilidade. ^{ns}Não significativo. PV – peso vivo ao abate; GPD – ganho de peso diário.

12

13 As médias observadas para os rendimentos (%) de carcaça, peito,
14 pernas (coxas + sobrecoxas), asas, dorso e gordura abdominal das três
15 linhagens de frangos nativos aos 60, 90 e 120 dias de idade, submetidas a dois
16 sistemas de criação estão apresentadas na Tabela 3. Houve interação
17 significativa para os rendimentos de peito e dorso aos 90 dias de idade. O
18 desdobramento da interação para essas variáveis é apresentado na Tabela 4.

19 Houve diferença significativa entre os sistemas de criação ($P < 0,05$), no
20 rendimento médio de peito, pernas e dorso e porcentagem de gordura
21 abdominal com relação ao sistema de criação, na idade de 60 dias,
22 apresentando maior rendimento para peito e pernas nos animais criados no
23 sistema semi-intensivo, e maior rendimento de dorso, para os animais criados
24 no sistema intensivo. Para a porcentagem de gordura abdominal, a maior
25 média, foi encontrada nos animais do sistema intensivo (Tabela 3).

1 Entre as linhagens, aos 60 dias de idade, houve diferença para o
2 rendimento de pernas entre as aves Peloco e Canela Preta, sendo que o
3 Peloco apresentou maior rendimento. Já em relação ao rendimento de dorso,
4 os animais Peloco tiveram menor rendimento com relação aos animais
5 Caneludo e Canela Preta. A média de porcentagem de gordura abdominal foi
6 maior nos animais da linhagem Canela Preta, diferindo significativamente
7 ($P<0,05$) dos demais.

8 Aos 90 dias de idade, houve diferença significativa entre as médias de
9 rendimento de carcaça, independente do sistema de criação, o frango Peloco
10 apresentou a menor média, diferindo apenas da Canela Preta, que apresentou
11 a maior média. Encontramos uma diferença também na média do rendimento
12 de dorso, sendo o Peloco com maior média de rendimento, diferindo apenas do
13 Caneludo.

14 Para os animais com 120 dias de idade, a média do rendimento de peito
15 e da porcentagem de gordura abdominal da linhagem Caneludo apresentou
16 maior valor, diferindo significativamente ($P<0,05$) apenas da Canela Preta. Já
17 no rendimento das asas, os animais da linhagem Caneludo tiveram o menor
18 rendimento, diferindo ($P<0,05$) dos animais Peloco e Canela Preta.

19 Avaliando os sistemas de criação, observamos uma diferença
20 significativa entre as médias gerais, nas idades de 90 e 120 dias, de
21 rendimento de peito, sendo o sistema semi-intensivo com maior rendimento em
22 ambas as idades.

23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

1 **Tabela 3.** Média dos rendimentos de carcaça e suas partes e da gordura
 2 abdominal de três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas
 3 aos 60, 90 e 120 dias de idade.

Rendimentos (%)	Linhagem			Sistema	
	Peloco	Caneludo	Canela Preta	Intensivo	Semi-intensivo
60 dias de idade					
Carcaça	69,86a	69,34a	70,66a	70,9ns	69,00ns
Peito	24,13a	22,93a	23,17a	22,80*	24,02*
Pernas	31,57a	31,24ab	29,93b	30,19*	31,64*
Asas	14,12a	13,56a	13,96a	14,07ns	13,68ns
Dorso	28,47b	31,46a	30,77a	31,24*	29,23*
Gordura	0,31b	0,43b	0,82a	0,70*	0,34*
90 dias de idade					
Carcaça	68,40b	70,41ab	72,12a	70,46ns	70,16ns
Peito	24,89a	25,15a	24,08a	24,11*	25,31*
Pernas	31,18a	31,47a	31,75a	31,66ns	31,27ns
Asas	12,92a	13,01a	13,00a	13,24ns	12,71ns
Dorso	29,90a	28,58b	29,17ab	29,51ns	28,92ns
Gordura	0,81a	0,93a	1,08a	1,15ns	0,73ns
120 dias de idade					
Carcaça	73,46a	74,29a	74,51a	74,07ns	74,11ns
Peito	25,53ab	27,19a	25,17b	25,65*	26,27*
Pernas	31,84a	31,92a	32,08a	32,06ns	31,83ns
Asas	12,60a	11,78b	12,92a	12,50ns	12,36ns
Dorso	29,27a	28,73a	29,41a	29,27ns	28,99ns
Gordura	0,85ab	1,13a	0,42b	0,87ns	0,73ns

4 Médias seguidas de letras iguais nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de
 5 probabilidade. ^{ns}Não significativo. *Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F da análise
 6 de variância.

7

8 Para os animais com 90 dias de idade, houve efeito da interação entre a
 9 linhagem e o sistema de criação ($P < 0,05$) para os rendimentos de peito e
 10 dorso. As linhagens Caneludo e Canela Preta diferiram estatisticamente em
 11 relação ao sistema de criação, em que ambos apresentaram maior rendimento
 12 de peito no sistema semi-intensivo. E em relação ao rendimento de dorso, a
 13 linhagem Caneludo exibiu maior rendimento no sistema intensivo (Tabela 4).

14 Quanto à interação entre as linhagens, encontramos uma diferença no
 15 rendimento de peito entre Peloco e Canela Preta, no do sistema intensivo,

1 sendo que os animais Peloco mostraram melhor rendimento. Já no sistema
 2 semi-intensivo, os animais Peloco e Caneludo diferiram entre si, sendo que
 3 este último apresentou maior rendimento de peito. Já para o rendimento de
 4 dorso houve diferença no sistema semi-intensivo entre as linhagens Peloco e
 5 Caneludo, havendo maior rendimento para o Peloco. Houve diferença na
 6 linhagem Caneludo, havendo maior rendimento de dorso, no sistema Intensivo
 7 (Tabela 4).

8

9 **Tabela 4.** Desdobramento da interação para as médias dos rendimentos de
 10 peito e dorso de três linhagens de frangos nativos criados em diferentes
 11 sistemas aos 90 dias de idade.

Sistema	Linhagem		
	Peloco	Caneludo	Canela Preta
Rendimento de Peito (%)			
Intensivo	25,38aA	24,14abA	22,80bA
Semi-intensivo	24,40bA	26,16aB	25,37abB
Rendimento de Dorso (%)			
Intensivo	29,26aA	29,57aA	29,68aA
Semi-intensivo	30,53aA	27,58bB	28,65bA

12 Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem
 13 entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

14

15 As médias observadas para as características de qualidade de carne
 16 (Cor, Capacidade de retenção de água, Força de cisalhamento e perda de
 17 peso por cocção) das três linhagens de frangos nativos aos 60, 90 e 120 dias
 18 de idade, submetidas a dois sistemas de criação estão apresentadas na Tabela
 19 5. Houve interação significativa aos 90 dias de idade para a variável CRA
 20 (Capacidade de retenção de água) e aos 120 dias para a Cor L*. O
 21 desdobramento da interação para essas variáveis é apresentado na Tabela 6.

22 Para a avaliação da qualidade da carne aos 60 dias de idade, houve
 23 uma diferença significativa ($P < 0,05$) para a média geral da força de
 24 cisalhamento, Cor a* e Cor b* entre os sistemas de criação. Para a Força de
 25 cisalhamento o sistema intensivo apresentou um valor maior, o que significa
 26 uma carne mais firme e para as cores a* e b* os valores maiores foram
 27 apresentados no sistema semi-intensivo.

1 Para os animais com 90 dias de idade, observamos uma diferença
2 (P<0,05) das médias das linhagens em relação à cor L* e b* independente do
3 sistema de criação, em que nota-se valor maior na média da linhagem Peloco,
4 significando uma carne mais clara e um tom mais amarelado, em relação a
5 média da linhagem Canela Preta. Foi observada também uma diferença
6 estatística (P<0,05) com relação às médias da força de cisalhamento, em que a
7 linhagem Canela Preta apresentou uma força maior, o que reflete em uma
8 firmeza da carne maior, em relação à carne da linhagem Caneludo.

9 Avaliando as médias das linhagens com 120 dias, independente do
10 sistema de criação verificou-se que a carne do Peloco apresentou uma cor L*
11 maior em relação às outras, sendo diferente significativamente apenas com a
12 média da linhagem Canela Preta.

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1 **Tabela 5.** Média para as características de qualidade de carne em três
 2 linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas aos 60, 90 e 120
 3 dias de idade.

Variáveis	Linhagem			Sistema	
	Peloco	Caneludo	Canela Preta	Intensivo	Semi-intensivo
60 dias de idade					
Cor L*	46,04a	47,66a	45,77a	49,05ns	44,87ns
Cor a*	7,76a	6,08a	6,37a	5,59*	7,42*
Cor b*	9,80a	9,29a	8,46a	8,24*	9,91*
CRA (%)	49,93a	51,20a	49,54a	50,14ns	50,47ns
FC	5,04a	3,83a	3,67a	4,75*	3,39*
PPC	13,68a	17,87a	17,31a	15,37ns	17,70ns
90 dias de idade					
Cor L*	66,25a	61,16ab	53,14b	62,79ns	57,58ns
Cor a*	8,34a	7,87a	8,67a	8,36ns	8,22ns
Cor b*	11,08a	10,48ab	8,13b	9,62ns	10,17ns
CRA (%)	43,19a	37,58a	43,54a	39,66ns	43,21ns
FC	6,89ab	5,58b	8,20a	7,07ns	6,71ns
PPC	18,54a	15,40a	16,28a	15,86ns	17,62ns
120 dias de idade					
Cor L*	64,54a	60,46ab	55,37b	61,84ns	58,90ns
Cor a*	8,13a	8,32a	8,34a	8,07ns	8,45ns
Cor b*	10,01a	10,29a	8,79a	9,43ns	10,03ns
CRA (%)	37,64a	37,27a	37,76a	36,62ns	38,49ns
FC	5,36a	5,30a	5,27a	5,15ns	5,15ns
PPC	18,42a	19,11a	21,85a	20,00ns	19,48ns

4 Médias seguidas de letras iguais nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de
 5 probabilidade. ^{ns}Não significativo. *Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F da análise
 6 de variância. Cor L* varia do branco (100) ao preto (0); cor a* varia do vermelho (+60) ao verde
 7 (-60) e a cor b* varia do amarelo (+60) ao azul (-60).

8

9 Avaliando a interação, notamos uma diferença significativa na idade de
 10 60 dias para a CRA, em que a linhagem Canela Preta apresentou uma maior
 11 CRA no sistema semi-intensivo e no sistema semi-intensivo, os animais da
 12 linhagem Caneludo apresentaram um menor índice, diferindo dos demais
 13 (Tabela 6).

14 Aos 120 dias de idade, observamos que, na linhagem Caneludo houve
 15 uma diferença significativa ($P < 0,05$), em que a cor L* foi maior no sistema
 16 intensivo, representando uma carne mais clara. Assim como com relação às

1 linhagens, verificamos que no sistema intensivo houve diferença ($P < 0,05$),
 2 sendo que a carne da linhagem Caneludo também apresentou um valor mais
 3 alto para a cor L^* , o que é interpretado como uma carne mais clara, com
 4 relação à carne da linhagem Canela Preta, que conseqüentemente se
 5 apresentou mais escura (Tabela 6).

6
 7 **Tabela 6.** Desdobramento da interação para as médias da capacidade de
 8 retenção de água (CRA%) aos 90 dias e coloração da carne (Cor L^*) aos 120
 9 dias, em três linhagens de frangos nativos criados em diferentes sistemas aos
 10 90 e 120 dias de idade.

Idade	Sistema	Linhagem		
		Peloco	Caneludo	Canela Preta
		CRA (%)		
90 dias	Intensivo	41,91aA	39,61aA	37,46aA
	Semi-intensivo	44,47aA	35,55bA	48,85aB
		Cor L^*		
120 dias	Intensivo	64,43aA	67,26aA	51,14bA
	Semi-intensivo	63,75aA	54,09aB	58,86aA

11 Médias seguidas de letras iguais, nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si,
 12 pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

13
 14 Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para a variável pH entre as
 15 idades e os sistemas de criação avaliados (Tabela 7).

16
 17 **Tabela 7:** Dados médios dos valores de pH do músculo de peito de frangos,
 18 com relação a idade e ao sistema de criação.

Variável	Sistemas	60 dias	90 dias	120 dias
pH	Intensivo	5,73	5,73	5,7
	Semi-intensivo	5,69	5,57	5,5

19

20

21

22

23

1 4.4. DISCUSSÃO

2
3 Almeida et al. (2013) observaram que o frango Peloco apresentou menor
4 peso de carcaça em comparação as linhagens comerciais, o que corrobora
5 com este trabalho, em que os animais Peloco apresentaram menor peso vivo
6 ao abate, nas três idades avaliadas, conseqüentemente apresentam uma
7 carcaça mais leve em comparação as carcaças dos animais Caneludo e
8 Canela Preta. O peso médio ao abate dos frangos Canela Preta com 120 dias
9 de idade foi de 1.669,17g, abaixo do valor médio encontrado no trabalho de
10 Carvalho et al. (2017) que obtiveram um peso médio de 2.045g aos 150 dias no
11 estudo sobre padrão racial da Canela Preta, podendo justificar pela diferença
12 de idade e pelas condições de criação que foram diferentes.

13 Moreira et al. (2012) avaliando o desempenho de frangos caipiras,
14 observaram um peso médio de 3.493,12g aos 90 dias, assim como Del
15 Castilho et al. (2013) que encontraram um peso de 3.130 g aos 91 dias de
16 idade. Já em trabalho realizado por Lemos et al. (2018) com linhagens de
17 frango caipira, observaram uma média de peso aos 56 dias de 1.299,6g e aos
18 70 dias de 1.578,75g, valores distantes dos encontrados neste estudo nas
19 idades de 60 dias (683,46g) e 90 dias (1.204g). Estas diferenças,
20 possivelmente, se devem a variabilidade natural existente nos animais
21 estudados (Peloco, Caneludo e Canela Preta), que são frangos de linhagens
22 nativas e não sofreram processo de seleção genética e, desta forma, não
23 apresentam um ganho de peso e um peso médio ao abate como nos frangos
24 estudados pelos autores supracitados, que utilizaram frangos de linhagens
25 selecionadas.

26 O pH das amostras analisadas variaram entre 5,5 a 5,7, encontrando-se
27 nos limites estabelecidos para carne de frangos e foram semelhantes aos
28 resultados encontrados por vários autores (SANTOS et al., 2005; SOUZA et al.,
29 2012; ROSSA et al., 2015; GOES et al., 2019; BUENO et al., 2020). Segundo
30 Shimokomaki et al. (2006), o pH pode variar de 5,5 a 6,3, dependendo das
31 práticas de manejo pré-abate, fisiologia e bioquímica da carne. A média do pH
32 final pode ter efeitos importantes sobre a qualidade da carne e
33 desenvolvimento da cor (BARBUT, 2015).

1 Avaliando os dados de rendimento de carcaça, peito, pernas, asas e
2 dorso nas cinco idades (56, 63, 70,77 e 84 dias) estudadas em frangos tipo
3 colonial de crescimento lento e rápido por Takahashi et al. (2006), podemos
4 verificar semelhança dos dados de 63 e 84 dias com os valores encontrados
5 neste estudo com os animais de 60 e 90 dias respectivamente. Em
6 rendimentos de carcaça (69,33%), pernas (33,02%) e asas (12,65%),
7 observamos valores similares, valores maiores para rendimento de peito
8 (31,08%) e menores para rendimento de dorso (22,96%). Já em comparação
9 com os dados de 84 dias, desses autores, encontramos valores
10 correspondentes para rendimento de carcaça (71,54%), valores maiores para
11 peito (32,21%) e pernas (33,56%) e menores para rendimento de dorso
12 (22,29%) e asas (11,47%) em comparação aos animais com 90 dias de idade.

13 Os valores médios de rendimento de carcaça aos 90 dias de idade foram
14 inferiores ao valor médio de 84,10% obtido por Moreira et al. (2012) em frangos
15 caipiras, mas superior ao valor médio para rendimento de pernas (27,32%),
16 asas (10,15%) e dorso (18,58%) e semelhante ao valor médio encontrado para
17 o rendimento de peito (25,06%). Veloso et al. (2014) trabalhando com frangos
18 tipo caipira, avaliaram os rendimentos de carcaça, peito e pernas aos 85 dias
19 de idade e obtiveram resultados com relação as médias de peito (28,10%) e
20 pernas (29,57%) similares aos animais com 90 dias, deste estudo, mas
21 encontraram um rendimento médio de carcaça maior (80,28%), apesar de não
22 encontrarem diferença significativa entre os animais. Estes autores afirmam
23 que a demanda de frango tipo caipira é por uma carcaça não muito grande e
24 sugere que os frangos precisam ser abatidos em idades que atendam a esta
25 demanda do mercado.

26 Del Castilho et al. (2013) em estudo com frangos tipo caipiras, abatidos
27 aos 91 dias, obtiveram valores próximos de rendimento de peito (24,20%),
28 diferenciando com valores superiores para rendimentos de carcaça (75,11%) e
29 pernas (26,32%) em comparação com a média dos animais aos 90 dias de
30 idade.

31 As médias de rendimento de carcaça (70,40%) e de pernas (30,15%)
32 aos 90 dias de idade em aves provenientes de cruzamentos entre linhagens de
33 crescimento lento e rápido avaliadas por Sarica et al. (2014) foram muito

1 próximas aos valores médios obtidos neste trabalho, superiores aos valores
2 médios de rendimento de peito (30,50%) e de gordura abdominal (2,95%), mas
3 inferiores com relação ao valor médio de rendimento de asas (11,95%), para os
4 animais desta pesquisa com a mesma idade.

5 Bueno et al. (2020), trabalhando com frangos comerciais, encontraram
6 valores médios aos 50 dias de idade, sendo superiores para rendimento de
7 carcaça (74,85%), peito (37,35%) e gordura abdominal (2,76%), semelhantes
8 para rendimento de pernas (30,78%) e inferiores para rendimento de asas
9 (10,47%) e dorso (18,63%) comparando com os resultados dos animais, deste
10 trabalho, aos 60 dias, fato que pode ser atribuído à genética das aves
11 comerciais, selecionadas para o crescimento rápido de peito e carcaça e que
12 consequentemente apresenta um percentual de gordura abdominal maior e
13 rendimento de asas e dorso menor. Assim como encontrado por Góes et al.
14 (2019) em aves comerciais, os valores médios para os rendimentos de carcaça
15 (75,22%), peito (39,54%) e gordura abdominal (1,93%), foram superiores, mas
16 o valor médio de rendimento de asa (9,19%) foi inferior aos valores médios
17 encontrados aqui nos frangos de linhagens nativas estudados em todas as
18 idades e nos dois sistemas de criação.

19 Analisando os rendimentos de seis linhagens de frango de corte, criados
20 em sistema alternativo e abatidos aos 105 dias, Cruz et al. (2018b)
21 encontraram valores médios superiores para rendimento de carcaça (75,60%)
22 e gordura abdominal (0,85%), inferior para peito (22,40%), dorso (17,50%) e
23 para pernas (29,90%) e similar para asas (12,30%) comparados com os
24 animais de 120 dias e criados em sistema semi-intensivo, deste estudo. O valor
25 de gordura abdominal aqui no trabalho supracitado foi o único encontrado com
26 um valor baixo e próximo aos valores encontrados nas linhagens estudadas,
27 explicado talvez pelo sistema de criação alternativo.

28 O valor de rendimento de carcaça encontrado por Souza et al. (2020)
29 com frangos caipiras aos 70 dias, foi de 72,73%, valor similar ao rendimento de
30 carcaça do frango Peloco com 120 dias. Em estudo realizado por Cipriano et al.
31 (2018) com frangos caipiras aos 77 dias de idade também encontraram valores
32 muito semelhantes aos encontrados neste estudo em animais de 120 dias,
33 para os rendimentos de carcaça (69,28%), peito (27,92%) e pernas (33,40%),

1 mas diferentes com relação a porcentagem de gordura abdominal (2,68%), e
2 se assemelhando ao valor de gordura abdominal (2,29%) encontrado por Paes
3 et al. (2015) em frangos caipiras com 70 dias e com o trabalho de Pereira et al.
4 (2019) que encontraram um valor médio do percentual de gordura de (2,13%)
5 para raças comerciais.

6 De acordo com Morais et al. (2015), a criação de frangos de linhagem
7 nativa apesar de apresentar potencial mais lento de crescimento, desempenho
8 e rendimento de cortes quando comparada com a criação de frangos de corte
9 comercial, sua criação é firmada por atributos diferenciados na qualidade da
10 carne como o sabor, a textura e a coloração da carne. E assim a seleção dos
11 frangos de linhagens nativas pode ser baseada nessas características que são
12 desejadas, além da postura de ovos, cor da casca dos ovos, tamanho dos
13 ovos, número de ovos, eclodibilidade entre outras características importantes
14 (CARVALHO et al., 2020).

15 Os valores médios de rendimento de pernas apresentaram diferença
16 significativa e melhores resultados no sistema semi-intensivo aos 60 dias de
17 idade, possivelmente pelo sistema semi-intensivo proporcionar um maior
18 movimento da ave durante o pastejo no piquete. Já para o rendimento de dorso
19 e porcentagem de gordura abdominal, na idade de 60 dias, os maiores valores
20 foram encontrados nas aves criadas em sistema intensivo. Para a porcentagem
21 de gordura abdominal, valor maior em sistemas intensivos é compreensível
22 devido à diminuição de atividade física em busca de alimentos ou pastejo.

23 Observamos diferenças significativas entre as linhagens e os sistemas
24 de criação apenas na idade de 90 dias para os rendimentos de peito e dorso,
25 essas diferenças podem ser atribuídas à fase de maior desenvolvimento das
26 aves e por esse motivo encontramos valores significativos.

27 A diferença encontrada neste estudo, aos 90 dias de idade, com relação
28 ao rendimento de peito para as linhagens Caneludo e Canela Preta no sistema
29 de criação apresentou maiores rendimentos de peito nas aves criadas no
30 sistema semi-intensivo, pois segundo Mikulski et al. (2011), o sistema semi-
31 intensivo favorece uma maior liberdade de locomoção e é mais semelhante ao
32 habitat natural das aves e dessa forma conseguem um desenvolvimento
33 muscular melhor.

1 Segundo Melo; Voltolini (2019) as aves de linhagens nativas apresentam
2 um crescimento mais lento e uma produção de carne menor quando
3 comparada com as aves industriais, apesar dos produtos serem considerados
4 diferenciados pelo sabor, textura e cor apresentados. Justificando assim um
5 período de criação das aves nativas bem mais longo, pois apresentam altos
6 índices de variabilidade genética e rusticidade. Fato evidenciado, quando
7 comparamos os rendimentos de carcaça, pernas e peito com as linhagens
8 comerciais, que apresentam rendimentos bem maiores com relação às aves
9 nativas, mas em contrapartida os rendimentos de asas e dorso nessas aves
10 são sempre maiores. Comprovando que as aves nativas não estão
11 selecionadas especificamente para desenvolvimento de cortes nobres como o
12 peito e pernas.

13 A criação de frangos nativos representa para os agricultores familiares
14 um papel importante socioculturalmente, além de permitirem o uso na
15 alimentação e o excedente na comercialização de carne e ovos, funcionando
16 até como a principal fonte de renda. Sem falar que a criação colabora para a
17 preservação e produção desse valioso patrimônio genético (ALMEIDA et al.,
18 2019; MELO; VOLTOLINI, 2019).

19 Madeira et al. (2010) avaliando dois sistemas de criação (confinado e
20 semiconfinado) em frangos de corte tipo colonial, não encontraram influência
21 no desempenho e nem nas características de rendimento de carcaça, mas
22 observaram diferença no rendimento de gordura abdominal, sendo menor nas
23 aves criadas em semiconfinamento (2,76%) do que em confinamento (3,06%),
24 resultado que corrobora com os encontrados nesta pesquisa, apesar da
25 diferença significativa ($P < 0,05$) entre os sistemas de criação, ser apenas na
26 idade de 60 dias. Segundo os autores supracitados, à medida que aumenta a
27 deposição de gordura, diminui a proporção de carne. Segundo Barbosa et al.
28 (2007), quando as aves são criadas no sistema semi-intensivo, conseguem um
29 desenvolvimento muscular melhor, ficam mais resistentes ao estresse, sua
30 carne é considerada de melhor sabor e apresentam menor teor de colesterol.

31 Furtado et al. (2011) avaliando efeito na dieta de aves caipiras
32 encontraram, no grupo controle (ração com 3.000 Kcal de energia
33 metabolizável - EM), um valor de 2,96% de rendimento de gordura abdominal

1 aos 70 dias, valor semelhante ao achado por Madeira et al. (2010), mas que
2 difere bastante do presente estudo, sendo que encontramos para as idades de
3 60, 90 e 120 dias, valores médios de 0,70, 1,15 e 0,87% para o sistema
4 intensivo e 0,34, 0,73 e 0,73% para o sistema semi-intensivo respectivamente.

5 Souza et al. (2012), avaliando frangos caipiras em três diferentes idades,
6 observaram alterações nos parâmetros de cor, com uma redução apenas nos
7 valores de vermelho (a^*) e aumento nos teores de luminosidade (L^*) e no teor
8 de amarelo (b^*) com o avanço da idade de abate. Já Santos et al. (2005)
9 comparando aves caipiras com aves comerciais, encontraram maior teor de cor
10 vermelha (a^*) nas aves caipiras (3,44) que nas aves comerciais (2,66) e afirma
11 que esse parâmetro auxilia na diferença da coloração da carne entre as
12 linhagens caipiras e comerciais.

13 Rossa et al. (2015) encontraram valores médios para o teor de
14 luminosidade (L^*) (63,83 e 61,22) para frangos orgânicos nas idades de 94 e
15 105 dias respectivamente, similares aos encontrados nesta pesquisa nas
16 idades de 90 (60,18) e 120 dias (60,37).

17 Oliveira et al. (2015) encontraram resultados diferentes deste trabalho
18 em que os valores de luminosidade ($L^* = 58,85$), teor de vermelho ($a^* = 0,53$) e
19 o teor de amarelo ($b^* = 3,67$) em peito de frangos caipiras com 85 dias de idade
20 foram menores do que os encontrados nos animais com 90 dias desta
21 pesquisa.

22 Avaliando a média do teor de luminosidade (L^*), aos 90 dias, entre as
23 linhagens de frangos nativos, observamos uma diferença significativa entre os
24 animais Peloco (64,54) e Canela Preta (55,37), o que representa a carne do
25 Peloco mais clara com relação a carne dos animais Canela Preta. Qiao et al.
26 (2001), sugeriram que o parâmetro L^* serve como um indicador de filés com
27 propriedades funcionais alteradas, em que as carnes de frango podem ser
28 classificadas em pálidas ($L^* > 53$), normais ($48 > L^* < 53$) e escuras ($L^* < 46$).
29 Apesar das linhagens de frangos nativos estudados apresentarem teores de
30 luminosidade elevados ($L^* > 53$), nas idades de 90 e 120 dias, representando
31 carnes mais claras, o que pode ser explicado pelas diferenças intrínsecas
32 existentes na composição e estrutura muscular dos animais estudados, pois a

1 cor da carne de frangos caipiras é um dos atributos valorizados pelo
2 consumidor.

3 Observou-se uma interação entre a raça e o sistema de criação para o
4 parâmetro L^* nos animais com 120 dias. O frango Caneludo exibiu um valor
5 menor (54,09) para os animais criados no sistema semi-intensivo, significando
6 uma carne com menos luminosidade (mais escura) já que os animais foram
7 criados com acesso a área externa, a luminosidade da carne pode estar ligada
8 a vários fatores, sendo resultado da absorção da luz pela mioglobina, valor de
9 pH, orientação das fibras musculares e espaçamento entre as fibras, além da
10 maior atividade física e consumo de forragens (FARIA et al., 2009; BARBUT,
11 2015). E segundo Lawrie (2005) uma maior atividade física solicita elaboração
12 de mais mioglobina, podendo estar ligada a diferenças existentes entre as
13 raças, idade, sexo e ao tipo de músculo.

14 Em contrapartida, no sistema de criação intensivo, aos 120 dias,
15 observamos uma diferença significativa ($P < 0,05$), para a cor L^* , entre os
16 animais da linhagem Caneludo (67,26) e Canela Preta (51,14) em que cor da
17 carne do Caneludo e do Peloco apresentou-se mais clara do que a dos animais
18 Canela Preta, o que pode ser explicado pela diferença entre as linhagens.

19 Houve interação significativa para a capacidade de retenção de água
20 (CRA) ($P < 0,05$) na idade de 90 dias, em que a linhagem Canela Preta
21 apresentou maior CRA no sistema semi-intensivo e a linhagem Caneludo
22 diferiu das demais linhagens no do sistema semi-intensivo. De acordo com
23 Oliveira et al. (2015) em pesquisa realizada em frangos caipiras, o valor de pH
24 é a justificativa para as variações na cor (parâmetro L^*) e na CRA. Estes
25 autores afirmam que em músculo do peito com menor pH, há menor hidrofília
26 das proteínas miofibrilares. Com a acidificação *post mortem*, os polos
27 neutralizados perdem a interação com a água do sarcoplasma, provocando
28 uma redução da capacidade de retenção de água pelo músculo. E a água
29 liberada, eleva a umidade superficial da carne provocando maior refletividade
30 da luz incidente e conseqüentemente apresenta maior luminosidade (L^*).

31 Santos et al. (2020) afirmam que os valores de pH interferem
32 diretamente na maciez da carne, estes autores observaram que quanto menor
33 o pH maior foi a Força de Cisalhamento aplicada ao peito de frangos de corte e

1 justificaram pela formação do complexo actomiosina, o que reduziu
2 consequentemente a CRA, resultando em carne mais firme e seca.

3 Observou-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$), para a FC,
4 entre os sistemas de criação na idade de 60 dias, em que o sistema de criação
5 semi-intensivo apresentou um valor menor, apresentando uma carne mais
6 macia, em relação ao sistema intensivo, mas não houve diferença significativa
7 nas idades seguintes, 90 e 120 dias.

8 Foi verificado, nas três linhagens estudadas, para a FC, aumento das
9 médias aos 90 dias e uma diminuição aos 120 dias. Diferente dos resultados
10 encontrados por Souza et al. (2012), em frangos caipiras, que os valores de FC
11 em peito e coxa aumentaram a partir dos 110 dias, justificando que essas
12 variações provavelmente podem ser originadas pela velocidade de redução da
13 solubilidade do colágeno que está diretamente ligada à taxa de
14 desenvolvimento e maturidade fisiológica e que o aumento da firmeza é por
15 conta da maior quantidade de colágeno presente, além do tipo de corte
16 analisado, pois em trabalho realizado por Cruz et al. (2017), avaliando a
17 qualidade de carne de ave caipira e comparando os cortes de peito e coxa,
18 encontraram diferença na FC entre esses cortes, sendo que o peito apresentou
19 maior maciez em relação a carne da coxa, justificando que no sistema
20 alternativo de criação, as aves pastejam em busca de outros alimentos e assim
21 se exercitam aumentando consequentemente a textura da carne da coxa, fato
22 esse comprovando também por Oliveira et al. (2015).

23 Santos et al. (2005) comparando frangos caipiras com frango de
24 linhagem comercial, encontraram valores maiores para a FC nos frangos
25 caipiras em comparação a linhagem Cobb. A Força de Cisalhamento
26 representa a maciez da carne e é um dos atributos importantes buscados na
27 carne de frangos caipiras pelos consumidores (LUIGGI et al., 2020). De acordo
28 com Monteiro et al. (2018) a carne de frangos de corte pode ser classificada
29 em firmes (12,60 a 9,61 kgf), meio tenras (9,60 a 6,62kgf) e tenras (6,61 a 3,61
30 kgf), que em virtude da variabilidade existente com relação aos frangos
31 naturalizados, estes parâmetros podem não servir.

32 A linhagem Canela Preta foi o que apresentou a maior média de perda
33 de peso por cocção aos 120 dias. Segundo Lawrie (2005) a maior perda de

1 peso no cozimento ocorre em carnes com maior quantidade de tecido muscular
2 e menor quantidade de gordura. Já Souza et al. (2012) sugerem que a maior
3 perda de peso por cozimento pode estar relacionada a menor capacidade de
4 retenção de água.

5

6 **4.5. CONCLUSÃO**

7

8 A variação observada nesse estudo vem reafirmar que existe uma
9 variabilidade natural nos desempenhos, rendimentos, características de
10 carcaça e partes, sendo que a escolha do frango de linhagem nativa, o sistema
11 de criação e a melhor idade ao abate será de acordo com o interesse do
12 produtor em sincronia com a demanda do mercado consumidor.

13 O sistema de criação influenciou o parâmetro de Força de Cisalhamento,
14 rendimento de peito, pernas, dorso e porcentagem de gordura abdominal na
15 idade de 60 dias e o rendimento de peito e dorso aos 90 dias nos frangos de
16 linhagens nativas estudados. Os rendimentos não foram afetados pelo acesso
17 ou não ao piquete na idade de 120 dias, apenas o parâmetro de luminosidade
18 (L^*) foi influenciado no frango de linhagem nativa Caneludo, apresentando uma
19 carne mais escura que os demais, para as aves criadas no sistema semi-
20 intensivo.

21

22

23

5. CAPÍTULO II

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

**GENES DE REFERÊNCIA EM TECIDO MUSCULAR DO PEITO DE
FRANGOS DE LINHAGENS NATIVAS**

5.1 INTRODUÇÃO

A técnica da PCR quantitativa em tempo real (qPCR) é muito sensível e pode ser usada quando é necessário quantificar a expressão de RNAs mensageiros em baixos níveis. Esse procedimento permite a detecção direta dos produtos da PCR durante a fase exponencial da reação, combinando amplificação e detecção em um passo (LEDUR et al., 2004).

As informações de expressão gênica são fundamentais no entendimento dos eventos fisiológicos envolvidos nos mais diversos processos (ALMEIDA, 2007). Elas podem ser utilizadas para o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos em processos biológicos importantes como a identificação e caracterização de genes ligados à formação da musculatura esquelética e deposição de massa muscular (BUSTIN et al., 2009).

Os genes de referência são controles endógenos utilizados na qPCR que possuem sequências diferentes dos genes alvos (KOZERA; RAPACZ, 2013). O uso deles é imprescindível para o estudo da expressão gênica, uma vez que estes genes podem ter uma estabilidade variável de acordo com a condição experimental (LORENZETTI et al., 2018). Dessa forma, em cada experimento, deve haver uma etapa de estudo da estabilidade dos genes de referência para aquela espécie, antes de iniciar uma avaliação da expressão gênica para que se obtenham dados de boa qualidade e que sejam confiáveis (JULIAN et al., 2016; HASSANPOUR et al., 2018).

O gene de referência escolhido deve ter seu nível de expressão estável independente de diferentes condições, como sexo, tecido, tratamento e condições experimentais. De acordo com Livak; Schmittgen (2001), o uso de um ou mais genes de referência é o meio mais utilizado para a normalização dos dados em que, geralmente, é utilizado o método de quantificação relativa do gene alvo normalizado pelo gene de referência.

Portanto, objetivou-se identificar genes de referência estáveis em músculo do peito de frangos de linhagens nativas, considerando os fatores de sexo, idade de crescimento e sistema de criação.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Animais e condições experimentais

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no município de Itapetinga, BA, situado a 293 metros de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 15° 15' 23" Sul, Longitude: 40° 15' 27" Oeste. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA / UESB, registrado com o nº 166/2017.

Foi utilizado um total de 162 aves (81 machos e 81 fêmeas), sendo: 06 aves da linhagem comercial (Cobb 500[®]), 42 aves da linhagem nativa Peloco, 42 aves da linhagem nativa Caneludo do Catolé, 42 aves da linhagem nativa Canela Preta e 30 aves da linhagem comercial CBC (Caboclo frango capoeira).

Foram adquiridos pintos de um dia da linhagem Cobb 500[®] e CBC, provenientes de granja comercial especializada e Canela Preta oriundos de um núcleo de conservação desses animais no estado do Piauí. Os animais chegaram uma semana antes dos ovos dos frangos de linhagem nativa Peloco e Caneludo do Catolé eclodirem no Setor de Avicultura da UESB, campus Itapetinga, onde foram criadas sob as mesmas condições ambientais, no período entre novembro de 2017 a março de 2018.

Todas as aves seguiram o protocolo de vacinação contra Gumboro, Bronquite Infecciosa, *New Castle* e Boubá aviária, vermifugação e uso de complexo vitamínico.

A temperatura dos galpões foi monitorada diariamente em dois horários (8 e 14h), por meio de termômetro de máxima e mínima. No período experimental os termômetros registraram a média de temperatura máxima de 32,8°C e de mínima de 23,2°C.

Durante 30 dias, foram utilizadas lâmpadas incandescentes (72 Watts) para aquecimento das aves, uma para cada boxe. Até o sétimo dia, todas as aves foram mantidas em gaiolas coletivas com luz (calor), água e ração à vontade, eram utilizados bebedouros e comedouros tubulares infantis na proporção de dois equipamentos por gaiola. A partir do oitavo dia, os animais

1 foram alojados em boxes experimentais, sendo quatro boxes por linhagem com
2 uma lotação de 12 animais/boxe, sendo seis machos e seis fêmeas. Cada boxe
3 possuía um m² de área interna forrado com maravalha, a linhagem Cobb 500®
4 foi alojada em um boxe, tendo a lotação de apenas dez animais. A água foi
5 fornecida em bebedouros do tipo pendular e a ração em comedouros tubulares
6 para aves adultas, na quantidade de um equipamento de cada por boxe.

7 Ração e água foram fornecidas *ad libitum* para as aves durante todo o
8 período experimental. As rações utilizadas nas fases, inicial (até 30 dias) e de
9 criação (a partir de 30 dias) foram à base de milho e farelo de soja, seguindo as
10 exigências das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO; GOMES,
11 2011), sendo produzida no Setor de Avicultura da UESB.

12 Quando as aves atingiram 30 dias de idade, passaram a ser criadas em
13 dois sistemas de criação (intensivo e semi-intensivo), metade dos animais de
14 cada linhagem permaneceu no galpão, caracterizando o sistema intensivo.
15 Enquanto a outra metade foi levada para o sistema de criação semi-intensivo,
16 com exceção da linhagem Cobb 500®, que foi abatida com 30 dias de vida. O
17 sistema semi-intensivo foi composto por uma área coberta com acesso à área
18 de pastagem em um piquete de 5 x 16m², área superior a 3m² por ave, com
19 cobertura vegetal constituída predominantemente por gramínea Tifton 85 com
20 livre acesso dos animais durante todo o período, dispondo de água, forragem e
21 ração *ad libitum*.

22 As aves foram abatidas com 30, 60, 90 e 120 dias de idade. No 30º
23 (trigésimo) dia foram abatidas apenas seis aves por grupo genético (três
24 machos e três fêmeas). A partir do 60º (sexagésimo) dia, foram abatidas seis
25 aves por sistema de criação (três machos e três fêmeas), totalizando 12 aves
26 por grupo genético. Todos os animais foram submetidos a um período de 8 a
27 10 horas de jejum alimentar e dieta hídrica, antes do procedimento de abate.

28 O abate dos animais foi realizado em condições humanitárias, por
29 deslocamento cervical, seguido da sangria, secção manual dos principais
30 vasos do pescoço (artérias carótidas e veias jugulares) por um tempo
31 aproximado de três minutos. Posteriormente, foi realizada a evisceração (para
32 coleta dos tecidos) e na sequência escaldagem (60°C por dois minutos) e
33 depenagem.

1 **5.2.2. Coleta de Tecido, Extração e Quantificação do RNA Total**

2
3 Imediatamente após o abate foram coletadas amostras de músculo do
4 peito (*Pectoralis major*) de todos os animais do experimento. O material
5 coletado foi colocado em tubos criogênicos, devidamente identificados e,
6 imediatamente congelados em botijão contendo nitrogênio líquido. As amostras
7 foram encaminhadas ao laboratório de Genética Veterinária Animal da
8 Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), no município de Ilhéus, BA,
9 separadas por raça e sistema de criação, sendo armazenadas em *ultrafreezer*
10 (-80°C).

11 Em seguida foi realizada a extração do RNA total com o uso do reagente
12 comercial Trizol® (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) na proporção de 1mL para
13 cada 100mg de tecido. Todos os materiais utilizados foram previamente
14 tratados com inibidor de RNase- RNase AWAY® (Invitrogen, Carlsbad, CA,
15 USA).

16 O tecido foi macerado, utilizando almofariz e cadinho com nitrogênio
17 líquido até a completa dissociação. Logo após, foi adicionado 1 mL de Trizol®
18 em tubo de polipropileno de 1,5 mL, homogeneizado em vórtex e incubado à
19 temperatura ambiente por cinco minutos. Após esse tempo, foi adicionado 200
20 µL de clorofórmio, agitado vigorosamente e incubado por mais cinco minutos à
21 temperatura ambiente. As amostras foram, então, centrifugadas por 15 minutos
22 a 16.000 x g a 4°C., a fase líquida foi coletada e transferida para um tubo limpo,
23 com adição de 500µL de isopropanol em cada tubo. As amostras foram
24 homogeneizadas por inversão, incubadas por 10 minutos à temperatura
25 ambiente e centrifugadas por 10 minutos a 13.000 x g a 4°C. O sobrenadante
26 foi descartado e o precipitado lavado em 1 mL de etanol a 75% (feito com água
27 tratada com Dietil-pirocarbonato - DEPC). O material foi centrifugado
28 novamente a 10.500 x g a 4°C por cinco minutos e o sobrenadante descartado.
29 O *pellet* foi seco por 15 minutos à temperatura ambiente e, a seguir, suspenso
30 em 50µL de água ultrapura livre de RNase (água Dietil-pirocarbonato - DEPC).

31 A concentração total de RNA foi então mensurada usando-se um
32 espectrofotômetro NanoDrop 2000® (Thermo Fisher Scientific Inc, Carlsbad,
33 CA, EUA) no comprimento de onda de 260nm, e a pureza medida pela razão

1 de 260/280nm. A amostra de RNA foi considerada de boa qualidade quando a
2 razão A260nm/A280nm foi entre 1,8 e 2,0. A integridade do RNA foi avaliada
3 em gel de agarose 1%, corada com brometo de etídio e visualizada em luz
4 ultravioleta.

5

6 **5.2.3. Transcrição Reversa do mRNA**

7

8 A transcrição Reversa do mRNA em cDNA foi realizada com o kit
9 comercial GoScript™ Reverse Transcription System (Promega
10 Corporation, Madison, EUA). Foram utilizados, 4 µl de RNA total obtidos a partir
11 do músculo do peito (*Pectoralis major*), acrescidos de 1 µl de Oligodt
12 (500µg/mL). A reação foi incubada por cinco minutos a 70°C e, então, colocada
13 no gelo por um minuto. Foram adicionados a seguir 15 µl de um mix contendo
14 RT buffer, dNTP (10mM), enzima transcriptase reversa (1u/µl), inibidor de
15 ribonuclease recombinante RNaseOUT (40u/µl), MgCl e quantidade de água
16 ultrapura suficiente para um volume final de 20µl. A solução foi incubada
17 inicialmente a 42°C por 50 minutos, para que ocorresse a síntese do DNA
18 complementar, em seguida a 72°C por cinco minutos em termociclador Veriti
19 Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific Inc, Carlsbad, CA, EUA). Após a
20 transcrição reversa, o cDNA foi armazenados em freezer a -20°C.

21

22 **5.2.4. Seleção dos Genes de Referência**

23

24 A avaliação da expressão gênica utilizando o cDNA obtido a partir de
25 RNA extraído das amostras de músculo do peito (*Pectoralis major*) foram
26 realizadas em duplicata, a partir da mesma amostra. Inicialmente, o melhor
27 controle endógeno para normalização dos dados foi determinado por meio da
28 análise de oito genes constitutivos (NASCIMENTO et al., 2015) (Tabela 8).

29 Para a construção da curva padrão, foi utilizado um pool de cDNA, de
30 todas as amostras/idade para otimizar e calcular a eficiência da PCR. Esse
31 pool foi então diluído em quatro concentrações de cDNA (5, 15, 45 e 135ng/µl)
32 e três concentrações de *primers* (200, 400 e 800 mM), para construir curvas
33 padrão para otimização e os cálculos de eficiência na PCR.

1 Para a comparação dos Cts, as amostras dos tecidos foram destinadas
2 à amplificação em PCR em tempo real. As reações de amplificação foram
3 realizadas em termociclador, no ensaio ddCt (Relative Quantification). As
4 condições da reação de qPCR foram definidas com desnaturação inicial a 95°C
5 durante dois minutos e 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos. A
6 temperatura de extensão foi padronizada individualmente para cada par de
7 *primers* durante 60 segundos. Ao final da reação de amplificação foi incluído
8 um passo adicional com elevação gradual de temperatura de 60°C a 95°C para
9 se obter a curva de dissociação. A amplificação de todos os genes foi realizada
10 no Sistema Real Time PCR 7500 Fast (Applied Biosystems, Foster City, CA,
11 EUA) e, os resultados foram obtidos com o programa Sequence Detection
12 Systems (V. 2.0.6) (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) que gerou o
13 parâmetro cycle threshold (Cts).

14 Os valores de Cts das duplicatas foram obtidos diretamente pelo
15 programa acima citado e usados para calcular o Ct médio e o desvio-padrão. A
16 eficiência da amplificação da PCR foi calculada para cada gene de referência
17 usando a fórmula $E = (10^{(-1/\text{coeficiente angular})} - 1) \times 100$ (PFAFFL, 2001).
18 Posteriormente, as curvas de dissociação foram avaliadas quanto à
19 amplificação e à especificidade. Após a análise de eficiência, a temperatura de
20 anelamento e a concentração dos *primers* mais adequados, foram empregadas
21 nas reações de RT-qPCR.

22

23

24

25

26

27

28

1 **Tabela 8.** Descrição dos genes de referência de *Gallus gallus* e seus *primers*
 2 específicos utilizados nas análises de RT-qPCR.

GENE	ID GENE	SEQUÊNCIA 5' - 3'	DESCRIÇÃO
<i>ACTB</i>	M11100.1	F: ACCCTGTCTGACTACAACATC R: CAAGACTGCTGACAACAATA	Beta actina
<i>LDHA</i>	ENSGALE00000067556	F: CTATGTGGCCTGGAAGATCAG R: GCAGCTCAGAGGATGGATG	Lactato desidrogenase A
<i>TFRC</i>	ENSGALE00000080099	F: CTCCTTTGAGGCTGGTGAG R: CGTTCCACACTTTATCCAAGAAG	Receptor de transferrina
<i>MRPS30</i>	NM_204939.1	F: CCTGAATCCCGAGGTTAACTATT R: GAGGTGCGGCTTATCATCTATC	Proteína ribossômica mitocondrial S30
<i>RPL5</i>	NM_204581.4	F: ATATAACGCCTGATGGGATGG R: TTGACTTCTCTCTTGGGTTTCT	Proteína ribossomal L5
<i>MRPS27</i>	XM_424803	F: GCTCCCAGCTCTATGGTTATG R: ATCACCTGCAAGGCTCTATTT	Proteína ribossômica mitocondrial S27
<i>HPRT1</i>	AJ132697	F: GCACTATGACTCTACCGACTATT R: CAGTTCTGGGTTGATGAGGTT	Hipoxantina fosforibosil transferase1
<i>EEF1</i>	NM_204157.2	F: GCCCGAAGTTCCTGAAATCT R: AACGACCCAGAGGAGGATA	Fator de alongamento de tradução eucariótica 1 alfa

3 Os *primers* foram desenhados por NASCIMENTO et al. (2015).

4

5 **5.2.5. PCR Quantitativa em Tempo Real**

6

7 Após calcular os valores de eficiência e escolher os melhores
 8 parâmetros (T° de anelamento, concentração de *primers* e cDNA), as amostras
 9 foram submetidas à amplificação por PCR em tempo real.

10 As reações de PCR quantitativa em tempo real foram realizadas
 11 utilizando o SYBR Green detection kit com GoTaq qPCR Master Mix (Promega,
 12 Madison, WI, EUA), utilizando *primers* específicos. A amplificação de todos os
 13 genes foi realizada em duplicatas, da mesma amostra, contendo, cada uma
 14 delas, um volume de 15µL, no Sistema Real Time PCR 7500 Fast (Applied
 15 Biosystems, Foster City, CA, EUA) e os resultados foram obtidos com o
 16 programa Sequence Detection Systems (V. 2.0.6) (Applied Biosystems, Foster
 17 City, CA, EUA) que gerou o parâmetro cycle threshold (Cts). Os valores Ct
 18 foram exportados e calculados o Ct médio, desvio padrão e a curva padrão
 19 para cada gene. Um controle negativo (Água ultrapura) também foi adicionado
 20 em cada ensaio. As condições da reação de RT-qPCR foram: desnaturação

1 inicial a 95°C durante dois minutos e 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15
2 segundos. A temperatura de extensão de 60 a 64°C durante um minuto foi ideal
3 para todos os primers. Valores de Ct para o controle foram excluídos de
4 análises posteriores, tais como os valores não detectados.

5

6 **5.2.6. Determinação da Expressão dos Genes de Referência**

7

8 Para determinar a estabilidade dos genes de referência, foram utilizados
9 os valores médios de Ct, que foi usado como arquivo de entrada, de acordo
10 com cada algoritmo. Foram aplicados três algoritmos estatísticos diferentes, o
11 BestKeeper (PFAFFL et al., 2004), geNorm (VANDESOMPELE, 2002) e
12 NormFinder (ANDERSEN et al., 2004). Todas as análises foram realizadas no
13 software estatístico R (TEAM, 2015). Além disso, foi gerado um ranking geral
14 para as idades de 30 e 120 dias empregando as três ferramentas através do
15 algoritmo RankAgreeg (PIHUR; DATTA; DATTA, 2007). Na abordagem da
16 ferramenta estatística BestKeeper, a relação intergene, o coeficiente de
17 correlação de Pearson, a integridade da amostra e a estabilidade da expressão
18 em cada gene de referência foram calculados por uma variação intrínseca da
19 expressão. Os dados genéticos que indicam maiores valores de correlação
20 foram incorporados para calcular a média geométrica dos valores de Ct como
21 índice de BestKeeper.

22 Em seguida, o coeficiente de correlação de Pearson foi contado entre
23 cada gene e o índice, o que fornece uma estimativa da participação do gene
24 nesse índice (PFAFFL et al., 2004). O processo de cálculo no programa
25 geNorm foi baseado em valores de Ct normalizados, nos quais os valores
26 individuais de um gene foram normalizados para a amostra com o menor valor
27 de Ct (a expressão mais alta) para esse gene. Os valores de Ct normalizados
28 foram estimados segundo Vandesompele et al. (2002). Nesta abordagem, a
29 variação de pares de um gene específico foi caracterizada com todos os outros
30 genes de controle como o desvio padrão das razões de expressão
31 transformadas logaritmicamente. A estabilidade do gene de controle interno (M)
32 foi determinada como a média da variação paritária de um gene com outros

1 genes de referência. O menor valor M significa que a expressão do gene foi a
2 mais estável.

3 Para escolher o (s) melhor (s) gene (s) de referência, o método geNorm
4 novamente conta a estabilidade M após a eliminação do gene menos estável e
5 repete a análise até que apenas os 2 genes mais estáveis permaneçam. A
6 abordagem geNorm também determina o número mínimo de genes de
7 referência necessários para a normalização adequada dos dados
8 (VANDESOMPELE et al., 2002). O NormFinder é uma abordagem que usa
9 valores de Ct normalizados e estima a variação global dos genes de referência
10 à normalização e a variação entre os subgrupos das mesmas amostras. Este
11 método aplica as variações intra e intergrupos para calcular um valor de
12 estabilidade para cada gene.

13 Os genes de referência candidatos podem então ser classificados com
14 base no valor de estabilidade, onde os menores valores correspondem aos
15 genes mais estáveis (ANDERSEN et al., 2004; STAINES et al., 2016). Para
16 cada ferramenta foi obtido um ranking de estabilidade, e empregando as três
17 diferentes abordagens estatísticas, foi obtido uma lista agregada gerada pelo
18 programa RankAgregg (PIHUR; DATTA; DATTA, 2007).

19 Os dados foram analisados a partir dos fatores: linhagem e sexo para
20 animais de 30 dias e para os animais com 120 dias foram avaliados a
21 linhagem, sexo e o sistema de criação.

22

5.3. RESULTADOS

5.3.1 Eficiência e Especificidade dos *primers*

Para os oito genes de referência escolhidos para este estudo, foi realizado o teste de eficiência, para os animais com 30 e 120 dias de idade, para verificar as principais características dos *primers* antes da realização da RT-qPCR. A temperatura de anelamento dos *primers* foi de 60°C, para ambas as idades e para os animais de 30 dias, a eficiência de expressão dos GR variou entre 93% e 101% correspondendo à inclinação da reta entre -3,30 a -3,57. Os valores de coeficiente de determinação (R^2) foram maiores que 0,99 (Tabela 9). Para os animais de 120 dias a eficiência de expressão dos GR variou entre 91% e 109% correspondendo à inclinação da reta entre -3,11 a -3,55. Os valores de coeficiente de determinação (R^2) foram maiores que 0,99 (Tabela 10). A especificidade dos *primers* foi avaliada através da curva de dissociação (curva de Melting) a qual mostrou apenas um pico indicando que não foram detectados dímeros de *primers* e apresentando ótima performance.

Tabela 9. Parâmetros dos *primers* específicos dos Genes de Referência para animais de 30 dias de idade, obtidos a partir das análises de curva de Eficiência em RT-qPCR.

GENE	TA (°C)	Eficiência (%)	R^2	Slope
<i>ACTB</i>	60	101	0,990	-3,302
<i>EEF1</i>	60	100	0,997	-3,311
<i>HPRT1</i>	60	90	0,998	-3,577
<i>LDHA</i>	60	97	1,000	-3,401
<i>MRPS27</i>	60	93	0,999	-3,507
<i>MRPS30</i>	60	96	0,994	-3,416
<i>RPL5</i>	60	100	0,999	-3,327
<i>TFRC</i>	60	97	0,999	-3,397

TA = Temperatura de anelamento; *SLOPE* = Inclinação da Reta; R^2 = Coeficiente de Determinação; [cDNA] = Concentração de cDNA; [*PRIMER*] = Concentração de *primer*

1 **Tabela 10.** Parâmetros dos *primers* específicos dos Genes de Referência para
 2 animais de 120 dias de idade, obtidos a partir das análises de curva de
 3 Eficiência em RT-qPCR.

GENE	TA (°C)	Eficiência (%)	R ²	Slope
<i>ACTB</i>	60	95	0,999	-3,443
<i>EEF1</i>	60	108	0,996	-3,151
<i>HPRT1</i>	60	91	0,999	-3,548
<i>LDHA</i>	60	95	0,999	-3,451
<i>MRPS27</i>	60	97	0,999	-3,400
<i>MRPS30</i>	60	109	0,995	-3,115
<i>RPL5</i>	60	95	0,999	-3,446
<i>TFRC</i>	60	91	0,998	-3,550

4 TA = Temperatura de anelamento; *SLOPE* = Inclinação da Reta; R² = Coeficiente de
 5 Determinação; [cDNA] = Concentração de cDNA; [*PRIMER*] = Concentração de *primer*

6

7

8 **5.3.2. Estatística Descritiva dos Genes de Referência**

9

10 Através da técnica de RT-qPCR, oito genes de referência foram
 11 analisados para os animais com 30 e 120 dias. Na Tabela 11 e 12 observa-se
 12 uma variabilidade de expressão através dos ciclos de quantificação nos oito
 13 genes. A expressão desses genes de referência foi agrupada em duas
 14 categorias (forte e moderada). Quatro genes (*ACTB*, *LDHA*, *EEF1* e *RPL5*)
 15 apresentaram expressão de mRNAs forte, com valores de Ct variando entre 16
 16 e 27 ciclos, para animais com 30 dias de idade e entre 15 e 27 ciclos para os
 17 animais com 120 dias.

18 Os outros quatro genes (*HPRT1*, *MRPS27*, *MRPS30* e *TFRC*) com
 19 expressão moderada variando entre 21 e 32 ciclos para animais com 30 dias e
 20 entre 20 e 31 ciclos para animais com 120 dias. Nota-se, também, um alto
 21 coeficiente de variação, ao qual, o valor mais baixo foi do gene *TFRC* (CV =
 22 1,8%) e (CV = 2,4%) e o mais alto *LDHA* (CV = 7,8%) e (CV = 4,6%) para os
 23 animais com 30 e 120 dias respectivamente.

24

25

1 **Tabela 11.** Estatística descritiva dos níveis de expressão dos genes de
 2 referência para animais com 30 dias de idade, obtidos pelo BestKeeper (n=30).

n=30	<i>ACTB</i>	<i>LDHA</i>	<i>HPRT1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS30</i>	<i>RPL5</i>	<i>TFRC</i>
geo Mean [Ct]	20,66	18,83	24,81	27,68	20,70	28,88	19,96	29,55
ar Mean [Ct]	20,67	18,98	24,81	27,69	20,71	28,89	19,97	29,56
min [Ct]	19,58	16,42	23,74	26,34	19,15	27,49	18,91	27,71
max [Ct]	22,04	32,16	25,90	29,45	22,19	30,26	21,03	30,80
std dev [± Ct]	0,517	1,498	0,468	0,745	0,609	0,638	0,432	0,536
CV [% Ct]	2,501	7,894	1,885	2,690	2,941	2,206	2,160	1,814
coeff. of corr. [r]	0,555	0,772	0,744	0,877	0,805	0,657	0,734	0,065
p-value	0,001	0	0	0	0	0	0	0,732

3 Abreviações: geo Mean [Ct]: Média geométrica de Ct; ar Mean [Ct]: Média aritmética de Ct; min
 4 [Ct] e max [Ct]: Valores de Ct threshold; std dev[±Ct]: Desvio padrão de Ct; CV [%Ct]:
 5 Coeficiente de variação de níveis de Ct expressos em porcentagem; std e CV estão indicados
 6 em negrito.

7

8

9 **Tabela 12.** Estatística descritiva dos níveis de expressão dos genes de
 10 referência para animais com 120 dias de idade, obtidos pelo BestKeeper
 11 (n=36).

n=36	<i>ACTB</i>	<i>LDHA</i>	<i>HPRT1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS30</i>	<i>RPL5</i>	<i>TFRC</i>
geo Mean [Ct]	18,78	17,81	25,12	24,90	21,16	26,68	19,59	29,80
ar Mean [Ct]	18,79	17,84	25,14	24,92	21,18	26,70	19,61	29,82
min [Ct]	16,82	15,52	23,17	23,3	19,61	24,88	17,98	27,61
max [Ct]	20,37	20,23	28,13	26,85	23,02	28,41	21,69	31,31
std dev [± Ct]	0,612	0,823	0,758	0,733	0,756	0,795	0,625	0,720
CV [% Ct]	3,256	4,610	3,014	2,942	3,568	2,979	3,186	2,416
coeff. of corr. [r]	0,585	0,863	0,859	0,928	0,851	0,851	0,904	0,336
p-value	0	0	0	0	0	0	0	0,045

12 Abreviações: geo Mean [Ct]: Média geométrica de Ct; ar Mean [Ct]: Média aritmética de Ct; min
 13 [Ct] e max [Ct]: Valores de Ct threshold; std dev[±Ct]: Desvio padrão de Ct; CV [%Ct]:
 14 Coeficiente de variação de níveis de Ct expressos em porcentagem; std e CV estão indicados
 15 em negrito.

16

17

18

19

5.3.3. Estabilidade de Expressão dos Genes de Referência

De acordo com a ferramenta BestKeeper, para os animais com 30 dias, considerando apenas a linhagem (Cobb 500[®], CBC, Peloco, Caneludo e Canela Preta) os melhores genes de referência foram o *HPRT1* (0,17), *RPL5* (0,23), *MRPS30* (0,36), *ACTB* (0,26) e *HPRT1* (0,17) respectivamente. Avaliando o sexo, o melhor gene, para ambos, foi o *RPL5* (0,47) para macho e (0,36) para fêmea. No ranking geral do BestKeeper, envolvendo as linhagens e o sexo, para os animais de 30 dias, os genes *RPL5*, *HPRT1* e *EEF1* foram considerados os mais estáveis e o menos estável foi o *LDHA* (Tabela 13).

Já para os animais com 120 dias foi observado que os melhores genes, levando em consideração a linhagem foram: *ACTB* para Peloco (0,43) e Caneludo (0,55), *RPL5* para Canela Preta (0,38). Com relação ao sistema de criação foram o *RPL5* para o sistema intensivo (0,61) e *ACTB* para o sistema semi-intensivo (0,56). Para o sexo macho *ACTB* (0,51) e fêmea *MRPS30* (0,36). No ranking geral do BestKeeper, envolvendo as linhagens, o sexo e o sistema de criação, os genes *RPL5*, *ACTB* e *HPRT1* foram considerados os mais estáveis e o menos estável foi o *LDHA* (Tabela 14).

Tabela 13. Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento (linhagem e sexo) em músculo do peito de frangos com 30 dias de idade, obtidos através da ferramenta BestKeeper e ranqueado pelo pacote RankAggreg.

GENE	Cobb (n=6)	CBC (n=6)	Peloco (n=6)	Caneludo (n=6)	Canela Preta (n=6)	Sexo		Rank Geral (n=30)
						Macho	Fêmea	
<i>RPL5</i>	0,20 (2)	0,23 (1)	0,52 (6)	0,67 (3)	0,19 (2)	0,47 (1)	0,36 (1)	1
<i>HPRT1</i>	0,17 (1)	0,42 (6)	0,51 (4)	0,77 (5)	0,17 (1)	0,53 (4)	0,37 (3)	2
<i>EEF1</i>	0,33 (3)	0,30 (3)	0,51 (3)	0,70 (4)	0,44 (8)	0,63 (6)	0,51 (6)	3
<i>ACTB</i>	0,51 (5)	0,38 (5)	0,51 (5)	0,26 (1)	0,40 (7)	0,52 (2)	0,49 (5)	4
<i>MRPS30</i>	0,70 (8)	0,37 (4)	0,36 (1)	0,82 (6)	0,35 (6)	0,57 (5)	0,36 (2)	5
<i>MRPS27</i>	0,58 (6)	0,52 (8)	0,37 (2)	1,01 (7)	0,26 (3)	0,67 (7)	0,46 (4)	6
<i>TFRC</i>	0,64 (7)	0,47 (7)	0,64 (7)	0,59 (2)	0,32 (4)	0,53 (3)	0,55 (7)	7
<i>LDHA</i>	0,43 (4)	0,26 (2)	1,03 (8)	3,52 (8)	0,32 (5)	1,13 (8)	2,08 (8)	8

1 **Tabela 14.** Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento
 2 (linhagem, sexo e sistema de criação) em músculo do peito de frangos com
 3 120 dias de idade, obtidos através da ferramenta BestKeeper e ranqueado pelo
 4 pacote RankAggreg.

GENE	Peloco (n=12)	Caneludo (n=12)	Canela Preta (n=12)	Sistema Intensivo (n=18)	Sistema Semi- intensivo (n=18)	Sexo		Rank Geral
						Macho	Fêmea	
RPL5	0,70 (7)	0,57 (2)	0,38 (1)	0,61 (1)	0,60 (2)	0,69 (3)	0,54 (2)	1
ACTB	0,43 (1)	0,55 (1)	0,59 (5)	0,61 (2)	0,56 (1)	0,51 (1)	0,65 (6)	2
HPRT1	0,61(3)	0,58 (3)	0,60 (6)	0,74 (5)	0,66 (4)	0,82 (6)	0,69 (7)	3
TFRC	0,68 (5)	0,77 (5)	0,63 (7)	0,68 (4)	0,68 (5)	0,86 (7)	0,55 (3)	4
MRPS30	0,50 (2)	1,05 (7)	0,74 (8)	0,65 (3)	0,88 (8)	0,81 (5)	0,36 (1)	5
MRPS27	0,68 (4)	0,97 (6)	0,56 (3)	0,81 (6)	0,72 (7)	0,65 (2)	0,57 (5)	6
EEF1	0,74 (8)	0,70(4)	0,55 (2)	0,82 (7)	0,70 (6)	0,75 (4)	0,72 (8)	7
LDHA	0,69 (6)	1,14 (8)	0,58 (4)	1,01 (8)	0,64 (3)	1,00 (8)	0,56 (4)	8

5

6 Na ferramenta geNorm observou-se que o gene mais estável, para os
 7 animais de 30 dias, dentro do Grupo genético foi o *RPL5* e *HPRT1* para Cobb
 8 500[®] (0,11), CBC (0,23) e Caneludo (0,23) e *ACTB* e *RPL5* para Peloco (0,24)
 9 e *MRPS27* e *RPL5* para Canela Preta (0,20). Com relação ao fator sexo, o
 10 *HPRT1* e *RPL5* foram os mais estáveis (0,20) para macho e (0,28) para fêmea.
 11 No ranking geral para o geNorm, os genes *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27* foram os
 12 mais estáveis e o *LDHA* o menos estável (Tabela 15).

13 Para os animais com 120 dias, os genes mais estáveis para o grupo
 14 genético foram o *RPL5* e *HPRT1* para Peloco (0,28) e Caneludo (0,31) e *RPL5*
 15 e *EEF1* para Canela Preta (0,42). Para os sistemas de criação foram os
 16 *MRPS27* e *MRPS30* para o sistema intensivo (0,37) e *RPL5* e *HPRT1* para o
 17 sistema semi-intensivo (0,40). Com relação ao sexo os mais estáveis foram o
 18 *RPL5* e *MRPS27* (0,24) para macho e (0,39) para fêmea. No ranking geral
 19 observou-se a estabilidade nos genes *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27* (Tabela 16).

20

21

22

23

24

25

1 **Tabela 15.** Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento
 2 (linhagem e sexo) em músculo do peito de frangos com 30 dias de idade,
 3 obtidos através da ferramenta geNorm e ranqueado pelo pacote RankAggreg.

GENE	Cobb (n=6)	CBC (n=6)	Peloco (n=6)	Caneludo (n=6)	Canela Preta (n=6)	Sexo		Rank Geral (n=30)
						Macho	Fêmea	
<i>RPL5</i>	0,11 (1)	0,23 (1)	0,24 (1)	0,23 (1)	0,20 (1)	0,20 (1)	0,28 (1)	1
<i>HPRT1</i>	0,11 (1)	0,23 (1)	0,28 (3)	0,23 (1)	0,22 (3)	0,20 (1)	0,28 (1)	2
<i>MRPS27</i>	0,35 (5)	0,57 (8)	0,36 (4)	0,43 (4)	0,20 (1)	0,44 (5)	0,41 (3)	3
<i>EEF1</i>	0,22 (3)	0,49 (6)	0,53 (5)	0,38 (3)	0,37 (6)	0,36 (3)	0,60 (6)	4
<i>MRPS30</i>	0,41 (6)	0,45 (5)	0,61 (6)	0,48 (5)	0,31 (5)	0,42 (4)	0,56 (5)	5
<i>ACTB</i>	0,59 (8)	0,40 (4)	0,24 (1)	0,57 (6)	0,50 (8)	0,53 (6)	0,49 (4)	6
<i>TFRC</i>	0,48 (7)	0,52 (7)	0,81 (8)	0,73 (7)	0,43 (7)	0,62 (7)	0,69 (7)	7
<i>LDHA</i>	0,28 (4)	0,35 (3)	0,71 (7)	1,83 (8)	0,26 (4)	0,74 (8)	1,47 (8)	8

4

5 **Tabela 16.** Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento
 6 (linhagem, sexo e sistema de criação) em músculo do peito de frangos com
 7 120 dias de idade, obtidos através da ferramenta geNorm e ranqueado pelo
 8 pacote RankAggreg.

GENE	Peloco (n=12)	Caneludo (n=12)	Canela Preta (n=12)	Sistema Intensivo (n=18)	Sistema Semi- intensivo (n=18)	Sexo		Rank Geral
						Macho	Fêmea	
<i>RPL5</i>	0,28 (1)	0,31 (1)	0,42 (1)	0,58 (4)	0,40 (1)	0,24 (1)	0,39 (1)	1
<i>HPRT1</i>	0,28 (1)	0,31 (1)	0,57 (5)	0,63 (6)	0,40 (1)	0,29 (3)	0,59 (6)	2
<i>MRPS27</i>	0,42 (4)	0,54 (3)	0,49 (4)	0,37 (1)	0,51 (3)	0,24 (1)	0,39 (1)	3
<i>EEF1</i>	0,51 (6)	0,68 (5)	0,42 (1)	0,60 (5)	0,55 (4)	0,41 (4)	0,53 (5)	4
<i>LDHA</i>	0,46 (5)	0,82 (7)	0,44 (3)	0,50 (3)	0,62 (5)	0,58 (6)	0,47 (4)	5
<i>MRPS30</i>	0,39 (3)	0,62 (4)	0,76 (7)	0,37 (1)	0,69 (6)	0,49 (5)	0,42 (3)	6
<i>ACTB</i>	0,56 (7)	0,75 (6)	0,67 (6)	0,66 (7)	0,85 (8)	0,67 (7)	0,71 (8)	7
<i>TFRC</i>	0,65 (8)	0,93 (8)	0,82 (8)	0,79 (8)	0,78 (7)	0,79 (8)	0,66 (7)	8

9

10 Utilizando a ferramenta NormFinder, os genes mais estáveis, para
 11 animais de 30 dias de idade, considerando o grupo genético foram: *HPRT1*
 12 para Cobb 500[®] (0,23) e Canela Preta (0,10), *LDHA* para CBC (0,25), *MRPS27*
 13 para Peloco (0,31) e *RPL5* para Caneludo (0,07). Em relação ao sexo, os
 14 genes mais estáveis foram o *MRPS30* (0,23) para macho e *MRPS27* (0,31)
 15 para fêmea. No ranking geral obtido através da ferramenta NormFinder, os
 16 genes *HPRT1*, *RPL5* e *MRPS27* foram os mais estáveis, enquanto que o *TFRC*
 17 foi o menos estável (Tabela 17).

1 Para os animais com 120 dias de idade foi observado que os genes mais
 2 estáveis foram o *RPL5* para os animais da linhagem Caneludo (0,38) e Canela
 3 Preta (0,30) e *MRPS27* para Peloco (0,08). No sistema de criação o mais
 4 estável, para ambos, foi o *RPL5* (0,15). Já para o sexo encontramos o *MRPS27*
 5 para macho (0,14) e *RPL5* para fêmea (0,13). No ranking geral encontramos
 6 como os genes mais estáveis *RPL5*, *MRPS27* e *HPRT1* (Tabela 18).

7
 8 **Tabela 17.** Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento
 9 (linhagem e sexo) em músculo do peito de frangos com 30 dias de idade,
 10 obtidos através da ferramenta NormFinder e ranqueado pelo pacote
 11 RankAggreg.

GENE	Cobb (n=6)	CBC (n=6)	Peloco (n=6)	Caneludo (n=6)	Canela Preta (n=6)	Sexo		Rank Geral (n=30)
						Macho	Fêmea	
<i>HPRT1</i>	0,23 (1)	0,38 (4)	0,35 (2)	0,07 (2)	0,10 (1)	0,33 (2)	0,44 (2)	1
<i>RPL5</i>	0,31 (5)	0,28 (2)	0,38 (4)	0,07 (1)	0,16 (2)	0,33 (3)	0,51 (4)	2
<i>MRPS27</i>	0,31 (4)	0,65 (8)	0,31 (1)	0,18 (4)	0,22 (4)	0,40 (5)	0,31 (1)	3
<i>EEF1</i>	0,25 (2)	0,49(6)	0,55 (5)	0,16 (3)	0,47 (7)	0,39 (4)	0,59 (5)	4
<i>MRPS30</i>	0,45 (7)	0,42 (5)	0,55 (6)	0,35 (5)	0,44 (6)	0,23 (1)	0,64 (6)	5
<i>ACTB</i>	0,69 (8)	0,31 (3)	0,38 (3)	0,39 (6)	0,50 (8)	0,58 (6)	0,51 (3)	6
<i>LDHA</i>	0,30 (3)	0,25 (1)	0,82 (8)	2,33 (8)	0,20 (3)	0,87 (8)	1,73 (8)	7
<i>TFRC</i>	0,38 (6)	0,56 (7)	0,79 (7)	0,71 (7)	0,42 (5)	0,70 (7)	0,84 (7)	8

12

13 **Tabela 18.** Ranking com os valores de estabilidade de cada tratamento
 14 (linhagem, sexo e sistema de criação) em músculo do peito de frangos com
 15 120 dias de idade, obtidos através da ferramenta NormFinder e ranqueado pelo
 16 pacote RankAggreg.

GENE	Peloco (n=12)	Caneludo (n=12)	Canela Preta (n=12)	Sistema Intensivo (n=18)	Sistema Semi- intensivo (n=18)	Sexo		Rank Geral
						Macho	Fêmea	
<i>RPL5</i>	0,08 (2)	0,38 (1)	0,30 (1)	0,15 (1)	0,15 (1)	0,24 (3)	0,13 (1)	1
<i>MRPS27</i>	0,08 (1)	0,51 (4)	0,34 (2)	0,23 (3)	0,16 (2)	0,14 (1)	0,14 (2)	2
<i>HPRT1</i>	0,11 (3)	0,43 (2)	0,53 (6)	0,27 (5)	0,17 (3)	0,31 (5)	0,30 (5)	3
<i>EEF1</i>	0,25 (5)	0,43 (3)	0,45 (4)	0,25 (4)	0,18 (4)	0,20 (2)	0,30 (6)	4
<i>MRPS30</i>	0,14 (4)	0,59 (5)	0,51 (5)	0,20 (2)	0,27 (6)	0,24 (4)	0,21 (3)	5
<i>LDHA</i>	0,32 (6)	0,73 (7)	0,44 (3)	0,33 (7)	0,21 (5)	0,38 (6)	0,27 (4)	6
<i>ACTB</i>	0,36 (7)	0,66 (6)	0,67 (7)	0,31 (6)	0,34 (7)	0,40 (7)	0,36 (8)	7
<i>TFRC</i>	0,47 (8)	0,82 (8)	0,69 (8)	0,48 (8)	0,35 (8)	0,51 (8)	0,35 (7)	8

17

18 Os resultados acima fornecidos pelas três ferramentas utilizadas
 19 (BestKeeper, geNorm e NormFinder) permitiram o estabelecimento de um

1 ranking geral dos genes mais estáveis para o músculo do peito de frangos com
 2 30 e com 120 dias de idade das diferentes linhagens. O ranking geral dos
 3 genes de referência foi estabelecido por meio do uso do pacote RankAggreg
 4 (PIHUR; DATTA; DATTA, 2007). Nesse ranking geral, os genes de referência
 5 mais estáveis para os animais com 30 dias foram: *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27*
 6 (1°, 2° e 3° lugar, respectivamente) (Tabela 19), e para os animais com 120
 7 dias de idade foram: *RPL5*, *MRPS27* e *HPRT1* (1°, 2° e 3° lugar,
 8 respectivamente) (Tabela 20).

9

10 **Tabela 19.** Ranking geral dos genes de referência em músculo de peito de
 11 frangos com 30 dias de idade, obtidos com as diferentes ferramentas
 12 (Bestkeeper, geNorm e NormFinder) e ranqueado pelo pacote RankAggreg de
 13 acordo com os fatores (grupo genético, sistema de criação e sexo).

Cobb (n=6)	CBC (n=6)	Peloco (n=6)	Caneludo (n=6)	Canela		Sexo		GENE	Rank Geral
				Preta (n=6)		Macho	Fêmea		
<i>HPRT1</i>	<i>RPL5</i>	<i>MRPS27</i>	<i>RPL5</i>	<i>HPRT1</i>	<i>RPL5</i>	<i>MRPS27</i>	<i>RPL5</i>	1	
<i>RPL5</i>	<i>LDHA</i>	<i>ACTB</i>	<i>HPRT1</i>	<i>RPL5</i>	<i>HPRT1</i>	<i>HPRT1</i>	<i>HPRT1</i>	2	
<i>EEF1</i>	<i>HPRT1</i>	<i>RPL5</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>MRPS30</i>	<i>RPL5</i>	<i>MRPS27</i>	3	
<i>LDHA</i>	<i>ACTB</i>	<i>HPRT1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>LDHA</i>	<i>EEF1</i>	<i>ACTB</i>	<i>EEF1</i>	4	
<i>MRPS27</i>	<i>MRPS30</i>	<i>EEF1</i>	<i>ACTB</i>	<i>MRPS30</i>	<i>MRPS27</i>	<i>MRPS30</i>	<i>MRPS30</i>	5	
<i>TFRC</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS30</i>	<i>MRPS30</i>	<i>TFRC</i>	<i>ACTB</i>	<i>EEF1</i>	<i>ACTB</i>	6	
<i>MRPS30</i>	<i>TFRC</i>	<i>TFRC</i>	<i>TFRC</i>	<i>EEF1</i>	<i>TFRC</i>	<i>TFRC</i>	<i>TFRC</i>	7	
<i>ACTB</i>	<i>MRPS27</i>	<i>LDHA</i>	<i>LDHA</i>	<i>ACTB</i>	<i>LDHA</i>	<i>LDHA</i>	<i>LDHA</i>	8	

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

1 **Tabela 20.** Ranking geral dos genes de referência em músculo de peito de
 2 frangos com 120 dias de idade, obtidos com as diferentes ferramentas
 3 (Bestkeeper, geNorm e NormFinder) e ranqueado pelo pacote RankAggreg de
 4 acordo com os fatores (grupo genético, sistema de criação e sexo).

Peloco (n=12)	Caneludo (n=12)	Canela Preta (n=12)	Sistema Intensivo (n=18)	Sistema Semi- intensivo (n=18)	Sexo		GENE	Rank Geral
					Macho	Fêmea		
<i>MRPS30</i>	<i>RPL5</i>	<i>RPL5</i>	<i>MRPS30</i>	<i>RPL5</i>	<i>MRPS27</i>	<i>MRPS30</i>	<i>RPL5</i>	1
<i>HPRT</i> 1	<i>HPRT1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>RPL5</i>	<i>HPRT1</i>	<i>RPL5</i>	<i>RPL5</i>	<i>MRPS27</i>	2
<i>MRPS27</i>	<i>EEF1</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>MRPS27</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS27</i>	<i>HPRT1</i>	3
<i>RPL5</i>	<i>ACTB</i>	<i>LDHA</i>	<i>ACTB</i>	<i>EEF1</i>	<i>HPRT1</i>	<i>LDHA</i>	<i>EEF1</i>	4
<i>ACTB</i>	<i>MRPS27</i>	<i>HPRT1</i>	<i>HPRT1</i>	<i>LDHA</i>	<i>MRPS30</i>	<i>TFRC</i>	<i>ACTB</i>	5
<i>LDHA</i>	<i>MRPS30</i>	<i>MRPS30</i>	<i>EEF1</i>	<i>ACTB</i>	<i>ACTB</i>	<i>EEF1</i>	<i>MRPS30</i>	6
<i>EEF1</i>	<i>TFRC</i>	<i>ACTB</i>	<i>LDHA</i>	<i>TFRC</i>	<i>LDHA</i>	<i>HPRT1</i>	<i>LDHA</i>	7
<i>TFRC</i>	<i>LDHA</i>	<i>TFRC</i>	<i>TFRC</i>	<i>MRPS30</i>	<i>TFRC</i>	<i>ACTB</i>	<i>TFRC</i>	8

5

6

7

8

9

5.4. DISCUSSÃO

A avaliação de diferentes genes de referência é importante para se obter uma boa e confiável análise de expressão gênica por RT-qPCR. Nesse estudo, avaliamos oito genes de referência, de acordo com sua expressão e estabilidade em três diferentes ferramentas específicas: BestKeeper, geNorm e NormFinder, bastante utilizadas em vários estudos similares. O uso dessas ferramentas fornece simultaneamente mais informações que ajudam na seleção dos genes de referência mais estáveis (LORENZETTI et al., 2018).

Os oito primers estudados aqui, nas duas idades (30 e 120 dias), obtiveram uma eficiência de amplificação, recomendada, variando de 91 a 109% nos ensaios usando o RT-qPCR e valores de coeficiente de determinação (R^2) acima de 0,99. A temperatura de anelamento foi de 60°C para todos os *primers*. Os valores de eficiência diferiram dos encontrados por Nascimento et al. (2015) e Cedraz de Oliveira et al. (2017) utilizando os mesmos pares de *primers*, em músculo do peito de frangos, confirmando a necessidade e a importância de realizar o teste de eficiência em cada experimento, para haver confiabilidade nos resultados de expressão, pois existe uma variação dos genes, de acordo com a condição experimental (idade ao abate, linhagens, alimentação, fator ambiental, sistema de criação etc.).

Observamos que, no geral, os genes *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27* foram os mais estáveis, havendo apenas uma mudança na posição do segundo e terceiro gene entre as idades de 30 e 120 dias.

Como visto, o gene *RPL5* foi apresentado como o mais estável independente dos fatores: grupo genético, idade ao abate, sexo e sistema de criação. Já avaliando os fatores, grupo genético e idade, o gene mais estável para a idade de 30 dias diferiu de *HPRT1* (Cobb 500[®] e Canela Preta), *RPL5* (CBC e Caneludo) e *MRPS27* (Peloco) e para os animais com 120 dias variou entre o *MRPS30* (Peloco) e *RPL5* (Caneludo e Canela Preta). Essas diferenças já eram esperadas devido a variações existentes entre as linhagens.

Os resultados aqui encontrados contrastam com o trabalho de Cedraz de Oliveira et al. (2017) que encontraram para Peloco o gene mais estável o *RPL5* e para Caneludo o *EEF1*. Assim como Gromboni et al. (2020), que

1 estudando o tecido do coração e fígado em frangos nativos como o Peloco,
2 encontraram também o gene *RPL5* como o mais estável e já para a linhagem
3 Cobb 500[®] encontraram com maior estabilidade o *EEF1*.

4 O *RPL5* é um gene que codifica um membro da família de proteínas
5 ribossômicas e componente da subunidade 60S. A proteína codificada liga o
6 rRNA 5S para formar um complexo estável chamado partícula
7 ribonucleoproteína 5S, que é necessária para o transporte do rRNA
8 citoplasmático ao nucléolo (NCBI, 2020).

9 Os genes que apresentaram maior estabilidade com relação ao sexo
10 foram: o gene *RPL5* (macho) e *MRPS27* (fêmea) nos animais com 30 dias de
11 idade e o *MRPS27* (macho) e *MRPS30* (fêmea) nos animais com 120 dias. Os
12 genes *MRPS27* e o *MRPS30* codificam proteína de subunidade 28S e estão
13 relacionadas à morte associada à Proteína 3 (DAP3) (NCBI, 2020). Com
14 relação ao sistema de criação, o gene *MRPS30* (Sistema Intensivo) e o *RPL5*
15 (Sistema Semi-intensivo) se apresentaram mais estáveis.

16 Julian et al. (2016) recomendam a utilização de mais de um gene de
17 referência e Cedraz de Oliveira et al. (2017) indicam a utilização de três genes
18 de referência como controle para a normalização de genes alvos por existirem
19 variações entre as linhagens, entre a fisiologia macho e fêmea e pela diferença
20 estatística dos algoritmos.

21 Os genes que apresentaram piores resultados de estabilidade, avaliados
22 pelas três ferramentas e incluindo todos os fatores foram o *TFRC* e o *LDHA*,
23 corroborando com os trabalhos de Nascimento et al. (2015) e Cedraz de
24 Oliveira (2017) que também encontraram em músculo do peito, o gene *TFRC*
25 como o menos estável. Contrastando com o estudo de Gromboni et al. (2020)
26 que identificaram em tecido de coração o gene *LDHA* como um dos mais
27 estáveis, apesar de localizarem o gene *TFRC* com menos estabilidade.
28 Reforçando a importância de um estudo cauteloso dos genes de referência
29 antes do estudo da expressão gênica, pois de acordo com Ayanoglu et al.
30 (2018) a escolha errada de um gene de referência pode levar a cálculos e
31 interpretações falsas dos dados.

32 Os resultados encontrados neste estudo indicam o uso de genes de
33 referência *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27* como os mais estáveis em frangos nativos

1 (Peloco, Caneludo e Canela Preta) e coincide com o trabalho de Cedraz de
2 Oliveira et al. (2017) que indica o *MRPS27*, *RPL5* e *MRSP30* como os três
3 genes mais estáveis em frangos nativos (Peloco e Caneludo) independente do
4 fator, assim como o trabalho de Gromboni et al. (2020) que encontrou o gene
5 de referência *RPL5* como o mais estável em tecido de fígado e coração em
6 frangos Peloco. Nascimento et al. (2015), também indicaram o *HPRT1* como
7 um dos genes de referência a serem recomendados em experimentos de
8 expressão em galinhas.

9 Poucos estudos são encontrados, a respeito dos genes de referência em
10 músculo de peito em frangos nativos (Peloco, Caneludo e Canela Preta) para
11 análise de expressão gênica utilizando a técnica de RT-qPCR. Assim sendo
12 esses resultados serão importantes para os futuros estudos com os frangos de
13 linhagens nativas Peloco, Caneludo e Canela Preta com relação à expressão
14 de genes, principalmente os genes ligados ao desenvolvimento muscular do
15 peito, contribuindo para uma seleção mais específica dos animais com aptidão
16 para corte ou para postura.

17

1 **5.5. CONCLUSÃO**

2

3 A combinação dos genes *RPL5*, *HPRT1* e *MRPS27*, mantiveram-se
4 estáveis entre todos os fatores estudados, desta forma podem ser
5 considerados como os genes de referência mais adequados para facilitar a
6 precisão de estudos da expressão gênica em músculo do peito de frangos de
7 linhagens nativas (Peloco, Caneludo e Canela Preta).

8

9

10

11

1 REFERÊNCIAS

2

3 ABPA. Associação Brasileira de proteína Animal. **Relatório Anual 2020**.
4 Disponível em: <http://www.abpa-br.org> . Acesso em: 01 de junho 2020.

5 ABPA. Associação Brasileira de proteína Animal. **Relatório Anual 2016**.
6 Disponível em: <http://www.abpa-br.org> . Acesso em: 26 de maio 2017.

7 ALDERSON, G. L. H. Conservation of breeds and maintenance of biodiversity:
8 justification and methodology for the conservation of Animal Genetic
9 Resources. **Arch. Zootec.** 67 (258): 300-309, 2018.

10 ALMEIDA, E. A. **Influência do estresse pré-abate na expressão gênica e**
11 **qualidade da carne de frango (*Gallus gallus*)**. Dissertação. Universidade de
12 São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-SP.
13 2007.

14 ALMEIDA, E. C. J. **Caracterização Fenotípica E Produtiva De Galinhas E**
15 **Patos No Estado Da Bahia**. Tese. Universidade Federal da, Bahia. 2016.

16 ALMEIDA, E. C. J. et al. Características de carcaça de galinha naturalizada
17 Peloco comparada a linhagens de frango caipira. **Pesq. Agropec. Bras.,**
18 **Brasília**, v. 48, n. 11, p. 1717-1523. 2013.

19 ALMEIDA, E. C. J. et al. Características físicas de ovos de galinhas nativas
20 comparadas a linhagem de postura. **Arch. Zootec.** 68 (261). 82-87. 2019.

21 ANDERSEN, C. L.; JENSEN, J. L.; ØRNTOFT, T. F. Normalization of real-time
22 quantitative reverse transcription-PCR data: A model-based variance estimation
23 approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and
24 colon cancer data sets. **Cancer Research**. 2004.

25 AYANOGLU, F. B. et al. Selection os Suitable Reference Genes for
26 Quantitative Real-Time PCR Normalization in Human Stem Cell Research. **Cell.**
27 **Biology on Translational Medicine**, vol. 4, pp 151-168, 2018.

28 BARBOSA, F. J. V. et al. Sistema Alternativo de Criação de Galinhas Caipiras.
29 **Sistemas de Produção**, v. 4. Embrapa Meio-Norte. Versão eletrônica. 2007.
30 68p.

31 BARBUT, S. **The Science of Poultry and Meat Processing**. University of
32 Guelph Guelph, Ontario, Canada. 2015.

33 BERAQUET, N. J. Influência de Fatores Ante e Post Mortem na Qualidade da
34 Carne de Aves. **Rev. Bras. de Ciência Avícola**, v. 1, n. 3, p.155-166. 1999.

35 BUENO, F. R. et al. Performance, carcass yield, and meat quality of broilers
36 supplemented with organic or inorganic zinc. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**,
37 v.72, n.1, p.224-232, 2020.

38 BUSTIN, S. A. et al. The MIQE guidelines: Minimum Information for publication
39 of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, v.55, n.4,
40 p.611–622. 2009.

- 1 CARVALHO, D. A. **Caracterização Fenotípica e Genotípica de Galinhas**
2 **Nativas Canelas-Preta**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal dos
3 Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina-MG, 2016.
- 4 CARVALHO, D. A. et al. Padrão racial fenotípico de galinhas brasileiras da raça
5 Canela-Preta. **Arch. Zootec.**, v.66, n.254, p.195-202, 2017.
- 6 CARVALHO, D. A.; et al. **Conservação, uso e melhoramento de galinhas**
7 **caipiras**. Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.
- 8 CASTELLINI, C.; MUGNAI, C.; DAL BOSCO, A. Effect of organic production
9 system on broiler carcass and meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 60,
10 p.219-225, 2002.
- 11 CASTILLO, C. J. C. et al. **Qualidade da Carne**. Livraria varela. São Paulo-SP,
12 2006. 240p.
- 13 CASTRO, S.T.R.; EGITO, A.A. Manual de curadores de germoplasma animal:
14 glossário de recursos genéticos animais. **Embrapa Recursos genéticos e**
15 **Biotecnologia**, Brasília-DF, 2012.
- 16 CEDRAZ de OLIVEIRA, H. et al. Influence of heat stress, sex and genetic
17 groups on reference genes stability in muscle tissue of chicken. **PLoS ONE** 12
18 (5), 2017.
- 19 CIPRIANO, R. M. et al. Características de carcaças de frangos de corte tipo
20 caipira alimentados com rações contendo farelo integral de arroz parboilizado.
21 **Avicultura Industrial**, v. 1, 2018.
- 22 CRUZ, F. G. G.; CHAGAS, E. O.; BOTELHO, T. R. P. Avicultura familiar como
23 alternativa de desenvolvimento sustentável em comunidades ribeirinhas do
24 Amazonas. **Interações**, campo grande, v. 14, n. 2, p. 197-202, jul/dez. 2013.
- 25 CRUZ, F. L. et al. Características de crescimento e carcaça de diferentes
26 cruzamentos de frangos criados em sistema alterantivo. **Semina: Ciências**
27 **Agrárias, Londrina**, v. 39, n. 1, p. 317-328, 2018b.
- 28 CRUZ, F. L. et al. Meat quality of chicken of different crossings in alternative
29 system. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.70, n.1, p.254-262, 2018a.
- 30 CRUZ, F. L. et al. Qualidade da carne de aves da raça Rodhe Island Red
31 criadas em sistema alternativo. **Cienc. Anim. Bras.**,v.18, p.1-16, 2017.
- 32 DAMBRÓS JUNIOR, D. A avicultura no Brasil. Embrapa, 2010. Disponível em:
33 <http://www.cnpsa.embrapa.br> acesso em setembro 2020.
- 34 DE ANTÔNIO, J. **Efeito da Temperatura e da Restrição Alimentar sobre o**
35 **Desempenho, Composição de Carcaça e Padrões de Expressão de Genes**
36 **do Eixo Somatotrófico em Frangos de Corte**. Dissertação (Mestrado).
37 Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP. 2010.
- 38 DECKER, S. R. F.; GOMES, M. C. Análise do desempenho e participação da
39 agricultura familiar na avicultura de corte na região sul do Rio Grande do Sul/
40 Brasil. **Revista Brasileira de agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 6, n.1., p.
41 15-25, março, 2016.

- 1 DEL CASTILHO, C. C. et al. Effects of sex and genotype on performance and
2 yield characteristics of free range broiler chickens. **Arq. Bras. Med. Vet.**
3 **Zootec.**, v.65, n.5, p.1483-1490, 2013.
- 4 DEMATTÊ FILHO, L. C. **Sistema agroalimentar da avicultura fundada em**
5 **princípios da Agricultura Natural: multifuncionalidade, desenvolvimento**
6 **territorial e sustentabilidade.** Tese (Doutorado) – Escola Superior de
7 Agricultura “Luiz de Queiroz” Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2014.
- 8 DOMINGUES, R. D.; DIEHL, G. N. Mitos e verdades sobre o consumo de carne
9 de frango e ovos. **Informativo Técnico**, n. 3/ano 03, março 2012.
- 10 DUCKETT, S. K. et al. Effect of freezing on calpastatin activity and tenderness
11 of callipyge lamb. **J. Anim. Sci.** 76: 1869-1874, 1998.
- 12 EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Programa
13 brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Archivos de**
14 **Zootecnia**, v.51, p.39-52. 2002.
- 15 EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Galinha Caipira de**
16 **Raça Nativa, Canela Preta.** Informe Técnico. Embrapa Meio-Norte. Teresina-
17 PI, 2017. Disponível em: www.embrapa.br/meio-norte Acesso em novembro
18 2018.
- 19 FAO – Food and agriculture organization of the united nations. Decision tools
20 for family poultry development. Rome, Italy, n. 16, 2014.
- 21 FAO. **The Second Report on the State of the World’s Animal Genetic**
22 **Resources for Food and Agriculture**, edited by B.D. Scherf & D. Pilling. 2015.
23 FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture
24 Assessments. Rome.
- 25 FARIA, P. B. et al. Carcass and Parts Yield of Broilers Reared Under a Semi-
26 Extensive System. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12/n.3/ 153-159,
27 set. 2010.
- 28 FARIA, P. B. et al. Composição proximal e qualidade da carne de frangos das
29 linhagens Paraíso Pedrês e Pescoço Pelado. **R. Bras. Zootec.** , v.38, n.12,
30 p.2455-2464, 2009.
- 31 FLETCHER, D. L. Poultry meat quality. **World’s Poultry Science Journal**, vol.
32 58, June. 2002.
- 33 FURTADO, D. A. et al. Desempenho e características de carcaça de aves
34 caipiras alimentadas com feno de erva-sal (*Atriplex nummularia* Lindl.). **Revista**
35 **Caatinga**, v.24, n.3, p.182-189,2011.
- 36 GOES, T. J. F. et al. Canonical analysis for the evaluation of genetic divergence
37 between three broiler genotypes for meat quality, carcass and yields. **Braz. J.**
38 **Anim. Environ. Res.** v.2, n.6, p.1930-1941, 2019.
- 39 GOMES, A. P. et al. Integração de aves com lavouras na transição
40 agroecológica da agricultura familiar: relato de experiência em Jaguaré, Espírito
41 Santo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 867-871, 2007.

- 1 GROMBONI, J. G. G. et al. Influence of heat stress on reference genes stability
2 in heart and liver of two chickens genotypes. **PLoS ONE** 15(2), 2020.
- 3 GUELBER SALES, M. N., SOLER, M., SEVILLA GUZMÁN, E. Estilos de
4 avicultura: uma estratégia de resistência da condição camponesa. **Cadernos**
5 **de Agroecologia**, vol. 8, n. 2, Nov. 2013.
- 6 GUILHOTO, J. J. M. et al. A importância do agronegócio familiar no Brasil.
7 **Revista de Economia e Sociologia Rural (RER)** Rio de Janeiro, vol. 44, n. 03,
8 p. 355-382, jul/set. 2006.
- 9 HASSANPOUR, H. et al. Identification of reliable reference genes for
10 quantitative real-time PCR in ovary and uterus of laying hens under heat stress.
11 **The International Journal on the Biology of Stress**, v. 22(3), 387-394, 2018.
- 12 JULIAN, G. S. et al. Análise da estabilidade da expressão de genes de
13 referência no ventrículo cardíaco esquerdo de ratos submetidos à hipóxia
14 intermitente crônica. **J. Bras. Pneumol.** 42(3), 211-214. 2016.
- 15 KGWATALALA, P. M., NOGAYAGAE, M., NSOSO, S. J. Growth performance
16 of different strains of indigenous Tswana chickens under intensive management
17 system. **African Journal of Agricultural Research**. Vol. 7(16), pp. 2438-2445,
18 April, 2012.
- 19 KOZERA, B.; RAPACZ, M. Reference genes in real-time PCR. **Journal of**
20 **Applied Genetics**, v.54, n.4, p.391 – 406. 2013.
- 21 LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. ArtMed Editora, 6ªed., Porto Alegre-RS,
22 2005. 384p.
- 23 LEDUR, M. C. et al. A importância do conhecimento do genoma para a
24 produção de aves. In: **Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**,
25 41, Campo Grande, Brasil, Anais... Campo Grande: SBZ, 2004, p. 379-389.
- 26 LEMOS, A. V. et al. Avaliação do crescimento e desempenho de diferentes
27 linhagens de frango caipira melhorado na região de goianésia- Goiás. **PubVet.**,
28 v.12, n.4 a76, p.1-5, 2018.
- 29 LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data
30 using real-time quantitative PCR and. **Methods**, v. 25, p. 402–408, 2001.
- 31 LORENZETTI, W. R. et al. Identification of endogenous normalizing genes for
32 expression studies in inguinal ring tissue for scrotal hernias in pigs. **PLoS ONE**,
33 13 (9), 2018.
- 34 LUIGGI, F. G. et al. Effects of dietary bixin on broiler performance and meat
35 quality. **Archives of Veterinay Science.**, v.25, n.1, p.95-108, 2020.
- 36 MACÁRIO M. S. Genes de referência para expressão gênica em codornas de
37 corte. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de**
38 **Sergipe**, São Cristóvão, Sergipe. 2016.
- 39 MACHADO, L. P. M. **Curva de crescimento e características de carcaças de**
40 **galinhas Canela-Preta em diferentes sistemas de criação**. Dissertação

- 1 (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Campus Profª. Cinobelina Elvas.
2 Bom Jesus – Pi, 2018, 67f.
- 3 MADEIRA, L. A. et al. Avaliação do desempenho e do rendimento de carcaça
4 de quatro linhagens de frangos de corte em dois sistemas de criação. **R. Bras.**
5 **Zootec.**, v.39, n.10, p.2214-2221, 2010.
- 6 MARIANTE, A. S. et al. Present status of the conservation of livestock genetic
7 resources in Brazil. **Livestock. Science**, v.120, n.3, p.204–212. 2009.
- 8 MARIANTE, A. S., ALBUQUERQUE, M. S. M., RAMOS, A. F. Criopreservação
9 de recursos genéticos animais brasileiros. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo
10 Horizonte, v. 35, n. 2, p. 64-68, abr./jun. 2011.
- 11 McLAREN, K. The development of the CIE 1976 (L* a* b*) uniform colour space
12 and colour difference formula. **Journal of the Society of Dyers and**
13 **Colourists**, v. 92(9), september, 1976.
- 14 MEHAFFEY, J. M. et al. Meat Quality Evaluation of Minimally Aged Broiler
15 Breast Fillets from Five Commercial Genetic Strains. **Poultry Science** 85:902–
16 908. 2006.
- 17 MELO, R. F.; VOLTOLINI, T. V. **Agricultura Familiar depende de chuva no**
18 **Semiárido**. Embrapa, Brasília-DF, 467 p., 2019.
- 19 MENDES, A. A.; KOMIYAMA, C. M. Estratégias de manejo de frangos de corte
20 visando qualidade de carcaça e carne. **R. Bras. Zootec.** V. 40, p. 352-357.
21 2011.
- 22 MENGESHA, M., TSEGA, W. Phenotypic and genotypic characteristics of
23 indigenous chickens in Ethiopia: A review. **African Journal of Agricultural**
24 **Research**. v. 6 (24), p. 5398-5404, October, 2011.
- 25 MIKULSKI, D. et al. Growth performance, carcass traits and meat quality of
26 slower-growing and fast-growing chickens raised with and without outdoor
27 Access. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n.10, p. 1407-
28 1416, 2011.
- 29 MONTEIRO, H. C. et al. Avaliação da qualidade da carne de frangos de corte
30 alimentados com produto homeopático. **Revista Integralização Universitária.**,
31 v.12, n.18, p.89-101, 2018.
- 32 MORAIS, J. et al. Curva de crescimento de diferentes linhagens de frango de
33 corte caipira. **Ciência Rural**, Fap. UNIFESP (SciELO), v. 45, n. 10, p. 1872-
34 1878, 2015.
- 35 MOREIRA, A. S. et al. Desempenho de frangos caipiras alimentados com
36 rações contendo diferentes níveis de energia metabolizável. **Arq. Bras. Med.**
37 **Vet. Zootec.**, v.64, n.4, p.1009-1016, 2012.
- 38 MOREIRA, J. et al. Avaliação de Desempenho, Rendimento de Carcaça e
39 Qualidade da Carne do Peito em Frangos de Linhagens de Conformação
40 versus Convencionais. **Rev. Bras. Zootec.** v. 32, n. 6, p. 1663 – 1673, 2003.

- 1 NAKAMURA, M. KATOH, K. Influence of thawing method on several properties
2 of rabbit meat. **Bulletin of Ishikawa Prefecture College of Agriculture**, v. 11,
3 p. 45-49, 1985.
- 4 NASCIMENTO, C. S. et al. Identification of Suitable Reference Genes for Real
5 Time Quantitative Polymerase Chain Reaction Assays on Pectoralis major
6 Muscle in Chicken (*Gallus gallus*). **PLoS ONE**, v.10, n.5, p.e0127935. 2015.
- 7 NCBI. **RefSeq**. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>>. Acesso
8 em maio de 2020.
- 9 OLIVEIRA, E. B. et al. Avaliação do Desempenho do Agrupamento Genético
10 Caneludo do Catolé. In: **Anais do I Simpósio Internacional de Raças**
11 **Nativas: Sustentabilidade e Propriedade Intelectual**. Teresina-PI. 2015.
- 12 OLIVEIRA, F. R. et al. Jejum alimentar e qualidade da carne de frango de corte
13 tipo caipira. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.16, n.3, p.667-677, 2015.
- 14 ORDÓÑEZ PEREDA, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos**. Volume 2, Artmed
15 editora. Porto Alegre-RS, 2007. 279p.
- 16 PADHI, M.K. Importance of Indigenous Breeds of Chicken for Rural Economy
17 and Their Improvements for Higher Production Performance. **Scientifica**, v.
18 2016, 2016.
- 19 PAES, J. P. S.; FREITAS, H. J.; CORDEIRO, M. B. Utilização de farelo de
20 macarrão na alimentação de frangos de corte de linhagem caipira.
21 **Enciclopédia Biosfera**. v.11, n.21, p.1897-1902, 2015.
- 22 PEREIRA, P. C. et al. Avaliação do desempenho zootécnico e rendimento de
23 carcaças de diferentes linhagens de frango de corte. **Vet. Not.**, v.25, n.2, p.161-
24 171, 2019.
- 25 PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-
26 time RTPCR. **Nucleic Acids Research**, v.29, n.9, p.e45, 2001.
- 27 PFAFFL, M. W.; TICHOPAD, A.; PRGOMET, C.; NEUVIANS, T. P.
28 Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target
29 genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise
30 correlations. **Biotechnology Letters**, 26(6), 509–515. 2004.
- 31 PIHUR, V.; DATTA, S.; DATTA, S. Weighted rank aggregation of cluster
32 validation measures: A Monte Carlo cross-entropy approach. **Bioinformatics**,
33 v.23, n.13, p.1607–1615, 2007.
- 34 PINTO, P. S. D. A. **Inspeção e Higiene de Carnes**, Ed. UFV (universidade
35 Federal de Viçosa), Viçosa-MG, 2008. 320p.
- 36 PRATA, L. F.; FUKUDA, R. T. **Fundamentos de Higiene e Inspeção de**
37 **Carnes**. UNESP/FUNEP. Jaboticabal-SP. 2001. 326p.
- 38 QIAO, M. et al. The Effect of Broiler Breast Meat Color on pH, Moisture, Water-
39 Holding Capacity, and Emulsification Capacity. **Poultry Science** 80:676–680.
40 2001.

- 1 REGINA, R. et al. **Nutrição Animal, principais ingredientes e manejo de**
2 **aves e suínos**. Fundação Cargill. São Paulo-SP. 2010.
- 3 REICHERT, L. J., GOMES, M. C. SCHWENGER, J. E. Avaliação técnica e
4 econômica de um agroecossistema familiar de base ecológica na região sul do
5 Rio Grande do Sul. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 1-4, p. 123-132,
6 jan-mar, 2011.
- 7 ROSSA, L. S. et al. Perfil físico-químico e nutricional de carne de frango de
8 criação orgânica disponível no comércio varejista. **B.CEEPA**, v.33, n.2, 2015.
- 9 ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C. **Composição de Alimentos e Exigências**
10 **Nutricionais**. 3ª Edição Editor : Horacio Santiago Rostagno. 2011.
- 11 SAGRILLO, E. et al. Validação do Sistema Alternativo de Criação de Galinha
12 Caipira. **Sistemas de Produção** v. 1 Embrapa Meio-Norte, versão eletrônica,
13 2003.
- 14 SANTOS, A. L. et al. Estudo do Crescimento, Desempenho, Rendimento de
15 Carcaça e Qualidade de Carne de Três Linhagens de Frango de Corte. **Rev.**
16 **Bras. Zootec.** v. 34, n. 5, p. 1589 – 1598, 2005.
- 17 SANTOS, L. S. et al. Meat quality of chickens fed different levels of essential oil.
18 **Research, Society and Development.**, v..9, n.7, 2020.
- 19 SARICA, M. et al. Comparing slow-growing chickens produced by two-and
20 three-way crossings with commercial genotypes. 2. Carcass quality and blood
21 parameters. **Europ. Poult. Sci.**, 78. 2014.
- 22 SAVINO, V. J. M. et al. Avaliação de materiais genéticos visando à produção
23 de frango caipira em diferentes sistemas de alimentação. **Rev. Bras. Zootec.** v.
24 36, n. 3, p. 578 – 583, 2007.
- 25 SHIMOKOMAKI, M. et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**.
26 Livraria Varela, São Paulo, 2006.
- 27 SOUZA, W. P. et al. Inclusion wafer bran in the feed of broiler chickens of rustic
28 clineage. **Braz. J. of Develop.** v.6, n.6, p.39810-39824, 2020.
- 29 SOUZA, X. R.; FARIA, P. B.; BRESSAN, M. C. Qualidade da carne de frangos
30 caipiras abatidos em diferentes idades. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64,
31 n.2, p.479-487, 2012.
- 32 STAINES, K. et al. A Versatile Panel of Reference Gene Assays for the
33 Measurement of Chicken mRNA by Quantitative PCR. **PLoS ONE**, v.11, 2016.
- 34 STRINGHINI, J. H. et al. Avaliação do Desempenho e Rendimento de Carcaça
35 de Quatro Linhagens de Frangos de Corte Criadas em Goiás. **R. Bras.**
36 **Zootec.**, v. 32, n. 1, p. 183-190, 2003.
- 37 TAKAHASHI, S. E. et al. Efeito do sistema de criação sobre o desempenho e
38 rendimento de carcaça de frangos de corte tipo colonial. **Arq. Bras. Med. Vet.**
39 **Zootec.**, v.58, n.4, p.624-632, 2006.

- 1 TEAM, R. C. A. **language and environment for statistical computing. R**
- 2 **Foundation for Statistical Computing** 2015. Vienna. Disponível em:
- 3 <http://www.r-project.org/>.
- 4 VANDESOMPELE, J.; PRETER, K.; PATTYN, F; et al. Accurate normalization
- 5 of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple
- 6 internal control genes. **Genome Biology**, v. 3, n. 7. 2002.
- 7 VELOSO, R. C. et al. Parâmetros de desempenho e carcaça de genótipos de
- 8 frangos tipo caipira. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 66, n. 4, p. 1251-1259,
- 9 2014.
- 10 ZANETTI, E. et al. Carcass characteristics and qualitative meat traits of three
- 11 Italian local chicken breeds. **British Poultry Science**, 51(05), p. 629-634, 2010.