

## A Miostatina no melhoramento genético animal para a produção de carne

Oliveira, R.S.<sup>1@</sup>; Ribeiro da Silva, G.<sup>2</sup>; de Sousa Borges, A.A.<sup>1</sup>; Morais Machado, L.P.<sup>1</sup>; Arhur Arrê, F.<sup>1</sup>; Mello de Araújo, A.<sup>3</sup>; Mendonça Diniz, F.<sup>2</sup>; Rocha Sarmento, L.<sup>1</sup> e Costa Silva, V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

<sup>3</sup>Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, Brasil.

### PALAVRAS-CHAVE

MSTN.  
Superfamília TGF- $\beta$ .  
Sequenciamento.  
Musculatura dupla.  
Produção de carne.

### ADDITIONAL KEYWORDS

MSTN.  
TGF- $\beta$  superfamily.  
Sequencing.  
Double musculature.  
Meat production.

### INFORMATION

Cronología del artículo.  
Recibido/Received: 27.04.2022  
Aceptado/Accepted: 10.01.2023  
On-line: 15.01.2023  
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:  
raianedp2012@hotmail.com

### RESUMO

O gene da miostatina é considerado um dos candidatos no melhoramento da carne em animais de produção. O objetivo dessa investigação foi realizar uma revisão sistemática de literatura reunindo estudos relevantes às temáticas referentes às metodologias e aplicabilidade dos marcadores moleculares, utilizados em estudos com bovinos, caprinos, suínos, ovinos e aves no mundo. O pacote R de análise bibliométrica (bibliometrix) realizou a análise dos dados das buscas por publicações indexadas nos portais científicos Scopus e Web of Science, realizado em julho de 2021. A China seguida pelos Estados Unidos, Índia e Nova Zelândia, se destacaram como os países de maior número de publicações relacionadas a essa temática. As ferramentas moleculares mais utilizadas foram as que apresentam como base o sequenciamento, sendo representadas por SNPs. Percebeu-se a necessidade de ampliação de pesquisas no Brasil com esses estudos genéticos focados no melhoramento do animal para a característica de interesse, visto que o mesmo apresenta poucos estudos relacionados ao gene miostatina no melhoramento da carne em animais de produção.

### Myostatin in animal genetic improvement for meat production

### SUMMARY

The myostatin gene is considered one of the candidates for meat improvement in farm animals. The objective of this investigation was to carry out a systematic review of the literature, bringing together studies relevant to the themes related to the methodologies and applicability of molecular markers, used in studies with cattle, goats, swine, sheep and birds in the world. The R package of bibliometric analysis (bibliometrix) performed the analysis of data from searches for publications indexed in the scientific portals Scopus and Web of Science, carried out in July 2021. China followed by the United States, India and New Zealand stood out as the countries with the highest number of publications related to this topic. The most used molecular tools were those based on sequencing, represented by SNPs. There was a need to expand research in Brazil with these genetic studies focused on improving the animal for the trait of interest, since it has few studies related to the myostatin gene in meat improvement in production animals.

### INTRODUÇÃO

O gene da miostatina foi mapeado para a extremidade distal do cromossomo 2 em bovinos e consiste em três éxons e duas regiões intrônicas em todas as espécies estudadas, incluindo o suíno (Genbank access Number AY208121), o búfalo (AH013313) o peixe-zebra. (AY323521), frango (AF346599) e camundongo (AY204900) (Grobet *et al.* 1997; McPherron *et al.* 1997).

Mutações de perda de função no gene da miostatina (MSTN) estão associados com o aumento da massa muscular esquelética (dupla musculatura) em camundongos (McPherron *et al.*, 1997), cães (Mosher *et al.*, 2007), ovelhas (Clöp *et al.*; 2006), bovinos (Grobet *et al.* 1997; McPherron e Lee, 1997;) e humanos (Schuelke *et al.*, 2004).

A seleção assistida por marcadores moleculares é um processo eficiente na melhoria e no progresso da seleção em animais (Koohmaraie, 1996). Além disso, a

genotipagem de animais pelo emprego de marcadores moleculares auxilia a classificar a carcaça com base na qualidade alimentar antes do abate (Lonergan *et al.*, 1995). As variações alélicas são recursos importantes para a genética animal, visto que as mesmas podem atuar na expressão de genes ou de algumas sequências de nucleotídeos possibilitando novas particularidades na qualidade da carne. Assim, estudos que objetivam a busca por marcadores genéticos em animais estão diretamente relacionados às análises de regiões polimórficas ou mutações nos genes que controlam as características economicamente importantes (Faleiro, 2007).

O fator de crescimento TGF( $\beta$ ) é pouco estudado em algumas espécies animais, sendo que dentre os animais de produção, os estudos com caprinos são bem limitados. Logo, ainda não existem metodologias padronizadas nas pesquisas para avaliação do melhoramento animal voltados a produção da carne utilizando esse gene. Dessa forma, para utilizar estratégias mais eficientes de melhoramento genético é necessário conhecer as técnicas e os marcadores moleculares que estão sendo mais utilizados nos estudos com produção de carne em animais de interesse econômico.

Portanto, o objetivo desse estudo foi realizar uma revisão sistemática da literatura reunindo estudos relevantes às temáticas ligadas caprinos e aplicabilidade dos marcadores moleculares voltados ao melhoramento animal visando a produção de carne.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização sistemática da revisão de literatura foram feitas buscas por publicações indexadas nos portais científicos *Scopus* e *Web of Science*. O levantamento foi realizado em julho de 2021.

A investigação foi realizada acessando a página principal, com a busca usando o item que inclui juntos o resumo, título e palavras-chave. De início inseriu-se os termos, *goat AND myostatin OR MSTN AND sequencing OR sequence*. Em seguida, de forma separada, substituiu-se os termos *sequencing OR sequence* por: *RFLP OR "restriction fragment length polymorphism"*. As demais espécies de produção: *sheep, pig, bovine* e *chicken* seguiram essa mesma busca metodológica. A adição das aspas (" ") permitem que se explore o termo por inteiro, quando este possui mais de uma palavra. O resultado referente a cada consulta foi registrado em dois tipos diferentes de arquivo de extensão, sendo o formato escolhido para a plataforma *Scopus* e *Web of Science (WOS)*, *Bibtex* e *TXT*, respectivamente.

Nesse trabalho, priorizou-se o endereço fornecido pela instituição de pesquisa do primeiro autor usando a função "*metaTagExtraction*" do pacote estatístico R *Bibliometrix*, sendo considerado a ideia de que o interesse da pesquisa seria do primeiro autor.

Os arquivos ligados às buscas de cada tipo de marcador molecular nas diferentes plataformas foram reunidos, e em seguida removidos todas as duplicatas, para posterior análise. Isso proporcionou uma visão geral dos estudos referentes aos principais marcadores molecu-

lares que estão sendo mais utilizados nos estudos com produção de carne em animais de interesse econômico.

O pacote estatístico do R, *Bibliometrix* (Aria; Cuccurullo, 2017), foi utilizado em toda a análise bibliométrica. Esse software possibilitou a obtenção de informações de autores, países e suas instituições afiliadas, e gráficos com tipologias diferentes que facilitam na compreensão dessa temática no mundo. Mapas temáticos e de estrutura conceitual foram também criados para melhor ilustrar o assunto estudado.

Os mapas temáticos gerados no programa permitem que se ilustre quatro tipologias de temas, esses definidos de acordo com o quadrante no qual estão posicionados. Essa metodologia é baseada nas palavras-chave *Plus*. Elas são diferenciadas das palavras-chave dos autores, pois apresentam normalização e possuem a capacidade de busca aos temas dos artigos em maior variedade e profundidade (Corte *et al.*, 2019).

No quadrante superior direito do gráfico ficam os temas denominados "motor", sendo estes caracterizados por alta centralidade e elevada quantidade de documentos, sendo os mais importantes para a temática da pesquisa.

Os temas mais especializados ou "temas-nicho" se localizam no quadrante superior esquerdo. Eles são caracterizados por baixa centralidade, sendo de importância secundária.

Os temas "emergentes" ou que se encontram em declínio se localizam no quadrante inferior esquerdo, sendo fracamente desenvolvidos e apresentando poucos registros.

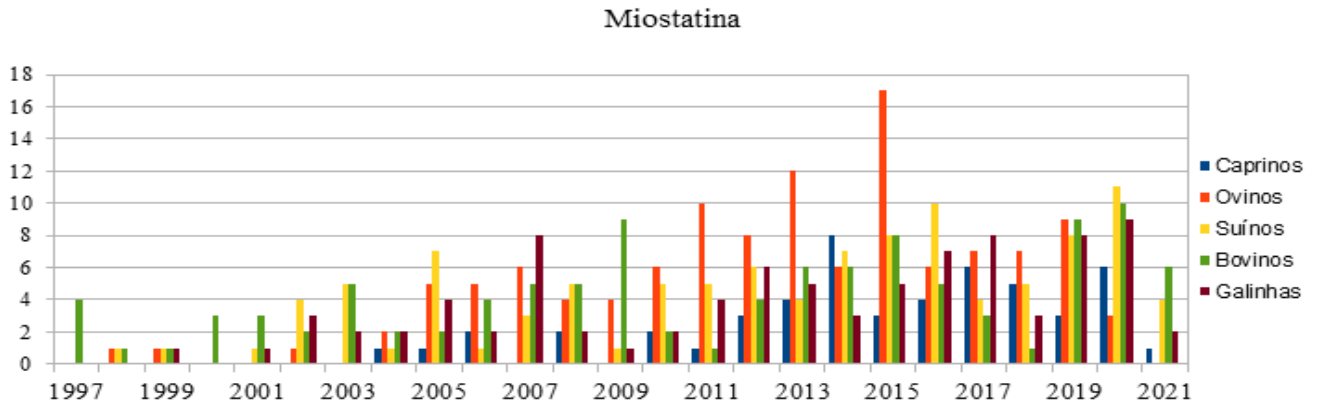
Enquanto isso, os temas básicos que são caracterizados por alta centralidade e baixa densidade estão no quadrante inferior direito, sendo representativos para o campo de pesquisa.

O estudo também utilizou-se de gráficos em rede para demonstrar o nível de colaboração entre os países relacionados as pesquisas. Um mapa de estrutura conceitual foi desenvolvido em duas dimensões, baseado na análise de correspondência múltipla (MCA) e no algoritmo de agrupamento *k-means* da rede de co-ocorrência de palavras-chave, com o grau mínimo igual a 2. Essa metodologia foi utilizada para investigar a tendência das pesquisas emergentes, por meio de termos científicos e as suas conexões (Nita, 2019).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a exclusão de replicatas das publicações, no mundo foram relatados na base de dados da plataforma *WOS* e *Scopus* 417 estudos, registrados de 1997 a julho de 2021, voltados ao melhoramento de carne em animais de produção. A maior parte das produções científicas está relacionada a artigos publicados em periódicos científicos, com 388 publicações registradas, seguido de estudos de revisão com 14, sendo o restante distribuído entre capítulos de livros, notas científicas, conferências e outras categorias de publicações.

A distribuição anual de publicações relacionados com o melhoramento animal para a produção de carne



**Figura 1.** Número de publicações anuais referente aos estudos da miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves a partir de 1997 a 2021 (Number of annual publications referring to myostatin studies in goats, sheep, pigs, cattle and poultry from 1997 to 2021).

iniciou-se desde os estudos de McPHERRON e LEE (1997) e a descoberta do gene da miostatina em bovinos que está ligado a regulação da produção das miofibrilas nos miotubos dos tecidos nos animais. Já os primeiros trabalhos registrados com ovinos e suínos datam de 1998. As aves e os caprinos datam a partir de 1999 e 2004, respectivamente (**Figura 1**).

Foi possível observar que a China desponta como o país com maior número de publicações relacionadas ao melhoramento animal para a produção de carne (**Figura 2**). O país destaca-se como o maior efetivo de caprinos do mundo, o que pode justificar o volume de publicações (EMBRAPA, 2016).

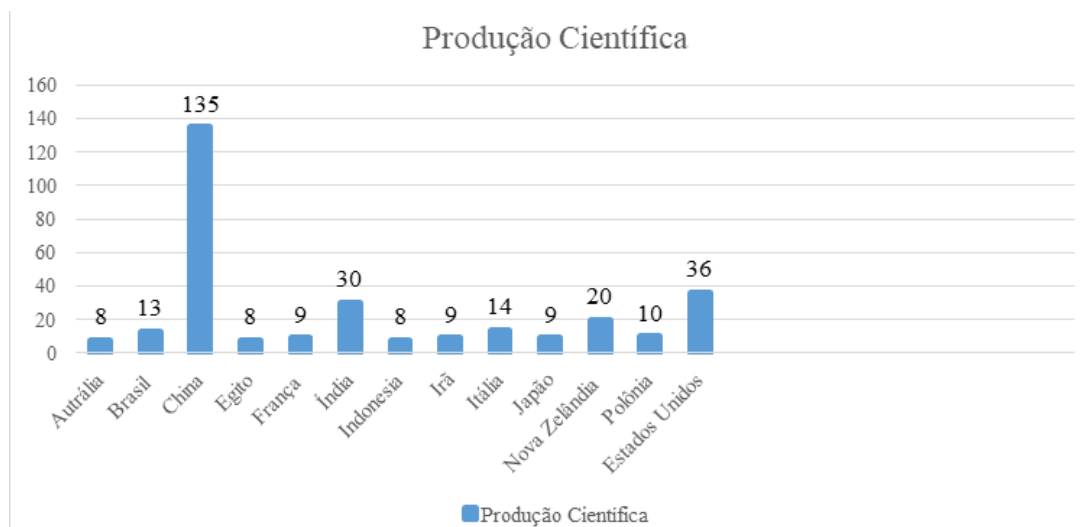
Ao realizar buscas por marcadores moleculares mais usados em animais de produção utilizando o gene da miostatina, observou-se uma maior frequência de publicações relacionadas à metodologia de SNPS (**Figura 3**). Isso pode ser justificado levando em consideração que as metodologias utilizando-se RFLP sejam antigas e a mesma não apresentam a mesma eficiência nos resultados quando comparada as metodologias utilizando-se o sequenciamento, embora, ainda sejam

identificados registros de pesquisas utilizando essa metodologia (AZARI *et al.*, 2012).

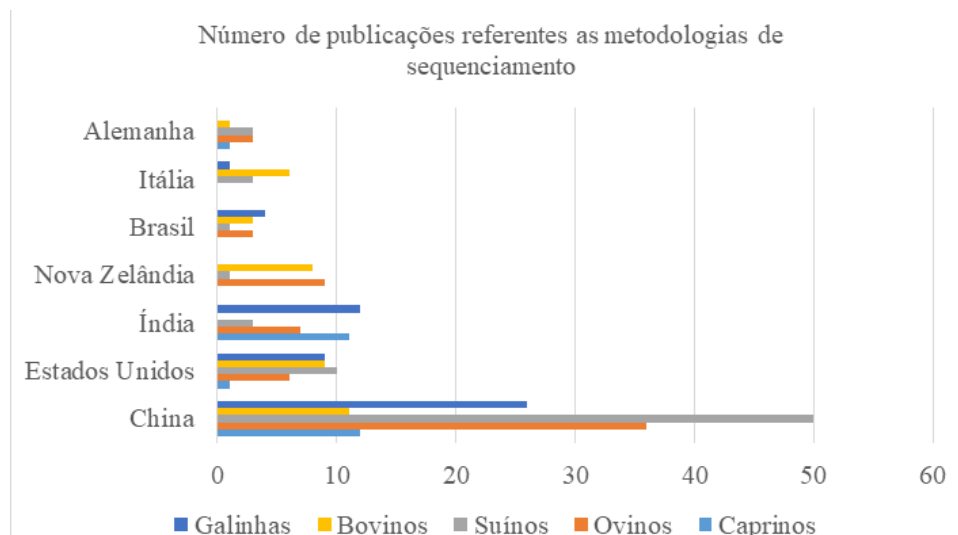
No gráfico acima é possível observar um grande número de publicações da China utilizando-se da metodologia de sequenciamento, seguida dos Estados Unidos, Índia e Nova Zelândia. É importante destacar que os suínos, as aves, os ovinos e caprinos prevalecem nas pesquisas. Os EUA apresenta limitação em estudos com caprinos, apresentando apenas um trabalho. No caso da Índia, ainda não existe trabalhos com bovinos. E, a Nova Zelândia não demonstrou nenhum trabalho com caprinos e aves.

O Brasil está na 5ª posição referente ao número de publicações nessa temática utilizando metodologia de sequenciamento. Até o momento, nenhum trabalho com caprinos, nessa temática, foi publicado nas bases de dados consultadas. Em relação às demais espécies, os trabalhos são ainda limitados, apresentando baixo nível de publicação comparada com a de outros países.

As metodologias de sequenciamento e SNPs foram trabalhadas juntas, sendo dessa forma, identificados



**Figura 2.** Número de publicações por país, referente aos estudos do gene miostatina (MSTN) nas principais espécies domésticas no mundo (Number of publications per country, referring to studies of the myostatin gene (MSTN) in the main domestic species in the world).



**Figura 3.** Número de publicações referentes às metodologias de sequenciamento utilizadas nos estudos com o gene Miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo (Number of publications referring to the sequencing methodologies used in studies with the Myostatin gene in goats, sheep, pigs, cattle and poultry worldwide).

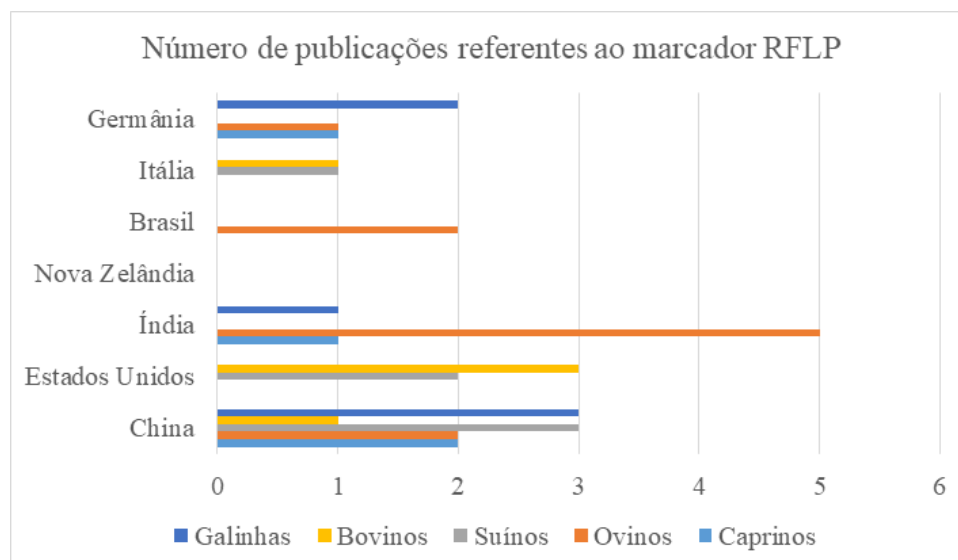
no Brasil 11 registros de publicações. Esse tipo de marcador é caracterizado por apresentar grande aplicabilidade em estudos de seleção e melhoramento da qualidade da carne em animais de produção, pois estão ligados a características de importância econômica (Guimarães e Costa, 2002).

Os SNPs são bialélicos e se caracterizam por apresentarem diferenças em um único par de bases na sequência de DNA, sendo que essas mutações podem ser silenciosas ou causar alterações tanto na regulação como também função dos genes (KOOHMARAIE, 1996). Apesar da sua eficácia na identificação de QTLs (*Loci* de características quantitativas), em ocasiões onde o gene não é conhecido, sua precisão só tem relevância quando utiliza-se uma grande quantidade de marcadores, o que demanda um custo bem alto. Adicionalmente, a genotipagem de milhares de SNPs é feita utilizando microchips que por meio de sondas

conseguem identificar as variações ou essa detecção de polimorfismo na sequência de DNA pode ser feita utilizando a tecnologia NGS (Sequenciamento de Nova Geração) (Palmer *et al.*, 1999).

Quando se observa trabalhos utilizando metodologia mais antiga, com a técnica RFLP, a China, Estados Unidos e Índia seguem nas mesmas posições quanto ao número de publicações. No caso da Nova Zelândia, nenhum trabalho utilizando RFLP foi publicado para nenhuma espécie de pequenos ruminantes. Enquanto isso, no Brasil existem trabalhos apenas com ovinos utilizando essa metodologia (Figura 4).

A aplicação dos marcadores codominantes RFLP, apesar de algumas limitações técnicas como bialelismo, necessidade de conhecimento prévio do gene e baixo polimorfismo, ainda podem ser úteis para pesquisas com o melhoramento da carne em animais de produção, auxiliando no estudo do polimorfismo de genes candidatos que sejam ligados a características do de-



**Figura 4.** Número de publicações referentes às metodologias de RFLP utilizadas nos estudos com o gene Miostatina em caprinos, ovinos, suínos, bovinos e aves no mundo (Number of publications referring to the RFLP methodologies used in studies with the Myostatin gene in goats, sheep, pigs, cattle and poultry worldwide).



envolvimento muscular nesses animais. Essa técnica utiliza-se de enzimas de restrição para identificar o polimorfismo de determinado gene amplificado por reação em cadeia da polimerase - PCR (Polido et al., 2012).

o Brasil, segundo o levantamento da pesquisa, apenas 2 publicações foram identificadas utilizando RFLPs. Destas pode-se destacar o estudo realizado por Souza *et al.* (2010) que encontraram em ovinos o polimorfismo (g+6723G-A) no gene da miostatina, a frequência alélica de 90,5% para o alelo A e de 9,5% para o alelo G. O alelo A está associado ao maior desenvolvimento muscular, e como esperado, está presente na maioria dos animais testados, demonstrando que nos ovinos Texel criados no Brasil há uma alta frequência deste alelo.

O mapa de estrutura conceitual demonstrou 2 grupos de palavras-chave correlacionadas nas publicações (Figura 5). No cluster 1 (em vermelho), observa-se a reunião de termos relacionados a caracterização do gene da miostatina, com destaque para a sua funcionalidade e referência ao melhoramento para produção de carne. No cluster 2 (em azul), observa-se a concentração de

palavras relacionadas aos estudos em animais com esse gene, sendo representadas por bovinos (Grobet *et al.* 1997), ovinos (Zhou *et al.*, 2008), caprinos (Singh *et al.*, 2014), peixes (Roncancio *et al.*, 2020) e aves (Gabriel *et al.*, 2006). No mapa temático, usado para investigar o grau de importância dos temas identificados nas pesquisas referentes ao melhoramento genético animal voltados a produção da carne (Figura 6), pode-se observar a formação de 11 tipologias de temas, sendo representadas pelos círculos coloridos.

Junto com o tema representado pelo círculo de coloração roxa, os termos “metabolismo e análise genética” possuem o maior grau de centralidade, demonstrando ser um dos termos de maior importância para o campo de pesquisa no melhoramento genético em animais de produção. Isso converge com os interesses dos pesquisadores, principalmente quando se deseja melhorar a carne dos mais diferentes animais que são economicamente importantes como ovinos (Ahad *et al.*, 2016) e caprinos (Zhang *et al.*, 2012).

O tema nas cores em vermelho, verde e azul (Figura 6), se referem a artigos que estudam o gene voltado a

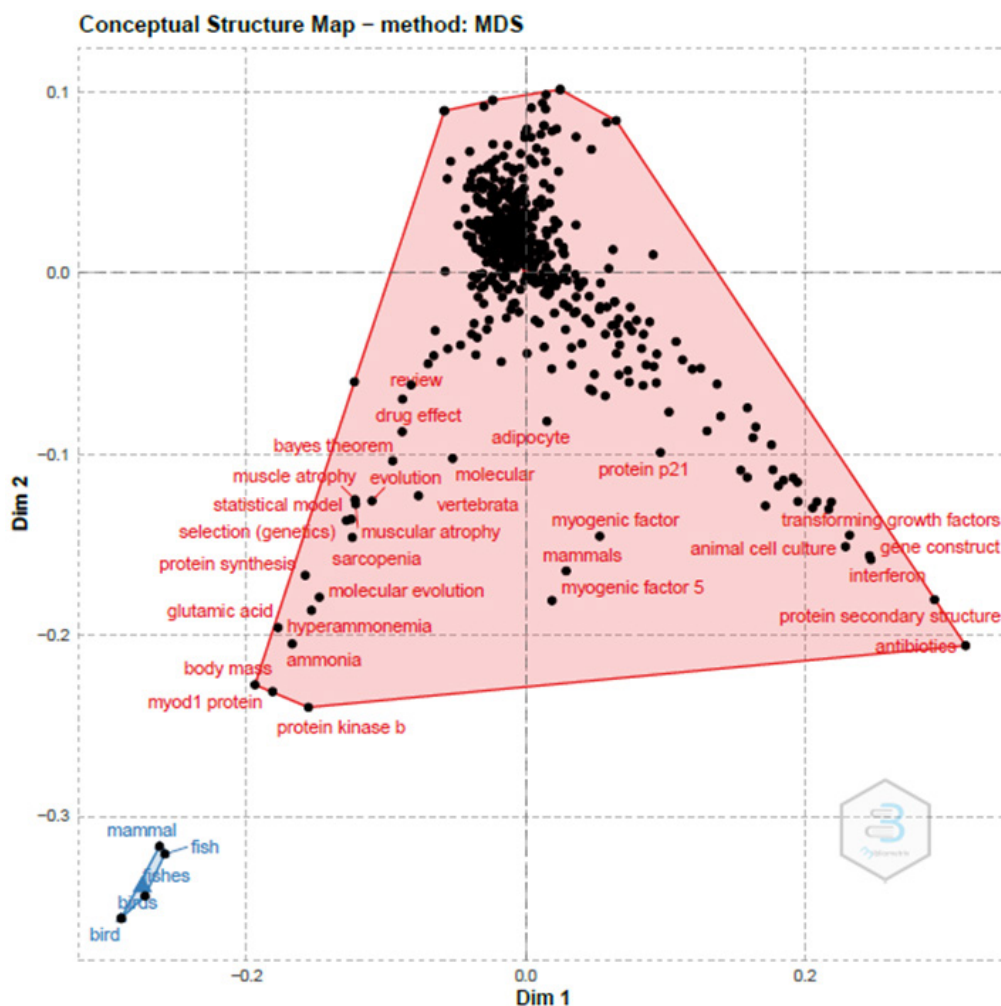


Figura 5. Mapa de estrutura conceitual de palavras-chave da análise bibliométrica de pesquisas ligadas ao melhoramento genético animal para a produção de carne (grau mínimo do nó = 2), método de análise de correspondência múltipla a agrupamento k- means; cluster 1- vermelho, cluster 2- azul (Map of the conceptual structure of keywords from the bibliometric analysis of research linked to animal genetic improvement for meat production (minimum node degree = 2), multiple correspondence analysis method to k-means clustering; cluster 1- red, cluster 2- blue).

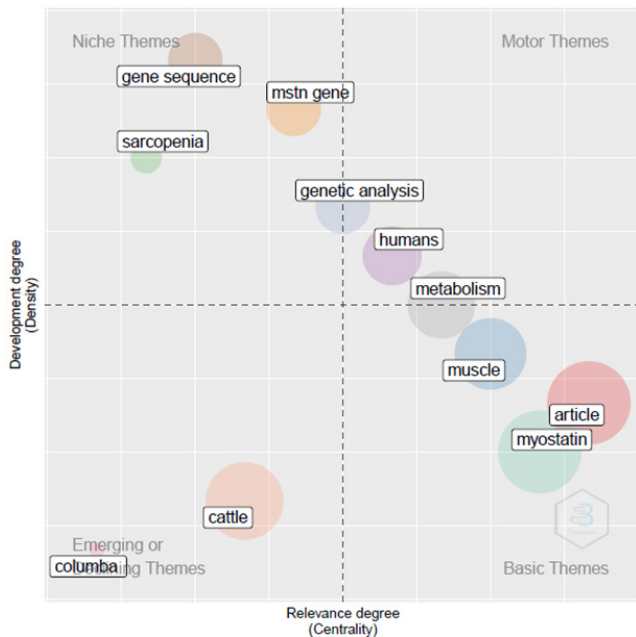


Figura 6. Mapa temático referente as palavras-chave da pesquisa ligadas ao melhoramento em animais de produção. Os círculos representam os temas e o tamanho está ligado ao número de artigos relacionados a cada palavra-chave que os compõem (Thematic map referring to the research keywords related to the improvement of production animals. The circles represent the themes and the size is linked to the number of articles related to each keyword that compose them).

dupla musculatura dos animais utilizando-se o gene da miostatina e está localizado em uma posição entre os temas mais importantes e básicos no campo das pesquisas.

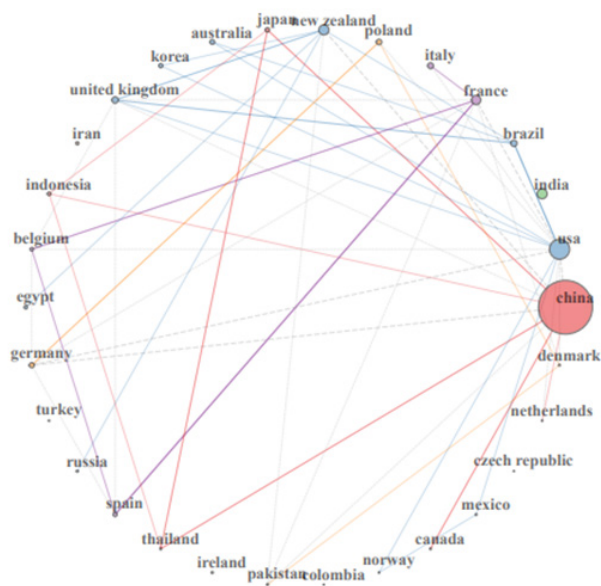


Figura 7. Rede de colaboração entre os países para a publicação de estudos referentes ao gene da miostatina em animais de produção (Collaboration network between countries for the publication of studies related to the myostatin gene in production animals).

O mapa temático aponta que os estudos, mais precisamente voltados ao gado representado pelo termo (*cattle*), estão localizado no quadrante relacionados aos temas emergentes com baixa centralidade e densidade.

Os temas do primeiro quadrante são focados nos estudos especializados no sequenciamento do gene da miostatina (Boman *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2007). O termo “MSTN gene”, se apresenta como um dos assuntos com maior nível de centralidade.

A China, os Estados Unidos, Nova Zelândia e a Índia, apresentaram-se como os países com maior número de publicações, com a cooperação de alguns países, entre eles estão o Japão, Canadá, Tailândia e o Brasil (Figura 7).

Essa produtividade pode ser justificada pela China, Índia e Nova Zelândia serem os maiores detentores de cabeças de caprinos no mundo (Embrapa, 2016).

### CONCLUSÃO

As informações fornecidas na base de dados apresentaram uma visão geral de todas as publicações com marcadores moleculares aplicados no melhoramento animal voltados a produção da carne. A China foi o país que mais registrou publicações em todos os aspectos da busca. Por meio dos mapas de estruturas conceituais e temáticos foi possível observar, no geral, um grande interesse dos pesquisadores por temas voltados aos estudos de sequenciamento do gene da miostatina focados no desenvolvimento e produção do tecido muscular em animais de interesse econômico. Houve também a constatação da aplicabilidade dos marcadores moleculares na identificação e análise de polimorfismo na sequência do gene candidato a produção de carne. Nesse caso, os que se destacaram foram os marcadores que utilizam-se de metodologias de sequenciamento: SNP e o próprio sequenciamento do gene. Com isso, ficou evidente a importância da utilização dos marcadores moleculares como ferramenta para incrementar as práticas de melhoramento animal para a característica de interesse, sendo necessário a ampliação das pesquisas no Brasil, devido o mesmo apresentar poucos registros em estudos relacionados a essa temática, e nenhum relacionado a espécie caprina.

### REFERÊNCIAS

Ahad, W. A.; *et al.* 2016. Sequence Characterization of Coding Regions of the Myostatin Gene (GDF8) from Bakerwal Goats (*Capra hircus*) and Comparison with the Sheep (*Ovis aries*) Sequence. *Open Journal of Animal Sciences*. v.6, p.157-162.

Aria, M.; 2017. Cuccurullo, C. Bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*. v.11, p.959-975.

AZari M.A.; *et al.* 2012. Polymorphism of calpastatin, calpain and myostatin genes in native Dalagh sheep in Iran. *Slovak Journal of Animal Science*. v.45, p.1-6.

Boman, I. A.; *et al.* 2009. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (MSTN) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Animal genetics*. v.40, p.418-422.

Clop, A. *et al.* 2006. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nature Genetics*. v.38, n.7, p.813-818.

- Corte, V.D.; et al. 2019. Sustainable tourism in the open innovation realm: A bibliometrics analysis. *Sustainability*. v.11, n.6114, p.1-18.
- Embrapa Caprinos E Ovinos. *Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos*. Produção Mundial. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/producao-mundial>. Acesso em: 12.set.2021.
- Faleiro, F.G. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. *Embrapa Cerrados*. Planaltina, DF. p. 102. IBGE, 2007.
- Gabriel e. J. E.; et al. 2006. Padrão de expressão temporal de transcritos de miostatina durante a embriogênese da galinha. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.58, p.5.
- Grobet, L. et al. 1997. Uma deleção do gene da miostatina causa o fenótipo da musculatura dupla em bovinos. *Genética da natureza*, v.17, p.71-74.
- Guimarães, P. E. M.; Costa, M. C. R. 2002. SNPs: Sutis diferenças de um código. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. V. 26, p.24:27.
- Koohmaraie M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*. v.43, p.193-201.
- Loneragan S.M.; et al. 1995. Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness. *Journal Animal Science*. v.73, p.3608-3612.
- Markus Schuelke, M.D. et al. 2004. Mutação da miostatina associada à hipertrofia do músculo grosso em uma criança. *The New England Journal of Medicine*. v. 350, p. 2682-2688.
- McPherron A.C. e Lee S.J. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v.94.
- McPherron, C. A.; Lawler, M. A.; Lee, S.J. 1997. Regulação da massa muscular esquelética em camundongos por um novo membro da superfamília TGF- $\beta$ . *Natureza*, v. 387, p. 83-90.
- Mosher, D.S. et al. 2007. A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs. *Plos Genetics*, v.3, p.79.
- Nita, A. 2019. Empowering impact assessments knowledge and international research collaboration – A bibliometric analysis of Environmental impact assessment review journal. *Environmental impact assessment review*, v.78, p.1-10.
- Palmer, B.R.; et al. 1999. Marker-assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. *New Zealand Society of Animal Production*. v.59, p.266-268.
- Polido, P. B.; et al. 2012. Marcadores moleculares aplicados no melhoramento genético de bovinos. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zootecnia UNIPAR*. Umuarama, v. 15, n. 2, p. 161-169.
- Roncancio, C.O.S.; et al. 2021. Influência de fatores abióticos sob miogênese de peixes teleósteos. *Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.15 p.3.
- Souza, C.J.H.; et al. 2010. Ocorrência de polimorfismos (g+6723g-a) no gene da miostatina em um rebanho de ovinos Texel no Brasil. *XI Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos*.
- Wang, J. et al. 2005. High-throughput SNP genotyping by single-tube PCR with Tm-shift primers. *Bio Techniques*, v. 39, n. 6, p. 885-892.
- Yu, L.; et al. 2007. Polymorphisms in the 5' regulatory region of myostatin gene are associated with early growth traits in Yorkshire pigs. *Science in China Series C: Life Sciences*, v.50, p.642-647.
- Zhang, C.; et al. 2012. Polymorphisms of myostatin gene (MSTN) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. *Molecular biology reports*, v.39, p.3081-3087.