



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**Prospecção de regiões genômicas associados a características de
carcaça na raça Nelore, usando single step GBLUP**

Rafael Fraga Zamperlini
Biotecnologista

Dourados – MS
Fevereiro de 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**Prospecção de regiões genômicas associados a características de
carcaça na raça Nelore, usando single step GBLUP**

Rafael Fraga Zamperlini

Orientador: Leonardo de Oliveira Seno

Coorientador: Rusbel Raul Aspilcueta
Borquis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados – MS

Fevereiro de 2020

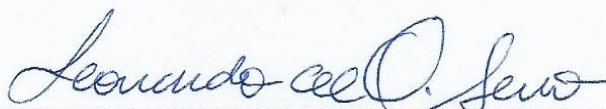
**PROSPECÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADOS A
CARACTERÍSTICAS DE CARÇA NA RAÇA NELORE, USANDO SINGLE
STEP GBLUP**

por

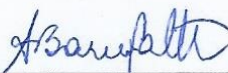
RAFAEL FRAGA ZAMPERLINI

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM ZOOTECNIA

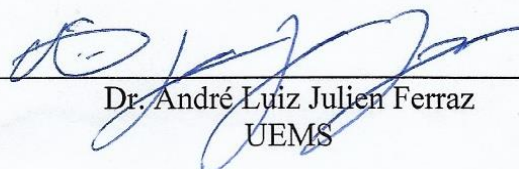
Aprovado em: 19/02/2020



Dr. Leonardo de Oliveira Seno
Orientador – UFGD



Dra. Alexeia Barufatti
UFGD



Dr. André Luiz Julien Ferraz
UEMS

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Z26p Zamperlini, Rafael Fraga

Prospecção de regiões genômicas associados a características de carcaça na raça Nelore, usando single step GBLUP [recurso eletrônico] / Rafael Fraga Zamperlini. -- 2020. Arquivo em formato pdf.

Orientador: Leonardo de Oliveira Seno.

Coorientador: Rusbel Raul Aspilcueta Borquis.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Bos indicus. 2. genes candidatos. 3. análise funcional. 4. SNPs. 5. ultrassonografia.
I. Seno, Leonardo De Oliveira. II. Borquis, Rusbel Raul Aspilcueta. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

“Transportai um punhado de terra todos os dias e fareis uma montanha”

- Confúcio

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por toda a sabedoria, discernimento e por toda coragem de enfrentar os obstáculos encontrados em toda a caminhada até aqui.

Aos meus pais e familiares por todo apoio, carinho e conselhos dados nos momentos mais difíceis.

A todos os meus amigos que tanto dentro quanto fora da universidade não me deixaram desanimar e sempre estiveram dispostos a me ajudar.

Ao meu orientador Leonardo Oliveira Seno e ao meu coorientador Rusbel Raul Aspilcueta-Borquis, por me acolherem dentro de seu grupo de pesquisa, por toda a paciência e companheirismo empregados a mim.

À Capes, pela bolsa fornecida no período de mestrado, fundamental para a permanência no programa.

Ao Humberto Tonhati, por disponibilizar os dados genômicos, que sem ele este trabalho não poderia ser realizado.

Ao Jorge Camargo, por confiar as informações dos animais à pesquisa, e fornecer estadia na fazenda Bela Vista para coleta de amostras e acompanhamento da ultrassonografia nos animais.

À empresa Prolmagem, por colaborar na coleta de imagens das imagens de ultrassonografia.

E por fim, à UFGD, que vem me proporcionando cada vez mais oportunidades para o meu crescimento pessoal e acadêmico, desde a graduação até aqui no mestrado.

BIOGRAFIA

Rafael Fraga Zamperlini, ingressou no curso de graduação em Biotecnologia pelo vestibular da UFGD no ano de 2014. A graduação durou 4 anos, em um deles, bolsista PIBIC, pesquisando genética de conservação de ovinos Pantaneiros. A conclusão do curso ocorreu em fevereiro de 2018, tendo ingressado no mestrado no mesmo ano. Naquele mesmo ano, em março, iniciou o curso de mestrado oferecido pelo programa de pós-graduação em Zootecnia da UFGD, sendo bolsista da CAPES por doze meses. Durante o mestrado desenvolveu sua dissertação orientação do Prof. Dr. Leonardo Oliveira Seno e coorientação do Prof. Dr. Rusbel Raul Aspilcueta-Borquis, pesquisando genes candidatos em bovinos da raça Nelore.

Sumário	Pags.
Capítulo 1	1
1.1 Considerações iniciais.....	2
1.2 Revisão bibliográfica.....	3
1.3 Objetivo geral.....	9
1.4 Objetivo específico.....	9
1.5 Referências.....	10
Capítulo 2	15
2.1 Resumo.....	16
2.2 Abstract.....	17
2.3 Introdução.....	18
2.4 Materiais e métodos.....	19
2.5 Resultados.....	23
2.6 Discussão.....	32
2.7 Conclusão.....	35
2.8 Referências.....	36
2.9 Materiais suplementares.....	42

Lista de figuras	Pags.
Figura 1 – Demonstração da coleta de medidas de ultrassonografia de carcaça, sendo 1 marmoreio (MARM), 2 área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS). Adaptada de Sainz & Araújo, 2002.	6
Figura 2 – Representação de um SNP (Polimorfismo de nucleotídeo único), demonstrando a substituição de um par de nucleotídeos na cadeia do DNA. Adaptado de Society for Mucosal Immunology (2014).....	7
Figura 3 – Demonstração de Manhattan plot proveniente de uma análise de GWAS, indicando os genes significativos para idade ao primeiro parto (IPP). Fonte: Nascimento <i>et al</i> , 2018.....	8
Figura 4 – Representação da organização hierárquica de um termo mais amplo para um mais simples, podendo ser processo biológico, funções moleculares ou componentes celulares. Fonte: Bindea & Mlecnik, 2019.....	9
Figura 1 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de (a) peso 205 efeito aditivo e (b) efeito aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.	24
Figura 2 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de peso aos 550 dias, ao efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.....	25
Figura 3 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de (a) AOL efeito aditivo e (b) efeito aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.....	26
Figura 4 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de AOL ao sobreano, efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.....	27
Figura 5 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de (a) EGS efeito aditivo e (b) efeito aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.....	27
Figura 6 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de EGS ao sobreano, efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.....	28
Figura 7 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de (a) MARM efeito aditivo e (b) efeito aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.....	29

Figura 8 – Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de MARM ao sobreano, efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão..... 30

Lista de tabelas	Pags.
Tabela 1 – Estatística descritiva das características de peso, AOL, EGS e MARM ao desmame e sobreano (205 e 550 dias) em n=702 animais	20
Tabela 2 – Principais genes com função relacionada às características de carcaça.....	31
S1 – Genes associados os efeitos aditivo e aditivo materno para característica de peso em 10 janelas adjacentes ao desmame (205 dias).....	34
S2 – Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de peso aos 550 dias.....	34
S3 – Genes associados ao efeito aditivo para característica de AOL, em 10 janelas adjacentes ao desmame.....	34
S4 – Genes associados ao efeito aditivo materno para característica de AOL, em 10 janelas adjacentes ao desmame.....	35
S5 – Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de AOL.....	35
S6 – Genes associados aos efeitos aditivo e aditivo materno para característica de EGS, em 10 janelas adjacentes ao desmame.....	35
S7 – Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de EGS.....	36
S8 – Genes associados aos efeitos aditivo e aditivo materno para característica de MARM, em 10 janelas adjacentes ao desmame.....	36
S9 – Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de MARM.....	36

Lista de abreviaturas

1. AOL: área de olho de lombo
2. ATUBRA: Associação de Técnicos de Ultrassom do Brasil
3. DL: desequilíbrio de ligação
4. DMSIV: digestibilidade de matéria seca in vitro
5. DNA: ácido desoxirribonucleico
6. EGS: espessura de gordura subcutânea
7. EHW: equilíbrio de Hardy-Weinberg
8. FDN: fibra em detergente neutro
9. GWAS: Genome Wide Association Study
10. ha: alqueire
11. MAF: frequência de alelos menores
12. MARM: marmoreio
13. MS: matéria seca
14. NCBI: National Center for Biotechnology Information
15. PB: proteína bruta
16. SNP: Single Nucleotide Polymorphism
17. ssGBLup: single step GBlup
18. SSRT: short sequence repeated tandem

CAPÍTULO 1

1. Considerações iniciais

O Brasil é um dos principais países produtores de carne no mundo, abastecendo o mercado consumidor com 9,9 milhões de toneladas ao ano (Ritchie & Roser, 2020). Isto se deve pelo país possuir um dos maiores rebanhos (Wei *et al*, 2019). Dentre as raças criadas no país, a Nelore é a principal, compondo 80% do rebanho nacional (Fonseca *et al*, 2017). Isso se dá pela fácil adaptação destes animais ao clima tropical, que é muito semelhante ao encontrado em seu país de origem (Índia) (Silveira *et al*, 2018).

O comércio de bovinos criados no Brasil é baseado no pagamento por peso, no qual os frigoríficos pagam mais por animais pesados (Ferraz & Felício, 2010). Este tipo de comercialização é de fácil atendimento, pois o objetivo do criador é atingir o peso de abate. Apesar desta forma de fornecimento, o mesmo confere baixos níveis de qualidade de carne, podendo por muitas vezes esta ser dura, com gordura em excesso, e até mesmo não possuir boa aparência e sabor (Oliveira *et al*, 2017).

Em oposição a esta forma de comercialização, há as vendas baseadas na entrega de carne de melhor qualidade (FAO, 1991). Diante disto, há criadores incentivados em atender este nicho, levando em consideração não apenas a característica de peso, bem como elementos relacionados à gordura, como espessura de gordura subcutânea e marmoreio, que são responsáveis por aspectos sensoriais, tais como sabor, suculência e cor (Ashraf & Mustafa, 2018), e área de olho de lombo, que está relacionado ao rendimento de carcaça e dos cortes (Silva-Vignato *et al*, 2017).

Para entregar animais que atendam estes elementos de qualidade, são utilizadas ferramentas tais como a ultrassonografia. Esta técnica consiste na coleta de imagens em pontos específicos para mensurar as características de carcaça no animal *in vivo* (Yokoo *et al*, 2015). Estes fenótipos são importantes por estarem relacionados com traços genéticos complexos, envolvendo vários genes (Hayes *et al*, 2009).

Além da ultrassonografia de carcaça, são utilizadas ferramentas de exploração genética para estas características mensuradas. Uma delas é o uso de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms, do inglês, polimorfismos de

nucleotídeos de base única), que são alterações do tipo InDell ou substituição de bases ao longo do genoma (Brookes, 1999).

Contribuindo com o uso de SNPs, há também a ferramenta estatística ssGBLup (single step GBLup, do inglês, GBLup em etapa única), que realiza a avaliação genética das características, com o uso de dados genotípicos, fenótipo e *pedigree*. Esse processamento permite estimar, de forma conjunta, os efeitos dos marcadores e gera valores genéticos para a população (Aguilar *et al*, 2019).

Em colaboração com a identificação de genes por meio dos SNPs, pode ser realizada uma análise funcional, que consiste no estabelecimento de funções aos genes identificados, sendo possível saber o funcionamento dos genes na população (Mlecnik *et al*, 2017).

Com o uso dessas ferramentas, objetiva-se com este estudo, de modo geral, prospectar por meio do método de ssGBLup e ultrassonografia, genes associados às características de interesse ao mercado da carne, como área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, marmoreio e peso. De forma específica, objetiva-se identificar as funções de genes relacionados aos SNPs encontrados por GWAS, estabelecer as funções destes genes a cada característica em que estão associados e buscar genes que possam ser alvos de seleção.

1.2 Revisão bibliográfica

1.2.1 Comércio da carne

A produção de carne bovina no mundo está concentrada em sua maior parte em cinco países, sendo eles os Estados Unidos, Argentina, Austrália, União Europeia e Brasil, que juntos somam 71,1 milhões de toneladas de carne ao ano (FAO, 2019). Os Estados Unidos são os maiores produtores de carne, entregando anualmente 12,22 milhões de toneladas (Ritchie & Roser, 2020). O crescimento da demanda de carne bovina por países consumidores, como a China, impulsiona o mercado, fazendo com que haja um crescimento na entrega do produto principalmente por países em desenvolvimento como é o caso do Brasil (FAO, 2019).

Para atender às expectativas de consumo tanto no mercado interno quanto externo, o Brasil conta com um dos maiores rebanhos do mundo, do qual 80% corresponde ao consumo interno e 20% ao externo (Wei *et al*, 2019). Este montante de animais é composto em sua maioria por gado da raça Nelore, que teve boa adaptação ao clima tropical, permitindo sua criação em grande parte do território nacional (Silveira *et al*, 2018). Anualmente, são produzidos cerca de 9,9 milhões de toneladas de carne por ano no território nacional (Ritchie & Rose, 2020).

A forma de comércio da carne, baseada em uma única característica, o peso, reflete diretamente em como as fazendas conduzem seus rebanhos. Isto faz com que esta característica tenha mais relevância, sendo a forma de pagamento aos produtores, no qual quanto mais pesados os animais, maior o valor recebido pelos criadores (Rezende *et al*, 2019). Esse procedimento de engorda está relacionado à eficiência produtiva dos animais, mesmo com baixa associação (Jahuey-Martínez *et al*, 2016; Figueiredo *et al*, 2018).

Apesar do comércio com base no peso ser bem estabelecida no mercado, há pontos desta característica a serem avaliados. Um deles é que ao pesar os animais, estão inclusas porções não comestíveis, como a cabeça, ossos, cascos e pele (Coyne *et al*, 2019). Outro ponto é que a idade ao abate do animal influencia em aspectos importantes da carcaça, apreciados por um nicho específico de mercado (Guerrero *et al*, 2013).

Em contraponto a este comércio, há um mercado mais específico, buscando por animais que tenham além do peso, aspectos que confirmam qualidade à carcaça, como as características de gordura e rendimento de cortes, que agregam valor à carne (FAO, 1991).

Aspectos de gordura, tanto subcutânea quanto intramuscular estão relacionadas a características sensoriais da carne. O sabor é estabelecido pela formação de compostos 300 voláteis, que são feitos a partir de lipídios e fosfolipídios (Frank *et al*, 2016). Junto deste fator, a suculência da carne também possui associação positiva com marmoreio, regida pela concentração de minerais na carne (Duan *et al*, 2015). Já o rendimento dos cortes se faz

importante pelo montante de carne disponibilizada no mercado, com menores perdas por conta de partes não comestíveis (Gudex *et al*, 2018).

Para alcançar essas características que atendam um mercado mais exigente em termos de qualidade, são tomados vários cuidados, e são levados em consideração vários aspectos que asseguram as características desejadas.

1.2.2 Fatores que influenciam em características de carcaça

Na busca de animais com carcaças de qualidade, é necessário considerar quatro aspectos na criação do rebanho: sexo, idade, sistema de produção e genética (Maxwell *et al*, 2014; Therkildsen *et al*, 2017). Estes elementos conduzem a produção de qualquer rebanho, independentemente da raça trabalhada.

A característica de sexo é influenciada pela presença da testosterona nos machos em relação as fêmeas e machos castrados (Gorraiz *et al*, 2002), e interfere no sabor da carne (Dashdorj *et al*, 2015). Isto ocorre por haverem receptores para este hormônio, aumentando a massa muscular, e assim, diminuindo a deposição de tecido adiposo (Reddy *et al*, 2014).

Outro fator considerado, a idade dos animais está diretamente relacionada com o tecido adiposo, tanto em marmoreio (MARM), quanto em espessura de gordura subcutânea (EGS), pois determina o quanto de gordura vai ser depositado. EGS evita o escurecimento superficial da carne, devido ao resfriamento (Passetti *et al*, 2019). Além disso, também age contra o encurtamento de fibras, que é dado pela tensão ao longo das fibras musculares, que diminuem seu tamanho (Faudree *et al*, 2014).

Por fim, a genética dos animais do rebanho é um fator que garante a manutenção de características importantes no rebanho, principalmente as de carcaça, como EGS, MARM e AOL. Isto é dado pelo fato desses aspectos possuírem herdabilidades medianas a altas (de 0,46 a 0,51) (Moraes *et al*, 2019), o que significa que há boa parte da variação fenotípica regida pela variância aditiva (Utrera & Van Vleck, 2004).

Considerando todos os pontos citados, para satisfazer as exigências do mercado por características mais exigentes, em termos de qualidade, são feitos uso de ferramentas que avaliem tais fatores da carcaça. Para isso, são aplicadas as técnicas de medições fenotípicas e genéticas na criação dos animais.

1.2.3 Ferramentas de avaliação genética no melhoramento animal

1.2.3.1 Ultrassonografia

Neste primeiro caso, o principal objetivo da técnica é obter as medidas *in vivo*, o que antes só era possível após o abate (Yokoo *et al*, 2015). As medidas de carcaça são tomadas da seguinte forma: MARM entre as 11^a e 13^a costelas, na linha média do animal, seguindo o músculo *longissimus dorsi*, a fim de coletar o percentual de gordura entremeada no músculo (ponto 1). A medida de AOL e EGS são tomadas entre a 12^a e 13^a costelas, capturando a imagem na transversal do músculo *longissimus dorsi*, medindo a circunferência do músculo e a camada de gordura abaixo da pele (ponto 2) (Tait Jr, 2016) (Figura 1).

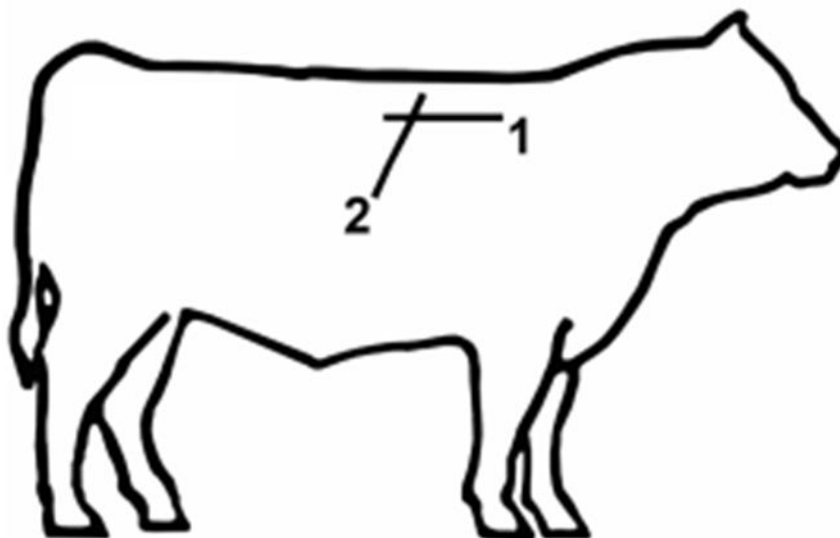


Figura 1. Demonstração da coleta de medidas de ultrassonografia de carcaça, sendo 1 marmoreio (MARM), 2 área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS). Adaptada de Sainz & Araújo, 2002.

1.2.3.2 Técnicas genéticas: SNPs, ssGBLup e GWAS

Marcadores moleculares do tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism, do inglês, polimorfismo de base única) são muito utilizados na busca de genes. Possuem frequência alélica moderada a alta, com valores de 0,67 e 0,33, o que os torna eficientes na identificação de polimorfismos em genes (Heaton *et al*, 2005). Estes marcadores consistem em pequenas variações genéticas, mutações pontuais conhecidas como InDell, que são a inserção ou deleção de um par de base, ou substituição de base, que é a troca de uma base por outra (purina por purina, pirimidina por pirimidina ou purina por pirimidina) (Figura 2) (Brookes, 1999).

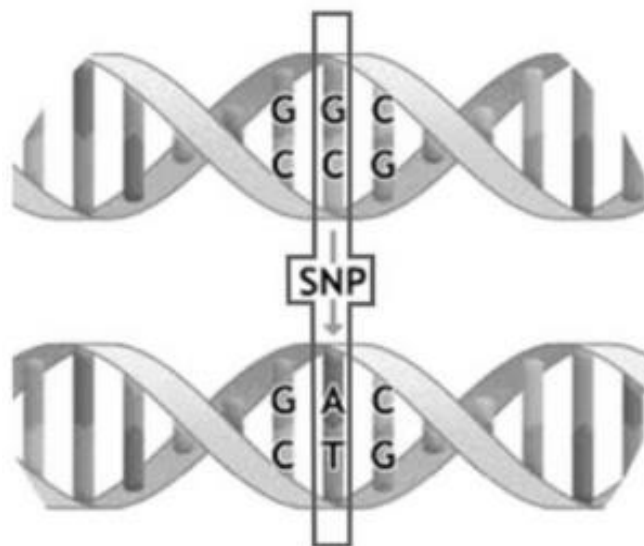


Figura 2. Representação de um SNP (Polimorfismo de nucleotídeo único), demonstrando a substituição de um par de nucleotídeos na cadeia do DNA. Adaptado de Society for Mucosal Immunology (2014).

Para o uso de SNPs, pequenas regiões do genoma são suficientes para possam identificar genes, pois trabalham com alterações pontuais (Butler *et al*, 2007). Outra vantagem dos SNPs é a possibilidade de automação de alta performance em análises utilizando estes marcadores (Schlötterer *et al*, 2004). Isto também acarreta em menores custos, visto que vários marcadores podem ser incluídos nas análises de uma mesma amostra (Lindroos *et al*, 2002). Isto torna os estudos na área animal mais exploratórios, principalmente na genética de carcaça, pois pode realizar a identificação de genes relacionados a essas características de interesse (Mehrban *et al*, 2017; Ogawa *et al*, 2016).

Outra ferramenta bastante utilizada em estudos genéticos é o GBlup em etapa única (ssGBlup - do inglês single step GBlup), que permite avaliações genéticas com informações de *pedigree*, genéticas e fenotípicas de uma única vez (Misztal *et al*, 2009). Apesar dessa qualidade da técnica, sua eficiência é limitada pelo tamanho da população genotipada, o que traz resultados mais confiáveis (Lourenço *et al*, 2017, Abo-Ismael, *et al*, 2017).

O uso de marcadores SNPs junto da avaliação genética realizada em ssGBlup resulta em uma análise chamada GWAS (Genome Wide Association Study, do inglês, estudo de associação genômica ampla). Esta técnica fornece a identificação de marcadores significativos (Yin & König, 2019). Para isto, é dada de forma visual um Manhattan plot, que é um gráfico de dispersão, no qual cada ponto no plano corresponde a um marcador, cada qual com sua significância (Figura 3) (Ehret G. B., 2010). Com isso, as avaliações genéticas, utilizando dados fenotípicos e genéticos, se fazem importantes na detecção de genes com potencial de produção (Espigolan *et al*, 2015).

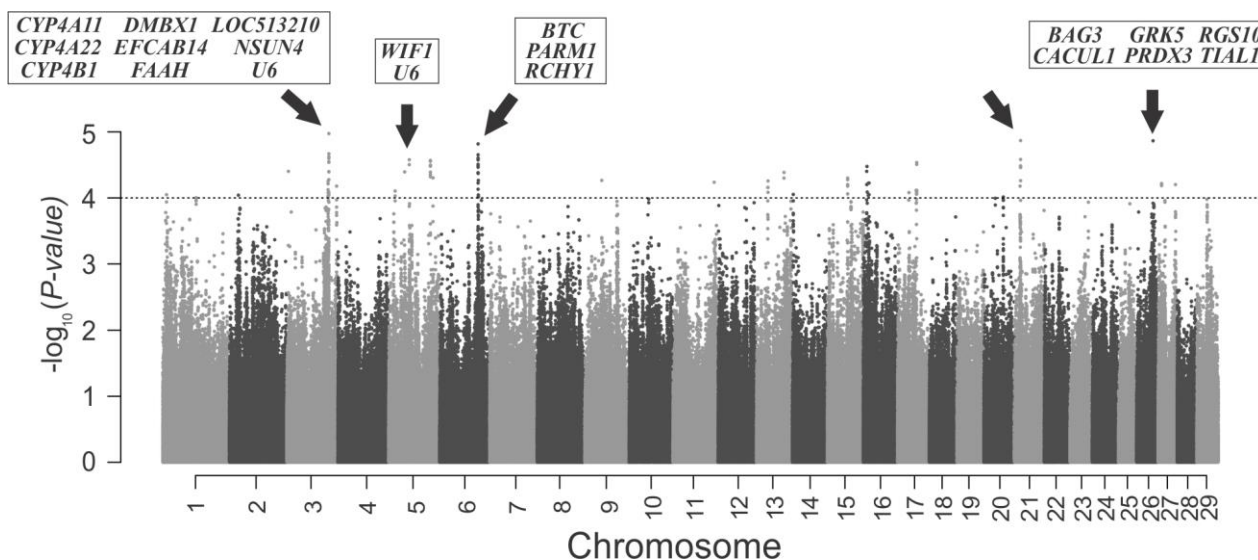


Figura 3. Demonstração de Manhattan plot proveniente de uma análise de GWAS, indicando os genes significativos para idade ao primeiro parto (IPP). Fonte: Nascimento *et al*, 2018.

1.2.3.3 Análise funcional

Após a determinação de genes, é preciso saber suas funções. Para isso, são realizadas estatísticas baseadas na identidade dos genes, por meio da plataforma Gene Ontology. Esta plataforma contém a classificação e

organização de interações biológicas, resultando nos caminhos e termos a que os genes pertencem, entre processo biológico, funções moleculares e componentes celulares (Mlecnik *et al*, 2017). Estes dados são organizados de forma hierárquica, do termo geral para o mais simples (Figura 4) (Bindea & Mlecnik, 2019).

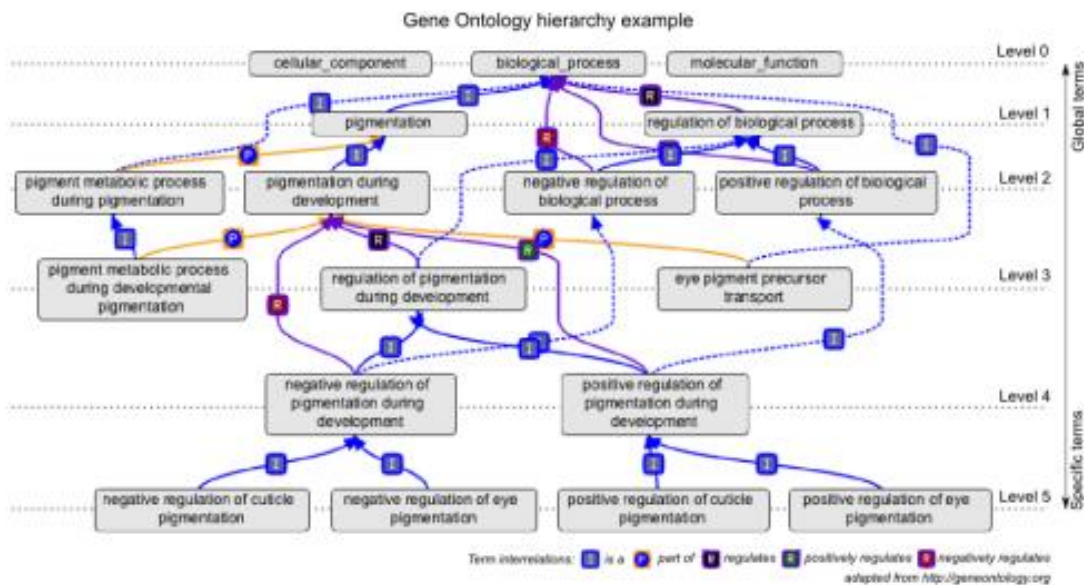


Figura 4. Representação da organização hierárquica de um termo mais amplo para um mais simples, podendo ser processo biológico, funções moleculares ou componentes celulares. Fonte: Bindea & Mlecnik, 2019.

1.3 Objetivos gerais

Prospectar por meio do método de ssGBLup, genes associados a características de carcaça importantes para o mercado, tais como peso, área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e marmoreio, obtidas a partir de medidas de ultrassonografia e com exploração genética por meio de SNPs.

1.4 Objetivos específicos

Identificar genes significativos para AOL, EGS, peso e MARM; conhecer as funções dos genes encontrados; buscar relação entre as funções dos genes entre AOL e peso e EGS e MARM.

1.5 Referências bibliográficas

Abo-Ismael M. K., Brito L. F., Miller S. P., Sargolzaei M., Grossi D. A., Moore S. S., Plastow G., Stothard P., Nayeri S. & Schenkel F. S. (2017) Genome-wide association studies and genomic prediction of breeding values for calving performance and body conformation traits in Holstein cattle. *Genetics Selection Evolution* 49.

Aguilar I., Legarra A., Cardoso F., Masuda Y., Lourenco D. & Misztal I. (2019) Frequentist p-values for large-scale-single step genome-wide association, with an application to birth weight in American Angus cattle. *Genetics Selection Evolution* 51.

Ashraf M. U. & Mustafa M. I. (2018) Factors effecting growth, properties and quality of beef meat. *Pacific International Journal* 1, 1-9.

Bindea G. & Mlecnik B. (2019) ClueGO Documentation. Disponível em <<http://www.ici.upmc.fr/cluego/ClueGODocumentation2019.pdf>>. Acessado em: 20/03/2020.

Bindea G., Mlecnik B., Hackl H., Charoentong P., Tosolini M., Kirilovsky A., Fridman W. H., Pages F., Trajanoski Z. & Galon J. (2009) ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology annotation networks. *Bioinformatics* 25, 1091-1093.

Butler J. M., Coble M. D. & Vallone P. M. (2007) STRs vs. SNPs: thoughts on the future of forensic DNA testing. *Forensic Science, Medicine, and Pathology* 3, 200-205.

Coyne J.M., Evans R.D. & Berry D.P. (2019) Dressing percentage and the differential between live weight and carcass weight in cattle is influenced by both genetic and non-genetic factors. *Journal of Animal Science* 97, 1501-1512.

Dashdorj D., Amna T. & Hwang I. (2015) Influence of specific taste-active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: an overview. *European Food Research and Technology* 241, 157-171.

Duan Q., Tait Jr. R. G., Schneider M. J., Beitz D. C., Wheeler T. L., Shackelford S. D., Cundiff L. V. & Reecy J. M. (2015) Sire breed effect on beef longissimus mineral concentrations and their relationships with carcass and palatability traits. *Meat Science* 106, 25-30.

Ehret G. B. (2010) Genome-Wide Association Studies: Contribution of Genomics to Understanding Blood Pressure and Essential Hypertension. *National Institutes of Health* 12, 17-25.

Espigolan R., Baldi F., Boligon A. A., Souza F. R. P., Fernandes Júnior G. A., Gordo D. G. M., Venturini G. C., Camargo G. M. F., Feitosa F. L. B., Garcia D.

A., Tonhati H., Chardulo L. A. L., Oliveira H. N. & Albuquerque L. G. (2015) Associations between single nucleotide polymorphisms and carcass traits in Nellore cattle using high-density panels. *Genetics and Molecular Research* 14, 11133-11144.

FAO (1991) Variations in the sensoric quality of meat (In. Guidelines for slaughtering, meat cutting and further processing, ed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Via delle Terme di Caracalla, 00 100 Rome, Italy).

FAO. (2019). Meat market review, March 2019. Rome.

Faudree M. C., Nishi Y. & Gruskiewicz M. (2014) A Novel “fiber-spacing” model of tensile modulus enhancement by shortening fibers to sub-millimeter in an injection-molded glass fiber reinforced polymer bulk molding compound (GFRP-BMC). *Materials. Transactions* 55, 1292-1298.

Figueiredo D. M., Mercadante M. E. Z., Pires A. V., Branco R. H., Ribeiro E. G., Dallago G. M., Schorer M. & Rocha P. R. (2018) The phenotypic relationship between residual intake and gain and other feed efficiency traits in Nellore cattle. *Tropical Animal Health and Production* 51, 449-456.

Fonseca L. F. S., Gimenez D. F. J., Silva D. B. S., Barthelson R., Baldi F., Ferro J. A. & Albuquerque L. G. (2017) Differences in global gene expression in muscle tissue of Nellore cattle with divergent meat tenderness. *BMC Genomics* 18, 1-12.

Frank D., Joo S-T. & Warner R. (2016) Consumer Acceptability of Intramuscular Fat. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 36, 699-708.

Gorraiz C., Beriain M. J., Chasco J. & Insausti K. (2002) Effect of Aging Time on Volatile Compounds, Odor, and Flavor of Cooked Beef from Pirenaica and Friesian Bulls and Heifers. *Food Chemistry and Toxicology* 67, 916-922.

Gudex B. W., McPhee M. J., Oddy V. H. & Walmsley B. J. (2018) Prediction of ossification from live and carcass traits in young beef cattle: Model development and evaluation. *Journal of Animal Science* 97, 144-155.

Guerrero A., Valero M. V., Campo M. M. & Sañudo C. (2013) Same factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. *Acta Scientiarum* 35, 335-347.

Hayes B. J., Bowman P. J., Chamberlain A. C., Verbyla K. & Goddard M. E. (2009) Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. *Genetics Selection Evolution* 41.

Heaton M. P., Keen J. E., Clawson M. L., Harhay G. P., Bauer N., Shultz C., Green B. T., Durso L., Chitko-McKown C. G., Laegreid W. W. (2005) Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef

processing. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226, 1311-1314.

Jahuey-Martínez F. J., Parra-Bracamonte G. M., Sifuentes-Rincón A. M., Martínez-González J. C., Gondro C., García-Pérez C. A. & López-Bustamante L. A. (2016) Genomewide association analysis of growth traits in Charolais beef cattle. *Journal of Animal Science* 94, 4570–4582.

Lindroos K., Liljedahl U. & Syvänen A-C. (n.d) Genotyping SNPs by Minisequencing Primer Extension Using Oligonucleotide Microarrays. In: *Methods in Molecular Biology* (ed por Kwok P-Y.), pp 149-165. Humana Press Inc., Totowa.

Lourenco D. A. L., Fragomeni B. O., Bradford H. L., Menezes I. R., Ferraz J. B. S., Aguilar I., Tsuruta S. & Misztal I. (2017) Implications of SNP weighting on single-step genomic predictions for different reference population sizes. *Journal of Animal Breeding and genetics* 134, 463–471.

Maxwell C. L., Krehbiel C. R., Wilson B. K., Johnson B. T., Bernhard B. C., O'Neill C. F., VanOverbeke D. L., Mafi G. G., Step D. L. & Richards C. J. (2014) Effects of beef production system on animal performance and carcass characteristics. *Journal of Animal Science* 92, 5727-5738.

Mehrban H., Lee D. H., Moradi M. H., IlCho C., Naserkheil M. & -Escriche N. I. (2017) Predictive performance of genomic selection methods for carcass traits in Hanwoo beef cattle: impacts of the genetic architecture. *Genetics Selection Evolution* 49.

Misztal I., Legarra A. & Aguilar I. (2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. *Journal of Dairy Science* 92, 4648–4655.

Mlecnik B., Galon J. & Gabriela Bindea (2017) Comprehensive functional analysis of large lists of genes and proteins. *Journal of Proteomics*.

Moraes G. F., Abreu L. R. A., Toral F. L. B., Ferreira I. C., Ventura H. T., Bergmann J. A. G. & Pereira I. G. (2019) Selection for feed efficiency does not change the selection for growth and carcass traits in Nelore cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*.

Nascimento A. V., Romero A. R. S., Utsunomiya Y. T., Utsunomiya A. T. H., Cardoso D. F., Neves H. H. R., Carvalheiro R., Garcia J. F. & Grisolia A. B. (2018) Genome-wide association study using haplotype alleles for the evaluation of reproductive traits in Nelore cattle. *PloS One* 13.

Ogawa S., Matsuda H., Taniguchi Y., Watanabe T., Kitamura Y., Tabuchi I., Sugimoto Y. & Iwaisaki H. (2016) Genomic prediction for carcass traits in Japanese Black cattle using single nucleotide polymorphism markers of different densities. *Animal Production Science* 57.

Oliveira G. M., Caleman, S. M. Q., Cunha, C. F. & Puperi, M. (2017) Value appropriation in Brazilian cattle industry. *British Food Journal*, 119, 2089–2101.

Passeti R. A. C., Prado I. N., Macedo F. A. F., Teixeira A. J. C., Cardoso C. A. L., Santos G. R. A. & Santos C. A. (2019) Physicochemical characteristics of dry aged beef from younger Nellore bulls slaughtered at different body weights. *Tropical Animal Health and Production*.

Reddy B. V., Sivakumar A. S., Jeong D. W., Woo Y-B., Park S-J., Lee S-Y., Byun J-Y., KIM C-H., Cho S-H. & HWANG I. (2014) Beef quality traits of heifer in comparison with steer, bull and cow at various feeding environments. *Animal Science Journal* 86, 1-16.

Rezende P. L. P., Restle J., Bilego U. O., Fernandes J. J. R., Missio R. L. & Guimarães T. P. (2019) Carcass characteristics of feedlot-finished Nellore heifers slaughtered at different weights. 41, e44826.

Ritchie H. & Roser M. (2020) Meat and Dairy Production. *Our World in Data*.

Sainz R. D., & Araújo F. R. C., Uso de tecnologias de ultra-som no melhoramento do produto final carne. In: V Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas, Uberaba, MG. 2002.

Schlötterer C. (2004) The evolution of molecular markers — just a matter of fashion?. *Nature Reviews Genetics* 5, 63-69.

Silva-Vignato B., Coutinho L. L., Cesar A. S. M., Poleti M. D., Regitano L. C. A. & Balieiro J. C. C. (2017) Comparative muscle transcriptome associated with carcass traits of Nellore cattle. *BMC Genomics* 18.

Silveira D. D., Vargas L., Pereira R. J., Lôbo R. B. & Souza F. R. P., Boligon A. A. (2018) Beef cattle growth deceleration parameters and its correlations with growth, carcass and morphological composition traits. *Livestock Science* 24, 167-174.

Society for Mucosal Immunology (2014) Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Allele Frequency DNA Pools. Disponível em: <<http://www.socmucimm.org/single-nucleotide-polymorphism-snp-allele-frequencyestimation-dna-pools-using-pyrosequencing/#prettyPhoto>>. Acesso em: 20/03/2020.

Tait Jr, R. G. (2016) Ultrasound use for body composition and carcass quality assessment in cattle and lambs. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice* 32, 207-218.

Therkildsen M., Spleth P., Lange E.-M. & Hedelund P. I. (2017) The flavor of high-quality beef – a review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science* 67, 85-95.

Utrera A. R. & Vleck L. D. V. (2004) Heritability estimates for carcass traits of cattle: a review. *Genetics and Molecular Research* 3, 380-394.

Wei D., Rafael A. P., Machava A. Z.; Cipriano A. C. M. & Almeida D. F. (2019) Food exports from Brazil to China a legal and economic analysis. pp. 102. *SpringerBriefs in Law Cham, Suíça*.

Yin T. & König S. (2019) Genome-wide associations and detection of potential candidate genes for direct genetic and maternal genetic effects influencing dairy cattle body weight at different ages. *Genetics, Selection, Evolution* 51.

Yokoo M. J., Lôbo R. B., Magnabosco C. U., Rosa G.J.M., Forni S., Sainz R.D. & Albuquerque L.G. (2015) Genetic correlation of traits measured by ultrasound at yearling and 18 months of age in Nellore beef cattle. *Livestock Science* 180, 34-40.

CAPÍTULO 2

Prospecção de regiões genômicas associados a características de carcaça na raça Nelore, usando single step GBLUP

Artigo elaborado a ser submetido

Animal Genetics

ISSN: 1365-2052

Fator de impacto: 2.244

Prospecção de regiões genômicas associados a características de carcaça na raça Nelore, usando single step GBLUP

2.1 Resumo

O Brasil é um dos maiores fornecedores de carne no mundo, baseado no peso, com pequena parcela no mercado *gourmet*, voltado a aspectos sensoriais e de rendimento. Para este comércio, sabor, suculência e cor são importantes. Para isto, são realizados estudos genéticos, por meio de marcadores SNP, em associação à técnica de ssGBLup. O propósito deste estudo foi buscar genes que sejam significativos e possam ser considerados alvos, podendo influenciar em características de carcaça. Foram coletadas imagens de ultrassonografia com aparelho ALOKA 500, para características de área de olho de lombo (AOL), marmoreio (MARM) e espessura de gordura subcutânea (EGS), além de peso, aferido por balança. Foi estabelecida associação dos SNP com características estudadas, por GWAS, e posterior identificação dos genes e suas funções em ClueGO. O GWAS revelou que as características de peso, EGS e MARM possuem os efeitos aditivo e aditivo materno, com marcadores SNP alocados nas mesmas posições. Nem todos os cromossomos retornaram marcadores com genes associados, porém, houveram genes comuns a diferentes características. Dos genes encontrados, 19 foram significativamente relacionados às características de carcaça, e os genes *IRAK3* e *FRS2* foram encontrados em características antagônicas (peso e EGS). Foram identificados como principais genes candidatos, *FRS2*, *DIS3L2*, *PIK3CB*, *EBF2*, *AADAT*, *PTGER3*, *CAST*, *HMGCLL1* e *ELOVL7*, *AT2B1*. Os genes *IRAK3* e *FRS2* tentam explicar a ação de um gene em características opostas. É possível sugerir a elaboração de um painel de SNPs específico para marmoreio, diminuindo custos na seleção de animais para esta característica.

Palavras-chave: *Bos indicus*, genes candidatos, análise funcional, seleção, SNPs, ultrassonografia

Prospecting of genomic regions associated with carcass characteristics in the Nelore breed, using single step GBLUP

2.2 Abstract

Brazil is one of the largest meat suppliers in the world, based on weight, with a small share in the gourmet market, focused on sensory and yield aspects. For this trade, flavor, juiciness and color are important. For this, genetic studies are performed, using SNP markers, in association with the ssGBLup technique. The purpose of this study was to look for genes that are significant and can be considered targets, which can influence carcass characteristics. Ultrasound images were collected with an ALOKA 500 device, for characteristics of the rib eye area (AOL), marbling (MARM) and subcutaneous fat thickness (EGS), in addition to weight, measured by scale. An association of SNPs with characteristics studied was established by GWAS, and subsequent identification of genes and their functions in ClueGO. The GWAS revealed that the weight, EGS and MARM characteristics have the additive and maternal additive effects, with SNP markers allocated in the same positions. Not all chromosomes returned markers with associated genes, however, there were genes common to different characteristics. Of the genes found, 19 were significantly related to carcass characteristics, and the IRAK3 and FRS2 genes were found in antagonistic characteristics (weight and EGS). The main candidate genes were identified, FRS2, DIS3L2, PIK3CB, EBF2, AADAT, PTGER3, CAST, HMGCLL1 and ELOVL7, AT2B1. The IRAK3 and FRS2 genes try to explain the action of a gene on opposite characteristics. It is possible to suggest the development of a panel of SNPs specific for marbling, reducing costs in the selection of animals for these characteristics.

Keywords: *Bos indicus*, candidate genes, functional analysis, selection SNPs, ultrasound

2.3 Introdução

O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo (FAO, 2019). Dentre estes animais, a principal raça criada é a Nelore (Rodrigues *et al*, 2017). Por ser uma criação com poucas exigências, a criação dos animais e comercialização da carne pelo país é baseada no peso dos animais (Oliveira *et al*, 2017). Deste modo, 9,9 milhões de toneladas são entregues aos mercados por ano (Ritchie & Rose, 2020). Este tipo de comercialização rende o abastecimento nacional em 80% e são fornecidos 20% para o exterior (Wei *et al*, 2019).

Da criação voltada ao comércio interno, uma pequena parte está voltada para a entrega de cortes especiais, o mercado *gourmet*. Esta comercialização é estabelecida por frigoríficos, que fornecem carne com melhor teor de gordura e rendimento de cortes, em relação àqueles animais apenas pesados (FAO, 1991). Isto ocorre, pois, os criadores são incentivados a produzirem rebanhos com espessura de gordura subcutânea (EGS), marmoreio (MARM) e área de olho de lombo (AOL) como critérios de pagamento (Dias *et al*, 2016; Enriquez-Valencia *et al*, 2017).

Para se conduzir a criação de animais que atendam às expectativas exigidas pelo frigorífico, é necessário empregar técnicas que são utilizadas no melhoramento animal. Uma destas técnicas é a ultrassonografia de carcaça. Esta ferramenta permite a mensuração de AOL, EGS e MARM no animal vivo e ainda jovem, tornando possível a seleção daqueles com fenótipos superiores e fornece dados para a análise genética destas características (Tait Jr, 2016).

Em estudos genéticos de características de produção, associado aos fenótipos, é feito o uso de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*, do inglês, alteração de base única), que atuam ao longo de todo o genoma dos animais (Brookes, 1999). Estes marcadores detectam pequenas variações genéticas, e estes polimorfismos são importantes pois podem identificar genes associados a um fenótipo de interesse (Mehrban *et al*, 2017).

O processamento de informações genéticas e fenotípicas, são avaliadas pelas estatísticas por meio do ssGBLup (single step GBLup, do inglês, GBLup em etapa única), que considera dados fenotípicos, coletados pela ultrassonografia,

os dados genéticos vindos da genotipagem com SNPs e dados de *pedigree*, fornecidos pela fazenda, gerando DEP's e herdabilidades (Misztal *et al*, 2009; Laodim *et al*, 2019). O ssGBLup ainda pode gerar um GWAS (Genome Wide Association Study, do inglês, estudo de associação ampla de genoma), que indica os SNPs mais significativos (Xia *et al*, 2016), e a partir deles conhecemos os genes associados a estes marcadores.

Após estabelecer a relação entre SNPs e genes, é possível saber a funcionalidade destes genes, ou seja, qual função cada gene exerce no organismo, de acordo com seus termos na plataforma Gene Ontology (Mateescu *et al*, 2017). Com isso, este estudo propõe a identificação de genes relacionados à carcaça e carne em bovinos de corte por meio de GWAS, bem como conhecer suas funções, utilizando assim de análise funcional.

2.4 Material e métodos

2.4.1 Animais e coleta de dados fenotípicos

Os dados fenotípicos, genéticos e biológicos foram provenientes de 600 animais, sendo eles, 15 touros, 85 vacas e 500 bezerros machos e fêmeas, da fazenda Nelore Birigui, localizada em Bela Vista, Mato Grosso do Sul, entre os anos de 2016 e 2018, de um total de 1739 animais participantes da matriz de relação. A pastagem utilizada foi *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã, com média de matéria seca (MS) disponível de 3.500Kg/MS/ha, 69% de FDN, 53% de digestibilidade de matéria seca *in vitro* (DMSIV) e 11% de proteína bruta (PB).

Os dados fenotípicos foram provenientes de imagens de ultrassonografia, coletadas e analisadas por técnicos credenciados a Associação de Técnicos de Ultrassom do Brasil – ATUBA, utilizando o aparelho ALOKA SSD550 e transdutor ALOKA UST-5044 3.5mhz. Foi utilizado óleo vegetal para melhor aderência do transdutor com a pele dos animais, a fim de reduzir possíveis interferências nas imagens.

No músculo *longissimus dorsi* (contrafilé), entre a 12^a e 13^a costelas, foram mensuradas as medidas de área de olho de lombo (AOL), em cm², e espessura de gordura subcutânea (EGS), em mm. A medida de marmoreio ou gordura intramuscular (MARM), em escore, foi obtida observando a porcentagem

de gordura, a partir da imagem do transdutor acoplado longitudinalmente entre a 11^a e 13^a costelas. Também foram coletadas informações de pesos ajustados ao desmame (205 dias) e sobreano (550 dias) dos animais, considerando a recomendação da Beef Improvement Federation (BIF) (Beef Improvement Federation, 2002). Estas medidas foram coletadas nos animais ao desmame, com intuito de estabelecer ação dos efeitos aditivo e aditivo materno e ao sobreano, para obtenção do efeito aditivo.

Tabela 1. Estatística descritiva das características de peso, AOL, EGS e MARM ao desmame e sobreano (205 e 550 dias) em N=702 animais.

Características	Média	Desvio padrão	Mediana	Erro padrão
Peso 205 (Kg)	191,22	25,71	192,66	26,49
Peso 550 (Kg)	406,75	53,51	410,92	16,55
Aol 205 (cm ²)	41,28	4,40	41,19	26,49
Aol 550 (cm ²)	68,92	6,64	68,56	16,55
Egs 205 (mm)	2,76	0,85	2,57	26,49
Egs 550 (mm)	4,31	1,81	3,98	16,55
Marm 205	2,84	0,51	2,88	26,49
Marm 550	2,88	0,58	2,90	16,55

AOL: área de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; MARM: marmoreio.

2.4.2 Dados genômicos

Entre esses animais foram coletadas informações genéticas, por meio de amostras de pelo, por remoção manual de bulbos da vassoura caudal, para se obter material genético. A extração de DNA foi realizada por meio do kit de extração LGC e genotipagem com uso do painel de SNPs GGP *indicus*, feito pela Illumina®, que contém um total de 35090 SNPs, específicos para análises genéticas em animais zebuínos (painel de 35K).

2.4.3 Controle de qualidade

Com o auxílio do software PLINK (Purcell *et al*, 2007), os dados foram submetidos ao controle de qualidade os animais, dos quais foram removidos

aqueles correspondentes aos cromossomos sexuais e mitocondriais, deixando apenas os cromossomos autossômicos. Para o controle de qualidade, foram estabelecidos limites na determinação dos SNPs, tais como: call rate de 90%, frequência de alelos menores (MAF, do inglês, Minor Alleles Frequency) <0,05 e equilíbrio de Hard-Weinberg ($p < 0,000001$) (Li *et al*, 2019, Li *et al*, 2014) e desequilíbrio de ligação de 0,2, sendo removidos os SNPs que não atenderam a estes requisitos.

2.4.4 Modelo estatístico

Para análise dos dados, a programação utilizada foi avaliada por meio dos softwares da família Blupf90, onde foram envolvidos três integrantes desta família: renulf90, que trabalha com a renumeração, que dá suporte à modelos complexos; remlf90, estima o componente de variância e postGSf90, que realiza análises pós genômicas, estimação de SNPs e o desenho do estudo de associação genômica (GWAS) (Misztal *et al*, 2017). Na obtenção de resultados dos animais ao desmame, referentes aos efeitos aditivo e aditivo materno, foi utilizado o modelo animal, utilizando o seguinte modelo:

$$y = Xb + Z_1a + Z_2m + Z_3p + e,$$

em que, y é o vetor correspondente às observações, b é relacionado aos efeitos fixos, equivalentes a raça da receptora, sexo do bezerro, mês de nascimento e idade da vaca; a representa o efeito genético aditivo; m é o vetor dos efeitos maternos; p representa o efeito de ambiente permanente das receptoras; e é o efeito de resíduo e X , Z_1 , Z_2 e Z_3 correspondem as matrizes relacionando os efeitos (Schaeffer & Kennedy, 1989).

Para obter resultados ao sobreano, relativo ao efeito aditivo, foi utilizado o seguinte modelo:

$$y = 1u + Z_a a + e,$$

em que, y é o vetor dos fenótipos, 1 é o vetor comum, u representa a média geral dos fenótipos, Z_a é uma matriz de incidência que relaciona os indivíduos aos fenótipos, a é o vetor dos efeitos dos animais e e é o resíduo (Wang *et al*, 2012).

O procedimento realizado consiste no uso de arquivos de parâmetros, contendo as informações necessárias para a análise, e cada executável da família BLUPF90 possui seu arquivo de entrada. O procedimento foi realizado uma segunda vez, alterando a janela de variância para obter os 10 SNPs mais significantes para cada característica (Misztal *et al*, 2015). Logo após, no programa R (R Core Team, 2008) foram selecionadas as colunas de efeitos materno, de ambiente permanente e de efeito genético aditivo para identificar as posições iniciais e finais destas janelas.

A análise de associação foi realizada pelo GWAS, ao qual relaciona todos os SNPs remanescentes do controle de qualidade. Para isso, a inversa da matriz de relação de *pedigree* deve ser considerada (A^{-1}), como na seguinte equação (Aguilar *et al*, 2010):

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix}$$

em que H^{-1} é a matriz de relação genômica modificada, A_{22}^{-1} representa a inversa do numerador da matriz de relação dos animais genotipados e G^{-1} é a inversa da matriz de relação genômica (Van Raden *et al*, 2008).

2.4.5 Análise funcional

Os SNPs da janela selecionada na análise de GWAS foram buscados nas bases para o genoma representativo de *Bos indicus* (assembly Bos_indicus_1.0), encontrada na plataforma do NCBI (NCBI, 2019), para saber a que gene estavam relacionados. Para isso, foram procurados, gene a gene, manualmente, utilizando a ferramenta de busca, em cada cromossomo em que os marcadores se referiam, no genoma de *Bos indicus*, inserindo a posição inicial da identificação do gene (Gene ID) (Materiais suplementares 1–9), retornando assim o gene presente naquela posição.

Após a busca, os genes de cada característica foram listados e submetidos ao software ClueGO, plug-in da plataforma Cytoscape (Bindea *et al*, 2009). Foi utilizada como referência a base de dados de *Bos taurus*, na qual foram buscadas ontologias, presentes na plataforma na rede Gene Ontology (GO), trazendo a funcionalidade de cada gene submetido, agrupados em termos

moleculares, celulares e processos biológicos. Para apresentar as funções dos genes, suas relações com as características estudadas, é aplicada significância de $p > 0,05$, corrigidos por Bonferroni, resultando nos genes com funções estatisticamente mais relevantes.

2.5 Resultados

O painel utilizado no estudo consistia de 35.090 SNPs. A partir do controle de qualidade realizado, restaram 30.169 SNPs efetivos para a condução da análise. Foram removidos também 252 animais, que não atendiam ao limite estabelecido pelos critérios de qualidade, restando assim 1487 animais.

Para a característica de peso ao desmame (205 dias), foram localizados 3 SNPs no cromossomo 1, 1 SNP nos cromossomos 3 6 e 16 e 4 SNPs no cromossomo 5. Os efeitos aditivo e aditivo materno retornaram as mesmas posições (Figura 1 a e 1 b). Dentre esses SNPs, apenas o relacionado ao cromossomo 3 não possui nenhum gene associado, havendo o total de 7 genes (Tabela suplementar 1). São explicados 5,6% da variabilidade genética pelos SNPs em ambos os efeitos.

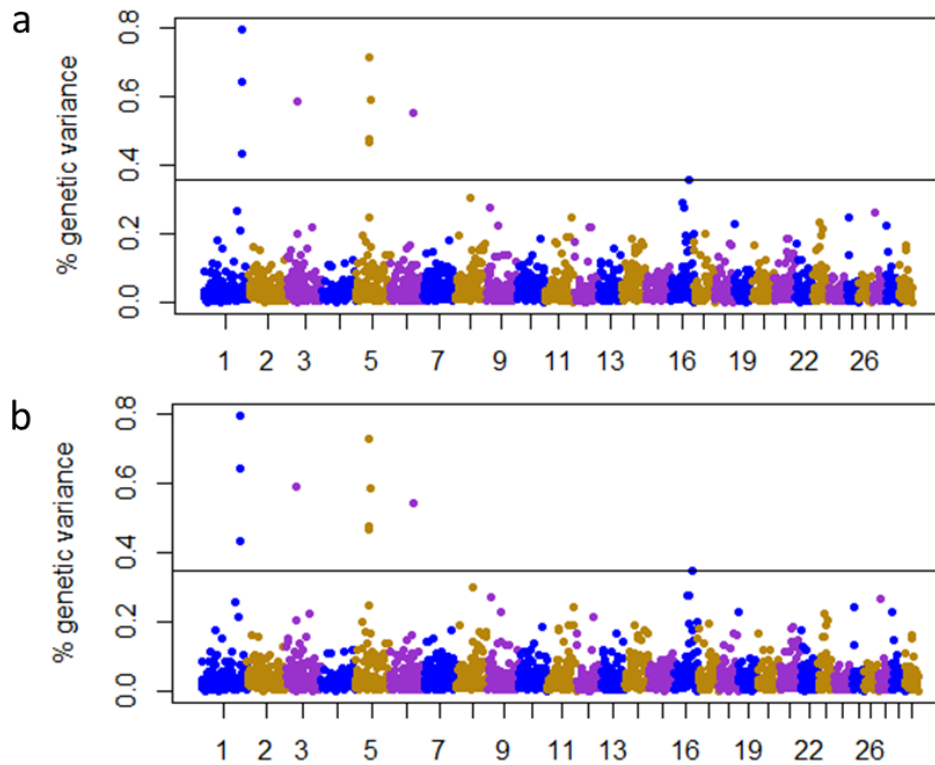


Figura 1. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de peso ao desmame (205 dias) nos efeitos (a) aditivo e (b) aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Em peso ao sobreano (550 dias), estavam presentes 3 SNPs no cromossomo 1, 1 SNP nos cromossomos 2, 20 e 21 e 2 SNPs nos cromossomos 5 e 10 (Figura 2). Destes SNPs, aquele relacionado ao cromossomo 20 não obteve resultados, havendo um total de 9 genes (Tabela suplementar 2). Nesta característica ao sobreano, são explicados 4,59% da variabilidade genética com os SNPs.

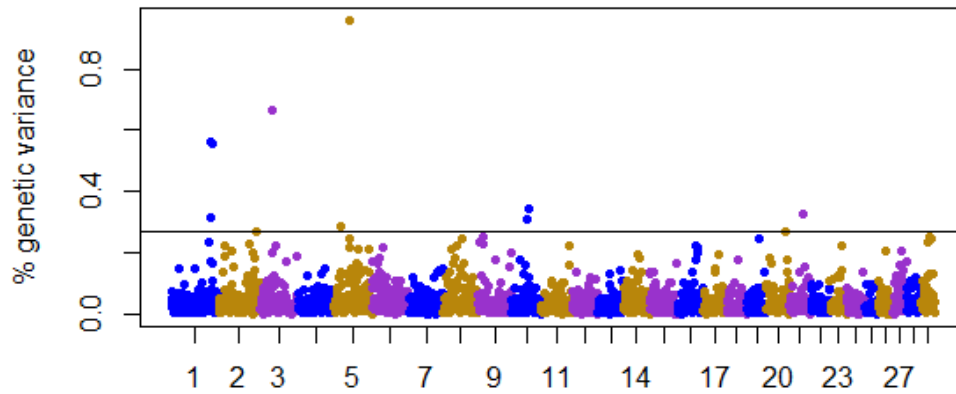


Figura 2. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de peso (550 dias), efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Na característica de AOL ao desmame, no efeito aditivo, foram apresentados 3 SNPs no cromossomo 3, 1 SNP nos cromossomos 5, 8, 9, 19 e 27 e 2 SNPs no cromossomo 13 (Figura 3 a). Os cromossomos 3, 9 e 19 não possuem genes associados, havendo 7 genes entre os marcadores remanescentes (Tabela suplementar 3). Para o efeito aditivo materno, foram encontrados 2 SNPs nos cromossomos 3 e 13 e 1 SNP nos cromossomos 5, 8, 9, 10, 19 e 27 (Figura 3 b). Destes marcadores, não houveram genes relacionados aos cromossomos 3, 9 e 19, obtendo o total de 7 genes (Tabela suplementar 4). São explicados 4% da variabilidade genética para os SNPs significativos para esta característica.

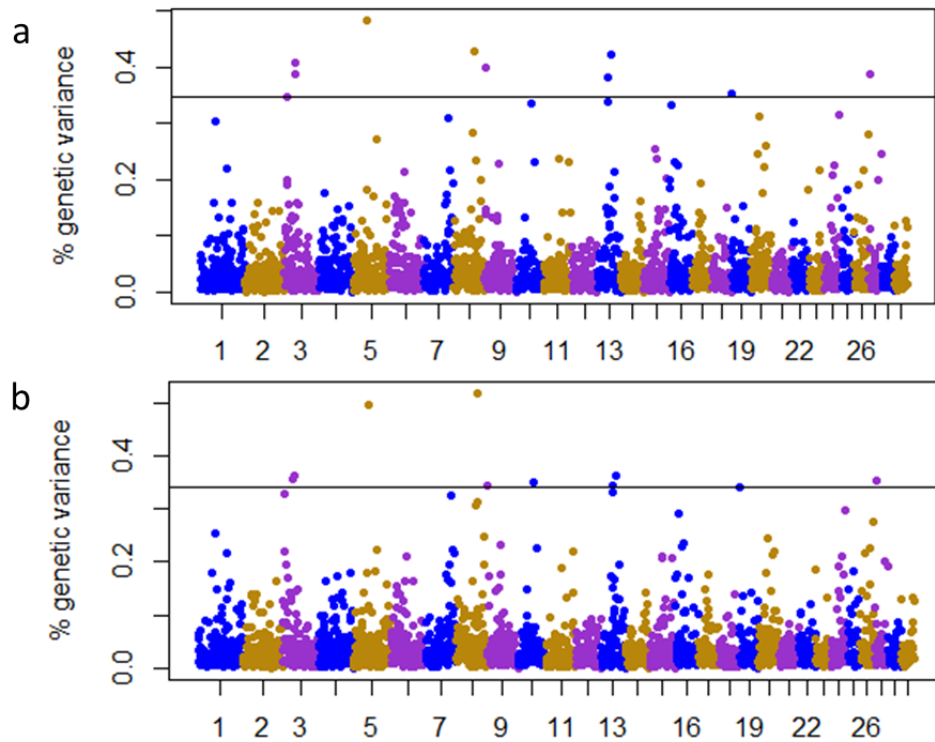


Figura 3. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de AOL (205 dias) nos efeitos (a) aditivo e (b) aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Para AOL ao sobreano, o efeito aditivo apresentou 2 SNPs localizados nos cromossomos 3 e 23 e 1 SNP nos cromossomos 5, 6, 7, 12, 20, e 26 (Figura 4). Os marcadores alocados nos cromossomos 20, 23 e 26 não obtiveram genes associados, havendo 8 genes dentre os outros SNPs (Tabela suplementar 5). Para esta característica ao sobreano, são explicados 3,6% da variabilidade genética com os SNPs significativos.

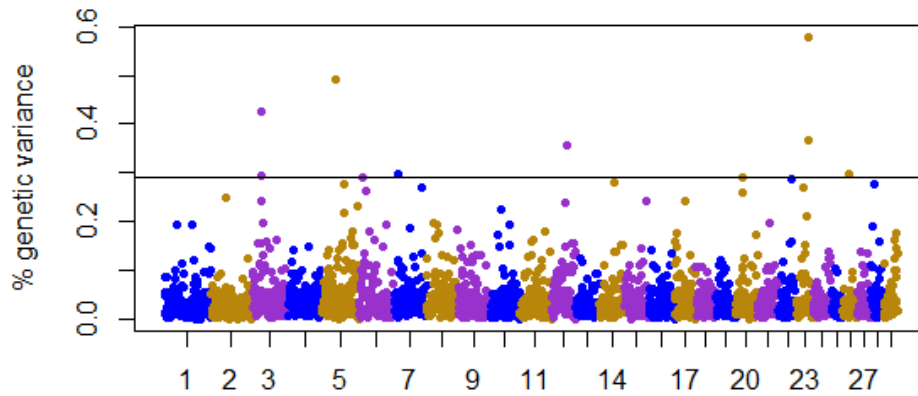


Figura 4. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de AOL (550 dias), efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Na característica de EGS ao desmame, foram localizados 1 SNP nos cromossomos 1, 3, 4, 6, 7, 11 e 27 e 3 SNPs no cromossomo 5, possuindo as mesmas localizações nos efeitos aditivo e aditivo materno (Figura 5). Todos os marcadores possuem genes relacionados, somando 14 genes (Tabela suplementar 6). Foram explicados 3,5% da variabilidade genética, de acordo com os SNPs significativos.

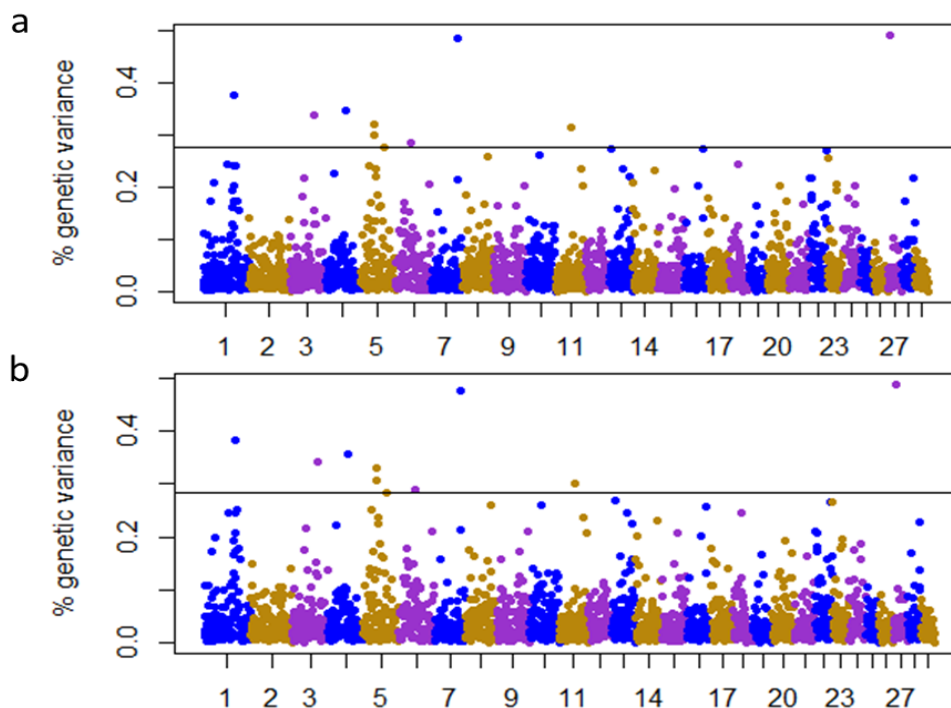


Figura 5. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de EGS (205 dias) nos efeitos (a) aditivo e (b) aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Para o efeito aditivo ao sobreano, foram localizados 1 SNP nos cromossomos 1, 6, 11, 21, e 22 e 5 SNPs no cromossomo 5 (Figura 6). Estes marcadores corresponderam a 16 genes (Tabela suplementar 7). Para esta característica, são explicados 4,9% da variabilidade genética, de acordo com os SNPs significativos.

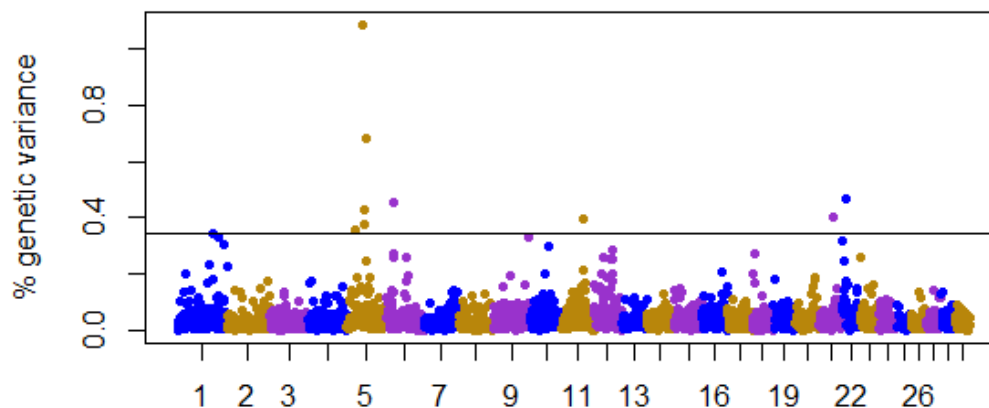


Figura 6. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de EGS (550 dias), efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Para MARM ao desmame, foi alocado 1 SNP nos cromossomos 7, 17, 20, 22, 23 e 27 e 4 SNPs no cromossomo 11, sendo que os efeitos aditivo e aditivo materno possuem os marcadores nas mesmas localizações dos cromossomos (Figura 7), somando 13 genes (Tabela suplementar 8). São explicados 3,5% da variabilidade genética com estes SNPs significativos.

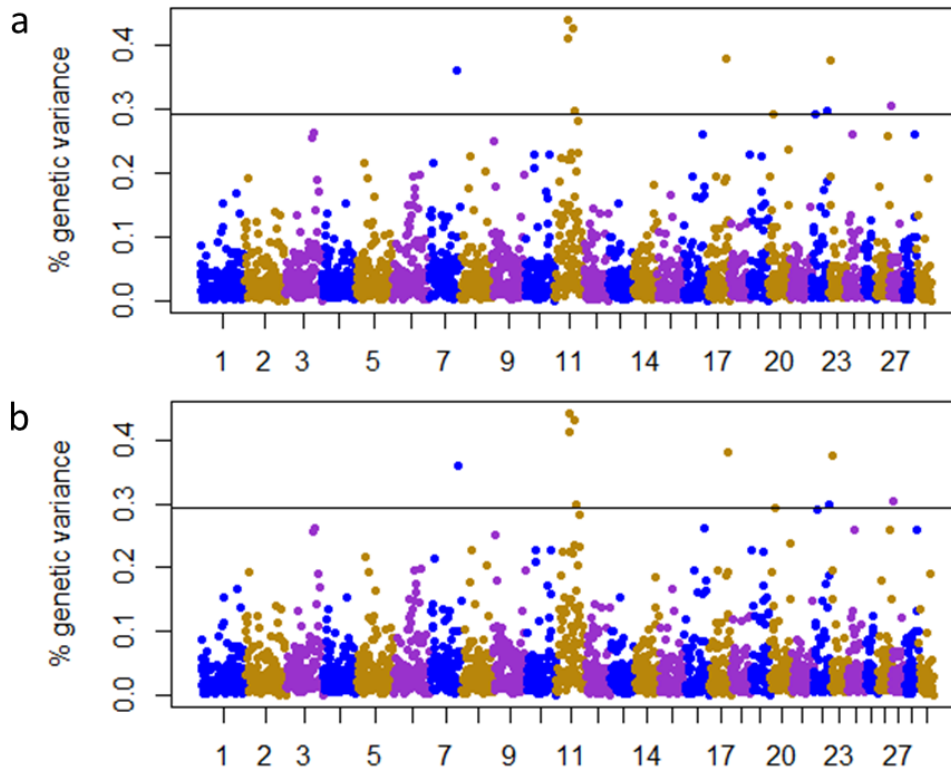


Figura 7. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de MARM (205 dias) nos efeitos (a) aditivo e (b) aditivo materno, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Em MARM no efeito aditivo ao sobreano, foi encontrado 1 SNP nos cromossomos 5, 7, 12, 16, e 23, e 5 SNPs no cromossomo 11 (Figura 8). Dentre estes, não houveram genes associados aos marcadores presentes nos cromossomos 16 e 23, havendo 9 genes resultantes da análise (Tabela suplementar 9). Nesta característica, são explicados 4,6% da variabilidade genética, de acordo com seus SNPs significativos.

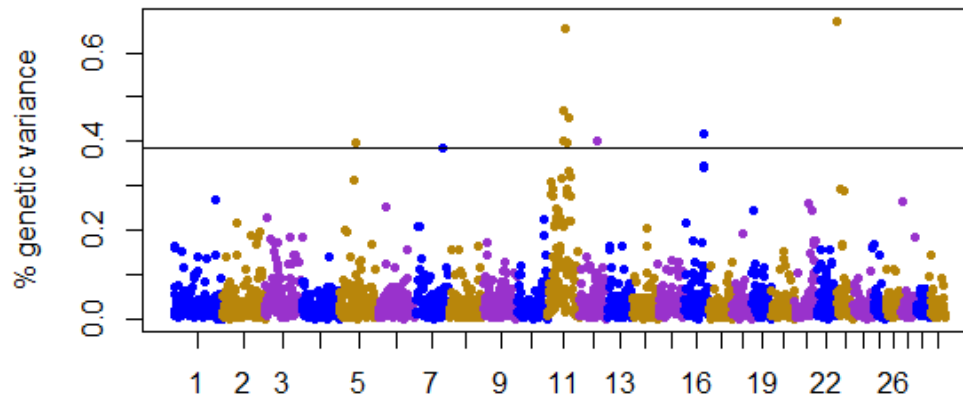


Figura 8. Manhattan plot da variância genética explicada para cada janela de SNP para a característica de MARM (550 dias), efeito aditivo, com threshold delimitando a porcentagem da variância mínima para as 10 janelas de maior expressão.

Foram apresentados um total de 84 genes significativos nas análises de GWAS, nas quais 12 deles (*PIK3CB*, *NUP107*, *IRAK3*, *PPM1H*, *MYRFL*, *FRS2*, *RHOBTB3*, *LRRTM1*, *SLC25A21*, *ATP2B1*, *OTOF*, *SLITRK1*) se mostraram comuns a pelo menos duas características distintas.

2.5.1 Funções dos genes

Após a determinação de genes relacionados aos marcadores selecionados por meio de GWAS, 19 genes foram significativamente relacionados a uma função, de acordo com a análise funcional realizada (Tabela 2). Os demais genes que não foram significativos, desempenham diversas funções e participam de diferentes características no organismo dos indivíduos, tais como sistema imune e câncer.

Tabela 2. Principais genes com função relacionada às características de carcaça

Características	Gene	Função
Peso 205	<i>IRAK3</i>	Indução de macrófagos
	<i>PIK3CB</i>	Regulação do processo apoptótico de neutrófilos
	<i>TPR</i> , <i>NUP107</i>	Organização dos poros nucleares
AOL 205	<i>EBF2</i>	Processamento da encefalina
	<i>PCSK2</i>	Cofator de ligação da RNA polimerase II
	<i>EBF2</i>	Determinação do destino celular
	<i>AADAT</i>	Atividade de 2-aminoadipato transaminase
EGS 205	<i>NUP107</i>	Ligação do RNA polimerase II ao núcleo celular
	<i>PTGER3</i>	Regulação negativa de secreção de ácido gástrico
	<i>FRS2</i>	Ligação ao receptor do fator de crescimento de fibroblastos
	<i>POLR1A</i>	Regulação negativa da localização de proteínas no nucléolo
MARM	<i>CAST</i>	Atividade inibidora da endopeptidase tipo cisteína dependente de cálcio
	<i>HMGCLL1</i>	Atividade de hidroximetilglutaril -liase- CoA
	<i>ELOVL7</i>	Atividade de alongamento da cadeia de ácidos graxos
	<i>RPH3A</i>	Exocitose da vesícula sináptica
	<i>ATP2B1</i>	Exportação de íons cálcio através da membrana plasmática
Peso 550	<i>PIK3CB</i>	Regulação do processo apoptótico de neutrófilos
	<i>FRS2</i>	Ligação ao receptor do fator de crescimento de fibroblastos
	<i>DIS3L2</i>	Processo catabólico de mRNA dependente de poliuridilação
AOL 550	<i>FRS2</i>	Ligação ao receptor do fator de crescimento de fibroblastos
	<i>MANBA</i>	Atividade da beta-manosidase
	<i>FRS2</i>	Ligação ao receptor do fator de crescimento de fibroblastos
EGS 550	<i>IRAK3</i>	Indução de macrófagos
	<i>OTOF</i>	Exocitose da vesícula sináptica
	<i>RAP1B</i>	Exocitose da vesícula sináptica
	<i>WWTR1</i>	Processo catabólico da proteína proteasomal dependente de ubiquitina
	<i>PPM1H</i>	Atividade da proteína serina / treonina fosfatase
MARM 550	<i>SLITRK1</i>	Regulação positiva da axonogênese
	<i>LRRTM1</i>	Regulação negativa da cascata JAK-STAT

2.6 Discussão

Por meio do GWAS, os efeitos aditivo e aditivo materno retornaram resultados semelhantes. Isso pode ser dado, pela predição genética da população, que se dá pelos dados da progênie (Berry *et al*, 2016), o que pode explicar a semelhança na resposta para ambos os efeitos.

Dentre os 19 genes significativos identificados por GWAS, os genes *FRS2*, *DIS3L2*, *PIK3CB*, *EBF2*, *AADAT*, *PTGER3*, *CAST*, *HMGCLL1* e *ELOVL7*, *AT2B1*, são aqueles que possuem alguma função relacionadas aos fenótipos coletados por ultrassonografia.

Os genes *IRAK3* e *FRS2* são interessantes por terem sido identificados atuando em elementos antagônicos, visto que peso está relacionado à eficiência alimentar, que por sua vez é associada ao desenvolvimento de tecido muscular (Wicks *et al*, 2019). Já o aumento de tecido adiposo (EGS), se dá pelos mesmos mecanismos de formação de tecido muscular (Du *et al*, 2015), de forma que em EGS o gene foi identificado ao desmame, e em peso e AOL, ao sobreano, sendo ativos em momentos diferentes em características distintas (Tabela 2).

O gene *FRS2*, codifica para estrutura considerada o principal adaptador ao receptor da proteína tirosina quinase, da qual ao ter sua ativação por este gene, gera sinalizações ao fator de crescimento (Xu *et al*, 2013). Também é relatada a relação deste gene com o receptor FGF, cuja interação acarreta no desenvolvimento e crescimento de fibroblastos, sendo essencial para a ação do gene (Gotoh N., 2008; Pawlikowski *et al*, 2017).

Com o gene *EBF2*, sua relação com a característica de AOL, é associado à formação do tecido muscular, atuando no fator miogênico 5, que também influencia na formação de adipócitos (Tu *et al*, 2019), e regula a diferenciação de adipócitos marrons e beges, indiretamente relacionados à expressão de genes termogênicos (Xu *et al*, 2015), explicando a polivalência do gene *EBF2*.

O gene *PIK3CB*, apesar de ser relatado neste estudo como responsável pelo sistema imune, juntamente com o gene *DIS3L2*, são associados à característica de peso em bovinos (Fernández *et al*, 2012). Há pesquisas comprovando a atividade destes genes relacionados à característica de peso,

em que o gene *PIK3CB* é relacionado à alta eficiência de ingestão alimentar. Já o gene *DIS3L2* é candidato à variação de peso corporal em ovinos e bovinos (Gouveia *et al*, 2017; Ahbara *et al*, 2019; Taye *et al*, 2017), estando identificado junto ao crescimento (Stronen *et al*, 2019). O fato destes genes serem candidatos previamente descritos, pode indicar menor necessidade alimentar para manutenção do animal durante o crescimento.

Para o gene *PTGER3*, apesar de possuir relação com gordura subcutânea em humanos, (Michaud *et al*, 2014), também está associado em bovinos à reprodução, sendo relatado que seu *knockout* acarreta em disfunções reprodutivas (Zhang *et al*, 2017). Isto pode estar associado ao fato de que este gene também é encontrado em ácidos graxos livres, aqueles presentes na corrente sanguínea, sugerindo uma relação de dependência entre a gordura circulante e a reprodução (Kempe-Teufel *et al*, 2019).

O gene *AADAT*, encontrado na característica de AOL, possui relação com ganho de peso diário em bovinos (Seabury *et al*, 2017). Este resultado é corroborado, pois há alta correlação da característica de AOL com peso de carcaça quente (0,70) (Pariacote *et al*, 1998), significando que quanto maior a mensuração de AOL, maior o peso da carcaça.

O gene *ATP2B1* em bovinos, atua na regulação da concentração de cálcio, comumente expresso em altas concentrações, em praticamente todos os tecidos, também relacionado à insensibilidade à insulina (Acosta-Montañó *et al*, 2019). Genes de atividade envolvendo íons cálcio são comuns em estudos de carcaça, pois estes íons são os responsáveis pela contração muscular. Por isso, essenciais para atividades musculares e na proteólise *post mortem* (Guerini *et al*, 2005; Mateescu *et al*, 2017), torando viável a atuação do gene *ATP2B1* na característica de peso.

O gene *CAST* é importante por atuar na maciez da carne, não possuindo atividade de síntese ou deposição de gordura (Pinto *et al*, 2010). No entanto, a presença deste gene em marmoreio se torna relevante, pois há pesquisas que indicam que marmoreio traz a sensação de maciez à carne (Luo *et al*, 2018). Esta relação é importante para agregar valor ao produto final, visto que esta é uma característica pertinente aos consumidores (Chardulo *et al*, 2019).

Já os genes *HMGCLL1* e *ELOVL7* possuem funções relacionadas à característica de gordura, mais precisamente ao marmoreio. Ambos os genes interagem entre si, envolvidos na formação de ácidos graxos (Pena *et al*, 2019). Isso ocorre, pois, os dois genes atuam em associação ao acil-CoA, oxidando e alongando as moléculas de ácidos graxos durante sua formação (Shi *et al*, 2019; Jiang *et al*, 2015; Montgomery *et al*, 2012).

Isoladamente, a atividade do gene *HMGCLL1*, é mais relatada em suínos, nos quais sua função está relacionada a biossíntese de corpos cetônicos (Blaj *et al*, 2018). Esta atividade está ligada à oxidação, na qual os corpos cetônicos são metabolizados na ausência de energia nas células (Puchalska & Crawford, 2017). Pela associação deste gene é dada a uma espécie de produção, na qual a produção de gordura é acentuada, pode ser que este gene desenvolva ações semelhantes em bovinos.

O gene *ELOVL7* tem com prioridade, atuar em ácidos graxos monoinsaturados (Purdy *et al*, 2015). Apesar desta preferência, possui atividade catalítica de ácido α -linoleico, precursor de ácidos graxos poli-insaturados (Junjvlieke *et al*, 2019). A participação deste gene na composição de ácidos graxos é evidente (Wang *et al*, 2019), fazendo com que *ELOVL7* possa ser alvo da característica de gordura na carcaça em animais de produção.

O gene *IRAK3*, encontrado em duas características distintas e antagônicas (peso e EGS), possui ação inflamatória (Freinhat *et al*, 2019). É também associado à característica de gordura, possuindo relação com pontuações de marmoreio em bovinos da raça Hanwoo (Seong *et al*, 2016). Em humanos, a adiponectina, responsável por processos metabólicos de ácidos graxos, revela menor expressão de *IRAK3* em pessoas obesas (Hulsmans *et al*, 2012). Isto pode ajudar a entender a relação deste gene com peso e EGS. Na primeira característica, o gene é identificado ao desmame, no efeito aditivo materno, etapa em que o animal se encontra em fase de crescimento. Na segunda característica, o gene foi encontrado ao sobreano, no qual o animal se encaminha para fase de finalização, necessitando de acúmulo de adipócitos.

Estes genes são importantes por atuarem principalmente em características de carcaça, podendo ser estabelecidos como alvos de seleção,

com base nos marcadores, que trazem as informações dos genes relacionados significativamente, o que os torna mais assertivos.

2.7 Conclusão

Com este estudo, foi possível identificar genes significativos cujas funções estão relacionadas com as características de carcaça, como marmoreio (*ELOVL7*, *HMGCLL1*, *CAST*), espessura de gordura subcutânea (), peso () e área de olho de lombo (), se mostrando como possíveis candidatos para seleção. Os genes *IRAK3* e *FRS2* tentam explorar a ação de um gene em características antagônicas.

Foi possível também relacionar genes encontrados em uma característica e que atue em outra diretamente relacionada a ela, como é o caso dos genes *AADAT*, *PTGER3*, *FRS2*.

Por fim, é possível sugerir a elaboração de um painel de SNPs específicos para aspectos de carcaça. Isso é possível pela seleção dos marcadores correspondentes aos genes encontrados, diminuindo os custos para a seleção de animais com estas características.

2.8 Referências

Acosta-Montañó P., Rodríguez-Velázquez E., Ibarra-López E., Frayde-Gómez H., Mas-Oliva J., Delgado-Coello B., Rivero I. A., Alatorre-Meda M., Aguilera J., Guevara-Olaya L. & García-González V. (2019) Fatty acid and lipopolysaccharide effect on beta cells proteostasis and its impact on insulin secretion. *Cells* 8.

Aguilar I., Misztal I., Johnson D. L., Legarra A., Tsuruta S. & Lawlor T. J. (2010) *Hot topic*: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *Journal of Dairy Science* 93, 743-752.

Ahbara A., Bahbahani H., Almathen F., Abri M., Agoub M. O., Abeba A., Kebede A., Musa H. H., Mastrangelo S., Pilla F., Ciani E., Hanotte O. & Mwacharo J. M. (2019) Genome-wide variation, candidate regions and genes associated with fat deposition and tail morphology in Ethiopian indigenous sheep. *Frontiers in Genetics* 9.

Anderson C. A., Pettersson F. H., Clarke G. M., Cardon L. R., Morris A. P. & Zondervan K. T. (2010) Data quality control in genetic case-control association studies. *Nature Protocols* 5, 1564-1573.

Beef Improvement Federation. (2002) Guidelines for Uniform Beef Improvement Programs. Athens, GA.

Berry D. P., Garcia J. F. & Garrick D. J. (2016) Development and implementation of genomic predictions in beef cattle. *Animal Frontiers* 6, 32-38.

Bindea G., Mlecnik B., Hackl H., Charoentong P., Tosolini M., Kirilovsky A., Fridman W. H., Pages F., Trajanoski Z. & Galon J. (2009) ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology annotation networks. *Bioinformatics* 25, 1091-1093.

Blajl I., Tetens J., S Preub, Bennewitz J. & Thaller G. (2018) Genome-wide association studies and metaanalysis uncovers new candidate genes for growth and carcass traits in pigs. *PLoS One* 13, e0205576.

Brookes A. J. (1999) The essence of SNPs. *Gene* 234, 177-186.

Chardulo L. A. L., Baldassini W. A., Curi R. A., Pereira G. L., Machado Neto O. R., Dal-Pai M., Vechetti-Júnior I. J., Malheiros J. M. & Enriquez-Valencia C. E. (2019) Gene and protein expression of myosin heavy chain in Nellore cattle comparing growth or meat tenderness traits. *Animal Biotechnology*, 1-10.

Coleman J. R. I., Euesden J., Patel H., Folarin A. A., Newhouse S. & Breen G. (2016) Briefings in Functional Genomics 15, 298-304.

Dias, L. S., Hadlich, J.C., Luzia, D. M. M. & Jorge, N. (2016) Influence of breed on beef and intramuscular fat quality from nellore (*Bos indicus*) and wagyu (*Bos taurus*) crossbreed cattle. *International Food Research Journal* 23, 1523-1530.

Du M., Wang B., Fu X., Yang Q. & Zhu M-J. (2015) Fetal programming in meat production. *Meat Science* 109, 40-47.

Enriquez-Valencia C. E., Pereira G. L., Malheiros J. M., Silva J. A. I. I. V., Albuquerque L. G., Oliveira H. N., Chardulo L. A. L. & Curi R. A. (2017) Effect of the g.98535683ANG SNP in the CAST gene on meat traits of Nellore beef cattle (*Bos indicus*) and their crosses with *Bos taurus*. *Meat Science* 123, 64-66.

FAO (1991) Variations in the sensoric quality of meat (In. Guidelines for slaughtering, meat cutting and further processing, ed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Via delle Terme di Caracalla, 00 100 Rome, Italy).

FAO. (2019). Meat market review, March 2019. Rome.

Fernández A. I., Pérez-Montarelo D., Barragán C., Ramayo-Caldas Y., Ibáñez-Escriche N., Castelló A., Noguera J. L., Silió L., Folch J. M. & Rodríguez M. C. (2012) Genome-wide linkage analysis of QTL for growth and body composition employing the PorcineSNP60 BeadChip. *BMC Genetics* 13.

Freihat L. A., Wheeler J. I., Wong A., Turek I., Manallack D. T. & Irving H. R. (2019) IRAK3 modulates downstream innate immune signalling through its guanylate cyclase activity. *Scientific Reports* 9.

Gotoh N. (2008) Regulation of growth factor signaling by FRS2 family docking/scaffold adaptor proteins. *Cancer Science* 99, 1319-1325.

Gouveia J. J. S., Paiva S. R., McManus C. M., Caetano A. R., Kijas J. W., Facó O., Azevedo H. C., Araujo A. M., Souza C. J. H., Yamagishi M. E. B., Carneiro P. L. S., Lôbo R. N. B., Oliveira S. M. P. & Silva M. V. G. B. (2017) Genome-wide search for signatures of selection in three major Brazilian locally adapted sheep breeds. *Livestock Science* 197, 36-45.

Guerini D., Coletto L. & Carafoli E. (2005) Exporting calcium from cells. *Cell Calcium* 38, 281–289.

Hulsmans M., Geeraert B., Keyzer D., Mertens A., Lannoo M., Vanaudenaerde B., Hoylaerts M., Benhabile N., Tsatsanis C., Mathieu C. & Holvoet P. (2012) Interleukin-1 receptor-associated kinase-3 is a key inhibitor of inflammation in obesity and metabolic syndrome. *PLoS One* 7, e30414.

Jiang D., LaGory E. L., Broz D. K., Bieging K. T., Brady C. A., Link N., Abrams J. M., Giaccia A. J. & Attardi L. D. (2015) Analysis of p53 transactivation domain mutants reveals acad11 as a metabolic target important for p53 pro-survival function. *Cell Reports* 10, 1096-1109.

Junjvlieke Z., Mei C-G., Khan R., Zhang W-Z., Hong J-Y., Wang L., Li S-J. & Zan L-S. (2019) Transcriptional regulation of bovine elongation of very long chain fatty acids protein 6 in lipid metabolism and adipocyte proliferation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 1-10.

Kempe-Teufel D., Machicao F., Machann J., Böhm A., Schick F., Fritsche A., Stefan N., Angelis M. H., Häring H-U. & Staiger H. (2019) A polygenic risk score of lipolysis-increasing alleles determines visceral fat mass and proinsulin conversion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 104, 1090-1098.

Laodim T., Elzo M. A., Koonawootrittriron S., Suwanasopee T. & Jattawa D. (2019) Genomic-polygenic and polygenic predictions for milk yield, fat yield, and age at first calving in Thai multibreed dairy population using genic and functional sets of genotypes. *Livestock Science* 219, 17-24.

Luo L., Guo D., Zhou G. & Chen K. (2018) An investigation on the relationship among marbling features, physiological age and Warner–Bratzler Shear force of steer longissimus dorsi muscle. *Journal of Food Science and Technology* 55, 1569-1574.

Mateescu R. G., Garrick D. J. & Reecy J. M. (2017) Network Analysis Reveals Putative Genes Affecting Meat Quality in Angus Cattle. *Frontiers in Genetics* 8.

Mehrban H., Lee D. H., Moradi M. H., IlCho C., Naserkheil M. & -Escriche N. I. (2017) Predictive performance of genomic selection methods for carcass traits in Hanwoo beef cattle: impacts of the genetic architecture. *Genetics Selection Evolution* 49.

Michaud A., Lacroix-Pépin N., Pelletier M., Daris M., Biertho L., Fortier M. A., & Tchernof A. (2014) Expression of genes related to prostaglandin synthesis or signaling in human subcutaneous and omental adipose tissue: depot differences and modulation by adipogenesis. *Mediators of Inflammation* 2014.

Misztal I. & Legarra A. (2017) Invited review: efficient computation strategies in genomic selection. *Animal* 11, 731–736.

Misztal I., Legarra A. & Aguilar I. (2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. *Journal of Dairy Science* 92, 4648–4655.

Montgomery C., Pei Z., Watkins P. A. & Mizioro H. M. (2012) Identification and characterization of an extramitochondrial human 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coa lyase. *The Journal of Biological Chemistry* 287, 33227-33236.

Moraes G. F., Abreu L. R. A., Toral F. L. B., Ferreira I. C., Ventura H. T., Bergmann J. A. G. & Pereira I. G. (2019) Selection for feed efficiency does not change the selection for growth and carcass traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*.

National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2019 Oct 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Oliveira G. M., Caleman, S. M. Q., Cunha, C. F. & Puperi, M. (2017) Value appropriation in Brazilian cattle industry. *British Food Journal*, 119, 2089–2101.

Pariacote F., Van Vleck L. D. & Hunsley R. E. (1998) Genetic and phenotypic parameters for carcass traits of American Shorthorn beef cattle. *American Society of Animal Science* 76, 2584-2588.

Pariacote, F., Van Vleck, L. D., & Hunsley, R. E. (1998) Genetic and phenotypic parameters for carcass traits of American Shorthorn beef cattle. *Journal of Animal Science* 76.

Pawlikowski B., Vogler T. O., Gadek K. & Olwin B. B. (2017) Regulation of skeletal muscle stem cells by fibroblast growth factors. *Developmental Dynamics* 246, 359-367.

Pena R. N., Noguera J. L., García-Santana M. J., González E., Tejada J. F., Ros-Freixedes R. & Ibáñez-Escriche N. (2019) Five genomic regions have a major impact on fat composition in Iberian pigs. *Scientific Reports* 9.

Pinto L. F. B., Ferraz J. B. S., Meirelles F. V., Eler J. P., Rezende F. M., Carvalho M. E., Almeida H. B. & Silva R. C. G. (2010) Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research* 9, 1431-1442.

Puchalska P. & Crawford P. A. (2017) Multi-dimensional roles of ketone bodies in fuel metabolism, signaling, and therapeutics. *Cell Metabolism* 25, 262-284.

Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M. A. R., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P. I. W., Daly M. J. & Sham P. C. (2007) PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, 81.

Purdy J. G., Shenk T. & Rabinowitz J. D. (2015) Fatty acid elongase 7 catalyzes lipidome remodeling essential for human cytomegalovirus replication. *Cell Reports* 10, 1375-1385.

R Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Ritchie H. & Roser M. (2020) Meat and Dairy Production. *Our World in Data*.

Robinson T. L., Sutherland I. A. & Sutherland J. (2007) Validation of candidate bovine reference genes for use with real-time PCR. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 115, 160-165.

Rodrigues R. T. S., Chizzotti M. L., Vital C. E., Baracat-Pereira M. C., Barros E., Busato K. C., Gomes R. A., Ladeira M. M. & Martins T. S. (2017) Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a Proteomic and Phosphoproteomic Approach. *PloS One* 12.

Santana M. H. A., Ventura R. V., Utsunomiya Y. T., Neves H. H. R., Alexandre P. A., Oliveira Junior G. A., Gomes R. C., Bonin M. N., Coutinho L. L., Garcia J. F., Silva S. L., Fukumasu H., Leme P. R. & Ferraz J. B. S. (2015) A genomewide association mapping study using ultrasound-scanned information identifies potential genomic regions and candidate genes affecting carcass traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 132, 420-427.

Schaeffer L. R. & Kennedy B. W. (1989) Effects of embryo transfer in beef cattle on genetic evaluation methodology. *Journal of Animal Science* 67, 2536-2543.

Scheet P. & Stephens M. (2008) Linkage disequilibrium-based quality control for large-scale genetic studies. *PloS Genetics* 4, e1000147.

Seabury C. M., Oldeschulte D. L., Saatchi M., Beever J. E., Decker J. E., Halley Y. A., Bhattarai E. K., Molaei M., Freetly H. C., Hansen S. L., Yampara-Iquise H., Johnson K. A., Kerley M. S., Kim J. W., Loy D. D., Marques E., Neiberghs H. L., Schnabel R. D., Shike D. W., Spangler M. L., Weaber R. L., Garrick D. J. & Taylor J. F. (2017) Genome-wide association study for feed efficiency and growth traits in U.S. beef cattle. *BMC Genomics* 18.

Seong J., Yoon H. & Kong H. S. (2016) Identification of microRNA and target gene associated with marbling score in Korean cattle (Hanwoo). *Genes & Genomics* 38, 529-538.

Shi H., Wang L., Luo J., Liu J., Loo J. J. & Liu H. (2019) Fatty acid elongase 7 (ELOVL7) plays a role in the synthesis of long-chain unsaturated fatty acids in goat mammary epithelial cells. *Animals* 5.

Silva-Vignato B., Coutinho L. L., Cesar A. S. M., Poleti M. D., Regitano L. C. A. & Balieiro J. C. C. (2017) Comparative muscle transcriptome associated with carcass traits of Nellore cattle. *BMC Genomics* 18.

Stronen A. V., Pertoldi C., Iacolina L., Kadarmideen H. N. & Kristensen T. N. (2019) Genomic analyses suggest adaptive differentiation of northern European native cattle breeds. *Evolutionary Applications* 12, 1096-1113.

Tait Jr, R. G. (2016) Ultrasound use for body composition and carcass quality assessment in cattle and lambs. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice* 32, 207-218.

Taye M., Kim J., Yoon S. H., Lee W., Hanotte O., Dessie T., Kemp S., Mwai O. A., Caetano-Anolles K., Cho S., Oh S. J., Lee H-K. & Kim H. (2017) Whole genome scan reveals the genetic signature of African Ankole cattle breed and potential for higher quality beef. *BMC Genetics* 18.

- Tu W-z., Fu Y-b. & Xie X. (2019) RepSox, a small molecule inhibitor of the TGF β receptor, induces brown adipogenesis and browning of white adipocytes. *Acta Pharmacologica Sinica* 0, 1-9.
- VanRaden, P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science* 91, 4414–4423.
- Wan G H., Misztal I., Aguilar I., Legarra A. & Muir W. M. (2012) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. *Genetics Research* 94, 73-83.
- Wang Z., Zhu B., Niu H., Zhang W., Xu L., Xu L., Chen Y., Zhang L., Gao X., Gao H., Zhang S., Xu L. & Li J. (2019) Genome wide association study identifies SNPs associated with fatty acid composition in Chinese Wagyu cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10.
- Wei D., Rafael A. P., Machava A. Z.; Cipriano A. C. M. & Almeida D. F. (2019) Food exports from Brazil to China a legal and economic analysis. pp. 102. SpringerBriefs in Law Cham, Suíça.
- Wicks J., Beline M., Gomez J. F. M., Luzardo S., Silva S. L. & Gerrard D. (2019) Muscle energy metabolism, growth, and meat quality in beef cattle. *Agriculture* 9.
- Wittke-Thompson J. K., Pluzhnikov A. & Cox N. J. (2005) Rational Inferences about Departures from Hardy-Weinberg Equilibrium. *The American Journal of Human Genetics* 76, 967-986.
- Xia J., Qi X., Wu Y., Zhu B., Xu L., Zhang L., Gao X., Chen Y., Li J., Gao H. (2016) Genome-wide association study identifies loci and candidate genes for meat quality traits in Simmental beef cattle. *Mammalian Genome* 27, 246-255.
- Xu S., Chen P. & Sun L. (2015) Regulatory networks of non-coding RNAs in brown/beige adipogenesis. *Bioscience Reports* 35.
- Zhang S., Liu B., Mao W., Li Q., Fu C., Zhang N., Zhang Y., Gao L., Shen Y. & Cao J. (2017) The effect of prostaglandin E₂ receptor (PTGER2) activation on growth factor expression and cell proliferation in bovine endometrial explants. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 122, 16-23.

2.9 Materiais suplementares

S1. Genes associados os efeitos aditivo e aditivo materno para característica de peso em 10 janelas adjacentes ao desmame (205 dias).

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	Gene ID
1	132401905– 132498578	<i>PIK3CB</i>	109559854
	132507347– 132538714	<i>PIK3CB</i>	109563217
	132555083– 132610514	–	–
3	33079010–33114492	–	–
5	47184004–47931909	<i>LOC109559230</i>	109559230
	49087857–49598252	<i>NUP107</i>	109559249
	50818041–51574221	<i>IRAK3</i>	109558288
	55021731–55720431	<i>PPM1H</i>	109558720
6	81537139–82180135	<i>LOC109560034</i>	109560034
16	64904915–65415748	<i>TPR</i>	109570315

S2. Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de peso aos 550 dias.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	Gene ID
1	132398347–132480247	<i>PIK3CB</i>	109559854
	132507347–132538714	<i>PIK3CB</i>	109559829
1	132555083–132610514	–	–
2	123677893–124090480	<i>DIS3L2</i>	109572047
3	33143878–33208764	<i>LOC1095559</i>	–
		15	
5	21947967–22654850	<i>ATP2B1</i>	109558966
	47143913–47748370	<i>MYRFL,</i> <i>FRS2</i>	109559229, 109558397
10	54196548–54771521	<i>ZNF280D</i>	109565098
	58217285–58845558	<i>ONECUT1</i>	109564359
21	47321013–47851905	<i>SLC25A21</i>	109575550

S3. Genes associados ao efeito aditivo para característica de AOL, em 10 janelas adjacentes ao desmame.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	Gene ID
3	7809856–8250205	–	–
3	32946493–33000242	–	–
3	33079010–33114492	–	–
5	46676953–47378060	<i>CNOT2</i>	109559227
8	76747735–77325926	<i>EBF2</i>	109563148
9	2092029–2917810	–	–
13	37161580–37981201	<i>PCSK2</i>	109568044
13	53682122–54928058	–	–
	53682122–54928058	<i>LOC109567646</i> , <i>MYT1</i>	109567222, 109567649
27	6740323–7405948	<i>LOC109553495</i> , <i>LOC109553289</i>	109553496, 109553365

S4. Genes associados ao efeito aditivo materno para característica de AOL, em 10 janelas adjacentes ao desmame.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	Gene ID
3	32946493–33000242	–	–
3	33079010–33114492	–	–
5	46676953– 47378060	<i>PLPPR5</i> , <i>TIMP3</i>	109556028, 109559488
8	76747735–77325926	<i>LOC109562760</i>	109562761
9	2092029–2917810	–	–
10	58193867–58729920	<i>LOC109562760</i>	109562429
13	37210394–38020405	<i>PCSK2</i>	109568044
	53682122–54928058	<i>MYT1</i> , <i>LOC109567646</i>	109567229, 109567222
19	911943–1194221	–	–
27	6740323–7405948	<i>LOC109553495</i>	109553496

S5. Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de AOL.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	Gene ID
3	29169560–30091975	<i>IGSF3</i> , <i>SLC22A15</i>	109555876, 109555877
	32903925–32944221	<i>LOC109555915</i>	109555914
5	47184004–47931909	<i>MYRFL</i> , <i>FRS2</i>	109559230, 109558397
6	14434633–15164578	<i>ALPK1</i>	109560244
7	14417958–15018204	<i>ARHGEF18</i>	109561202
12	58264093–58632689	<i>SLITRK1</i>	109567168
20	22151938–22161303	–	–
23	39309531–39325744	–	–
23	39357369–39390857	–	–
26	26744979–27495168	–	–

S6. Genes associados aos efeitos aditivo e aditivo materno para característica de EGS, em 10 janelas adjacentes ao desmame.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	
1	107544870–108068805	<i>NMD3</i>	109564445
3	79396045–80216505	<i>PTGER3</i>	109557069
4	66278065–67110490	<i>AVL9</i>	109557463
5	47277482–48145303	<i>MYRFL,</i>	109559230,
		<i>FRS2,</i>	109559237,
		<i>YEATS4</i>	109558714
	48600539–49431301	<i>CPM,</i>	109559247,
		<i>NUP107,</i>	109559248,
		<i>MDM1</i>	109558719
	78662987–79163617	<i>HMGXB4</i>	109559491
6	56014649–56999424	<i>LOC109560014</i>	109560013
7	95511821–95925465	<i>RHOBTB3</i>	109561137
11	56304007–56894960	<i>LRRTM1</i>	109566187
27	6954879–7452465	<i>LOC109553284</i>	109553286

S7. Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de EGS.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	
1	120616736–121293369	<i>WWTR1,</i>	109559348,
		<i>HLTF</i>	109559403
5	21947967–22654850	<i>ATP2B1</i>	109558966
	47184004–47931909	<i>MYRFL,</i>	109559232,
		<i>FRS2</i>	109558397
	48600539–49431301	<i>CPM,</i>	109559247,
		<i>NUP107,</i>	109559248,
		<i>RAP1B</i>	109558719
	50924326–51892325	<i>IRAK3</i>	109558288
	54869232–55558497	<i>PPM1H</i>	109558720
6	22923972–23562312	<i>TACR3,</i>	109559947,
		<i>MANBA</i>	109560292
11	75253503–76002231	<i>OTOF,</i>	109566311,
		<i>DTNB</i>	109566320
21	47321013–47851905	<i>SLC25A21</i>	109575550
22	9915991–10617418	<i>STAC</i>	109576341

S8. Genes associados aos efeitos aditivo e aditivo materno para característica de MARM, em 10 janelas adjacentes ao desmame.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	
7	97191866–97679079	<i>CAST</i> , <i>LOC109561321</i>	109562344, 109562346
11	50683400–51441017	<i>POLR1A</i> , <i>TCF7L1</i>	109566161, 109566166
	51915812–53029108	<i>TCF7L1</i> , <i>DNAH6</i>	109565566, 109566185
	72755116–73138773	<i>PLB1</i>	109565792
	78027341–78970647	<i>LOC109566348</i>	109566348
17	64275908–65267681	<i>RPH3A</i>	109571295
20	19351392–20042695	<i>ELOVL7</i>	109574650
22	56815668–57172747	<i>VGLL4</i>	109576159
23	1094828–1912637	<i>HMGCLL1</i>	109576846
27	6954879–7452465	<i>LOC109553284</i>	109553286

S9. Genes associados ao efeito aditivo ao sobreano, em 10 janelas adjacentes para característica de MARM.

Cromossomos	Posição (pb)	Gene	
5	548692320–55558497	<i>PPM1H</i>	109558720
7	95511821–95925465	<i>RHOBTB3</i>	109561137
11	51915812–53029108	<i>DNAH6</i> , <i>OLFM1</i>	109566184, 109565566
	56196843–56855530	<i>LRRTM1</i>	109566187
	59754536–60777944	<i>LOC10956557</i>	109565769
	67527126–68325617	<i>LOC10956557</i>	109566223
	74877193–75684514	<i>OTOF</i>	109566306
12	58441897–58755730	<i>SLITRK1</i>	109567168
16	64472797–64971348	–	–
23	410518–1003788	–	–