

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

Análise funcional de genes candidatos para características de interesse econômico em bovinos da raça Canchim

Isadora Inácio Sousa

CAMPO GRANDE, MS
2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

Análise funcional de genes candidatos para características de interesse econômico em bovinos da raça Canchim

Functional analysis of candidated genes for economic interest traits in Charbray cattle

Isadora Inácio Sousa

Orientador: Prof. Dr. Fábio José Carvalho Faria

Co-orientadora: Dra. Fabiane Siqueira

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Melhoramento Animal.

CAMPO GRANDE, MS
2018

A minha família, pelo amor e apoio...

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela vida e por todas as pessoas maravilhosas que ele colocou no meu caminho.

Aos meus pais, Angélica e Marcos, pelo amor, confiança, paciência e força depositados em mim e que foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

Aos meus irmãos, Raphael, Guilherme e Matheus, por serem tão atenciosos comigo.

Aos meus tios e tias, mas em especial à minha madrinha Karina, à tia Fátima, tia Keila e tia Keite, pelo apoio e carinho.

Às minhas amadas avós, Derli e Kênia, pelo carinho, conselhos e momentos de conforto e ternura que só as avós podem proporcionar.

Ao meu avô Manoel (*in memorian*), pelo amor incondicional. Sei que me acompanha e ilumina todos os meus passos.

Aos meus bisavós, Maria e Domingos (*in memorian*) e Helena (*in memorian*), pelas histórias, conselhos e momentos maravilhosos.

Ao meu namorado Ricardo, pelo amor, companheirismo, incentivo e paciência. Você se tornou essencial à minha felicidade.

Aos meus sogros e cunhados, porém em especial à minha sogra Sanie, pelo carinho, conselhos e apoio.

Ao meu orientador Professor Fábio José Carvalho Faria pela orientação.

À minha co-orientadora Dra. Fabiane Siqueira, pela oportunidade e ensinamentos.

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte (CNPGC – Embrapa), pela oportunidade de estágio de pós-graduação concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul e a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pelo curso de mestrado em Ciência Animal, e aos professores pelos ensinamentos.

Ao Dr. Luiz Otávio Campos da Silva pela concessão da bolsa de estudos via Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária e Ambiental (FUNDAPAM).

“Em algum lugar, alguma coisa
incrível está esperando para ser
descoberta.”

(Carl Sagan)

Resumo

SOUSA, I.I. Análise funcional de genes candidatos para características de interesse econômico em bovinos da raça Canchim. 2018. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

Sabe-se que a qualidade de um produto é o fator fundamental para que o mesmo possa ser inserido no mercado e o setor brasileiro de carne bovina tem se preocupado não só com o aumento da produção, mas também com a qualidade da carne produzida. No entanto, produtores enfrentam dificuldades para obter a melhoria de características como a quantidade de gordura subcutânea e entremeada, ganho de peso, além da pelagem e da circunferência escrotal. Diversas metodologias foram desenvolvidas no intuito de obter resultados mais rápidos e mais acurados, como o uso de genes candidatos e análises individuais e adjacentes de SNPs que controlam a manifestação de características de interesse econômico, assim como estudos que visam elucidar a arquitetura biológica e metabólica envolvida na característica. Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo realizar uma análise funcional de genes obtidos de regiões genômicas previamente identificadas por estudos de associação ampla do genoma (GWAS). Foram prospectadas pelo banco de dados *Ensembl*, 36 regiões genômicas associadas com com espessura de gordura subcutânea (EGS), marmoreio (MARM), área de olho de lombo (AOL), peso ao sobreano (PESO), pelagem (PELO) e circunferência escrotal (CE). Os 220 genes encontrados foram submetidos à anotação funcional pela ferramenta *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* (DAVID) para verificar suas funcionalidades nas categorias processo biológico, componente celular, função molecular e vias metabólicas, e foram obtidas 186 anotações. Para a verificação das vias metabólicas, foi utilizado o banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG). Posteriormente, foram selecionados os genes candidatos a partir da filtragem de termos ontológicos e de vias metabólicas relacionados com tecido adiposo, tecido muscular, desenvolvimento e proliferação celular, pelagem e bolsa escrotal, sendo estes obtidos pelos bancos de dados *QuickGO* e *Integrative Visual Analysis Tool for Biological Networks and Pathways* (VisANT). Outro critério de seleção utilizado para a seleção de genes foi a identificação prévia dos mesmos na literatura. Após esta filtragem, foram selecionados 29 genes considerados como potenciais candidatos para as características avaliadas, sendo dois genes para EGS, três para MARM, 15 para AOL, seis para PESO, um para PELO e cinco para CE. Os resultados obtidos neste estudo podem na seleção de animais geneticamente superiores em programas de melhoramento da raça Canchim.

Palavras-chave: Canchim, características zootécnicas, ontologia de genes, regiões genômicas

Abstract

SOUSA, I.I. Functional study of molecular markers associated with characteristics of economic interest in Canchim cattle. 2018 Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

It is known that the quality of a product is the fundamental factor so that it can be inserted in the market and the Brazilian beef sector has been concerned not only with the increase of production, but also with the quality of the meat produced. However, producers face some difficulties to obtain improvement of characteristics such as the amount of back fat and marbling, weight gain, besides the coat and the scrotal circumference. Several methodologies have been developed in order to obtain faster and more accurate results, such as the use of candidate genes and individual and adjacent analyzes of SNPs that control the manifestation of characteristics of economic interest, as well as studies aimed at elucidating the biological and metabolic architecture involved in the feature. In view of the above, the present study aims to perform a functional analysis of genes obtained from genomic regions previously identified by genome-wide association study (GWAS). A total of 36 genomic regions has been associated with back fat thickness (BFT), marbling (MARB), rib eye area (REA), yerling weight (YW), coat (COAT) and scrotal circumference (SC). The 220 genes were submitted to the functional annotation by the *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* (DAVID) tool to verify their functionalities in the categories biological process, cellular component, molecular function and metabolic pathways, and 186 annotations were obtained. For the verification of the metabolic pathways, the *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) database was used. Later, the candidate genes were selected from the filtering of ontological terms and metabolic pathways related to adipose tissue, muscle tissue, cell development and proliferation, coat and scrotal pouch, obtained by the *QuickGO* and *Integrative Visual Analysis Tool for Biological Networks and Pathways* (Visant). Another selection criteria used for the selection of genes was the previous identification of the same ones in the literature. After this filtering, 29 genes were considered as potential candidates for the characteristics evaluated, being two genes for BFT, three for MARB, 15 for REA, six for YW, one for COAT and five for SC. The results obtained in this study can be helpful for the selection of genetically superior animals in breeding programs of the Charbray breed.

Key-words: Charbray breed, zootechnical traits, gene ontology, genomic regions

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1. A raça Canchim.....	10
2.2. Características de interesse econômico.....	12
2.3. Análise funcional.....	14
3. HIPÓTESES A SEREM TESTADAS.....	18
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo geral.....	19
4.2. Objetivos específicos.....	19
5. REFERÊNCIAS.....	20
ARTIGO I.....	24
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1. Dados fenotípicos e amostras biológicas.....	26
2.2. Estudo de associação ampla do genoma (GWAS).....	27
2.3. Análise funcional.....	30
3. RESULTADOS.....	31
4. DISCUSSÃO.....	35
5. CONCLUSÃO.....	45
6. AGRADECIMENTOS.....	45
7. FINANCIAMENTO.....	45
8. DECLARAÇÃO DE ÉTICA.....	46
9. CONFLITOS DE INTERESSE.....	46
10. REFERÊNCIAS.....	47
11. ANEXOS.....	52

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil detém o maior rebanho bovino do mundo com aproximadamente 218.225.177 de cabeças (IBGE, 2016), o que corresponde a 13,8% do total mundial (ABIEC, 2017). No ano de 2015 foram abatidas mais de 39 milhões de cabeças e neste mesmo ano o país se posicionou como maior exportador mundial de carne bovina, direcionando ao mercado externo cerca de 1,9 milhões de toneladas equivalente carcaça.

O aumento na produtividade da bovinocultura de corte é de grande importância econômica para o país, porém ainda há desafios que cercam os produtores, principalmente em relação à qualidade da carne, pois a indústria frigorífica brasileira trata a carne bovina com uma “commodity”, onde o importante é o volume de venda com preço baixo e margem pequena de lucro. Isto faz com que o produto não atinja mercados mais exigentes, de maior valor agregado e que remuneram melhor o produtor (SOUZA, 2008).

Diversas estratégias são utilizadas na tentativa de solucionar estas limitações, com o objetivo de aumentar a eficiência da pecuária de corte e a qualidade da carne obtida, sendo estas direcionadas à escolha do material genético, adequação do sistema de produção empregado e melhoria das condições sanitárias dos animais. No contexto genético, as principais alternativas são a utilização da seleção de animais superiores e de sistemas de cruzamentos entre animais taurinos e zebuínos. Porém, a obtenção destes resultados exigem muito tempo e alto custo de investimento.

Contudo, o desenvolvimento de ferramentas moleculares aliadas à bioinformática podem reduzir o tempo de execução de uma pesquisa que visa a obtenção de dados que sejam aplicáveis em programas de melhoramento animal. Uma destas ferramentas é o estudo de genes candidatos e polimorfismos responsáveis pela manifestação de características de interesse zootécnico, como o ganho de peso do animal, a qualidade da carne e carcaça, de funcionalidade e reprodução. Uma maneira de analisar estes recursos genéticos é pelo estudo de seleção genômica ampla (GWAS) que permite a obtenção de regiões genômicas associadas com os fenótipos de interesse, para posterior busca de genes candidatos (GARCIA, 2006).

Uma maneira de observar a relação de genes candidatos com características zootécnicas é realizar uma análise funcional por meio da ontologia de genes, a qual tem se mostrado como uma ferramenta promissora para adquirir informações funcionais e metabólicas, o que explica os componentes e processos que um gene possui, auxiliando no entendimento do desempenho do mesmo sobre as características de interesse (CATOIA, 2014).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo realizar a análise funcional de genes que possam estar envolvidos com espessura de gordura subcutânea, marmoreio, área de olho de lombo, peso ao sobreano, pelagem e circunferência escrotal, gerando conhecimentos que possam contribuir para programas de melhoramento da raça Canchim.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A raça Canchim

O projeto de desenvolvimento da raça Canchim iniciou-se em 1940, na Fazenda de Criação de São Carlos, antiga Fazenda Canchim, localizada no município de São Carlos, estado de São Paulo. Os criadores buscavam obter a proporção ideal do cruzamento de touros da raça taurina continental Charolês com fêmeas zebuínas (Indubrasil, Nelore e Guzerá), o que resultou na obtenção do mestiço 5/8 Charolês x 3/8 Zebu, que mais tarde viria a ser denominado Canchim (Vianna et al., 1978; Barbosa et al 2004).

Esta raça foi desenvolvida com o objetivo de se produzir animais com alta taxa de crescimento, alto peso de abate e rendimento de carcaça e, ao mesmo tempo boa adaptabilidade ao clima tropical, mais precisamente às condições climáticas presentes no Brasil Central, além de resistência a ectoparasitos (Vianna et al., 1978; Alencar, 1994; Barbosa et al., 2004). Estes resultados foram possíveis graças aos ganhos oriundos da complementaridade devido ao cruzamento de touros da raça Charolesa com matrizes zebuínas (Alencar, 1988). De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Canchim (ABCCAN), em 2017 o tamanho efetivo do rebanho da raça Canchim era de aproximadamente 25 mil cabeças.

Touros da raça Canchim são viáveis de utilização em sistema de monta natural, principalmente em sistemas de cruzamento terminal com vacas Nelore ou matrizes mestiças, por originar animais com bom desenvolvimento ponderal e conformação muscular, alto peso e rendimento de carcaça, mantendo as características de adaptabilidade e rusticidade (SOUZA JÚNIOR, 2011).

O Programa Geneplus da Embrapa Gado de corte, em parceria com a ABCCAN e por intermédio da Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária e Ambiental (FUNDAPAM), é responsável pela avaliação de touros Canchim, touros MA (progênie de touro Charolês e vaca ½ Canchim + ½ Zebu, que apresenta em média 65,6% Charolês e 34,4% Zebu) e touros Charolês em âmbito nacional.

A avaliação utiliza dados obtidos pelo arquivo zootécnico da ABCCAN relacionados à medidas de peso, perímetros escrotais, notas de conformação frigorífica, escores de qualidade de pelagem e de umbigo e idades ao parto das progênes dos touros. Com estas informações, são calculadas os pesos a desmama (210 dias) e ao sobreano (420 dias), perímetros escrotais à desmama e ao sobreano, peso da mãe à desmama de sua cria, peso ao nascer, as idades ao primeiro e ao segundo parto, e os escores de qualidade de pelagem e de umbigo à desmama. Também são geradas informações das diferenças esperadas pela progênie (DEPs). Nas edições mais recentes, participaram da avaliação 4.677 touros da raça Canchim, 170 animais MA e 1.298 indivíduos da raça Charolesa (Geneplus, 2017).

O melhoramento genético animal consiste na mudança da composição genética das populações, utilizando as estratégias de seleção e o sistema de acasalamento, porém ambas as técnicas demandam muito tempo de avaliação, pois necessita de um grande número de descendentes para obter maior acurácia da estimação de ocorrência dos fenótipos das características genotípicas na matriz de parentesco. Diversas análises genômicas mostraram-se promissoras para auxiliar programas de melhoramento animal, pois estas identificam genes candidatos e o potencial genético do indivíduo e para determinada característica (Sugisawa et al., 2002).

Contudo, sabe-se que a maioria das características de interesse econômico são de natureza quantitativa, ou seja, a expressão de um atributo é dependente de uma variação alélica em um grande número de locos, além de ser afetada pelo meio ambiente. Ademais, os genes que controlam tais características possuem diferentes efeitos, podendo ser pequenos ou grandes, e diversas formas de interação entre os mesmos, revelando diferentes resultados.

Para isto, a identificação de QTLs (*Quantitative trait loci*) através de estudos de seleção genômica ampla (GWAS) e a identificação de genes candidatos (genes principais) são abordagens que podem auxiliar em programas de seleção, sendo o objetivo central destas metodologias a busca por genes e marcadores relacionados com a manifestação das características de interesse econômico (GARCIA, 2006).

Romero et al. (2018), em uma análise de GWAS, identificaram uma região cromossômica associada com pelagem e quatro regiões para a medida de circunferência escrotal em animais da raça Canchim, o que revelou diversos genes que podem estar associados às características estudadas. Outro estudo de GWAS que também utilizou animais Canchim, observou a associação de uma região genômica com área de olho de lombo e quatro regiões para peso ao sobreano (Santiago et al., 2017).

Outras análises, utilizando a abordagem individual de SNPs, encontraram associação de um SNP no gene candidato *FABP4* (*Fatty acid binding protein 4*) com deposição de gordura e composição de ácidos graxos na carne em bovinos da raça Canchim e, em trabalhos com diferentes raças, foram encontradas associações de outros SNPs neste gene com gordura intramuscular e espessura de gordura subcutânea (Michal et al., 2006; Hoashi et al., 2008; Tizioto et al., 2010).

2.2. Características de interesse econômico

Sabe-se que a qualidade de um produto é o fator fundamental para que o mesmo possa ser inserido no mercado, podendo ocupar uma posição competitiva de acordo com a demanda. Para obter um produto de qualidade, é necessário dispor de procedimentos adequados desde o sistema de criação dos animais, incluindo a escolha da genética a ser utilizada, o manejo nutricional e sanitário, até o processamento pós abate, como o transporte, armazenamento, manipulação, exposição e preparo da carne, já que a qualidade da mercadoria em questão é resultante desta cadeia produtiva (Luchiari Filho, 2000).

Uma das características utilizadas como critério de seleção em programas de melhoramento é o peso vivo, mensurado em diferentes estágios do desenvolvimento animal, destacando-se o peso ao sobreano (18 meses), pois este permite avaliar o potencial genético do indivíduo ainda jovem e sofre menor influência dos efeitos ambientais maternos, além de apresentar maior correlação com o peso ao abate quando comparado ao peso a desmama e ao ano (Bergman, 1999).

Luchiari Filho (2000) descreve que cada tecido possui uma velocidade de crescimento diferente, sendo o primeiro tecido a ser depositado o nervoso, seguido pelo ósseo, muscular e por último o adiposo, o qual aumenta sua deposição conforme diminui o crescimento muscular. De acordo com o aumento da idade do animal, também aumentam o peso e as medidas de carcaça, que influenciam a deposição de gordura nos tecidos (Menezes et al., 2009) e uma maneira de avaliar a qualidade do produto final é pelas características de carcaça, sendo que o valor comercial de uma carcaça bovina é influenciado pelo peso, conformação frigorífica e rendimento, assim como o marmoreio e quantidade de gordura subcutânea (Perotto et al., 1999).

Para determinar os tipos de carcaça são avaliadas a espessura de gordura subcutânea e a distribuição na carcaça, sendo que a quantidade de espessura subcutânea desejável pelas indústrias frigoríficas é de três a dez milímetros, pois este atributo funciona como isolante

térmico, diminuindo a velocidade de resfriamento da carcaça, evitando a desidratação, o escurecimento e o encurtamento das fibras musculares (Pardi et al., 1995). A composição da carcaça também é avaliada utilizando as medidas da área de olho de lombo, que está correlacionada à musculosidade, ao rendimento da porção comestível e a espessura de gordura subcutânea com o grau de acabamento de carcaça (Luchiari Filho et al., 2000). A obtenção desta medida é realizada por ultrassonografia e representa a área da secção transversal do músculo *longissimus* entre as 12^a e 13^a costelas (Meirelles et al., 2010). Outra característica de importância econômica é a marmorização da carne que, assim como a gordura subcutânea, auxilia a manter a umidade, o que ameniza as perdas hídricas por evaporação e exsudação, influenciando na maciez da carne (Luchiari Filho, 2000).

Porém, animais de origem zebuína normalmente apresentam baixo índice de marmorização, o que torna necessário o aprimoramento desta característica (Magolski et al., 2013) e é dito que a carne de raças zebuínas é nutricionalmente mais saudável em comparação à carne de raças taurinas (Huerta-Leidenz et al., 1993 e 1996; Perry et al., 1998; Rossato et al., 2010). Contudo, a seleção de animais para aumentar o nível de gordura entremeada pode causar a diminuição da concentração de ácidos graxos poliinsaturados e as séries ômega 3 e ômega 6, benéficos à saúde e aumentará os níveis de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, que são prejudiciais (Feitosa et al., 2016).

Além da preocupação com as características de qualidade e produtividade, existem outras que também são utilizadas como critério de seleção em programas de melhoramento, como a pelagem e a circunferência escrotal. Classificada como aspecto racial de bovinos e avaliada por escore visual, a pelagem define os animais que mais se encaixam ao biotipo de determinada raça, além de contribuir para a adaptação climática, sendo a pelagem curta e clara mais interessante para animais criados em clima tropical (Porto-Neto et al., 2014). Este atributo também está associado à infestação de parasitas, onde é observada a presença de carrapatos em indivíduos de pelames mais escuros e compridos (Oliveira e Alencar, 1986). Outros aspectos do pelame como o diâmetro, espessura e densidade numérica também podem afetar o desempenho fisiológico dos animais, uma vez que o estresse térmico pode ser prejudicial para o desempenho do rebanho (Nicolau et al., 2004).

Outro fator que contribui para a maior resistência ao calor é a coloração da epiderme, a qual deve possuir pigmentação negra, sendo menos permeável à radiação ultravioleta. Assim, é preferível a criação de animais com pelame branco e epiderme negra em regiões tropicais (Silva et al., 2008; Nicolau et al., 2004, Li et al., 2014).

Com relação ao desempenho reprodutivo dos touros, a circunferência escrotal é diretamente proporcional à fertilidade, afetando a produtividade e o maior número de bezerras no rebanho (Fordyce et al., 2014; Utsonomiya et al., 2014). É uma característica de alta herdabilidade, está correlacionada com o peso e qualidade do sêmen, e é considerada como indicadora de fertilidade e precocidade sexual de novilhas (Pereira et al., 2001; Boligon et al., 2007).

2.3. Análise funcional

Estudos de associação genômica ampla permitem a identificação de regiões do genoma envolvidas em processos biológicos que estão relacionados com determinada característica (HINDORFF et al., 2011) e os genes contidos nestas regiões estão envolvidos em uma série de processos biológicos que controlam as características poligênicas (SCHADT, 2009). A análise funcional gera o entendimento da maneira como os genes desempenham suas atividades em uma via metabólica, essencial para o estudo dos processos fisiológicos que influenciam o fenótipo de interesse (WANG et al., 2010). Uma maneira de otimizar o acesso a tais dados consiste no uso da anotação funcional baseada na ontologia gênica, que é capaz de esclarecer de maneira mais simplificada o significado fisiológico de genes e suas funcionalidades (Jerme e Browne, 2004).

De acordo com Guedes (2003), “ontologia” significa uma forma de organizar, definindo classes e hierarquias a uma determinada entidade de estudo. Diante da necessidade de padronizar os dados de anotação gênica, surgiu o *Gene Ontology* (GO), que permite estruturar as funções do gene utilizando vocabulários controlados contendo termos gerais e específicos. Desta forma, foram criadas três hierarquias de anotação: função molecular, componente celular e processo biológico. De maneira geral, estas hierarquias descrevem as funções biológicas dos produtos de genes, os processos envolvidos na realização dessas funções e onde na célula essas funções são tipicamente realizadas (Thomas et al., 2007).

A hierarquia, categoria ou termo “Função molecular” descreve as atividades que ocorrem a nível molecular, como “atividade catalítica”, “transportadora” ou “receptor de ligação”. Estas funções correspondem ao que pode ser realizado por produtos gênicos individuais ou por seus complexos, porém não refere-se à molécula específica, onde, quando ou em qual contexto ocorrem as ações (Smith et al., 2003).

Já a categoria “Componente celular” mostra apenas um componente da célula, considerando-a como parte de uma estrutura maior, podendo ser anatômica (“retículo

endoplasmático liso” ou “núcleo”) ou de um grupo de produtos gênicos (“ribossomo”, “proteossomo” ou “proteína”).

O termo “Processo Biológico” relata uma série de eventos realizados por um ou mais conjuntos de funções moleculares, como “processo fisiológico celular”, “transdução de sinais”, “processo metabólico de pirimidinas” e “transporte de alfa-glicosídeos”. Esta categoria é facilmente confundida com a função molecular, porém um processo deve conter mais de um passo distinto e não ser equivalente a uma via metabólica (Smith et al., 2003). As figuras 1 e 2 ilustram a diferença entre um processo biológico e uma via metabólica, respectivamente.

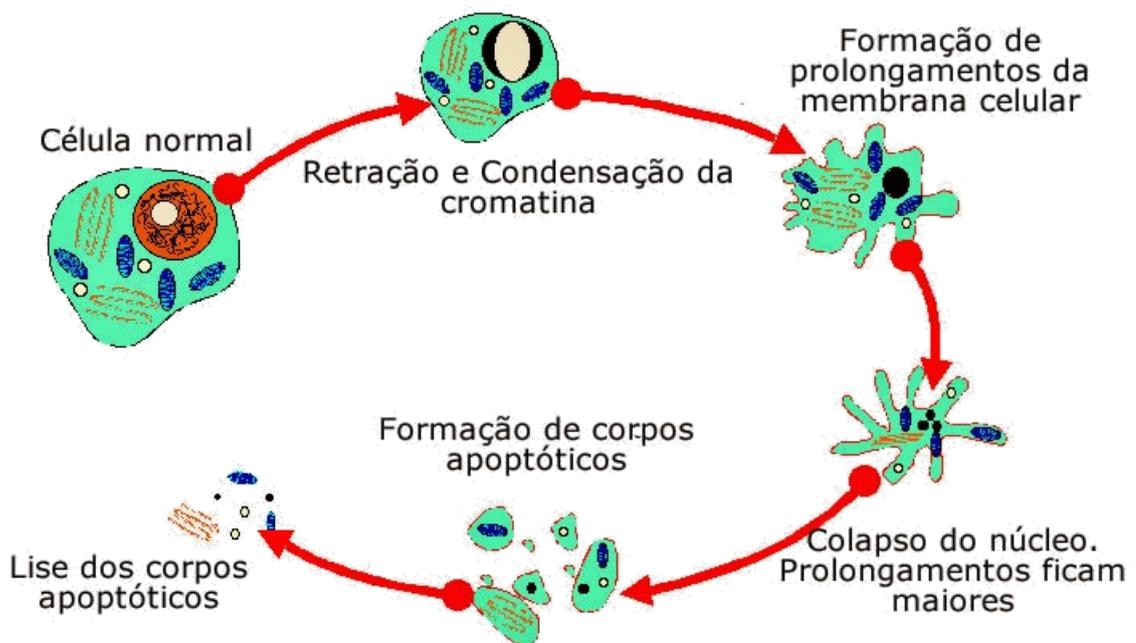


Figura 1. Processo biológico da apoptose celular. Fonte: <http://drcarlosrey.blogspot.com/2014/07/apoptose-o-que-causa-e-qual-funcao.html>.

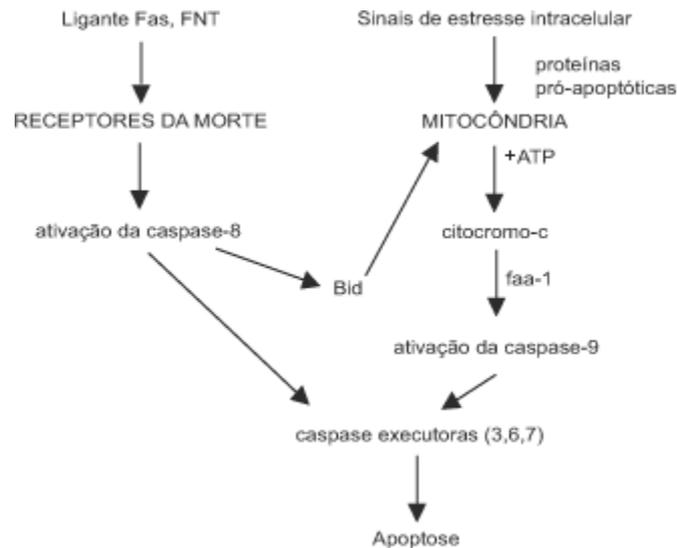


Figura 2. Vias metabólicas da apoptose, podendo ocorrer em duas situações: indução da apoptose pela via de receptores da morte (ligantes Fas e FNT) e por disfunção mitocondrial (sinais de estresse intracelular). Fonte: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032001000200011.

Para que este tipo de análise seja realizada, diversos bancos de dados públicos concentram-se na anotação e apuração dos dados funcionais e vias metabólicas de genes, sendo estes o *Ensembl*, *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* (DAVID), *Integrative Visual Analysis Tool for Biological Networks and Pathways* (VisANT) e *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), entre outros (Rebhan et al., 1998; Wheeler et al., 2000; Constanzo et al., 2001; Wu et al., 2002; Granger, et al., 2016). A plataforma de anotação DAVID oferece alta cobertura dos dados funcionais para poucos ou para uma grande lista de genes, ainda que não seja fornecido as informações de interações entre os genes submetidos. No entanto esta plataforma dispõe de ferramentas de visualização que permitem a visualização da anotação biológica, classificação funcional e descoberta de mapas de vias bioquímicas para diversas espécies. Para isto, o DAVID utiliza informações de outros bancos de dados como o QuickGO e o KEGG (Dennis Jr. et al., 2003).

O KEGG, mais utilizado para verificação de vias metabólicas, consiste em uma base de dados que realiza uma análise sistemática das funções genéticas e caminhos metabólicos, ligando informações genômicas com informações funcionais de ordem superior. Estes dados de ordem superior são constituídos por um conjunto de processos celulares como metabolismo, transporte de membrana e transdução de sinal ou ciclo celular, que são utilizados para prever as funções gênicas e as vias nas quais estão inseridos. Há ainda outro conjunto de dados que auxilia nesta predição, o qual fornece informações sobre os compostos químicos, moléculas de enzimas e reações enzimáticas (Kanehisa & Goto, 2000).

Assim, estes bancos de dados são de grande importância para a compilação de dados funcionais e entendimento dos mecanismos de funcionamento de genes, auxiliando na seleção de genes candidatos para características de interesse econômico.

3. HIPÓTESES A SEREM TESTADAS

3.1. Os genes identificados pelo mapeamento de regiões genômicas estão relacionados com as características avaliadas neste estudo (espessura de gordura subcutânea, EGS; marmoreio, MARM; área de olho de lombo, AOL; peso ao sobreano, PESO; pelagem, PELO e circunferência escrotal, CE).

3.2. Cada gene possui pelo menos um processo biológico, componente celular, função molecular e está inserido em pelo menos uma via metabólica do organismo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Explorar regiões genômicas previamente encontradas por GWAS visando a prospecção de genes associados com características de interesse econômico em bovinos da raça Canchim, contribuindo, assim, para o melhoramento genético da raça.

4.2. Objetivos específicos

4.2.1. Mapear as regiões genômicas encontradas nos estudos de GWAS para identificação de genes candidatos pela plataforma *Ensembl*;

4.2.2. Identificar a funcionalidade dos genes candidatos nas categorias: componente celular, processo biológico, função molecular e vias metabólicas utilizando-se o banco de dados DAVID (*Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*);

4.2.3. Verificar os termos ontológicos e as vias metabólicas relacionadas com as características do presente estudo pelos bancos de dados *QuickGO*, *ViSANT (Integrative Visual Analysis Tool for Biological Networks and Pathways)* e *KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)*.

4.2.4. Selecionar genes candidatos para as características avaliadas pela filtragem de termos ontológicos contidos nos resultados da anotação funcional.

5. REFERÊNCIAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Perfil da Pecuária no Brasil: **Relatório Anual**. 2017. Disponível em: <<http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>>

ALENCAR, M. M. Bovino – **Raça Canchim: origem e desenvolvimento**. Brasília: EMBRAPA – DPU, 102p. (EMBRAPA – DPU. Documento, 4). 1988.

BARBOSA, P.F. Circular Técnica: **A raça Canchim em cruzamentos para produção de carne bovina**. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, dezembro de 2004.

BOLIGON, A.A.; RORATO, P.R.N.; ALBUQUERQUE, L.D. Correlações genéticas entre medidas de perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas de fêmeas da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia** 36 (3):565-571. 2007.

COSTANZO, M.C.; CRAWFORD, M.E.; HIRSCHMAN, J.E.; KRANZ, J.E.; OLSEN, P.; ROBERTSON, L.S.; SKRZYPEK, M.S.; BRAUN, B.R.; HOPKINS, K.L.; KONDU, P. YPD™, PombePD™, and WormPD™: model organism volumes of the BioKnowledge™ library, an integrated resource for protein information. **Nucleic Acids Res.** 29: 75-79. 10.1093/nar/29.1.75. 2001.

DENNIS JR., G.; SHERMAN, B.T.; HOSACK, D.A.; YANG, J.; GAO, W.; LANE, H. C.; LEMPICKI, R.A. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. **Genome Biology**, 4:R60. 2003.

FORDYCE, G.; MCGOWAN, M.R.; LISLE, A.; MULLER, T.; ALLEN, J.; DUFF, C.; HOLROYD, R.G.; CORBET, N.J.; BURNS, B.M. Scrotal circumference of Australian beef bulls. **Theriogenology** 81 (6):805-812. 2014.

GARCIA, J.F. Utilização de marcadores moleculares para a seleção. Anais: **2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina, PR, 2006.

GUEDES, R. L. M. Desenvolvimento das ferramentas SeedServer, para agrupamento de sequências proteicas homólogas e U-MAGE, para propagação de ontologia funcional. **Tese de doutorado**, Instituto de Ciências Biológicas - UFMG, Área de Bioinformática. Belo Horizonte, MG, abril de 2013.

HINDORFF, L.A. A catalog of published genome-wide association studies. **National Human Genome Research Institute**, 2011.

HOASHI, S.; HINENOYA, T.; TANAKA, A. Association between fatty acid compositions and genotypes of *FABP4* and *LXR-alpha* in Japanese Black cattle. **BMC Genetics**, v. 9, p. 2156-2159, 2008.

HUERTA-LEIDENZ, N.O.; CROSS, H.R.; SAVELL, J.W.; LUNT, D.K.; BAKER, J.F.; SMITH, S.B. Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from male calves at different stages of growth. **J Anim Sci**, v.4, p.1256–1264, 1996.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. Volume 44, 2016, Brasil. ISSN 0101-4234. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, v.44, p.1-53, 2016.

JERMEY, J.; BROWNE, G. **Website Indexing: Enhancing Access to information within websites**. Blaxband, NSW. 2004.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic Acids Res.** 28 (1): 27–30. 2000.

LI, M.; TIIRIKKA, T.; KANTANEN, J. A genome-wide scan study identifies a single nucleotide substitution in ASIP associated with white versus non-white coat-colour variation in sheep (*Ovis aries*). **Heredity** 112 (2):122-131. 2014.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: LinBife, 134p. 2000.

MAGOLSKI, J. D. et al. Relationship between commercially available DNA analysis and phenotypic observations on beef quality and tenderness. **Meat Science**, v. 95, n. 3, p. 480–5, 2013.

MEIRELLES, S.L.C.; ALENCAR, M.M.; OLIVEIRA, H.N.; REGITANO, L.C.A. Efeitos de ambiente e estimativas de parâmetros genéticos para características de carcaça em bovinos da raça Canchim criados em pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 39: 1437-1442. 2010.

MENEZES, J. J. L.; GONÇALVES, H. C.; RIBEIRO, M. S.; RODRIGUES, L.; CAÑIZARES, G. I. L.; MEDEIROS, B. B. S. Efeitos do sexo, do grupo racial e da idade ao abate nas características de carcaça e maciez da carne de caprinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 9, p. 1769-1778, 2009.

MICHAL, J.J.; ZHANG, Z.W.; GASKINS, C.T. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. **Animal Genetics**, v. 37, p. 400-402, 2006.

NICOLAU, C.; SILVA, R.; MOTA, L.; VERÍSSIMO, C. Características da pele e do pelame em bovinos da raça Caracu. **Arch Zootec** 53:25-34. 2004.

OLIVEIRA, G.; ALENCAR, M. **Resistência de bovinos ao carrapato (*Boophilus microplus*)**. 1986.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R. Ciência, higiene e tecnologia da carne. Goiânia, GO: **Editora da UFG**, 586p. 1995.

PERRY, D.; NICHOLLS, P.J.; THOMPSON, J.M. The effect of sire breed on the melting point and fatty acid composition of subcutaneous fat in steers. **J Anim Sci**, v.76, p.87–95, 1998.

PEROTTO, D.; ABRAHÃO, J. J. S.; CUBAS, A. C. Efeitos da raça e da heterozigose sobre características ponderais de bezerros Nelore e mestiços Red Angus x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 3, p. 504-511, 1999.

PEREIRA, E.; ELER, J.; COSTA, F.; FERRAZ, J. Análise genética da idade ao primeiro parto e do perímetro escrotal em bovinos da raça Nelore. **Arq bras med vet zootec** 53 (1):116-121. 2001.

PORTO-NETO, L.R.; KIJAS, J.W.; REVERTER, A. The extent of linkage disequilibrium in beef cattle breeds using high-density SNP genotypes. **Genetics Selection Evolution** 46 (1):1. 2014.

Programa Geneplus/Embrapa Gado de Corte. **Sumário de Touros Canchim, MA e Charolês: Edição Primavera/2017.** Disponível em: <<http://geneplus.cnpqg.embrapa.br/sumarios/canchim2017/index.php?tp=introd>> Acesso em: 15/02/2018.

REBHAN, M.; CHALIFA-CASPI, V.; PRILUSKY, J.; LANCET, D. GeneCards: a novel functional genomics compendium with automated data mining and query reformulation support. **Bioinformatics**. 14: 656-664. 10.1093/bioinformatics/14.8.656. 1998.

ROMERO, A.R.S.; SIQUEIRA, F.; SANTIAGO, G.G.; REGITANO, L.C.A.; SOUZA JUNIOR, M.D.; TORRES JUNIOR, R.A.A.; NASCIMENTO, A.V.; GRISOLIA, A.B. Prospecting genes associated with navel length, coat and scrotal circumference traits in Canchim cattle. **Livestock Science**. 210, 33-38. 2018.

ROSSATO, L.V.; BRESSAN, M.C.; RODRIGUES, E.C.; GAMA, L.T.; BESSA, R.J.B.; ALVES, S.P.A. Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. **Rev Bras Zootec**, v.39, n.5, p.127-1134, 2010.

SANTIAGO, G.G.; CARDOSO, F.F.; REGITANO, C.A.; VENTURA, R.; SOLERRO, B.P.; SOUZA JÚNIOR, M.D.; MOKRY, F.B.; FERREIRA, A.B.R.; TORRES JUNIOR, R.A.A. Genomewide association study for production and meat quality traits in Canchim beef cattle. **J Anim Sci**. 2017.95:3381-3390.2017.

SCHADT, E.E. Molecular networks as sensors and drivers of common human diseases. **Nature**, 461 (7261), 218-223, 2009.

SILVA, F. L.; FRAGA, A. B.; ESPÍNDOLA FILHO, A. M.; PEDROSA, A. C. Desempenho de bovinos no Estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 2, p. 219-230, 2008.

SMITH, B.; WILLIAMS, J.; SCHULZE-KREMER, S. The Ontology of the Gene Ontology. **Proceedings of AMIA Symposium**. 2003.

SOUZA JUNIOR, M.D. Alternativas de raças maternas e terminais na produção de novilhos cruzados em sistema superprecoce. **Mestrado (dissertação)**, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Campo Grande, MS, 2011.

SOUZA, F. P. O mercado da carne bovina no Brasil. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba, v. 6, n. 3, p. 427-434, jul./set. 2008.

SUGUISAWA, L ; SOUTELL, R.V.G.; SILVA, C.L.S.P; FONZAR, J.F.; OLIVEIRA, F.P.MARINI, A.; JÚNIOR, A.G.; FILHO, W.F. Utilização de marcadores moleculares para qualidade de carne em bovinos de corte. **Ciê. Agr. Saúde**. FEA, Andradina, v. 2, n. 2, p 43-46, 2002.

THOMAS, P. D.; LEWIS, S. Ontology annotation: mapping genomic regions to biological function. **Current Opinion in Chemical Biology**, 7:4-11. 2007.

TIZIOTO, P.C.; VENERONI, G.B.; MEIRELLES, S.L.; IBELLI, A.M.G.; ALENCAR, M.M.; OLIVEIRA, H.N.; REGITANO, L.C.A. Estudo de associação entre um SNP do gene FABP4 e espessura de gordura subcutânea em uma população de bovinos da raça Canchim. Anais: **47^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Salvador, BA. 2010.

UTSUNOMIYA, Y.T.; CARMO, A.S.; NEVES, H.H.; CARVALHEIRO, R.; MATOS, M.C.; ZAVAREZ, L.B.; ITO, P.K.; O'BRIEN, A.M.P.; SÖLKNER, J.; PORTO-NETO, L.R. Genome-wide mapping of loci explaining variance in scrotal circumference in nellore cattle. **PloS One** 9 (2):e88561. 2014.

VIANNA, A. T.; GOMES, F. P.; SANTIAGO, M. Formação do Gado Canchim pelo Cruzamento Charolês-Zebu: trabalho realizado na Fazenda de Criação de São Carlos, SP. 2.ed. São Paulo: **Nobel**, 193p. 1978.

WANG, K. Analysing biological pathways in genome-wide association studies. **Nature Reviews Genetics**, 11 (12), 843-854, 2010.

WHEELER, D.L.; CHAPPEY, C.; LASH, A.E.; LEIPE, D.D.; MADDEN, T.L.; SCHULER, G.D.; TATUSOVA, T.A.; RAPP, B.A. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. **Nucleic Acids Res.** 28: 10-14. 10.1093/nar/28.1.10. 2000.

WU, C.H.; HUANG, H.; ARMINSKI, L.; CASTRO-ALVEAR, J.; CHEN, Y.; HU, Z-Z.; LEDLEY, R.S.; LEWIS, K.C.; MEWES, H-W.; ORCUTT, B.C.; The Protein Information Resource: an integrated public resource of functional annotation of proteins. **Nucleic Acids Res.** 30: 35-37. 10.1093/nar/30.1.35. 2002.

ARTIGO I

Anotação funcional e seleção de genes candidatos para características de interesse econômico em bovinos Canchim

Resumo

O setor brasileiro de carne bovina tem se preocupado não só com o aumento da produção, mas também com a qualidade da carne produzida. Uma das maiores dificuldades para os produtores é a melhoria da quantidade de gordura subcutânea e entremeada, ganho de peso, além de outras características de interesse zootécnico como a pelagem e a circunferência escrotal. Diversas ferramentas genéticas foram desenvolvidas para promover este tipo de melhoria, como o uso de genes candidatos e análises individuais e adjacentes de SNPs que controlam a manifestação de tais características, assim como estudos que podem elucidar a arquitetura biológica e metabólica envolvida na característica. Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo realizar uma análise funcional de genes obtidos de regiões genômicas previamente identificadas por estudos de associação ampla do genoma (GWAS). Foram prospectadas pelo banco de dados *Ensembl*, 36 regiões genômicas associadas com espessura de gordura subcutânea (EGS), marmoreio (MARM), área de olho de lombo (AOL), peso ao sobreano (PESO), pelagem (PELO) e circunferência escrotal (CE). Os 220 genes encontrados foram submetidos à anotação funcional pela ferramenta *Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* (DAVID) para verificar suas funcionalidades nas categorias processo biológico, componente celular, função molecular e vias metabólicas, e foram obtidas 186 anotações. Para a verificação das vias metabólicas, foi utilizado o banco de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG). Posteriormente, foram selecionados os genes candidatos a partir de termos ontológicos e de vias metabólicas relacionados com tecido adiposo, tecido muscular, desenvolvimento e proliferação celular, pelagem e bolsa escrotal, sendo estes obtidos pelos bancos de dados *QuickGO* e *Integrative Visual Analysis Tool for Biological Networks and Pathways* (VisANT). Outro critério de seleção utilizado para a seleção de genes foi a identificação prévia dos mesmos na literatura. Após esta filtragem, foram selecionados 29 genes considerados como potenciais candidatos para as características avaliadas, sendo dois genes para EGS, três para MARM, 15 para AOL, seis para PESO, um para PELO e cinco para CE. Os resultados obtidos neste estudo

Palavras-chave: Canchim, características zootécnicas, ontologia de genes, regiões genômicas

1. INTRODUÇÃO

O valor comercial da carcaça bovina é determinado por um conjunto de características, em que o peso, o rendimento, a gordura da cobertura e o marmoreio se destacam. Portanto, a melhoria genética das características de crescimento, a qualidade da carne e da carcaça é uma ferramenta importante para agregar valor ao produto final, assim como a melhoria de características funcionais e reprodutivas, como pelagem e circunferência escrotal.

A raça Canchim (Bimestiço 5/8 Charolês-Zebu) foi desenvolvida no Brasil, com o objetivo de reunir a rusticidade Zebu com a produtividade de Charolês, pois a raça Charolesa apresenta bom rendimento de carcaça com alta proporção de gordura intramuscular, no entanto, esta raça não se adaptou às condições climáticas da maioria das regiões do Brasil (Vianna, 1978). Para a criação do Canchim, foram utilizadas raças zebuínas, como a raça Nelore, que apresenta produção de carne inferior ao Charolês, porém possui adaptação ao clima tropical. Assim, o cruzamento entre o Charolês e o Nelore resultou em um animal resistente ao calor e à ectoparasitas, além de produzir carne de qualidade, ainda que seja tardio para deposição de gordura.

No entanto, um dos maiores desafios para os produtores brasileiros é a melhoria destas características de interesse zootécnico, o que incentivou o desenvolvimento de estratégias e ferramentas para a melhoria genética de animais para diferentes fins de produção. Estudos como o *Genome-Wide Association Study* (GWAS) permitem a identificação de regiões genômicas que controlam a expressão fenotípica de características quantitativas (QTLs) e avalia um grande número de marcadores em uma população com o objetivo de revelar associações entre SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) e fenótipo (Hirschhorn e Daly, 2005), seguido pelo estudo de Genômica funcional, que permite a visualização das funções e caminhos metabólicos de genes, a fim de elucidar os componentes e rotas responsáveis pelo desenvolvimento de características de interesse econômico.

63 Desta forma, o conhecimento das vias metabólicas nas quais os genes estão inseridos e
64 as funções que os mesmos exercem sobre as características zootécnicas podem ser úteis para a
65 definição de estratégias de seleção mais acuradas para a obtenção dos fenótipos de interesse.

66

67 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

68

69 Para análise funcional, foram utilizados dados obtidos de dois estudos de associação
70 ampla do genoma (Santiago et al., 2017; Romero et al., 2018) realizados no Laboratório de
71 Genômica e Melhoramento Animal da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande/MS. Será
72 apresentada abaixo a metodologia utilizada para obtenção de dados e para o desenvolvimento
73 do presente estudo.

74

75 **2.1. Dados fenotípicos e amostras biológicas**

76 Santiago et al. (2017) utilizou dados fenotípicos de animais Canchim provenientes da
77 Embrapa Pecuária Sudeste (São Carlos, SP) e da Embrapa Gado de Corte. Da Embrapa
78 Pecuária Sudeste foram obtidas informações fenotípicas de 1.652 animais, sendo 777 machos
79 e 875 fêmeas, onde 1.231 eram da raça Canchim e 421 do grupo genético MA (progênie de
80 touro Charolês e vaca $\frac{1}{2}$ Canchim + $\frac{1}{2}$ Zebu, que apresenta em média 65,6% Charolês e
81 34,4% Zebu). Em relação à Embrapa Gado de Corte, foram coletadas informações fenotípicas
82 e amostras biológicas de 976 bezerros machos, sendo 854 indivíduos da raça Canchim e 122
83 do grupo genético MA, participantes de sete edições das PCADs (Prova Canchim de
84 Avaliação de Desempenho) promovidas pela Associação Brasileira dos Criadores de Canchim
85 (ABCCAN) e Programa Geneplus/Embrapa.

86 Nas PCADs, foram coletadas informações fenotípicas de peso ao sobreano (PESO),
87 área de olho de lombo (AOL), marmoreio (MARM) e espessura de gordura subcutânea sobre

88 o lombo (EGS). As medidas de EGS (mm) e AOL (cm²) foram coletadas transversalmente no
89 músculo *longissimus* na região entre a 12^a e 13^a costelas com um equipamento de
90 ultrassonografia com transdutor linear de 3,5 MHz ASP 30C/18 cm, específico para avaliação
91 de carcaça.

92 Também foram coletadas amostras de sangue em tubos a vácuo (Vacutainer®) de 4,5
93 mL contendo K3 EDTA, que em seguida foram processadas para obtenção dos leucócitos.
94 Também foram coletadas amostras de sêmen de touros que são pais de alguns bezerros
95 representativos das PCADs. As extrações de DNA das amostras biológicas foram realizadas
96 utilizando protocolo descrito por Regitano & Coutinho (2001). As genotipagens foram feitas
97 por empresas prestadoras de serviços e todos os animais foram genotipados por meio da
98 tecnologia Illumina®, utilizando-se painéis de diferentes densidades.

99 Romero et al. (2018) utilizou uma população de estudo constituída pelos mesmos
100 animais de Santiago et al. (2017), diferindo na quantidade e nos fenótipos avaliados, sendo
101 1.120 touros da raça Canchim dos quais foram obtidos valores de DEPs (Diferença Esperada
102 pela Progênie) para circunferência escrotal (CE) e pelagem (PELO).

103

104 **2.2. Estudo de associação ampla do genoma (GWAS)**

105 Em ambos os trabalhos citados (Santiago et al., 2017; Romero et al., 2018) as
106 características foram analisadas por GWAS sob um modelo Bayesiano. A associação entre as
107 regiões genômicas e as características fenotípicas foi avaliada utilizando-se 2.521 janelas de
108 1Mb (1 milhão de pares de bases) não sobrepostas, incluindo número variável de SNPs. A
109 proporção da variância genética aditiva esperada para uma única janela foi calculada de
110 acordo com Onteru et al. (2013), onde $100\% / 2.521$, que resultou em 0,039%. Portanto,
111 janelas que explicaram pelo menos 0,19% da variância genética, que é cinco vezes maior do
112 que o esperado ($0,039\% * 5 = 0,19\%$) foram consideradas como regiões associadas à QTLs.

113 Porém, no intuito de aumentar a quantidade de janelas para o presente estudo, foram obtidas
114 aquelas que explicassem uma variância genética três vezes maior que o esperado, sendo
115 $0,039\% * 3 = 0,12\%$.

116 No total, foram encontradas 36 regiões genômicas associadas significativamente
117 ($P > 0.000$) com as características avaliadas, sendo duas para EGS, três para MARM, dez para
118 AOL, seis para PESO, quatro para PELO e dez para CE. Em relação à EGS, foram
119 encontradas as janelas 1105, no cromossomo 9, e a janela 1553, no cromossomo 14. Quanto
120 ao MARM, foram encontradas as janelas 69, 2017 e 345, nos cromossomos 1, 3, e 20,
121 respectivamente. Para a característica de AOL, foram identificadas as janelas 69, 562, 954,
122 1105, 1212, 1391, 1461, 1716, 1799 e 2017. Estas janelas estão alocadas, respectivamente,
123 nos cromossomos 1, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, e 20. Já para PESO foram encontradas seis
124 janelas, sendo estas: 699, 700, 701, 704, 707 e 708, sendo todas localizadas no cromossomo 6.
125 Foram observadas regiões em comum entre EGS e AOL (janela 1105) e entre MARM e AOL
126 (janelas 69 e 2017).

127 Para PELO, foram encontradas quatro janelas: 332, 1986, 1987 e 1998, sendo a
128 primeira contida no cromossomo 3 e as restantes no cromossomo 20. E para CE, foram
129 identificadas as janelas 9, 71 e 117 no cromossomo 1; 892 no cromossomo 7; janela 1000 no
130 8; janelas 1353 e 1375 no cromossomo 12; janela 1793 no cromossomo 17; 2066 no
131 cromossomo 21 e a janela 2286 no cromossomo 25. Não foram observadas regiões repetidas
132 entre estas características.

133 Cada região genômica possui um valor de variância explicada que atua sobre a
134 característica, sendo o total da soma das variâncias igual a 0.24 para EGS, 0.36 para MARM,
135 1.36 para AOL, 7.6 para PESO, 0.78 para PELO e 1.89 para CE. As janelas associadas e suas
136 respectivas posições cromossômicas, assim como os valores de variância genética explicada
137 estão dispostos na tabela 1.

138 **Tabela 1.** Janelas, posição no cromossomo em pares de bases (pb), p-valor e variância
 139 genética explicada (% Var) para EGS e MARM.

Janela	Cromossomo	Início	Fim	p>0	% Var.
Espessura de gordura subcutânea					
1105 ^E	9	97004778	97992283	0.000	0.12
1553 ^E	14	53003780	53998524	0.000	0.12
Marmoreio					
69 ^E	1	69001692	69998748	0.000	0.12
345 ^E	3	49001262	49997411	0.000	0.12
2017 ^E	20	58008864	58979686	0.000	0.12
Área de olho de lombo					
69 ^E	1	69001692	69998748	0.000	0.23
562 ^E	5	23009037	23998260	0.000	0.14
954 ^E	8	60002299	60995503	0.000	0.14
1105 ^E	9	97004778	97992283	0.000	0.13
1212 ^S	10	100008208	100999802	0.000	0.12
1391 ^E	12	66002783	66993895	0.000	0.12
1461 ^E	13	45021019	45998373	0.000	0.12
1716 ^E	16	46008112	46988451	0.000	0.12
1799 ^E	17	47012063	47990921	0.000	0.12
2017 ^E	20	58008864	58979686	0.000	0.12
Peso ao sobreano					
699 ^S	6	38000269	38992821	0.001	6.66
700 ^S	6	39008216	39935697	0.001	0.27
701 ^S	6	40005821	40998717	0.001	0.23
704 ^E	6	43005824	43989905	0.001	0.19
707 ^E	6	46009755	46999846	0.001	0.13
708 ^S	6	47003408	47999518	0.001	0.12
Pelagem					
332 ^R	3	36000665	36995924	0.006	0.32
1986 ^E	20	27032828	27999074	0.012	0.18
1987 ^E	20	28000936	28939122	0.021	0.16
1998 ^E	20	39022432	39997182	0.028	0.12
Circunferência escrotal					
9 ^E	1	9218306	9997599	0.139	0.18
71 ^R	1	71001536	71997868	0.119	0.21
117 ^E	1	117022035	117979037	0.192	0.13
892 ^E	7	111033960	111997774	0.206	0.13
1000 ^R	8	106001959	106996237	0.038	0.30
1353 ^R	12	28013232	28999952	0.090	0.23
1375 ^E	12	50063277	50999539	0.231	0.13
1793 ^E	17	41025917	41998657	0.156	0.15
2066 ^R	21	35026794	35999106	0.057	0.29
2286 ^E	25	5003998	5997480	0.178	0.14

140 ^S = Janelas encontradas por Santiago et al. (2017);

141 ^R = Janelas encontradas por Romero et al. (2018);

142 ^E = Janelas expandidas para o presente estudo.

143 **2.3. Análise funcional**

144 As regiões encontradas por GWAS foram exploradas quanto a sua localização para a
145 prospecção de genes utilizando-se do banco de dados *Ensembl* (Cunningham et al., 2015). Foi
146 utilizada a categoria de organismo “cow” para obter os códigos e informações detalhadas de
147 cada gene presentes nas regiões.

148 Após a obtenção dos códigos de identificação dos genes encontrados, os mesmos
149 foram submetidos à ferramenta *Database for Annotation, Visualization, and Integrated*
150 *Discovery* – DAVID (Dennis Jr, et al., 2003) com o critério de identificação
151 “ENSEMBL_GENE_ID”, espécie *Bos taurus* e classificação da lista como “Gene List”, e
152 tiveram sua funcionalidade verificada nas categorias: componente celular, processo biológico,
153 função molecular e vias metabólicas. As listas foram submetidas separadamente, ou seja, foi
154 gerada uma lista para cada característica (EGS, MARM, AOL, PESO, PELO e CE).

155 Os termos ontológicos e de vias metabólicas foram obtidos pelos bancos de dados
156 *QuickGO* (Binns, et al., 2009) e *Integrative Visual Analysis Tool for Biological Networks and*
157 *Pathways* - VisANT (Granger, et al., 2016), respectivamente, sendo os termos relacionados
158 com deposição de gordura; desenvolvimento de tecido adiposo; síntese, biosíntese ou
159 degradação de ácidos graxos; lipídeos; açúcares; carboidratos; corpos cetônicos;
160 desenvolvimento, proliferação ou diferenciação celular; vitamina A; tecido muscular
161 esquelético; apetite; metabolismo; células capilares; pigmentação; células de sertoli;
162 espermatogênese e testosterona.

163 Para certificar-se que os termos estavam inseridos no desenvolvimento das
164 características, as vias metabólicas dos mesmos foram conferidas individualmente pelo banco
165 de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* - KEGG (Kanehisa & Goto, 2000).

166 Todos os genes encontrados foram filtrados para a seleção daqueles que possivelmente
167 atuam sobre as características, adotando-se como critérios de seleção a anotação funcional e

168 as vias metabólicas que estejam relacionadas com tecido adiposo, tecido muscular, pelagem,
169 células reprodutivas, desenvolvimento e proliferação celular, e pela identificação prévia do
170 gene em estudos já publicados na literatura (CATOIA, 2014).

171

172 **3. RESULTADOS**

173

174 Após o mapeamento das regiões genômicas pelo *Ensembl* foram identificados 220
175 genes, sendo 14 para EGS, 15 para MARM, 84 para AOL, 26 para PESO, 17 para PELO e 64
176 para CE. Porém, foi observada ausência de genes em duas janelas para peso, as quais foram
177 obtidas por Santiago et al. (2017).

178 Dos resultados da análise ontológica, foram obtidas anotações de 11 genes para EGS, 14
179 para MARM, 70 para AOL, 25 para PESO, 15 para PELO e 51 para CE. Isto ocorre, pois não
180 há dados para alguns genes na categoria *Bos taurus*. Desta forma, na tentativa de aumentar o
181 número de genes anotados, foi realizado um teste de anotação funcional pelo banco de dados
182 *Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships* - PANTHER (Mi et al., 2013),
183 seguindo as mesmas configurações utilizadas na ferramenta DAVID, porém o número de
184 genes anotados foi igual ou muito próximo ao que foi obtido originalmente. O número de
185 genes identificados e selecionados para cada janela encontram-se na tabela 2.

186 Os principais termos ontológicos (*GO Terms*) verificados e que foram utilizados para a
187 filtragem dos genes estão dispostos em anexo. Já as informações gerais dos genes
188 selecionados estão dispostas nas tabelas 3.1 e 3.2.

189

190 **Tabela 2.** Número de genes identificados e selecionados em cada janela.

Janela	Cromossomo	Genes contidos	Genes selecionados
Epessura de gordura subcutânea			
1105	9	13	2
1553	14	1	0
Marmoreio			
69	1	5	1
345	3	6	2
2017	20	4	0
Área de olho de lombo			
69	1	5	1
562	5	6	1
954	8	40	7
1105	9	13	2
1212	10	2	1
1391	12	1	0
1461	13	2	1
1716	16	5	1
1799	17	6	1
2017	20	4	0
Peso ao sobreano			
699	6	11	3
700	6	0	0
701	6	0	0
704	6	3	1
707	6	8	1
708	6	4	1
Pelagem			
332	3	2	0
1986	20	1	0
1987	20	2	0
1998	20	12	1
Circunferência escrotal			
9	1	2	0
71	1	20	1
117	1	7	0
892	7	2	0
1000	8	1	1
1353	12	8	2
1375	12	2	0
1793	17	8	1
2066	21	14	0
2286	25	0	0

191 **Tabela 3.1.** Dados dos genes potencialmente candidatos para EGS, MARM e AOL.

Gene e símbolo	ID	Janela	Cromossomo
Espessura de gordura subcutânea			
Acetyl-CoA acetyltransferase 2 (ACAT2)	ENSBTAG00000002827	1105	9
Solute carrier family 22 member 3 (SLC22A3)	ENSBTAG00000039080	1105	9
Marmoreio			
Uridine monophosphate synthetase (UMPS)	ENSBTAG00000013727	69	1
ATP binding cassette subfamily A member 4 (ABCA4)	ENSBTAG00000018010	345	3
Glutamate-cysteine ligase modifier subunit (GCLM)	ENSBTAG00000007842	345	3
Área de olho de lombo			
Uridine monophosphate synthetase (UMPS)	ENSBTAG00000013727	69	1
Suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS2)	ENSBTAG00000012007	562	5
cAMP responsive element binding protein 3 (CREB3)	ENSBTAG00000011429	954	8
Calicin (CCIN)	ENSBTAG00000021696	954	8
Glucosamine (UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (GNE)	ENSBTAG00000001142	954	8
Glucosylceramidase beta 2 (GBA2)	ENSBTAG00000011431	954	8
Transmembrane protein 8B (TMEM8B)	ENSBTAG00000011445	954	8
Tropomyosin 2 (beta) (TPM2)	ENSBTAG00000011424	954	8
Carbonic anhydrase 9 (CA9)	ENSBTAG00000011420	954	8
Acetyl-CoA acetyltransferase 2 (ACAT2)	ENSBTAG00000002827	954	8
Solute carrier family 22 member 3 (SLC22A3)	ENSBTAG00000039080	954	8
Galactosylceramidase (GALC)	ENSBTAG00000001124	1212	10
Phosphofructokinase, platelet (PFKP)	ENSBTAG00000002683	1461	13
TNF receptor superfamily member 9 (TNFRSF9)	ENSBTAG00000003313	1716	16
Frizzled class receptor 10 (FZD10)	ENSBTAG00000007047	1799	17

192 Pb = pares de bases.

193

194 **Tabela 3. 2.** Dados dos genes potencialmente candidatos para PESO, PELO e CE.

Gene e símbolo	ID	Janela	Cromossomo
Peso ao sobreano			
Cholecystokinin A receptor (CCKAR)	ENSBTAG00000004988	708	6
Glucosidase, beta, acid 3 (cytosolic) (GBA3)	ENSBTAG00000020363	704	6
Leucine aminopeptidase 3 (LAP3)	ENSBTAG00000005989	699	6
Mediator complex subunit 28 (MED28)	ENSBTAG00000019441	699	6
Non-SMC condensin I complex subunit G (NCAPG)	ENSBTAG00000021582	699	6
Phosphatidylinositol 4-kinase type 2 beta (PI4K2B)	ENSBTAG00000006492	707	6
Pelagem			
Solute carrier family 45 member 2 (SLC45A2)	ENSBTAG00000018235	1998	20
Circunferência escrotal			
Tyrosine kinase non receptor 2 (TNK2)	ENSBTAG00000021364	71	1
Tenascin C (TNC)	ENSBTAG00000000575	1000	8
BRCA2, DNA repair associated (BRCA2)	ENSBTAG00000000988	1353	12
PDS5 cohesin associated factor B (PDS5B)	ENSBTAG00000011597	1353	12
Relaxin/insulin like family peptide receptor 1 (RXFP1)	ENSBTAG00000010306	1793	17

195 Pb = pares de bases.

196 4. DISCUSSÃO

197 Foi observado, nos dados obtidos por Santiago et al., (2017), que duas janelas associadas
198 significativamente com peso ao sobreano e que explicam determinada variância genética da
199 característica na verdade não possuem genes, o que indica que estas regiões genômicas podem
200 estar se comportando como falsos positivos. Diversos autores explicam as causas que podem
201 gerar este tipo de resultado. Segundo Dekkers et al. (2004), uma justificativa para este
202 ocorrido pode ser resultante de associações espúrias entre marcadores e fenótipos causadas
203 por análises realizadas com reduzido número de amostras. Dekkers et al., (2004) afirmam que
204 é necessário que o tamanho da amostra seja suficientemente grande e representativo da
205 população de interesse, o que evita a superestimação dos efeitos de QTLs significativos
206 quanto a existência de falsos positivos e inconsistências em relação à fase de ligação
207 marcador-QTL.

208 Outro fator que pode contribuir para este tipo de resultado é o baixo valor da proporção da
209 variância genética (0,12%) utilizados para este trabalho, pois alguns autores, trabalhando com
210 bovinos e análises de GWAS sob enfoque Bayesiano, consideraram como regiões
211 significativas aquelas que explicavam mais de 1% da variância genética do fenótipo de
212 interesse (OLIVEIRA, 2014; DE OLIVEIRA JUNIOR, 2017).

213 Em relação aos resultados obtidos pela anotação funcional, foram selecionados dois
214 genes para espessura de gordura subcutânea. Um deles é o gene *acetyl-CoA acetyltransferase*
215 2 (ACAT2), que está envolvido no processo biológico de beta-oxidação de ácidos graxos,
216 inserido nas vias de degradação e metabolismo de ácidos graxos e síntese e degradação de
217 corpos cetônicos.

218 Este gene transcreve uma proteína de membrana integral do retículo endoplasmático
219 rugoso que catalisa a formação de ésteres de colesterol a partir do colesterol e ácidos graxos de
220 cadeia longa (Uelmen et al. 1995; Anderson et al., 1998), atuando na secreção de ésteres de

221 colesterol em lipoproteínas e é considerado como um marcador viável para tratamento e
222 prevenção de doenças associadas ao colesterol e transporte de lipídeos (Chang et al., 1997).
223 Em humanos, sua expressão está relacionada aos enterócitos e hepatócitos o que indica que o
224 mesmo pode estar envolvido na digestão e na gliconeogênese (Pramfalk et al., 2018). Ainda
225 que os dados literários não corroborem exatamente com o que foi encontrado na análise
226 funcional, observou-se que este gene está relacionado com lipídios em diversas maneiras, seja
227 no seu transporte, produção ou degradação, revelando que o mesmo pode ser estar envolvido
228 com a espessura de gordura subcutânea em bovinos.

229 Outro gene é o *solute carrier family 22 member 3* (SLC22A3), também conhecido
230 como *organic cation transporter 3* (OCT3) e está envolvido no processo biológico da
231 regulação de apetite, corroborando com o encontrado na literatura, pois o mesmo está
232 associado com a detecção da mudança na osmolaridade sanguínea e regulação da ingestão de
233 sal e água em camundongos e ruminantes (Ferguson and Bains, 1996; Bourque and Oliet,
234 1997; Johnson and Thunhorst, 1997; Fitzsimons, 1998; Vialou et al., 2004), o que pode
235 interferir na produção de tecido adiposo, sendo favorável para a característica de EGS.

236 Para marmoreio, foram selecionados três genes: UMPS, ABCA4 e GCLM. De acordo
237 com a análise ontológica, o gene *uridine monophosphate synthetase* (UMPS) está envolvido
238 em vias de processos metabólicos do organismo. Porém, de acordo com a literatura este gene
239 está relacionado com a maturação e a regeneração axônica do tecido nervoso, e em bovinos da
240 raça Holandesa, a deficiência deste gene é herdada como característica monossômica
241 autossômica recessiva onde os indivíduos heterozigotos são normais, com decréscimo de
242 atividade do gene em vários tecidos. Já em indivíduos homozigotos o gene pode causar
243 complicações no útero (Ryan et al. 1994). Desta forma, este gene pode não ser de interesse
244 para a característica de marmoreio, o que torna necessário a realização de estudos mais
245 aprofundados em bovinos.

246 A análise funcional revelou que o gene *glutamate-cysteine ligase modifier subunit*
247 (GCLM) também está envolvido em vias de processos metabólicos do organismo e é
248 responsável pela atividade catalítica de enzimas, onde a sua ligação com o gene GCLC
249 (*Glutamate--cysteine ligase catalytic subunit*) diminui o substrato de glutamato e ATP e
250 aumenta a constante inibitória de glutatona (Franklin et al., 2009). Este gene pode ser
251 considerado como candidato por estar relacionado com a produção de energia, sendo este um
252 processo que pode diminuir a quantidade de tecido adiposo de um indivíduo, e manifesta-se
253 praticamente em todas as células, porém seu nível de expressão varia de acordo com cada
254 uma (Dahl et al., 2001; Krzywanski et al., 2004).

255 Em contrapartida o gene *ATP binding cassette subfamily A member 4* (ABCA4) está
256 envolvido no processo biológico de transporte de lipídeos, corroborando com o resultado
257 obtido por Pollock e Callaghan (2011) que também observaram a relação deste gene no
258 transporte de lipídeos e com outros transportadores de colesterol, podendo ser considerado
259 como potencial candidato para marmoreio em bovinos.

260 Em relação à área de olho de lombo, foram selecionados 15 genes e como esta
261 característica compartilha termos ontológicos e janelas com EGS e MARM, os genes ACAT2,
262 SLC22A3 e UMPS também foram selecionados para AOL.

263 Diante dos resultados da análise funcional, o gene *frizzled class receptor 10* (FZD10)
264 participa do processo biológico de desenvolvimento multicelular do organismo e opera
265 diretamente em sarcomas sinoviais (Nagayama, 2009). Um estudo feito por Wang et al. 2005
266 mostrou por teste imunohistoquímico que o gene FZD10 é expresso primariamente no epitélio
267 distal das vias aéreas durante o desenvolvimento pulmonar de fetos, com decréscimo de
268 expressão ao longo da idade gestacional. Ainda que não foram encontrados relatos deste gene
269 com o desenvolvimento direto do músculo esquelético, foi possível observar que o mesmo

270 participa de outros desenvolvimentos celulares, o que pode ser de interesse para a
271 característica de AOL.

272 Já o gene *glucosylceramidase beta 2* (GBA2) está envolvido no processo biológico de
273 catabolismo da glucosilceramidase e inserido em vias metabólicas do organismo. Este gene
274 codifica uma enzima que é altamente expressa no cérebro, músculo esquelético, coração, rins
275 e placenta (Matern et al., 2001) e, sua associação com o músculo esquelético se dá pela
276 presença de mutações deste gene em pacientes com paraplegia espástica hereditária (Martin et
277 al., 2013) e ataxias cerebelares autossômicas recessivas (ACAR) com espasticidade (Hammer
278 et al., 2013). Apesar de estar associado com atrofia muscular em humanos, não há relatos do
279 comportamento deste gene ou suas mutações no músculo esquelético em bovinos.

280 A análise funcional revelou que o gene *carbonic anhydrase 9* (CA9) está inserido em
281 vias relacionadas ao metabolismo de nitrogênio, sendo importante para a síntese de proteínas
282 em ruminantes. O mesmo foi primeiramente encontrado em células HeLa e é expresso em
283 células metastáticas de câncer sob condição hipóxica (Li et al., 2007). Driessen et al. (2006)
284 avaliaram sua manifestação no sistema esofágico e gástrico em humanos, o que corrobora
285 parcialmente com o que foi encontrado neste estudo, pois ainda que sejam organismos com
286 sistemas digestivos distintos, este gene pode ser considerado como candidato para AOL, já
287 que o mesmo está relacionado com digestão e desenvolvimento muscular a partir da síntese
288 proteica.

289 Em sequencia, o gene *tumor necrosis factor receptor superfamily member 9*
290 (TNFRSF9) está envolvido no processo biológico da regulação da proliferação celular e
291 funciona como uma molécula induzível para células T (Mellero et al., 1997). Em estudos
292 utilizando suínos, este gene foi associado com peso ao nascimento (Zhang et al., 2014). Já
293 um estudo em camundongos revelou que este gene exerce uma importante função durante o
294 período de gravidez, participando do processo de fornecimento de nutrientes adequados para o

295 desenvolvimento do feto, o que também pode estar relacionado com peso ao nascimento
296 (Eckstrum et al., 2011). Desta forma, considerando-se que este gene está envolvido com o
297 peso do indivíduo, o mesmo é promissor para a característica de AOL, já que esta é uma das
298 características que influenciam o peso do animal.

299 Com processo biológico similar ao gene descrito acima, o gene *cAMP responsive*
300 *element binding protein 3* (CREB3), também conhecido como LZIP ou Luman, participa do
301 processo biológico da regulação do crescimento celular, o que corrobora com o estudo de Jin
302 et al. 2000, porém sabe-se pouco sobre o mecanismo deste processo. Também foi descrito que
303 este gene é o fator básico de transcrição da leucina (Freiman and Herr, 1997), atuando
304 também na glicoproteína transmembranar do retículo endoplasmático durante a resposta ao
305 stress (Raggio et al., 2002; Liang et al., 2006). Estudos relataram que o mRNA do CREB3 é
306 encontrado em vários tecidos fetais e adultos (Lu et al., 1997), nos testículos, ovários e útero
307 de camundongos (Audas et al., 2009; Lan et al., 2013). Porém, ainda que os dados da
308 literatura não indicam associação deste gene com o crescimento celular de músculo
309 esquelético, o mesmo pode ser considerado como candidato o desenvolvimento da área de
310 olho de lombo.

311 O gene *transmembrane protein 8B* (TMEM68) participa do processo biológico da
312 regulação de crescimento, é expresso no rúmen, abomaso, intestino e tecido adiposo e possui
313 atividade enzimática que catalisa reações importantes que envolvem proteínas, lipídeos ou
314 outros substratos localizados dentro ou perto de camadas lipídicas (Lindholm-Perry et al.,
315 2011), sendo totalmente favorável para a característica de AOL por estar relacionado com
316 digestão e, conseqüentemente, produção de tecido muscular.

317 De acordo com os resultados obtidos, o gene *phosphofructokinase, platelet* (PFKP)
318 está inserido nas vias de glicólise/glicogênese, fosfato pentose, metabolismo de frutose e
319 manose, metabolismo da galactose e biossíntese de aminoácidos. Na literatura, este gene é

320 relacionado à atividade glicolítica nas células do cumulus e no desenvolvimento de oócitos,
321 além de apresentar correlação positiva para gestação (Sugiura et al., 2007; Gebhardt et al.,
322 2011). Porém por estar inserido em vias metabólicas relacionadas à produção de açúcares e
323 energia, este gene pode ser viável para AOL, mesmo que seja relacionado com a degradação
324 de células do tecido adiposo ou muscular para produzir a energia de manutenção do organismo.

325 Não foram encontradas na literatura as funções biológicas e moleculares dos genes
326 CCIN, GALC, GNE, SOCS2 e TPM2.

327 Para o peso ao sobreano, foram selecionados seis genes potencialmente relacionados à
328 esta característica. Segundo a análise ontológica, o gene *non-SMC condensin I complex*
329 *subunit G* (NCAPG) está inserido no componente celular do citoesqueleto de actina e em
330 2009, Setoguchi e colaboradores localizaram um SNP no gene NCAPG (*NCAPG c.1326T>G*)
331 e o identificaram como candidato para a variação da musculabilidade em bovinos, o que pode
332 interferir no peso dos animais. Além disso, este SNP foi associado com peso ao nascimento
333 (Eberlein et al., 2009; Karim et al., 2011), altura e peso corporal na fase de crescimento pós-
334 desmana (Weikard et al. 2010; Karim et al. 2011; Setoguchi et al. 2011) e características de
335 carcaça (Gutiérrez-Gil et al. 2009; Weikard et al. 2010; Lindholm-Perry et al. 2011). Hoshiba
336 et al. 2010 associaram este SNP com menor espessura de gordura subcutânea e maior
337 rendimento de carcaça em animais da raça Wagyu.

338 Outro gene candidato para peso é *leucine aminopeptidase 3* (LAP3), que está
339 envolvido em vias metabólicas do organismo, na maturação e degradação de proteínas (Zheng
340 et al., 2011). Outros relatos observaram que este gene atua em vários órgãos e encontraram
341 associação com tecido renal, pancreático, muscular e hepático em diversas espécies (Cuypers
342 et al., 1982; Cohen-Zinder et al., 2005). Outros estudos identificaram os genes LAP3 e
343 NCAPG como candidatos funcionais para consumo de alimentos e ganho de peso, e
344 observaram associações dos mesmos com ganho médio diário e consumo médio diário em

345 novilhos cruzados (Lindholm-Perry et al., 2011). Assim, de acordo com os dados literários, é
346 possível afirmar que os genes LAP3 e NCAPG estão associados com ganho de peso em
347 bovinos de diversas raças e que são candidatos favoráveis para este estudo.

348 Conforme a análise funcional, o gene *mediator complex subunit 28* (MED28), também
349 chamado de *magicin*, está envolvido no processo biológico de regulação negativa da
350 diferenciação celular do músculo liso e na função molecular da ligação de actina. Beyer et al.
351 2007 observaram que a baixa regulação da expressão do gene MED28 em células de
352 fibroblastos resulta em uma significativa indução de vários genes associados com a
353 diferenciação de células do músculo liso (CML). Por outro lado, a superexpressão do MED28
354 reprime a expressão destes vários genes associado ao CML. No entanto, a musculatura lisa
355 pode influenciar no peso vivo do animal e no rendimento de carcaça devido ao peso dos
356 órgãos, sendo que os mesmos, quando mais pesados, requerem maior energia de manutenção,
357 podendo causar a perda de peso dos indivíduos. Desta forma, este gene pode ser candidato
358 para a característica de peso em bovinos, ainda que seja negativamente relacionado com a
359 mesma.

360 Em contrapartida, o gene *phosphatidylinositol 4-kinase type 2 beta* (PI4K2B) está
361 inserido em vias de metabolismo do organismo e é responsável pelo transporte intracelular de
362 lipídeos e proteínas, com uma ampla gama de funções de sinalização celular (Tai et al., 2011),
363 o que também pode afetar o ganho de peso de bovinos.

364 Outro gene favorável para peso é o *cholecystokinin A receptor* (CCKAR), que está
365 envolvido nos processos biológicos da digestão, comportamento alimentar e regulação de
366 secreção hormonal. Estes resultados corroboram com o encontrado na literatura, pois Moran
367 et al. 2000 descreve que o CCKAR é responsável pela regulação da digestão, saciedade e
368 neuromodulação do comportamento alimentar em diversas espécies. Outro estudo, utilizando

369 suínos, também encontrou associação deste gene com ingestão alimentar e ganho de peso
370 (Houston et al., 2007).

371 O gene *glucosidase, beta, acid 3* (GBA3) participa do processo metabólico de
372 carboidratos e está inserido na via metabólica de amido e sucrose. Este gene produz a proteína
373 glicosidase citosólica em mamíferos, que desempenha um papel de quebra de açúcares e está
374 associado à uma variação do câncer de estômago em humanos (Gopalan et al., 1992). Desta
375 forma, entende-se que além de estar envolvido com a produção de energia do organismo, o
376 GBA3 também pode estar relacionado com o desenvolvimento e proliferação celular,
377 podendo ser de interesse para a característica.

378 Para pelagem, foi selecionado apenas um gene: o *solute carrier family 45 member 2*
379 (SLC45A2), que está envolvido no processo biológico do desenvolvimento de pigmentação, o
380 que corrobora com alguns estudos encontrados, onde observaram que este gene está associado
381 à susceptibilidade de humanos em desenvolver melanoma maligno e também foram
382 encontrados neste gene dois polimorfismos fortemente associados com a pigmentação escura
383 de cabelos, pele e íris (Graf et al., 2005; Fernandez et al., 2008). Assim, este gene é um forte
384 candidato para este atributo.

385 Em relação à circunferência escrotal, foram selecionados cinco genes e em
386 conformidade com a análise funcional, o gene *relaxin/insulin like family peptide receptor 1*
387 (RXFP1) está envolvido no processo biológico de diferenciação celular e na função molecular
388 de ligação hormonal. De acordo com a literatura, este gene codifica um pequeno peptídeo
389 hormonal e é expresso em vários tipos de câncer de órgãos reprodutivos e endócrinos, assim
390 como em receptores andrógenos positivos e negativos e linhas celulares do câncer de próstata
391 (Feng et al., 2007). Em um estudo utilizando camundongos, foi identificado um siRNA capaz
392 de regular a expressão do gene RXFP1 em cânceres de próstata e endometrial (Kamat et al.
393 2006). Embora os estudos encontrados na literatura demonstrem a associação do gene com

394 diversos tipos de cânceres, entende-se que o RXFP1 pode estar relacionado com a
395 proliferação celular, o que pode ser de interesse para a característica de circunferência
396 escrotal, já que valores de medidas da mesma dependem do desenvolvimento e proliferação
397 de células reprodutivas.

398 Outro gene candidato para CE é o *tyrosine kinase non receptor 2* (TNK2), também
399 conhecido como *activated Cdc42-associated kinase 1* (ACK1), pois está inserido nas vias
400 metabólicas de diferenciação celular e regulação da proliferação celular. Este gene codifica a
401 proteína tirosina quinase, que é responsável pela fosforilação de enzimas e atua como um
402 ponto de apoio na rede de moléculas sinalizadoras independentes, cuja função é a regulação
403 da expressão gênica (Mahajan et al., 2010). Alguns estudos relataram que este gene se
404 manifesta em diversos carcinomas humanos, como o de pulmão, ovários, gástrico e câncer de
405 próstata (Van der Horst et al., 2005).

406 Em sequência, o gene *BRCA2, DNA repair associated* (BRCA2) também é um
407 potencial candidato para a medida de circunferência escrotal, pois de acordo com a anotação
408 funcional, o mesmo está envolvido com os processos biológicos da espermatogênese e
409 regulação da proliferação celular. De acordo com a literatura este gene possui as funções de
410 regulação da transcrição e reparo do DNA e em um estudo com humanos, foi observado que
411 pacientes portadores de mutações no gene BRCA2 tem alto risco de desenvolver câncer de
412 mama e ovário (Siddique et al., 1998).

413 Em contrapartida com o gene descrito acima, o *cohesin associated factor B* (PDS5B)
414 participa do processo biológico da regulação negativa de proliferação celular e regula a
415 indução de androgênio durante a diferenciação de células epiteliais da próstata (Geck et al.,
416 2000).

417 Outro gene relacionado com proliferação celular é o *tenascin C* (TNC), inserido nos
418 processos biológicos da regulação positiva da proliferação celular, sinalização da célula

419 mesenquimal-epitelial envolvida no desenvolvimento da próstata e morfogênese do epitélio
420 da próstata. Na literatura, diversos autores associaram este gene diretamente com proliferação
421 celular (Zhang et al., 2006), o que é de grande importância para a característica de CE. Não
422 foram encontrados dados literários que indicam associação do gene com a próstata, a qual é
423 responsável pela secreção de um fluido que faz parte do líquido seminal, o que também pode
424 corresponder à circunferência escrotal, pois o volume do líquido pode influenciar nesta
425 medida.

426 Diante do exposto, é possível observar que os genes podem exercer inúmeras funções
427 em diferentes organismos. Isto ocorre, pois cada espécie e indivíduo dispõem de diferentes
428 interações entre os genes, além de possuírem mutações distintas e apresentarem infinitas
429 expressões gênicas que dependem não só da composição genética, mas também da influência
430 ambiental.

431 Desta forma, é de grande importância investigar regiões cromossômicas e genes que
432 influenciam a manifestação de características de carcaça, qualidade de carne, produtividade e
433 funcionalidade no gado Canchim, como um passo essencial para incluir marcadores
434 moleculares na avaliação genética de programas de melhoramento animal. Este tipo de estudo
435 também contribui para a compreensão dos recursos biológicos e da arquitetura genética dos
436 traços de interesse, identificando importantes mecanismos fisiológicos e caminhos
437 metabólicos. Porém, há pouco conhecimento e um pequeno número de manuscritos deste tipo
438 de pesquisa em bovinos de corte, o que mostra a necessidade de mais estudos nesta área.

439 Vale lembrar que os resultados obtidos neste trabalho aplicam-se à população de
440 animais Canchim utilizada neste estudo, portanto o uso de outras populações e raças, assim
441 como diferentes metodologias de análise, podem revelar diversos resultados para toda e
442 qualquer característica de interesse zootécnico.

443

444 **5. CONCLUSÃO**

445

446 A análise funcional possibilitou a observação das distintas funções que um gene pode
447 exercer no organismo, ainda que alguns relatos da literatura não corroborem com o que foi
448 encontrado neste estudo. Além disso, a ontologia de genes permitiu a seleção de genes
449 potencialmente candidatos para características de produção, qualidade de carne e carcaça,
450 funcionalidade e reprodutiva.

451 Estes resultados podem contribuir com futuros estudos genéticos moleculares que visam a
452 validação destes genes em bovinos de corte, assim como para os programas de melhoramento
453 da raça Canchim.

454

455 **6. AGRADECIMENTOS**

456

457 Os autores agradecem à Embrapa Gado de Corte e à Embrapa Pecuária Sudeste pelo
458 fornecimento dos dados genotípicos, ao Programa de Melhoramento Geneplus/Embrapa por
459 disponibilizarem os dados fenotípicos e à ABCCAN por cederem as amostras biológicas dos
460 animais analisados.

461

462 **7. FINANCIAMENTO**

463

464 O presente trabalho foi financiado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
465 (Embrapa).

466 **8. DECLARAÇÃO DE ÉTICA**

467

468 Para o presente estudo, os dados foram coletados de acordo com o Comitê de Ética e
469 Uso Animal da Embrapa Sudeste e da Embrapa Gado de Corte, nos protocolos 02/2009 e
470 10/2015, respectivamente.

471

472 **9. CONFLITOS DE INTERESSE**

473

474 Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

10. REFERÊNCIAS

- 475
476
477 ANDERSON, R.A.C.; JOYCE, M.; DAVIS, J.W.; REAGAN, M.; CLARK, G.S.;
478 SHELNESS, L.L.. Identification of a form of acyl- CoA:cholesterol acyltransferase specific
479 to liver and intestine in nonhuman primates. **J. Biol. Chem.** 273: 26747–26754. 1998.
480
481 AUDAS, T.E.; LI, Y.; LIANG, G.; LU, R. Luman/CREB3 and LRF, novel players in the
482 mammalian unfolded protein response. **Exp. Gerontol.** 44: 126-127. 2009.
483
484 BINNS, D.; DIMMER, E.; HUNTLEY, R.; BARRELL, D.; O'DONOVAN, C.; APWEILER,
485 R. QuickGO: a web-based tool for Gene Ontology searching. **Bioinformatics.** 25: 3045-3046.
486 2009.
487
488 BEYER, K.S.; BEAUCHAMP, R.L.; LEE, M.; GUSELLA, J.F.; NÄÄR, A.M.; RAMESH,
489 V. Mediator subunit MED28 (Magicin) is a repressor of smooth muscle cell differentiation.
490 **The Journal of Biological Chemistry**, vol. 282, no. 44, PP. 32152-32157. 2007.
491
492 BOURQUE, C.W.; OLIET, S.H. Osmoreceptors in the central nervous system. **Annu Rev**
493 **Physiol** 59:601–619. 1997.
494
495 CATOIA, V. Mineração de genes em regiões genômicas bovinas associadas à resistência ao
496 carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Dissertação (mestrado)**, Programa de Pós-
497 graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular do Centro de Ciências Biológicas e da
498 Saúde da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP. 2014.
499
500 CHANG, T.Y.; CHANG, C.C.; CHENG, D. Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase.
501 **Annu. Rev. Biochem.** 66: 613–638. 1997.
502
503 COHEN-ZINDER, M.; SEROUSSI, E.; LARKIN, D.M.; LOOR, J.J.; WIND, A.E.; LEE,
504 J.H.; DRACKLEY, J.K.; BAND, M.R.; HERNANDEZ, A.G.; SHANI, M.; LEWIN, H.A.;
505 WELLER, J.I.; RON, M. Identification of a missense mutation in the bovine ABCG2 gene
506 with a major effect on the QTL on chromosome 6 affecting milk yield and composition in
507 Holstein cattle. **Genome Res** 15:936–944. 2005.
508
509 CUYPERS, H.T.; VAN LOON-KLAASSEN, L.A.; EGBERTS, W.T.; DE JONG, W.W.;
510 BLOEMENDAL, H. The primary structure of leucine aminopeptidase from bovine eye lens. **J**
511 **Biol Chem** 25(7):7077–7085. 1982.
512
513 CUNNINGHAM, F.; AMODE, M.R.; BARRELL, D.; BEAL, K.; BILLIS, K.; BRENT, S.
514 Ensembl. **Nucleic Acids Res.** 2015; 43: D662–D669. 2015.
515
516 DAHL, EL.; MULCAHY, R.T. Cell-type specific differences in glutamate cysteine ligase
517 transcriptional regulation demonstrate independent subunit control **Toxicol Sci.** 61:265–272.
518 2001.
519
520 DENNIS JR, G.; SHERMAN, B.T.; HOSACK, D.A.; YANG, J.; GAO, W.; LANE, H.C.;
521 LEMPICKI, R.A. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated
522 Discovery. **Genome Biol.** 4:3. 2003.
523

524 DEKKERS, J.C.M. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in
525 livestock: Strategies and lessons. **Journal of Animal Science**, v.82, p.313-328, 2004.
526

527 DE OLIVEIRA, G.A. Associação genômica ampla (GWAS) aplicada a características
528 reprodutivas de novilhas da raça Nelore. **Tese (doutorado)**, Faculdade de Zootecnia e
529 Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP. 2017.
530

531 DRIESSEN, A.; LANDUYT, W.; PASTOREKOVA, S. Expression of carbonic anhydrase IX
532 (CA IX), a hypoxia-related protein, rather than vascular-endothelial growth factor (VEGF), a
533 pro-angiogenic factor, correlates with an extremely poor prognosis in esophageal and gastric
534 adenocarcinomas. **Ann Surg** 243:334–340. 2006.
535

536 EBERLEIN, A.; TAKASUGA, A.; SETOGUCHI, K.; PFUHL, R.; FLISIKOWSKI, K.;
537 FRIES, R.; KLOPP, N.; FÜRBAASS, R.; WEIKARD, R.; KÜHN, C. Dissection of genetic
538 factors modulating fetal growth in cattle indicates a substantial role of the *non-SMC*
539 *condensin I complex, subunit G (NCAPG)* Gene. **Genetics** **183**, 951–964. 2009.
540

541 ECKSTRUM, K.; BANY, B.M. Tumor necrosis factor receptor subfamily 9 (Tnfrsf9) gene is
542 expressed in distinct cell populations in mouse uterus and conceptus during implantation
543 period of pregnancy. **Cell Tissue Res.** 344: 567-576. 2011.
544

545 FERGUSON, A.V.; BAINS, J.S. Electrophysiology of the circumventricular organs. **Front**
546 **Neuroendocrinol** 17:440–475. 1996.
547

548 FERNANDEZ, L.P.; MILNE, R.L; PITA, G.; AVILÉS, J.A.; LÁZARO, P.; BENÍTEZ, J.;
549 RIBAS, G. SLC22A2: a novel malignant melanoma-associated gene. **Human Mutations**, 29
550 (9), 1161-1167. 2008.
551

552 FENG, S.; AGOULNIK, I.U.; BOGATCHEVA, N.V.; KAMAT, A.A.; KWABI-ADDO, B.;
553 LI, R.; AYALA, G.; ITTMANN, M.M.; AGOULNIK, A.I. Relaxin promotes prostate cancer
554 progression. **Clinical Cancer Research** 13 1695–1702. 2007.
555

556 FITZSIMONS, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol Ver** 78:583–686. 1998.
557

558 FRANKLIN, C.C.; BACKOS, D.S.; MOHAR, I.; WHITE, C.C.; FORMAN, H.J.;
559 KAVANAGH, T.J. Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and
560 modifier subunits of glutamate cysteine ligase. **Mol Aspects Med.** 30:86–98. 2009.
561

562 FREIMAN, R.N.; HERR, W. Viral mimicry: common mode of association with HCF by
563 VP16 and the cellular protein LZIP. **Genes Dev.** 11: 3122-3127. 1997.
564

565 GRAF, J.; HODGSON, R.; VAN DAAL, A. Single nucleotide polymorphisms in the MATP
566 gene are associated with normal human pigmentation variation. **Hum Mutat** 25:278–284.
567 2005.
568

569 GRANGER, B.R.; CHANG, Y.C.; WANG, Y.; DELISI, C.; SEGRÈ, D.; HU, Z.
570 Visualization of Metabolic Interaction Networks in Microbial Communities Using VisANT
571 5.0. **PLoS Comput Biol** 12(4): e1004875. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004875>. 2016
572

573 GEBHARDT, K.M.; FEIL, D.K.; DUNNING, K.R.; LANE, M.; RUSSEL, D.L. Human
574 cumulus cell gene expression as a biomarker of pregnancy outcome after single embryo
575 transfer. **Fertility and Sterility** 96, 42-52. 2011.
576

577 GECK, P.; MAFFINI, M.V.; SZELEI, J.; SONNENSCHNEIN, C.; SOTO, A.M. Androgen-
578 induced proliferative quiescence in prostate cancer cells: the role of AS3 as its mediator.
579 **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 97, 10185-10190. 2000.
580

581 GOPALAN, V.; PASTUSZYN, A.; GALEY, W.R.; GLEW, R.H. Exolytic hydrolysis of toxic
582 plant glucosides by guinea-pig liver cytosolic beta-glucosidase. **J. Biol. Chem.** 267, 14027-
583 14032. 1992.
584

585 GUTIERREZ-GIL, B.; WILLIAMS, J.L.; HOMER, D.; BURTON, D.; HALEY, C.S.;
586 WIENER, P. Search for quantitative trait loci affecting growth and carcass traits in a cross
587 population of beef and dairy cattle. **J Anim Sci.** 87: 24-36. 2009.
588

589 HAMMER, M.B.; ELEUCH-FAYACHE, G.; SCHOTTLAENDER, L.V.; NEHDI, H.;
590 GIBBS, J.R.; AREPALLI, S.K.; CHONG, S.B.; HERNANDEZ, D.G.; SAILER, A.; LIU, G.;
591 MISTRY, P.K.; CAI, H.; SHRADER, G.; SASSI, C.; BOUHLAL, Y.; HOULDEN, H.;
592 HENTATI, F.; AMOURI, R.; SINGLETON, A.B. Mutations in GBA2 cause autosomal-
593 recessive cerebellar ataxia with spasticity. **Am J Hum Genet** 92, 245-251. 2013.
594

595 HOSHIBA, H.; SETOGUCHI, K.; WATANABE, T.; KINOSHITA, A.; MIZOSHITA, K.;
596 SUGIMOTO, Y.; TAKASUGA. Comparison of the effects explained by variations in the
597 bovine PLAG1 and NCAPG genes on daily body weight gain, linear skeletal measurements
598 and carcass traits in Japanese Black steers from a progeny testing program. **Animal Science**
599 84, 529-534. 2013.
600

601 HOUSTON, R.D.; RANCE, K.A.; SUTCLIFFE, E.; ARCHIBALD, A.L.; HALEY, C.S. The
602 cholecystokinin type A receptor g.179>G polymorphism affects feeding rate. **Animal**
603 **Genetics**, 39, 187-188. 2007.
604

605 JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite:
606 visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front Neuroendocrinol**
607 18:292-353. 1997.
608

609 KAMAT, A.A.; FENG, S.; AGOULNIK, I.U.; KHERADMAND, F.; BOGATCHEVA, N.V.;
610 COFFEY, D.; SOOD, A.K.; AGOULNIK, A.I. The role of relaxin in endometrial cancer.
611 **Cancer Biology & Therapy** 5 71-77. 2006.
612

613 KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic**
614 **Acids Res.** 28 (1): 27-30. 2000.
615

616 KARIM, L.; TAKEDA, H.; LIN, L.; DRUET, T.; ARIAS, J.A.; BAURAIN, D.;
617 CAMBISANO, N.; DAVIS, S.R.; FARNIR, F.; GRISART, B.; HARRIS, B.L.; KEEHAN,
618 M.D.; LITTLEJOHN, M.D.; SPELMAN, R.J.; GEORGES, M.; COPPIETERS, W. Variants
619 modulating the expression of a chromosome domain encompassing *PLAG1* influence bovine
620 stature. **Nature Genetics** 43, 405-413. 2011.
621

622 KRZYWANSKI, D.M.; DICKINSON, D.A.; ILES, K.E. Variable regulation of glutamate-
623 cysteine ligase subunit proteins affects glutathione biosynthesis in response to oxidative
624 stress. **Arch Biochem Biophys.** 423:116–125. 2004.

625
626 LAN, X.; JIN, Y.; YANG, Y.; LIN, P. Expression and localization of Luman RNA and
627 protein during mouse implantation and decidualization. **Theriogenology** 80: 138-144. 2013.

628
629 LI, G.; FENG, G.; GENTIL-PERRET, A.; GENIN, C.; TOSTAIN, J. CA9 gene expression in
630 conventional renal cell carcinoma: a potential marker for prediction of early metastasis after
631 nephrectomy. **Clin Exp Metastasis**, 24:149-155. 2007.

632
633 LIANG, G.; AUDAS, T.E.; LI, Y.; COCKRAM, G.P. Luman/CREB3 induces transcription of
634 the endoplasmic reticulum (ER) stress response protein Herp through an ER stress response
635 element. **Mol. Cell Bio.** 26: 7999-8010. 2006.

636
637 LINDHOLM-PERRY, A. K.; SEXTEN, A. K.; KUEHN, L. A.; SMITH, T. P. L.; KING, D.
638 A.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; FERRELL, C. L.; JENKINS, T. G.;
639 SNELLING, W. M.; FREETLY, H. C. Association, effects and validation of polymorphisms
640 within the NCAPG – LCORL locus located on BTA6 with feed intake, gain, meat and carcass
641 traits in beef cattle. **BMC Genetics**, v. 12, p. 103, 2011.

642
643 MAHAJAN, K.; MAHAJAN, N.P. Shepherding AKT and androgen receptor by Ack1
644 tyrosine kinase. **J Cell Physiol.** 224: 327–333. 2010.

645
646 MARTIN, E.; SCHULE, R.; SMETS, K.; RASTETTER, A.; BOUKHRIS, A.; LOUREIRO,
647 J.L.; GONZALEZ, M.A.; MUNDWILLER, E.; DECONINCK, T.; WESSNER, M.;
648 JORNEA, L.; OTEYZA, A.C.; DURR, A.; MARTIN, J.J.; SCHOLS, L.; MHIRI, C.;
649 LAMARI, F.; ZUCHNER, S.; DE JONGHE, P.; KABASHI, E.; BRICE, A.; STEVANIN, G.
650 Loss of function of glucocerebrosidase GBA2 is responsible for motor neuron defects in
651 hereditary spastic paraplegia. **Am J Hum Genet** 92, 238– 244. 2013.

652
653 MATERN, H.; BOERMANS, H.; LOTTSPREICH, F; MATERN, S. Molecular cloning and
654 expression of human bile acid betaglucosidase. **J Biol Chem** 276, 37929–37933. 2001.

655
656 MELLERO, I.; SHUFORD, W.W.; NEWBY, S.A. Monoclonal antibodies against the 4-1BB
657 T-cell activation molecule eradicate established tumors. **Nat Med.** 3: 682-685. 1997.

658
659 NAGAYAMA, S.; YAMADA, E.; KOHNO, Y.; AOYAMA, T.; FUKUKAWA, C.; KUBO,
660 H.; EATANABE, G.; KATAGIRI, T.; NAKAMURA, Y.; SAKAI, Y.; TOGUCHIDA, J.
661 Inverse correlation of the up-regulation of FZD10 expression and the activation of beta-
662 catenin in synchronous colorectal tumors. **Cancer Sci**, vol. 100, no. 3, 405-412. 2009.

663
664 OLIVEIRA, P.S.N. Identificação de regiões genômicas e genes candidatos posicionais e
665 funcionais para características de eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore. **Tese**
666 **(doutorado)**, Programa de Pós-graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular do
667 Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar),
668 São Carlos, Sp. 2014.

669 ONTERU, S.K.; GORBACH, D.M.; YOUNG, J.M.; GARRICK, D.J.; DEKKERS, J.C.M.;
670 ROTHSCCHILD, M.F. Whole genome association studies of residual feed intake and related
671 traits in the pig. **PLoS ONE**. 8: e61756. 2012.

672
673 PRAMFALK, C.; DAVIS, M.A.; ERIKSSON, M.; RUDEL, L.L.; PARINI, P. Control of
674 ACAT2 liver expression by HNF1. *Journal Lipid of Research*, vol. 46, 2005.

675
676 POLLOCK, N.L.; CALLAGHAN, R. The lipid translocase, ABCA4: seeing is believing. **The**
677 **FEBS Journal**. doi:10.1111/j.1742-4658.2011.08169.x. 2011.

678
679 RAGGO, C.; RAPIN, N.; STIRLING, J.; GOBEIL, P. Luman, the cellular counterpart of
680 herpes simplex virus VP16, is processed by regulated intramembrane proteolysis. **Mol. Cell**
681 **Biol**. 22: 5639-5649. 2002.

682
683 REGITANO, L.C.A.; COUTINHO, L.L. *Biologia molecular aplicada à produção animal*. 1º
684 edição. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**; 2001.

685
686 ROMERO, A.R.S.; SIQUEIRA, F.; SANTIAGO, G.G.; REGITANO, L.C.A.; SOUZA
687 JUNIOR, M.D.; TORRES JUNIOR, R.A.A.; NASCIMENTO, A.V.; GRISOLIA, A.B.
688 Prospecting genes associated with navel length, coat and scrotal circumference traits in
689 Canchim cattle. **Livestock Science**. 210, 33-38. 2018.

690
691 RYAN, A.M.; JR, D.S.G.; SCHÖBER, S.; SCHWENGER, B.; WOMACK, J.E. Somatic cell
692 mapping and in situ localization of the bovine uridine monophosphate synthase gene.
693 **Mammalian Genome** 5, 46-47. 1994.

694
695 SANTIAGO, G.G.; CARDOSO, F.F.; REGITANO, C.A.; VENTURA, R.; SOLERRO, B.P.;
696 SOUZA JÚNIOR, M.D.; MOKRY, F.B.; FERREIRA, A.B.R.; TORRES JUNIOR, R.A.A.
697 Genomewide association study for production and meat quality traits in Canchim beef cattle.
698 **J Anim Sci**. 2017.95:3381–3390.2017.

699
700 SETOGUCHI, K.; FURUTA, M.; HIRANO, T.; NAGAO, T.; WATANABE, T.;
701 SUGIMOTO, Y.; TAKASUGA, A. Cross-breed comparisons identified a critical 591 kb
702 region for bovine carcass weight QTL (CW-2) on chromosome 6 and the Ile-442- Met
703 substitution in NCAPG as a positional candidate. **BMC Genetics** 10, 43. 2009.

704
705 SETOGUCHI, K.; WATANABE, T.; WEIKARD, R.; ALBRECHT, E.; KÜHN, C.;
706 KINOSHITA, A.; SUGIMOTO, Y.; TAKASUGA, A. The SNP c.1326T>G in the *non-SMC*
707 *condensin I complex, subunit G (NCAPG)* gene encoding a p.Ile442Met variant is associated
708 with an increase in body frame size at puberty in cattle. **Animal Genetics** 42, 650–655. 2011.

709
710 SIDDIQUE, H.; ZOU, J.; RAO, V.N.; REDDY, S. The BRCA2 is a histone acetyltransferase.
711 **Oncogene**, 16, 2283-2285. 1998.

712
713 SUGIURA, K.; SU, Y.Q.; DIAZ, F.J.; PANGAS, S.A.; SHARMA, S.; WIGGLESWORTH,
714 K.; O'BRIEN, M.J.; MATZUK, M.M.; SHIMASAKI, S.; EPPIG, J.J. Oocyte-derived BMP15
715 and FGFs cooperate to promote glycolysis in cumulus cells. **Development** 134, 2593- 2603.
716 2007.

- 717 TAI, A.W.; BOJJIREDDY, N.; BALLA, T. A homogeneous and nonisotopic assay for
718 phosphatidylinositol 4-kinases. **Analytical Biochemistry** 417, 97-102. 2011.
719
- 720 UELMEN, P. J.; OKA, K.; SULLIVAN, M.; CHANG, C. C.; CHANG, T. Y.; CHAN, L.
721 Tissue-specific expression and cholesterol regulation of acylcoenzyme A:cholesterol
722 acyltransferase (ACAT) in mice. Molecular cloning of mouse ACAT cDNA, chromosomal
723 localization, and regulation of ACAT in vivo and in vitro. **J. Biol. Chem.** 270: 26192–26201.
724 1995.
725
- 726 VAN DER HORST, E.H.; DEGENHARDT, Y.Y.; STRELOW, A. Metastatic properties and
727 genomic amplification of the tyrosine kinase gene ACK1. **Proc Natl Acad Sci USA**
728 102:15901–15906. 2005.
729
- 730 VIALOU, V.; AMPHOUX, A.; ZWART, R.; GIROS, B.; GAUTRON, S. Organic cation
731 transporter 3 (SLC22A3) is implicated in salt-intake regulation. *The Journal of Neuroscience*.
732 24(11):2846–2851. 2004.
733
- 734 VIANNA, A. T.; GOMES, F. P.; SANTIAGO, M.; Formação do Gado Canchim pelo
735 cruzamento charolês-zebu. São Paulo, **Nobel**, primeira edição. 1978.
736
- 737 WEIKARD, R.; ALTMAIER, E.; SUHRE, K.; WEINBERGER, K.M.; HAMMON, H.M.;
738 ALBRECHT, E.; SETOGUCHI, K.; TAKASUGA, A.; KUEHN, C. Metabolomic profiles
739 indicate distinct physiological pathways affected by two loci with major divergent effect on
740 *Bos taurus* growth and lipid deposition. **Physiological Genomics** 42A, 79–88. 2010.
741
- 742 ZHANG, B.; JAIN, S.; SONG, H.; FU, M.; HEUCKEROTH, R.O.; ERLICH, J.M.; JAY,
743 P.Y.; MILDBRANT, J. Mice lacking sister chromatid cohesion protein PDS5B exhibit
744 developmental abnormalities reminiscent of Cornelia de Lange syndrome. **Development**
745 **and disease**, 134, 3191-3201. 2006.
746
- 747 ZHANG, L.; ZHOU, Z.; MICHAL, J.J.; DING, B.; LI, R.; JIANG, Z. Genome wide
748 screening of candidate genes for improving piglet birth weight using high and low estimated
749 breeding value populations. **Int J Biol Sci**, vol. 10. 2014.
750
- 751 ZHENG, X.; JU, Z.; WANG, J.; LI, Q.; HUANG, J.; ZHANG, A.; ZHONG, J.; WANG,
752 C. Single nucleotide polymorphisms, haplotypes and combined genotypes of LAP3 gene in
753 bovine and their association with Milk production traits. **Mol Biol Rep**, 38:4053-4061. 2011.

754 **11. ANEXOS**

755

756 **Tabela 4.** Termos ontológicos e de vias metabólicas utilizados na filtragem para seleção dos genes candidatos.

Característica	Termos
Tecido adiposo	processo metabólico de ácidos graxos (GO:0006631), processo catabólico de corpos cetônicos (GO:0046952), processo metabólico de corpos cetônicos (GO:1902224), processo biossintético de corpos cetônicos (GO:0046951), atividade alfa-hidroxilase de ácidos graxos (GO:0080132), processo biossintético de ácidos graxos insaturados (GO:0006636), processo biossintético de ácidos graxos monoinsaturados (GO:1903966), processo biossintético de ácidos graxos de cadeia longa (GO:0042759), processo biossintético de ácidos graxos de cadeia muito longa (GO:0000038), desenvolvimento de tecido adiposo (GO:006012), regulação do desenvolvimento de tecido adiposo (GO:1904177), diferenciação de células de gordura (GO:0045444), regulação positiva do desenvolvimento de tecido adiposo (GO:1904179), regulação negativa do desenvolvimento de tecido adiposo (GO:1904178), proliferação de células de gordura branca (GO:0070343), proliferação de células de gordura marrom (GO:0070342) e processo metabólico de vitamina A (GO:0006776).
Músculo esquelético	diferenciação celular do músculo esquelético (GO:0035914), proliferação celular do músculo esquelético (GO:0014856), regulação da diferenciação celular do músculo esquelético (GO:2001014), regulação negativa da diferenciação celular do músculo esquelético (GO:2001015), regulação positiva da diferenciação celular do músculo esquelético (GO:2001016), desenvolvimento de tecido do músculo esquelético (GO:0007519), desenvolvimento das fibras do músculo esquelético (GO:0048741), regulação do desenvolvimento de tecido do músculo esquelético (GO:0048641), regulação negativa do desenvolvimento de tecido do músculo esquelético (GO:0048642), regulação positiva do desenvolvimento de tecido do músculo esquelético (GO:0048643) e crescimento de tecido do músculo esquelético (GO:0048630).
Pelagem	catagen (GO:0042637), exogen (GO:0042638), anagen (GO:0042640), célula capilar (GO:0070451), raiz capilar (GO:0035618), pigmentação (GO:0043473) e pigmentação celular (GO:0033059).
Bolsa escrotal	regulação da proliferação das células de sertoli (GO:1900083), diferenciação das células de sertoli (GO:0060008), desenvolvimento das células de sertoli (GO:0060009), proliferação das células de sertoli (GO:0060011), espermatogênese (GO:0007283), processo biossintético de testosterona (GO:0061370), secreção de testosterona (GO:0035936) e resposta à testosterona (GO:0033574).

Vias metabólicas

vias metabólicas (bta01100), metabolismo de ácidos graxos (bta01212), biossíntese de aminoácidos (bta01230), glicólise/glicogênese (bta00010), ciclo de citrato (ciclo TCA; bta00020), via metabólica de fosfato pentose (bta00030), interconversões de pentose e glucuronato (bta00040), metabolismo de frutose e manose (bta00051), metabolismo de galactose (bta00052), metabolismo de ascorbato e aldarato (bta00053), metabolismo de amido e sucrose (bta00500), metabolismo de amino açúcares (bta00520), metabolismo de piruvato (bta00620), metabolismo de glioxilato e dicarboxilato (bta00630), metabolismo de propanoato (bta00640), metabolismo de butanoato (bta00650), fosforilação oxidativa (bta00190), metabolismo de nitrogênio (bta00910), metabolismo de enxofre (bta00920), biossíntese de ácidos graxos (bta00061), elongação de ácidos graxos (bta00062), degradação de ácidos graxos (bta00071), síntese e degradação de corpos cetônicos (bta00072), biossíntese de esteróides (bta00100), biossíntese de ácido biliar primário (bta00120), biossíntese de hormônios esteróides (bta00140), metabolismo glicerolipídico (bta00561), metabolismo glicerofosfolipídico (bta00564), metabolismo lipídico do éter (bta00565), metabolismo do ácido araquidônico (bta00590), metabolismo do ácido linoleico (bta00591), metabolismo do ácido alfa-linoleico (bta00592) e biossíntese de ácidos graxos insaturados (bta01040).
