

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PROSPECÇÃO DE ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM
REGIÕES DE QTL ASSOCIADAS COM CARACTERÍSTICAS
REPRODUTIVAS EM NOVILHAS NELORE**

Donicer Eduardo Montes Vergara
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PROSPECÇÃO DE ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM
REGIÕES DE QTL ASSOCIADAS COM CARACTERÍSTICAS
REPRODUTIVAS EM NOVILHAS NELORE**

Donicer Eduardo Montes Vergara

Orientador: Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Rogério Abdallah Curi

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2016

M779p Montes Vergara, Donicer Eduardo
Prospecção de assinaturas de seleção em regiões de QTL associadas com características reprodutivas em novilhas Nelore / Donicer Eduardo Montes Vergara. -- Jaboticabal, 2016
vii, 90 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Henrique Nunes de Oliveira
Co-orientador: Rogério Abdallah Curi
Banca examinadora: Simone Cristina Méo Niciura, Claudia Cristina Paro de Paz, Nedenia Bonvino Stafuzza, Humberto Tonhati
Bibliografia

1. Desequilíbrio de ligação. 2. Genotipagem. 3. REHH. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082.2:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

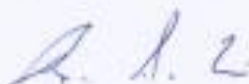
TÍTULO DA TESE: PROSPECÇÃO DE ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM REGIÕES DE QTL ASSOCIADAS COM CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS EM NOVILHAS NELORE

AUTOR: DONICER EDUARDO MONTES VERGARA

ORIENTADOR: HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA

CO-ORIENTADOR: ROGERIO ABDALLAH CURI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ROGERIO ABDALLAH CURI
Departamento de Melhoramento Zootécnico e Nutrição Animal / FMVZ / UNESP - Botucatu/SP



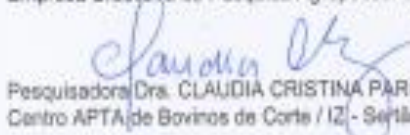
Prof. Dr. HUMBERTO TONHATI
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pós-doutoranda NEDENIA BONVINO STAFUZZA
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. SIMONE CRISTINA MEO NICIURA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / EMBRAPA / São Carlos/SP



Pesquisadora Dra. CLAUDIA CRISTINA PARO DE PAZ
Centro APTA de Bovinos de Corte / IZ - Sertãozinho/SP

Jaboticabal, 24 de março de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DONICER EDUARDO MONTES VERGARA – nascido em 5 de dezembro de 1965, na cidade de Sincelejo - Sucre, Colômbia, formou-se em Zootecnia pela U de S - Universidade De Sucre – Colômbia, em abril de 1999. Em janeiro de 2009, ingressou no curso de Mestrado, no Programa de Pós-graduação em Genética na Faculdade de Ciências Básica e Biomédica da Universidade Simón Bolívar - Colômbia, sob orientação do Prof. Alberto Moreno Rossi, obtendo o título de Mestre em Junho de 2012. Em agosto de 2012, iniciou o doutorado em Genética e Melhoramento Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira e Co-orientação do Prof. Dr. Rogério Abdallah Curi.

*“La mente que se abre a una nueva idea, jamás
volverá a su tamaño original”*

Albert Einstein

DEDICATORIA

A *Dios* por permitirme llegar hasta este punto y haberme dado salud y fortaleza para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y bendiciones.

A mi padre *Libardo Montes Guzmán* que ya no está a mi lado, pero su cariño prevalece siempre en mi corazón.

A mis amados hijos *Carlos Andrés, Juan Camilo, Rene y el gran Sebastián* para quienes ningún sacrificio hecho es suficiente y siempre serán el faro que ilumine mi vida.

Gracias por quererme hijos.

A mi compañera incondicional *Afife Alegüie Rodríguez* quien supo darme amor, apoyo y entendió el sacrificio realizado durante todos estos años.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP por acolher-me no programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal e contribuir com qualidade em minha formação doutoral.

À Universidade de Sucre, pela oportunidade de capacitar-me.

Grandes conquistas requerem árduas caminhadas, mas elas se tornam amenas quando temos pessoas queridas ao nosso lado. Durante os anos de doutorado estive cercado de muitas delas, que participaram e contribuíram, direta ou indiretamente, em minha formação e na realização deste estudo.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador, Professor Dr. Henrique Nunes de Oliveira, pela oportunidade de ser seu orientado e por todo o entendimento e paciência que teve durante todo este tempo.

Ao Professor Dr. Rogério Abdallah Curi, por todas as contribuições e dedicação na co-orientação de meu trabalho de tese, imensamente agradecido com o senhor.

Ao Professor Dr. Humberto Tonhati, pela confiança oferecida desde o início de minha estadia em Jaboticabal.

Aos componentes da banca examinadora de qualificação Dr^a. Lúcia Galvão de Albuquerque, Dr^a. Nedenia Bonvino Stafuzza, Dr. Guilherme Costa Venturini, Dr. Daniel Mansan Gordo e Dr. Henrique Nunes pelas importantes sugestões.

Aos membros da banca examinadora da defesa de Doutorado, Dr^a Simone Cristina Méo Niciura, Dr^a. Claudia Cristina Paro de Paz, Dr^a. Nedenia Bonvino Stafuzza, Dr. Humberto Tonhati e Dr. Rogério Abdallah Curi, pelas sugestões, que contribuíram para aprimorar este trabalho.

Agradeço infinitamente a Marina, Orlando, Michel, Camila, Guilherme, Natalia, Jessica, Ligia, Germana e André por todas suas sugestões durante o

desenvolvimento da tese, com os quais observei o quanto grande é a bondade que existe em seus corações.

Especialmente, agradeço a Hernando, Carito, Wismar e Isamery por acolher-me no seio de suas famílias e fazer minha estadia em Botucatu mais prazerosa, com destaque à gastronomia do litoral Caribe Colombiano.

Ao pessoal colombiano em Jaboticabal: Naudin, Cruz, Soliris, Fernando, Colombia, Luís Gabriel, Andrés, Yani, Elwi, Ricardo, Yury, Diana, Jessica, Naudin e Lorena pela amizade, companheirismo e risos durante todo este processo de estudo.

Aos meus colegas de trabalho da Universidade de Sucre, Euriel, Jaime, Alfredo, Amado, Esperanza e Alexander, pelas palavras e recados, os quais ao receber davam-me fortaleza para culminar, satisfatoriamente, meus estudos.

SUMÁRIO

Página

SUMÁRIO.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1. Importância da raça Nelore na pecuária de corte do Brasil.....	4
3.2. Importâncias das características reprodutivas em fêmeas de bovinos.....	5
3.3. Características indicadoras de fertilidade em bovino de corte.....	6
3.4. Marcadores moleculares do tipo SNP.....	9
3.5. “Chips” para genotipagem de SNPs em bovinos.....	10
3.6. Desequilíbrio de Ligação (“Linkage Disequilibrium”-LD).....	11
3.7. Regiões de QTL (“Quantitative Trait Loci” – QTL).....	14
3.8. Assinaturas de seleção.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Animais e Coleta das Amostras.....	19
4.2. QTL e Genes candidatos.....	20
4.3. Extração de DNA e genotipagem dos animais.....	26
4.4. Controle de qualidade dos dados de genotipagem.....	26
4.5. Reconstruções dos haplótipos, análises de LD e aplicação do teste EHH em regiões de QTL.....	27
4.5.1. Aplicação da homozigose do haplótipo estendido (EHH).....	28
4.6. Anotação de genes nas regiões candidatas do genoma.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1. Extração de DNA e análise de qualidade e controle de qualidade dos dados de genotipagem.....	30
5.2. Estatística descritiva para marcadores e haplótipos.....	31
5.3. Detecção de assinaturas de seleção.....	35
5.3.1. Identificação de QTL sobrepostos às assinaturas de seleção.....	40
5.4. Identificação de genes posicionais e funcionais nas regiões significativas.....	45
6. CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	58

PROSPECÇÃO DE ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM REGIÕES DE QTL ASSOCIADAS COM CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS EM NOVILHAS NELORE

RESUMO - Características reprodutivas, como a ocorrência de prenhez precoce, são mais importantes economicamente ao comparar-se com as características de crescimento. Desta forma, o aumento da taxa de fertilidade e emprego de animais geneticamente superiores é determinante no progresso da produtividade nas fazendas comerciais de produção de carne bovina. A seleção modifica as frequências alélicas de uma população ao transmitir as variantes gênicas mais interessantes. Considerando o desequilíbrio de ligação, alguns locos adjacentes às mutações favoráveis são transmitidos ao longo das gerações. Estes são conhecidos como assinaturas de seleção e podem ser identificados com o uso de “chips” de SNP e metodologias estatísticas adequadas. Com o objetivo de identificar assinaturas de seleção recentes em QTL previamente mapeados para características reprodutivas de fêmeas bovinas ligadas à precocidade sexual, foram genotipadas 2.035 fêmeas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com o chip “Illumina BovineHD BeadChip”. Posteriormente foi inferida a fase de ligação dos SNPs e a reconstrução dos haplótipos. A detecção de assinaturas de seleção foi realizada por meio da aplicação da metodologia “Relative Extended Haplotype Homozygosity” (REHH). A identificação de genes que contribuem para a importância da característica nestas regiões foi feita com a ferramenta Map Viewer do “National Center for Biotechnology Information”- NCBI e GBrowse carregada com o genoma bovino versão UMD 3.1. Foram detectadas 2.756 regiões núcleo, com tamanho médio $27,6 \pm 29,1$ Kb, abrangendo 70,1 Mb dos 25 cromossomos estudados. Dos SNPs utilizados, 17.312 participaram da formação das regiões núcleo, com o mínimo de 10 no BTA27 e o máximo de 20 SNPs nos cromossomos 1, 3-7, 9-15,18-21, e 23-24. Foram identificadas 40 assinaturas de seleção recentes com diferentes níveis de significância e 56 genes. A maioria dos genes localizados nas regiões de assinaturas de seleção tem relação com os processos biológicos de metabolismo mitocondrial, desenvolvimento pós-embriônico, regulação da taxa de ovulação e fertilidade, resposta imune, metabolismo de triglicerídeo, proliferação celular e neurônios receptores olfativos. A investigação de mecanismos regulatórios da expressão dos genes associados aos processos biológicos descritos pode oferecer conhecimentos sobre os mecanismos moleculares que afetam a característica ocorrência de prenhez precoce, na raça Nelore.

Palavras chave: desequilíbrio de ligação, genotipagem, REHH, reprodução, SNPs

PROSPECTION OF SELECTION SIGNATURES IN QTL REGIONS ASSOCIATED TO REPRODUCTIVE FEATURES IN NELORE HEIFERS

ABSTRACT - Some reproductive traits such as early pregnancy are more profitable than those related to growth. Increasing fertility rate and using genetically superior animals are crucial in productivity of meat commercial farms. Artificial selection modifies allele frequencies of a cattle population by transmitting the most significant gene variants. Considering linkage disequilibrium, some loci adjacent to favorable mutations are transmitted across generations. Known as signatures of selection, such locations can be identified by the SNP chips, and appropriate statistical methods. To determine recent selection signature in quantitative trait loci (QTL) previously mapped for reproductive cow features linked to sexual precocity, 2,035 Nelore (*Bos taurus indicus*) females were genotyped by Illumina Bovine chip. After, inferring the connection phase of SNPs allowed haplotype reconstruction. Selection signatures were detected by Relative Extended Haplotype Homozygosity (REHH) method. Genes supposedly important were recognized by Map Viewer from the National Center for Biotechnology Information (NCBI), and also through a loaded GBrowse with bovine genome UMD, version 3.1. A total of 2,756 core regions were detected, with an average size of 27.6 ± 29.1 Kb, covering 70.1 Mb of 25 chromosomes. 17,312 SNPs are involved in the formation of core regions with at least 10 on BTA27, and a maximum of 20 SNPs on 1, 3-7, 9-15, 18-21, and 23-24 chromosomes. We identify 40 possible recent selection signatures, with different levels of significance, and 56 positional candidate genes. Most of genes located in selection signature regions are related to biological processes of mitochondrial metabolism, post-embryonic development, ovulation rate regulation and fertility, immune response, triglyceride metabolism, cell proliferation, and olfactory receptor neurons. The investigation of regulatory mechanisms of gene expression associated with biological processes described can provide knowledge on the molecular mechanisms affecting characteristic of early pregnancy occurrences in Nelore.

Keywords: genotyping, linkage disequilibrium, REHH, reproduction, SNPs

LISTA DE ABREVIATURAS

BTA -	<i>Bos taurus</i> autossômicos
cM -	CentriMorgan
Compr -	Comprimento
CR -	“Core Region” - Regiões Núcleo
C_t -	Número de amostras de um haplótipo núcleo particular t
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
dbSNP -	“Single Nucleotide Polymorphism Database”
EHH -	“Extended haplotype homozygosity” - Homozigose do Haplótipo Estendido
e_{ij} -	Número de amostras de um haplótipo estendido particular i
HWE -	“Hardy Weinberg Equilibrium” - Equilíbrio de Hardy - Weinberg
iHH -	Escore de Integração dos Haplótipos
IPP -	Idade ao primeiro parto
F_{ST} -	Índice de fixação
Kb -	Quilobases
Kg -	Quilograma
LD -	“Linkage Disequilibrium” - Desequilíbrio de Ligação
LRH -	“Long Range Haplotype” - Haplótipo de Longo Alcance
MAF -	“Minor Allele Frequency” - Frequência do alelo menos comum
mb -	Mega pares de bases
N^e -	Tamanho efetivo
OPP -	Ocorrência de prenhez precoce
n° -	Número
pb -	Pares de bases
PE -	Perímetro escrotal
QTL -	Loci de características quantitativas - Quantitative Trait Loci”
r^2 -	Correlação entre dois locos
REHH -	“Relative Extended Haplotype Homozygosity” - Homozigose Relativa do Haplótipo Estendido
R_{sb} -	Relação padronizada de iES (integral de EHH) a partir de duas populações

- S - Número de haplótipos estendidos únicos
- SNPs - “Single Nucleotide Polymorphisms” - Polimorfismos de nucleotídeo único
- SSR - Marcador microsatélite (“Simple Sequence Repeat”)
- XP – EHH - “X Population Extended Haplotype Homozogysity” - X População Homozigose do Haplótipo Estendido
- Δq_y - Alteração na frequência de haplótipos por ano

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Lista dos genes candidatos, característica, cromossomo e localização.....	21
Tabela 2. Lista dos QTL candidatos, característica, cromossomo e localização.....	22
Tabela 3. Estatística descritiva dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e regiões núcleo (“core region”- CR) distribuídos ao longo das regiões de interesse no genoma bovino da raça Nelore.....	33
Tabela 4. Estatística da aplicação do teste EHH em regiões de interesse no genoma de bovino da raça Nelore.....	37
Tabela 5. Descrição dos QTL relacionados com características reprodutivas, próximos às regiões de assinaturas de seleção ($p<0,01$) identificadas no genoma de bovinos da raça Nelore.....	41
Tabela 6. Total de genes por BTA identificados pela estatística REHH nas regiões da análise do genoma da raça Nelore.....	46
Tabela 7. Genes associados com processos biológicos, localizados nos cromossomos próximos as regiões de assinaturas de seleção do genoma bovino da raça Nelore.....	47

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribuição do tamanho das regiões núcleo (A) e número de SNPs em regiões núcleo (B) no genoma bovino da raça Nelore.....	32
Figura 2. Distribuição do número de haplótipos em relação à frequência na população.....	34
Figura 3. Distribuição dos valores REHH vs frequência dos haplótipos núcleo.....	35
Figura 4. Mapa de p -valores para os haplótipos núcleos com frequência $\geq 0,25$ no genoma de bovinos da raça Nelore em relação à posição nos cromossomos. A linha descontínua indica $p < 0,01$	38
Figura 5. “Boxplot” da distribuição do $-\text{Log}_{10}$ p -valores da estatística REHH em função das frequências dos haplótipo.....	39

1. INTRODUÇÃO

A produção de bovinos de corte é a atividade econômica que ocupa a maior extensão de terras no Brasil, com rebanho composto por mais de 200 milhões de cabeças (MAPA, 2015), sendo 80% constituído de animais zebuínos ou cruzados com zebu, dos quais a raça Nelore representa em torno de 90% (ABIEC, 2015). Nelore é a raça de maior importância no sistema brasileiro de produção de carne devido às características como adaptabilidade ao ambiente tropical, resistência aos parasitas e rusticidade, embora ainda apresente baixos índices reprodutivos e produtivos (SILVA, 2008; ASSUMPÇÃO et al., 2013).

A fertilidade é uma característica que apresenta muitos componentes e estágios (ciclo estral) que requerem que machos e fêmeas sejam funcionalmente capazes de conduzirem todas as fases críticas para que cada ciclo reprodutivo seja completado (FOOTE, 2003). A seleção direta para fertilidade é, muitas vezes, difícil de ser aplicada, o que torna importante identificar características reprodutivas que sejam de fácil mensuração e que apresentem variabilidade genética. Neste sentido, a ocorrência de prenhez precoce e a idade à puberdade podem ser consideradas características de importância econômica e, conseqüentemente, devem receber maior atenção por parte dos criadores de gado, pois apresentam estimativas de herdabilidade que respondem a seleção (FERNÁNDEZ et al., 2014).

Características reprodutivas, como habilidade de permanência no rebanho e ocorrência de prenhez precoce (OPP), são até treze vezes mais importantes economicamente que as características de crescimento (BRUMATTI et al., 2011). Desta forma, o aumento da taxa de fertilidade e emprego de animais geneticamente selecionados são determinantes no progresso da produtividade nos rebanhos comerciais de produção de carne bovina em ambientes tropicais e subtropicais (BURNS; FORDYCE; HOLROYD, 2010; SILVA et al., 2012). Segundo Teixeira, Albuquerque e Fries (2002), novilhas precoces que emprenham em torno dos 15 meses de

idade aumentam os rendimentos na receita bruta em 33,4% em relação às novilhas gestantes aos 27 meses.

Uma maneira de se detectar precocidade sexual, e conseqüentemente, eficiência reprodutiva de fêmeas, é expor ao acasalamento as novilhas precocemente. As fêmeas avaliadas por meio de idade a puberdade possuem uma das informações mais confiáveis quando se deseja elevar a eficiência reprodutiva do rebanho (MARSON, 2005). Esta prática de manejo não prejudica o desempenho reprodutivo futuro dos animais, desde que o manejo nutricional, sanitário e reprodutivo durante esse período sejam adequados (COSTA, 2013). Outro modo de detecção da precocidade sexual é por meio de marcadores moleculares.

Um dos principais objetivos da aplicação da genética molecular e do uso da bioinformática no melhoramento animal está na identificação de regiões cromossômicas que influenciam a expressão de características quantitativas de importância econômica (“Quantitative Trait Loci” – QTL), e os genes relacionados a elas. Uma estratégia para a identificação e mapeamento de QTL é a utilização do desequilíbrio de ligação (“Linkage Disequilibrium” – LD) na população, a partir da associação existente entre alelos do SNPs e do QTL, o qual é consequência da proximidade física entre ambos e de os efeitos intergênicos (ARDLIE; KRUGLYAK; SEIELSTAD, 2002; QANBARI et al., 2010; ESPIGOLAN et al., 2013; PÉREZ O'BRIEN et al., 2014a).

O desenvolvimento de métodos automatizados para o sequenciamento do DNA em larga escala, permitiu estudar o genoma de muitas espécies de interesse zootécnico e de muitos indivíduos dessas espécies, produzindo enorme volume de informações, o que possibilitou o desenvolvimento dos chamados “chips” de genotipagem de polimorfismo de nucleotídeo único (“Single Nucleotide Polymorphisms” – SNPs). A análise de milhares de polimorfismos em ensaio único a baixo custo por SNP, aliado à evolução das metodologias estatísticas, estão permitindo grandes avanços

na identificação de marcadores genéticos moleculares associados à QTL (CAETANO, 2009).

Dentre os métodos que permitem estimar a extensão do LD (“Linkage Disequilibrium”) ao longo do genoma, os mais utilizados são baseados na ligação entre pares de marcadores (MOKRY et al., 2014; NEVES et al., 2015; LAODIM et al., 2015). O LD do genoma bovino, em comparação a outras espécies, é considerado alto, fato relacionado a processos de recombinação e de seleção, além de outros eventos evolutivos, o que pode facilitar a detecção de assinaturas de seleção (KHATKAR et al., 2006). Independente da metodologia utilizada, mapas comparativos de LD permitem detectar regiões específicas do genoma que apresentam as frequências gênicas alteradas pela seleção artificial (McKAY et al., 2007). Essas regiões, denominadas assinaturas de seleção, são caracterizadas pelo aumento do LD e diminuição da variabilidade genética (WIENER et al., 2003). Entre as principais metodologias utilizadas para a identificação destas regiões dentro de populações, encontra-se a homozigosidade do haplótipo estendido (“Extended Haplotype Homozygosity” - EHH) (SABETI et al., 2002). A estatística EHH se baseia no fato de que uma nova mutação submetida à pressão seletiva positiva irá aumentar rapidamente sua frequência, carregando consigo os alelos vizinhos em LD, o que é conhecido como varredura seletiva ou arrasto seletivo (SMITH; HAIGH, 1974).

A disponibilidade de populações de bovinos, com informações em programas de melhoramento genético, pode acelerar a descoberta de poligenes relacionados às características sob seleção (TELLAM et al., 2009). A investigação de genes relacionados, que expliquem a maior parte das variações fenotípicas observadas nas características de precocidade sexual, fornecerão informações valiosas a respeito da transmissão e manifestação das mesmas para as gerações futuras. A oportunidade de utilização de fêmeas bovinas sexualmente precoces terá reflexo direto na eficiência, rentabilidade e competitividade da pecuária bovina nacional (FRIES, 2003).

2. OBJETIVOS

A partir de dados genotípicos e fenotípicos oriundos de animais de rebanho da raça Nelore, objetivou-se:

- 1) Identificar, em QTL previamente mapeados para características reprodutivas de fêmeas bovinas, regiões genômicas correspondentes à assinaturas de seleção, por meio da utilização da estatística homozigose relativa do haplótipo estendido (“Relative Extended Haplotype Homozygosity” - REHH).
- 2) A partir destas assinaturas de seleção, prospectar genes e SNPs relacionados a processos biológicos associados à característica reprodutiva de ocorrência de prenhez precoce.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância da raça Nelore na pecuária de corte do Brasil

A pecuária de corte bovina brasileira apresentou nos últimos dez anos um processo crescente de modernização, apesar de ainda caracterizar-se, em grande parte, pela produção extensiva com os animais criados a pasto. No entanto, o fornecimento de suplementação alimentar e de sal mineral, além do manejo adequado das pastagens, são cada vez mais adotados (MACEDO, 2005). O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, após a Índia, e é o segundo maior produtor de carne bovina, sendo que 80% do rebanho têm influência de *Bos taurus indicus* (FERRAZ; FELÍCIO; 2010, USDA, 2015). A raça bovina que possui o maior número de animais no Brasil é a Nelore, sendo esta a mais estudada com o objetivo de identificar critérios de seleção (LIRA; ROSA; GARNERO, 2008).

A grande importância da raça Nelore para a pecuária brasileira está relacionada às características de rusticidade, adaptabilidade ao clima tropical e às condições de pastagens, além da resistência a endo e

ectoparasitas (NOGUEIRA, 2004; ALENCAR; FRAGA; SILVA, 2005). A raça Nelore é mais resistente ao calor devido à sua superfície corporal possuir maior número de glândulas sudoríparas. Além destas características, possui excelente capacidade de digestão de fibras de baixa qualidade (EUCLIDES FILHO et al., 2002).

Apesar da evolução recente da produtividade, obtida através da intensificação de práticas modernas, a raça Nelore apresenta puberdade tardia, com a primeira ovulação, em média, aos dois anos de idade ou mais. De acordo com Nogueira (2004) e Ferraz e Eler (2007), esta situação é consequência fisiológica da pressão ambiental das criações extensivas devido a falhas no processo de seleção. Essa característica faz com que o tempo médio exigido ao abate do animal ainda atinja três anos, prazo superior aos dois anos necessários nos países que empregam técnicas mais modernas de produção (MACEDO et al., 2005).

3.2 Importância das características reprodutivas em fêmeas de bovinos

A seleção com base em características de desempenho ponderal tem sido amplamente utilizada, enquanto que as características indicadoras de fertilidade e precocidade sexual são pouco empregadas na maioria dos programas de melhoramento genético de bovinos no Brasil. A limitação no uso de características reprodutivas de fêmeas como critério de seleção ocorre principalmente pela maior dificuldade de suas mensurações. Não bastasse isso, alguns produtores atrasam a entrada de fêmeas na reprodução, determinando a idade ou peso para início da vida reprodutiva, o que dificulta a identificação das fêmeas sexualmente precoces (BOLIGON; ALBUQUERQUE; RORATO, 2008).

Entretanto, o sucesso na eficiência de produção de carne bovina no Brasil está diretamente relacionado com a antecipação da idade ao primeiro parto (BELTRAN, 2007). Em alguns países, as características reprodutivas

tornaram-se cada vez mais importantes em programas de melhoramento genético devido ao alto valor econômico associado a elas. Portanto, o desempenho reprodutivo é um dos principais critérios a ser incluído na avaliação da eficiência reprodutiva do rebanho (SILVA FILHO; ARAUJO; RODRIGUES, 2007).

Entre as principais vantagens em emprenhar novilhas mais jovens, destaca-se o aumento da vida reprodutiva no rebanho, permitindo maior intensidade de seleção e, conseqüentemente, progressos genéticos mais elevados (VAN MELIS et al., 2010; MELLO, 2014).

3.3 Características indicadoras de fertilidade em bovino de corte

A reprodução é processo complexo, e a seleção direta para características ligadas a ela é, muitas vezes, difícil de ser aplicada, tornando-se necessária a identificação de fenótipos que sejam de fácil mensuração, apresentem variabilidade genética e/ou que estejam geneticamente correlacionados aos eventos reprodutivos.

Os caracteres indicadores de precocidade sexual utilizados nos programas de melhoramento genético de bovinos no Brasil são o perímetro escrotal (PE), a idade ao primeiro parto (IPP) e a ocorrência de prenhez precoce (OPP). Estas características são de fácil mensuração, fazem parte da coleta de dados cotidianos e podem, assim, ser utilizados como critérios de seleção em programas de melhoramento genético animal.

Dentre as características reprodutivas, o PE é o principal indicador incluído nos programas de melhoramento de bovinos de corte por apresentar estimativas de herdabilidade de moderado a alta (BOLIGON et al., 2010, SILVA et al., 2012; BARROZO et al., 2012; GRESSLER; GRESSLER M; BERGMANN, 2014). Além disso, está geneticamente correlacionado com a libido, qualidade seminal dos machos (QUIRINO et al., 2004), e com algumas características produtivas. O principal destaque do PE, no entanto, refere-se à sua correlação genética favorável com a precocidade sexual das

fêmeas, principalmente a idade à puberdade (ELER; FERRAZ; TEIXEIRA, 2010; VALENTE et al., 2014; MELLO, 2014).

Para ambos os sexos a idade à puberdade marca o começo da vida reprodutiva do animal, o qual é considerado púbere quando está apto a liberar gametas e exibir comportamento sexual (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Relatos disponíveis na literatura permitem afirmar que a idade de manifestação da puberdade em novilhas é bastante variável, oscilando entre 6 e 24 meses, com peso corporal entre 250 e 300 kg (KINDER et al., 1995). A média de idade à puberdade de novilhas zebuínas do Brasil é de 22 a 36 meses (SOUZA et al., 1995). Esta amplitude está intimamente associada à influência de diversos fatores, seja de origem externa ou interna, acelerando ou retardando tal processo (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007; GIMENES et al., 2008; PIRES, 2010; ACAR et al., 2013).

Nos últimos anos, alguns sistemas de produção de bovinos de corte têm exposto fêmeas à reprodução mais precocemente, entre 14 e 16 meses, por dois motivos. Primeiro, pelo fato de os animais destinados à reprodução serem manejados de forma diferenciada, com melhor oferta de alimentos de qualidade. Segundo, pela adesão dessas propriedades a algum programa de melhoramento genético, onde são detectados os animais mais precoces para o uso em acasalamentos estratégicos (GUIMARÃES et al., 2011; NEPOMUCENO, 2013).

A IPP é característica de grande importância zootécnica para animais de produção, uma vez que marca o início do processo produtivo das fêmeas. A redução da idade ao primeiro parto antecipa a idade produtiva, provoca rápida recuperação do investimento, aumenta a vida útil do animal, possibilita maior intensidade de seleção nas fêmeas e reduz o intervalo entre gerações (MATTOS; ROSA, 1984). A IPP apresenta estimativas de herdabilidade baixa, variando de 0,01-0,25, dependendo da conjuntura em que são analisados os dados (ELER et al., 2002; DIAS et al., 2004; SILVA; DIAS; ALBUQUERQUE, 2005; LAUREANO et al., 2011; RÍOS-UTRERA et al., 2013; SILVEIRA et al., 2014). Além disto, a seleção para esta

característica apresenta outras limitações. Como dito anteriormente, a maior parte dos produtores utiliza a idade ou o peso das fêmeas como critério para o início da vida reprodutiva, reduzindo o grupo de fêmeas avaliadas e, assim, somente pequena porção da variabilidade total é mensurada, além de não permitir identificar as novilhas com maior precocidade sexual (COSTA et al., 2015).

Outra característica utilizada para avaliar a precocidade sexual de fêmeas é a OPP. Esta característica apresenta expressão fenotípica discreta e é definida pela observação de novilhas que conceberam e pariram depois de serem expostas à reprodução durante a estação de monta.

O conceito é aplicável às novilhas desafiadas precocemente entre os 12 e 21 meses, diagnosticadas com prenhez positiva (diagnóstico por ultrassonografia ou palpação retal), que mantiveram a gestação e pariram um bezerro vivo e, nesse caso, animais recebem uma anotação de 1. Contemporâneas que não atingiram algum critério anteriormente descrito recebem nota 0 (SHIOTSUKI et al., 2009; De CAMARGO et al., 2012). Desta forma, todas as fêmeas são incluídas nas análises sem precisar utilizar penalidades para os animais que não pariram (MATTAR et al., 2007). Segundo Silva, Dias e Albuquerque (2005), quando todas as fêmeas são incluídas, tanto a capacidade reprodutiva da fêmea em conceber precocemente, quanto a capacidade de crescimento e sobrevivência são analisadas.

A característica OPP possui vantagens sobre a IPP para se realizar a seleção para precocidade sexual, tendo em vista que é simples de medir, não gera custos adicionais para o sistema de produção e é de fácil compreensão para o produtor (ELER; FERRAZ; TEIXEIRA, 2010; FERRAZ; ELER, 2010). Além disso, essa característica responde rapidamente à seleção, devido às altas estimativas de herdabilidade reportadas, os quais variaram de 0,50 a 0,73 em novilhas expostas à reprodução pela primeira vez entre os 14 e 18 meses de idade. Estudos com animais da raça Nelore mostraram que a característica OPP apresenta variabilidade genética alta e

associação genética favorável com idade ao primeiro parto e perímetro escrotal (SILVA; DIAS; ALBUQUERQUE, 2005; SHIOTSUKI et al., 2006; VAN MELIS et al., 2010; BOLIGON; ALBUQUERQUE, 2011; GARCÍA et al., 2012).

3.4 Marcadores moleculares do tipo SNP

Avanços nos sistemas de sequenciamento automatizado de ácidos nucleicos têm permitido que as sequências de DNA de diferentes indivíduos sejam comparadas. Desta forma, variações individuais, resultantes de mutações de ponto, puderam ser identificadas. Essas variações, uma vez caracterizadas, constituem os “Single Nucleotide Polymorphisms” – SNPs (REGITANO; VENERONI, 2009).

As substituições de nucleotídeos mais frequentes observadas envolvem duas bases nitrogenadas da mesma característica estrutural, ou seja, trocas entre purinas (Adenina/Guanina ou G/A) ou pirimidinas (Citosina/Timina ou T/C) e são denominadas transições. As substituições entre uma purina e uma pirimidina ou o contrário são chamadas de transversões. Essas alterações podem ser provocadas por erros de incorporação de bases durante a replicação do DNA ou, em outros casos, por agentes ambientais (físicos ou químicos). Caso essas alterações ocorram em células germinativas, sejam transmitidas às gerações seguintes e se fixem na população a uma frequência mínima de 1%, passam a ser denominadas de polimorfismos (KWOK; GU, 1999).

Dentre os diversos tipos de marcadores moleculares existentes, os SNPs, constituídos por dois alelos que se diferenciam por um nucleotídeo, se destacam na detecção e localização de QTL por serem os mais abundantes polimorfismos de DNA encontrados no genoma de organismos eucariotos, ocorrendo em média a cada 600 pb (HAYES et al., 2008; MENEGASSI, 2014). Os SNPs podem ocorrer em qualquer região do genoma, sendo esta codificante ou regulatória (GUIMARÃES; COSTA,

2002), mas a maioria dos SNPs ocorrem em regiões intergênicas e de íntrons.

Do ponto de vista do mapeamento genético, cinco marcadores do tipo SNP fornecem aproximadamente a mesma informação que um loco de marcador do tipo microssatélite (“Simple Sequence Repeat” - SSR). Com isso, os mapas de SNPs devem ter densidade maior do que os de SSR, para se obter o mesmo poder de detecção de QTL. Porém, a densidade necessária ao mapeamento fino de QTL só pode ser obtida de maneira ideal com marcadores do tipo SNP (VIGNAL et al., 2002).

O genoma bovino possui aproximadamente 2,8 bilhões de pares de bases e, cerca de 26,4 mil genes. Até o momento, existem, mas de 30 milhões de SNPs putativos validados descritos no banco de dados dbSNP do genoma bovino (dbSNP, 2016).

3.5 “Chips” para genotipagem de SNPs em bovinos

O desenvolvimento da tecnologia de “chips” de SNPs tornou mais fácil a identificação e o estudo em larga escala de genes que controlam a variação de características de interesse econômico nas espécies de interesse zootécnico, incluindo bovinos. Nesse contexto, foram desenvolvidos e comercializados, inicialmente, “chips” de DNA de baixas densidades de SNPs (3K, 7K ou 10K). Há alguns anos, iniciou-se a comercialização do painel de densidade mediana como o “Illumina Infinium® BovineSNP50 v2 BeadChip”, que contém 54.609 SNPs distribuídos pelo genoma bovino, com espaçamento médio entre marcadores de 36,9 Kb.

No ano de 2012, a Illumina em associação com outras empresas lançaram o “BovineHD BeadChip”, com 777.962 SNPs, que abrangem todo o genoma bovino, com espaçamento médio de 3,43 Kb entre marcadores. A frequência do alelo menos comum (MAF) em todos os locos é de 0,25 e 0,17 para *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, respectivamente. Mais de 749 mil SNPs do “BovineHD BeadChip” foram validados em várias raças bovinas

com MAF maior ou igual a 0,05, incluindo SNPs autossômicos, mitocondriais e no cromossomo X (Illumina Inc, 2015; VAN MARLE-KÖSTER; VISSER; BERRY, 2013).

Os “chips” de DNA de média e alta densidade trouxeram grandes avanços para a comunidade científica como a análise da estrutura genética de diferentes populações de várias espécies de animais domésticos (EDEA et al., 2013; PETERSEN et al., 2013), a utilização em estudos direcionados para identificação de genes que controlam características de interesse econômico (BOVINE HAPMAP CONSORTIUM, 2009; BOLORMAA et al., 2014; MANCINI et al., 2014; MELO et al., 2014), a estimativa do grau de diversidade genética entre as populações (McCUE et al., 2012; PETERSEN et al., 2013) e, recentemente, a identificação e localização de regiões genômicas submetidas à seleção positiva (PÉREZ O'BRIEN et al., 2014a; MEIRA et al., 2014; SOMAVILLA et al., 2014; FAN et al., 2014; BELTRÁN et al., 2015; MOON et al., 2015).

Entretanto, de acordo com Matukumalli et al. (2009), regiões do genoma que influenciam a variação genética de características podem ser melhor mapeadas quando existe alta densidade de marcadores (SNPs) em forte desequilíbrio de ligação com QTL. Neste sentido, a alta cobertura de marcadores no genoma do “chip” HD tornou possível, em teoria, particionar 100% da variabilidade genética aditiva de uma dada característica de importância econômica, permitindo a estimação do valor de substituição de alelo em cada loco envolvido com a mesma (MEUWISSEN et al., 2001).

3.6 Desequilíbrio de Ligação (“Linkage Disequilibrium” – LD)

Desequilíbrio de ligação é a associação não aleatória entre alelos de diferentes locos, ou seja, é quando a frequência de um determinado haplótipo é maior do que o esperado (ARDLIE; KRUGLYAK; SEIELSTAD, 2002; KHATKAR et al., 2006; GODDARD; HAYES, 2009). O LD entre marcadores moleculares descreve a correlação entre os genótipos de dois

marcadores e expressa o grau de associação não aleatória entre seus alelos (PORTO-NETO et al., 2014). As medidas mais utilizadas para avaliar o LD entre marcadores bialélicos são o D' (LEWONTIN, 1964) e o r^2 (HILL; ROBERTSON, 1968), cada uma com diferentes propriedades estatísticas, porém com valores entre 0 e 1 (BOHMANOVA; SARGOLZAEI; SCHENKEL, 2010).

Um valor de $D' < 1$ (nenhum desequilíbrio) evidencia a ocorrência de recombinação entre os dois locos, e $D' = 1$ (completo desequilíbrio), evidencia a ausência de recombinação. Para marcadores bialélicos, D' tem o valor de 1 se um alelo em dado loco está completamente associado com um alelo de outro loco, isto é, se um ou mais dos quatro haplótipos possíveis estão ausentes. Os valores D' são inferiores a 1, se todos os quatro possíveis haplótipos estão presentes (GURGUL et al., 2014). Esta medida é superestimada quando a amostra é pequena e pela presença de alelos raros na população (DU; CLUTTER; LOHUIS, 2007; BOHMANOVA; SARGOLZAEI; SCHENKEL, 2010).

O r^2 representa a correlação entre dois locos e demonstrou ser a medida mais adequada para estimar o LD entre marcadores bialélicos, como os SNPs, por ser menos sensível à frequência alélica e ao tamanho da amostra (ZHU; ZHAO, 2007; BOHMANOVA; SARGOLZAEI; SCHENKEL, 2010). Para um par de locos bialélicos, r^2 é igual a 1 se apenas dois haplótipos estão presentes em uma população (GURGUL et al., 2014). Segundo Ardlie, Kruglyak e Seielstad (2002), se o r^2 for maior que 0,33 o LD já é considerado forte para o mapeamento de QTL.

Recentemente, o estudo do LD recebeu considerável atenção entre os geneticistas que pesquisam bovinos, principalmente para estabelecer o número de marcadores necessários para realizar a seleção baseada no genoma e identificar os genes responsáveis pela variação nas características de interesse zootécnico (PRASAD et al., 2008; HAYES et al., 2009; GURGUL et al., 2014). Os estudos de LD têm sido realizados, predominantemente, em raças bovinas submetidas à intensa seleção. Estes

estudos demonstraram que o LD é mais extenso em gado que nos seres humanos, o que pode ser explicado pela pequena população efetiva e a intensa seleção aplicada à essa espécie (McRAE et al., 2002).

De acordo com trabalhos relacionados à LD na literatura, os valores de r^2 para animais taurinos são superiores aos quantificados para zebuínos (VILLA-ANGULO et al., 2009; PÉREZ O'BRIEN et al., 2014b; PORTO-NETO et al., 2014; SALOMON-TORRES et al., 2014). Em trabalho realizado por Pérez O'brien et al. (2014b), foi descrito valor médio de r^2 para animais *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* de 0,59 e 0,39, respectivamente. De acordo com McKay et al. (2007), isto acontece devido à relação inversa existente entre o tamanho efetivo da população e o LD e a intensa pressão de seleção aplicada sobre algumas raças. Segundo Goddard e Hayes (2009) e Porto-Neto et al. (2014), animais *Bos taurus taurus* tiveram sua população efetiva muito reduzida após a domesticação.

Estudando animais da raça Gir, Silva et al. (2010), demonstraram que a média do LD, medido pelo r^2 entre marcadores adjacentes, foi de 0,21 e que houve tendência exponencial de decaimento em função da distância genética. Nos intervalos de 0-0,1 Mb, 0-0,2 Mb, 0-0,5 Mb e 0-1 Mb, a média do r^2 foi de 0,20, 0,18, 0,14 e 0,11, respectivamente. Na raça Nelore, Espigolan et al. (2013) e Regatieri (2013) utilizaram painel de 777.962 marcadores (Illumina, Inc., EUA) e relataram média do LD, medida por r^2 , de 0,17 e 0,18, respectivamente. Além disso, Espigolan et al. (2013) encontraram níveis moderados de r^2 (0,20 a 0,34) a distâncias menores que 30 Kb. Quando a distância entre os marcadores foi incrementada de 30 a 100 Kb, o valor médio de r^2 diminuiu variando entre 0,20 e 0,11.

Segundo Arias et al. (2009), existe ampla variação nas taxas de recombinação nos cromossomos autossomos, que conduz à diversidade no padrão de LD em diferentes regiões genômicas. Isto foi demonstrado na raça Nelore nos trabalhos desenvolvidos por Espigolan et al. (2013) e Regatieri (2013), os quais reportaram valores médios de LD para os autossomos com amplitude de r^2 de 0,003 a 0,21 e 0,003 a 0,24,

respectivamente. Intervalos superiores para alguns autossomos (0,07 a 0,40 para r^2) foram identificados por Mokry et al. (2014) em bovinos da raça Canchim.

3.7 Regiões de QTL (“Quantitative Trait Loci”)

QTL refere-se a certas regiões do DNA genômico relacionadas à variação das características quantitativas (SOLLER; ANDERSSON, 1998; SLATE, 2005; SAHANA et al., 2010). Os QTL têm sido mencionados mais como uma associação estatística do que propriamente uma entidade biológica, sendo as suas heranças acompanhadas pelos marcadores. Desta forma, QTL têm sido definidos como associações estatísticas significativas entre valores genotípicos (genótipos) e a variabilidade fenotípica na progênie segregante (BEAVIS, 1998).

Existem descritas na literatura várias estratégias diferentes para detectar QTL, que poderiam ser classificadas de muitas formas (ZENG, 2002). Entretanto, em todas elas, suas localizações baseiam-se na análise de ligação e dependem, portanto, da possibilidade de detectar regiões recombinantes, que, por sua vez, ocorre em função da densidade do mapa genético. Desta forma, experimentos que utilizam mapeamento de QTL são conduzidos visando principalmente três objetivos básicos: 1) Localizar regiões cromossômicas responsáveis pela variação genética de fenótipos economicamente importantes; 2) Realizar a clonagem posicional em busca dos genes e polimorfismos diretamente responsáveis por fenótipos específicos; e 3) responder à questões básicas sobre processos evolutivos que estão dando forma aos genomas (PATERSON, 1998; SCHLÖTTERER, 2003).

O mapeamento de QTL pode ser específico para um cromossomo ou para todo o genoma, e é uma das estratégias que têm sido utilizadas para se proceder a associação entre genes e características de interesse econômico na produção animal (COUTINHO et al., 2007). O mapeamento de QTL

baseia-se na definição de regiões cromossômicas associadas à variação genética do fenótipo de interesse econômico. Posteriormente, a região identificada pode ser refinada por intermédio do uso de um número maior de marcadores (LUND et al., 2003). O uso deste recurso permite multiplicar por 10 o nível de resolução, possibilitando reduzir o intervalo de busca entre 0,5 e 5 cM, de tal maneira que é possível aplicar técnicas de biologia molecular para identificar as causas genéticas que afetam o fenótipo de interesse (GARCÍA; CAÑON; DUNNER, 2002).

Outra estratégia de associação de regiões cromossômicas com características de interesse comercial na produção animal é o estudo de genes candidatos. Esta abordagem tem sido aplicada a estudos de uma série de características-alvo em várias espécies, na tentativa de elucidar sua base genética (BROWN et al., 2013). Genes podem ser candidatos posicionais, quando estão localizados em uma região cromossômica associada à um QTL de interesse e/ou candidatos funcionais, quando estão envolvidos em vias metabólicas e codificam proteínas que estão relacionadas com características fenotípica de interesse (ARANDA, 2002).

O sequenciamento dos genes candidatos pode identificar um ou mais polimorfismos e, estes, podem estar associados à características interessantes em animais de certa linhagem ou raça (FAN et al., 2008). Entretanto, resultados positivos de associação entre polimorfismos e características de interesse obtidos para populações de animais de uma linhagem ou raça não são imediatamente aplicáveis à populações de linhagens ou raças diferentes, uma vez que efeitos de substituição de alelos são parâmetros intrínsecos de cada população em determinado ambiente (REGITANO, 2004). Por conseguinte, a maioria dos métodos utilizados para predição de valores genéticos moleculares, por não serem constituídos de mutações causais, dependem de estabelecer a relação da fase de ligação entre SNP e/ou alelos do QTL, que em grande parte, faz com que o teste seja raça-específico (ROLF et al., 2014).

A principal limitação da aplicação da estratégia do gene candidato, é que somente uma pequena proporção dos genes que controlam características quantitativas é conhecida. Dificuldades também existem no estabelecimento definitivo do efeito do gene candidato, pois a identificação da variante causal para um gene de efeito menor pode não ser facilmente determinada (COUTINHO et al., 2007).

Muitas pesquisas têm se concentrado na identificação de QTL que afetam características de interesse comercial nas diversas raças de bovinos, embora os delineamentos experimentais, métodos de análises e os limites de significância apresentem variações entre os estudos (DRIVER et al., 2009; KATIB et al., 2009; HUANG et al., 2010; PEÑAGARICANO; KHATIB, 2011; HAWKEN et al., 2012; SASAKI et al., 2013; HYEONG et al., 2014).

De 42.019 QTL identificados em bovinos até a presente data, 9.147 encontram-se associados à características reprodutivas, dentre as quais, destacam-se idade à puberdade, índice de fertilidade, intervalo de parto à primeira inseminação, tratamentos de fertilidade, taxa de prenhez das filhas, taxa de retenção, taxa de ovulação, entre outras (ANIMAL QTLdb, 2016). Entre os cromossomos autossomos, o 14 é o mais estudado, apresentando mais de três mil QTL associados às principais características produtivas e reprodutivas de importância econômica em bovinos (WIBOWO et al., 2008).

3.8 Assinaturas de seleção

Sabe-se que a seleção natural ou artificial pode alterar a frequência de algumas mutações em regiões específicas do genoma, as quais tornaram os indivíduos mais adaptados ou forneceram a eles características favoráveis (CHEN; HEY; SLATKIN, 2015). Alguns locos adjacentes às mutações favoráveis em um cromossomo são transmitidos em conjunto ao longo das gerações e segregam de forma dependente com as variantes gênicas selecionadas. Esses locos adjacentes que são transmitidos em conjunto com os genes selecionados definem o que se convencionou

chamar de assinaturas de seleção, caracterizadas por extenso LD e pouca variabilidade genética (muitas vezes tem-se a fixação (WIENER et al., 2003; KIM; NIELSEN, 2004; VITTI; GROSSMAN; SABETI, 2013; PÉREZ O'BRIEN et al., 2014a; QANBARI; SIMIANER, 2014). As variações que estão associadas com o alelo não favorável serão removidas ao longo do tempo, resultando em uma varredura seletiva (NIELSEN et al., 2007). Neste sentido, Sabeti et al. (2002) define como “região núcleo” uma região de interesse no genoma que envolve um conjunto de “haplótipos núcleo” presumidamente caracterizado por forte LD entre SNPs. Portanto, o que caracteriza uma assinatura de seleção recente é o rápido aumento na frequência alélica, que ocorre em um espaço de tempo curto o suficiente para que a recombinação não quebre o haplótipo no qual a mutação ocorreu (SABETI et al., 2002).

O esclarecimento das assinaturas de seleção é de interesse para a biologia evolutiva, uma vez que pode permitir a identificação de genes selecionados relacionados ao processo de melhoramento genético das espécies de interesse zootécnico (QANBARI; SIMIANER, 2014). A identificação dessas regiões pode ser realizada utilizando-se apenas a análise de padrões genômicos, não necessitando de informações fenotípicas (SIMIANER; QANBARI; GIANOLA, 2010).

Vários métodos têm sido desenvolvidos para a detecção de assinaturas de seleção por meio de análises genômicas (STELLA et al., 2010; LENSTRA et al., 2012; QANBARI; SIMIANER, 2014). Em geral, a maioria destes métodos baseia-se na comparação da distribuição de frequências alélicas em uma população (EHH; iHH; iHS) ou entre populações (F_{st} , XP-EHH, R_{sb}) seja direta, ou indiretamente, mediante o cálculo de estatísticas de genética de populações, que estão em função das frequências alélicas ou genotípicas.

As principais pesquisas que visam a identificação de regiões de assinaturas de seleção utilizando dados de genotipagem de marcadores SNPs foram realizadas com humanos (SABETI et al., 2002; BAMSHAD; WOODING, 2003; VALLENDER; LAHN, 2004). Trabalhos de assinaturas de

seleção em bovinos surgiram posteriormente, desenvolvidos com diferentes metodologias de estimação e diferentes “chips” de genotipagem (QANBARI et al., 2010; GAUTIER; NAVES, 2011; UTSUNOMIYA et al., 2013; KEMPER et al., 2014; SOMAVILLA et al., 2014; BOMBA et al., 2015).

Metodologias como a Homozigose do Haplótipo Estendido (“Extended Haplotype Homozygosity” - EHH), proposta por Sabeti et al. (2002), pode ser empregada na identificação de assinaturas de seleção utilizando amostra aleatória de indivíduos de uma única população, a partir da genotipagem de SNPs distribuídos ao longo de todo o genoma. A EHH, também conhecida por teste do haplótipo de longo alcance (“Long-Range Haplotype” – LRH), é definida como a probabilidade de que dois cromossomos escolhidos aleatoriamente e que carreguem haplótipos de interesse sejam idênticos por descendência para todo o intervalo da região do núcleo à uma distância “x”. Os alelos de haplótipos comuns são geralmente antigos e têm LD de curto alcance, já os alelos de haplótipos raros podem ser antigos ou recentes e ter LD de longo ou curto alcance. Glick et al. (2012) demonstraram mediante a correlação positiva de 0,34 entre o teste LRH e Δq_y (alteração na frequência de haplótipos por ano) que o teste LRH pode servir como evidência de seleção recente apenas para haplótipos presentes em frequência relativamente alta na população ($\geq 0,25$).

Uma assinatura de seleção positiva, identificada pela estatística EHH, é então um haplótipo que apresenta LD de longo alcance e não usual, além de alta frequência, quando comparado aos outros haplótipos do mesmo loco.

Devido à possibilidade de que maior valor de EHH possa ocorrer devido à baixas taxas de recombinação em regiões específicas dos cromossomos (genoma) e não necessariamente à seleção positiva recente, Sabeti et al. (2002) introduziram a estatística homozigose relativa do haplótipo estendido (“Relative Extended Haplotype Homozygosity” - REHH). O REHH é definido como a EHH, dividido pelo declínio da EHH em todos os outros haplótipos núcleos (“core haplotypes”) combinados. Neste sentido, REHH corrige o valor EHH para todos os haplótipos núcleos relevantes do

mesmo cromossomo, ou seja, faz comparações entre haplótipos núcleos com outros haplótipos igualmente frequentes da mesma posição cromossômica, corrigindo, assim, as variações nas taxas de recombinação.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e coleta de amostras

Foram utilizadas 2.035 novilhas raça Nelore pertencentes a duas fazendas integrantes do programa de melhoramento DeltaGen, participantes do projeto de pesquisa “Aplicação de ferramentas genômicas no melhoramento genético da eficiência reprodutiva em bovinos da raça Nelore”, processos CNPq n°: 559631/2009-0 e FAPESP n°2009/16118-5.

Nestes rebanhos as fêmeas são desafiadas à reprodução em idade que varia de 16 a 18 meses. Todas as novilhas são expostas à reprodução independente do peso e da condição corporal. As épocas de nascimento dos bezerros concentram-se de agosto a outubro e novembro a janeiro, e os mesmos são mantidos com suas mães até os sete meses de idade a pasto.

Este processo, que teve início nestes rebanhos há cerca de 30 anos, é realizado para a identificação de novilhas precoces e geração de dados para serem utilizados nas avaliações genéticas do programa DeltaGen. A característica associada à precocidade sexual utilizada para o melhoramento é a ocorrência de prenhez precoce (OPP) de novilhas e é medida com base na concepção e parição da fêmea, desde que a mesma tenha entrado na estação de monta e tenha sido desafiada reprodutivamente entorno dos 16 a 18 meses de idade. Às novilhas que parem com menos de 31 meses é atribuído o valor 1 (sucesso), e às contemporâneas que falham, o valor 0 (fracasso).

Os dados utilizados neste trabalho foram gerados durante a estação de monta, entre os meses de fevereiro e abril dos anos 2008 e 2009, por meio de inseminação artificial, monta controlada e reprodutor múltiplo, com

relação touro/vaca de 1: 50. As novilhas foram avaliadas por meio de palpação retal, 60 dias após o término da estação de monta para a confirmação da prenhez. Novilhas que não concebem na estação de monta antecipada são utilizadas em outra estação de monta, aos dois anos de idade. Os principais critérios de descarte de fêmeas no rebanho são: falha reprodutiva até os dois anos de idade, falha da vaca em um ano, baixa avaliação de desempenho de progênes e uma pequena percentagem por sanidade.

Para obtenção do DNA das novilhas foram utilizadas amostras de pelos obtidas a partir da vassoura da cauda. Estas amostras foram colocadas em envelopes, identificadas e armazenadas a 4°C até o momento da extração de DNA.

4.2. QTL e genes candidatos

Foram consideradas como regiões candidatas para a investigação de ocorrência de assinaturas de seleção positiva recente, genes e QTL (Tabelas 1 e 2), que contêm genes que codificam proteínas, que de algum modo possam influenciar a precocidade sexual. A identificação e localização destas regiões candidatas no genoma bovino foi realizada por meio do acesso às plataformas Gene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) e CattleQTLdb (HU et al., 2013).

Tabela 1. Lista dos genes candidatos, característica relacionada, cromossomo (BTA - *Bos taurus* autossomo) e localização cromossômica de acordo com a regiões de anotação do genoma bovino versão UMD 3.1

BTA	Gene	Nome	Característica	Localização
1	<i>SST</i>	“somatostatin”	Crescimento e desenvolvimento	80250205...80251648
5	<i>IGF1</i>	“Insulin-like growth factor 1 (Somatomedin C)”	Crescimento e puberdade	66526644...66604781
5	<i>NELL2</i>	“NEL-like 2 (chicken)”	Puberdade	35656577...36042702
14	<i>DGAT1</i>	“Diacylglycerol O-acyltransferase 1” “Thymocyte selection-associated high mobility group box”	Taxa de prenhez	1795425...1804838
14	<i>TOX</i>		Regulação molecular da puberdade	26630059...26941899
14	<i>NCOA2</i>	“Nuclear receptor coactivator 2” “EYA transcriptional coactivator and phosphatase 1”	Regulação molecular da puberdade	35945551...36173052
14	<i>EYA1</i>		Regulação molecular da puberdade	36896160...37268911
14	<i>ZFX4</i>	“Zinc finger homeobox protein 4”	Regulação molecular da puberdade	41987711...42192539
14	<i>PLAG1</i>	“Pleiomorphic adenoma gene 1”	Estatura e facilidade do parto	25000459...25052403
16	<i>PAPPA2</i>	“Pappalysin 2”	Facilidade das filhas ao parto e Peso	59129977...59459507
19	<i>GH1</i>	“Growth hormone 1”	Crescimento	48768617...48772049
21	<i>IGF1R</i>	“Insulin-like growth factor 1 receptor” “Peroxisome proliferator-activated receptor gamma”	Crescimento e puberdade Regulador do balanço energético	7967718...8268246
22	<i>PPARG</i>			57367072...57432321
27	<i>NRG1</i>	“Neuregulin1”	Desenvolvimento sexual	26715811...27857143

Fonte: Banco de dados Gene (NCBI- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>), 2015.

Tabela 2. Lista dos QTL candidatos, característica relacionada, cromossomo (BTA - *Bos taurus* autossomo) e localização cromossômica de acordo com a regiões de anotação do genoma bovino versão UMD 3.1

(continua)

BTA	QTL	(cM)	Símbolo	Característica	Localização
1	3439	76,50	CONCRATE	Taxa de concepção	48356017...50356216
1	21144	62,52	PUBAGE	Idade à puberdade	38418544...40418743
1	21145	62,58	PUBAGE	Idade à puberdade	38584168...40584367
1	21147	62,73	PUBAGE	Idade à puberdade	38749793...40749992
1	14721	86,93	FERIND	Índice de fertilidade	54531787...56531986
1	14720	68,49	FERIND	Índice de fertilidade	42855852...44856051
1	6151	140	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	90698706...92698905
2	21138	99,59	PUBAGE	Idade à puberdade	63359932...65360131
2	21148	109,43	PUBAGE	Idade à puberdade	70764184...72764383
3	14724	79,29	FERIND	Índice de fertilidade	51197504...53197703
3	14726	79,44	FERIND	Índice de fertilidade	50323904...52324103
4	18818	91,41	PUBAGE	Idade à puberdade	48766090...50766289
5	14735	126,47	FERIND	Índice de fertilidade	68215924...70216123
5	20683	67	PUBAGE	Idade à puberdade	35129144...37129343
5	6026	43,5	OVR	Taxa de ovulação	22705755...24705954
5	6027	44,5	OVR	Taxa de ovulação	22198678...24198877
5	6028	51,4	OVR	Taxa de ovulação	26635603...28635802
5	10570	107	OVR	Taxa de ovulação	56933459...58933658
5	6161	51	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	27015911...29016110
5	6162	78	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	40326684...42326883
5	6163	82	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	44002993...46003192
6	6068	59	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	29114499...31114698
6	6069	68	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	32363377...34363576
6	6070	100	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	49107593...51107792

Fonte: animalgenome.org (www.animalgenome.org/QTLdb) 2015.

Tabela 2. Lista dos QTL candidatos, característica relacionada, cromossomo (BTA - *Bos taurus* autossomo) e localização cromossômica de acordo com a regiões de anotação do genoma bovino versão UMD 3.1

(continuação)

BTA	QTL	(cM)	Símbolo	Característica	Localização
7	3440	124,9	CONCRATE	Taxa de concepção	63095540...65095739
7	4684	8,1	CONCRATE	Taxa de concepção	2888056...4888255
7	10571	5,0	OVR	Taxa de ovulação	973710...2973909
7	10572	5,7	OVR	Taxa de ovulação	2026408...4026607
8	14808	31,09	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	12876498...14876697
9	14741	73,03	FERIND	Índice de fertilidade	38474635...40474834
9	14742	89,12	FERIND	Índice de fertilidade	48979116...50979315
10	3462	103,4	CONCRATE	Taxa de concepção	58680700...60680899
10	21201	75,7	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	42751273...44751472
10	14746	76,69	FERIND	Índice de fertilidade	43078590...45078789
10	14747	76,71	FERIND	Índice de fertilidade	42642168...44642367
10	14748	76,76	FERIND	Índice de fertilidade	43187696...45187895
10	14749	77,87	FERIND	Índice de fertilidade	42642168...44642367
11	15932	118,9	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	76599624...78599823
11	21140	58,18	PUBAGE	Idade à puberdade	36859540...38859739
11	21141	58,30	PUBAGE	Idade à puberdade	36608814...38609013
11	21142	58,30	PUBAGE	Idade à puberdade	36608814...38609013
11	6201	60,00	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	37360992...39361191
12	14809	45,87	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	19660703...21660902
13	14755	36,67	FERIND	Índice de fertilidade	20650459...22650658
13	14759	40,0	FERIND	Índice de fertilidade	22815514...24815713
13	14761	40,48	FERIND	Índice de fertilidade	23307573...25307772
13	14770	72,2	FERIND	Índice de fertilidade	40726430...42726629
13	14772	81,35	FERIND	Índice de fertilidade	47221597...49221796
13	14807	23,39	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	12679117...14679316

Tabela 2. Lista dos QTL candidatos, característica relacionada, cromossomo (BTA - *Bos taurus* autossomo) e localização cromossômica de acordo com a regiões de anotação do genoma bovino versão UMD 3.1

(continuação)

BTA	QTL	(cM)	Símbolo	Característica	Localização
14	6098	3	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	1...1692219
14	6099	62	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	27281957...29282156
14	6213	4	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	1175444...3175643
14	6214	5	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	169736...5170235
14	6215	6	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	582114...2582313
14	6216	50	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	23326425...25326624
14	6217	54	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	22634207...24634406
14	1416	75,54	OVR	Taxa de ovulação	34896357...36896556
14	20719	1,8	PUBAGE	Idade à puberdade	1...1098889
15	11439	7,0	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	992814...2993013
16	14806	42,31	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	22486202...24486401
17	11440	47,6	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	18755374...20755573
17	11441	47,6	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	18755374...20755573
18	6269	21	PUBAGE	Idade à puberdade	12956360...14956559
18	6223	50	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	30691085...32691284
19	21137	77,18	PUBAGE	Idade à puberdade	36117306...38117505
19	11624	66,7	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	31477631...33477830
19	11663	66,6	EMBSUR	Sobrevivência embrionária	31028630...33028829
19	10573	65,0	OVR	Taxa de ovulação	30729296...32729495
19	14774	83,97	FERIND	Índice de fertilidade	39559646...41559845

Tabela 2. Lista dos QTL candidatos, característica relacionada, cromossomo (BTA - *Bos taurus* autossomo) e localização cromossômica de acordo com a regiões de anotação do genoma bovino versão UMD 3.1

						(conclusão)
BTA	QTL	(cM)	Símbolo	Característica	Localização	
19	14776	84,01	FERIND	Índice de fertilidade	38362311...40362510	
20	14781	28,63	FERIND	Índice de fertilidade	12970790...14970989	
20	11544	33,6	CONCRATE	Taxa de concepção	15327326...17327525	
20	3463	77,09	CONCRATE	Taxa de concepção	35434656...35934705	
20	21143	13,16	PUBAGE	Idade à puberdade	5143726...7143925	
21	3464	40,13	CONCRATE	Taxa de concepção	20496359...22496558	
21	21134	9,88	PUBAGE	Idade à puberdade	5105899...7106098	
21	21136	10,0	PUBAGE	Idade à puberdade	4938612...6938811	
21	21139	10,08	PUBAGE	Idade à puberdade	4269461...6269660	
23	6228	2	PUBAGE-EVB	Idade à puberdade	1...1490936	
24	14787	35,68	FERIND	Índice de fertilidade	16363731...18363930	
24	14788	44,18	FERIND	Índice de fertilidade	22884326...24884525	
29	14793	37,25	FERIND	Índice de fertilidade	20660977...22661176	
29	1379	44,0	PUBAGE	Idade à puberdade	26978791...28978990	

4.3. Extração de DNA e genotipagem dos animais

A extração de DNA foi realizada no Laboratório de Genética Molecular “Marcos Antônio Giannoni” do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal/SP. O DNA foi extraído a partir de folículos pilosos de 2.035 animais, pelo método fenol - clorofórmio - álcool isoamílico, de acordo com metodologia adaptada por Lima (2003). A verificação da quantidade e da pureza do material obtido foi realizada com o uso do espectrofotômetro Nanodrop-1000 (Thermo Scientific, EUA).

Todos os animais foram genotipados com o painel de 777K SNPs “High Density Bovine SNP BeadChip”, seguindo o protocolo da Illumina - Infinium® II Assay Multi-Sample, utilizando-se o aparelho HiScan™SQ System.

4.4 Controle de qualidade dos dados de genotipagem

O controle de qualidade das genotipagens, para indivíduos e SNPs, foram realizados utilizando o programa Genome Studio versão 2011.1 (Illumina Inc., EUA) com os seguintes parâmetros de exclusão: em relação aos indivíduos - 1) “Call rate” (CR_{IND}) < 0,9: amostras que não continham pelo menos 90% dos genótipos determinados pelo painel de genotipagem; em relação aos SNPs - 1) “Call rate” (CR_{SNP}) < 0,9: marcadores que não foram genotipados em pelo menos 90% da amostra; 2) SNPs com MAF < 0,05 (“Minor Allele Frequency” – Frequência do alelo menos comum): marcadores com frequência do alelo menos comum inferior a 5%; 3) SNPs com p-valor 0,00001 para o HWE (“Hardy Weinberg Equilibrium” – Equilíbrio de Hardy - Weinberg): marcadores com desvios extremos, sugerindo potencial erro de genotipagem.

Também foram excluídos os resultados de genotipagem com baixa qualidade (“GenCall score” menor que 0,15 foram considerados como pouco

confiáveis), os SNPs localizados nos cromossomos sexuais e no genoma mitocondrial, aqueles sem informação de posição no genoma ou considerados ambíguos, bem como aqueles que não faziam parte dos genes e regiões cromossômicas que abrigam os QTL descritos nas Tabelas 1 e 2. Desta forma, para a análise dos genes candidatos e QTL, foram utilizados somente os SNPs do painel de 777K (“High Density Bovine SNP BeadChip”) que estavam dentro ou próximos a estas regiões. A escolha dos SNPs foi realizada tomando como base a posição dos genes e QTL no genoma, feita por meio do acesso às plataformas Gene (NCBI, 2015-) e CattleQTLdb (HU et al., 2013) e a posição dos SNPs do painel (“chip”) no genoma bovino, com base nas informações do fabricante (Illumina Inc., EUA).

Durante o processo de controle de qualidade uma parcela considerável dos marcadores foi excluída. Com isso, foram consideradas como regiões candidatas para a aplicação do teste EHH os genes apresentados na Tabela 1 e os QTL destacados em negrito na Tabela 2.

4.5 Reconstrução dos haplótipos, análises de LD e aplicação do teste EHH em regiões de QTL

Como as análises posteriores dependiam das informações de haplótipos, a fase de ligação dos SNPs foi inferida. Para isto, as regiões selecionadas do genoma foram analisadas utilizando-se o programa fastPHASE (SCHEET; STEPHENS, 2006) para a reconstrução dos haplótipos. Os haplótipos reconstruídos foram então inseridos no programa Haploview v4.2 (BARRETT et al., 2005), para a estimação do LD entre os pares de SNPs, baseado na estatística r^2 (HILL; ROBERTSON, 1968; BARRETT et al., 2005). Deste modo foram obtidos os padrões dos haplótipos formados com a finalidade de identificar evidências de assinaturas de seleção. Os SNPs que não fizeram parte de nenhum haplótipo foram considerados marcadores isolados.

4.5.1 Aplicação da homozigose do haplótipo estendido (EHH)

Para a identificação de regiões núcleo (“core region”) no genoma foi implementado o algoritmo sugerido por Gabriel et al. (2002), utilizando-se o programa Sweep v.1.1 (SABETI et al., 2002). Este programa considera um par de SNPs em forte LD se o limite superior do intervalo de confiança 95%, da estatística D' for maior que 0,98 e limite inferior acima de 0,7. Especificou-se que regiões núcleo tivessem no mínimo três e no máximo 20 SNPs.

Foram calculadas as estatísticas EHH e REHH dos dois haplótipos mais frequentes contidos em cada uma das regiões núcleos. A fórmula para o cálculo da estatística EHH está descritas na sequência:

$$EHH_t = \frac{\sum_{i=1}^s \binom{e_{ti}}{2}}{\binom{c_t}{2}},$$

(SABETI et al., 2002)

Em que:

EHH_t : homozigose do haplótipo estendido de um região núcleo testado (t);

c_t : número de amostras de um haplótipo núcleo particular (em teste);

e_{ti} : número de amostras de cada haplótipo estendido presente na região núcleo;

s : é o número de haplótipos estendidos na região núcleo.

A estatística REHH foi calculada pela fórmula: EHH_t/\overline{EHH} , com \overline{EHH} , definido como o declínio do EHH em todos os outros haplótipos núcleos combinados, dado por:

$$\overline{EHH} = \frac{\sum_{j=1, j \neq t}^n \left[\sum_{i=1}^s \binom{e_i}{2} \right]}{\sum_{i=1, j \neq t}^n \binom{c_i}{2}},$$

(SABETI et al., 2002)

Em que:

n : número de diferentes haplótipos núcleos no cromossomo (em relação ao t).

Para a aplicação do teste REHH foi utilizada janela de 250 Kb para ambos os lados da região núcleo, devido ao menor LD observado nas raças zebuínas em relação às taurinas (ESPIGOLAN et al., 2013; REGATIERI, 2013; SOMAVILLA et al., 2014; PORTO-NETO et al., 2014; MOON et al., 2015). Para determinar a significância dos valores de REHH, os haplótipos foram ordenados em dez classes de frequência. Para obter uma distribuição normal, os valores de REHH foram transformados por escala logarítmica ($-\text{Log}_{10}$). A distribuição das probabilidades, os cálculos da média, os desvios-padrão e os p -valores, também foram transformados para $-\text{Log}_{10}(P)$. Desta forma, aqueles haplótipos com p -valores extremos na distribuição $-\text{Log}_{10}(P)$ superior a 2, foram considerados significativos (QANBARI et al., 2010; FAN et al., 2014; SOMAVILLA et al., 2014; BOMBA et al., 2015).

4.6. Anotação de genes nas regiões candidatas do genoma

Regiões cromossômicas com QTL mapeados (Tabelas 3 e 4), com valores de REHH significativos ($p < 0,01$), e com frequência de haplótipos maior ou igual a 0,25 (GLICK et al., 2012), foram estendidas 30 Kb (MOKRY et al., 2014) para ambos os lados por varredura em busca de genes relacionados à precocidade sexual de fêmeas. A amplitude da janela foi menor que aquela utilizada por diferentes pesquisas realizadas com várias raças bovinas (QANBARI et al., 2010; PAN et al., 2013; FAN et al., 2014; BOMBA et al., 2015), devido ao declínio do LD encontrado na raça Nelore (REGATIERI, 2013; ESPIGOLAN et al., 2013; PORTO-NETO et al., 2014).

Os genes abrigados em regiões correspondentes à QTL contendo assinaturas de seleção segundo estatísticas REHH foram identificados com base na ferramenta Map Viewer do NCBI e GBrowse carregada com o genoma bovino versão UMD 3.1 (ZIMIN et al., 2009). A partir desta prospecção foi gerada a lista contendo genes cujos produtos estejam relacionados com a precocidade sexual

de fêmeas, mais especificamente com a característica OPP, a qual foi utilizada para a seleção nos rebanhos que cederam amostras para a realização do presente estudo. As informações relacionadas à função dos genes foram obtidas a partir dos bancos de dados Gene (NCBI-2016), Gene Ontology e GeneCards, considerando as informações provenientes das espécies *Bos taurus* e *Homo sapiens*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Extração de DNA e análise de qualidade e controle de qualidade dos dados de genotipagem

A concentração de DNA das amostras foi ajustada para 70 ng/μL e a relação de absorvância A260/A280 ficou entre 1,80 e 2,00, possibilitando a utilização do material com sucesso na análise genômica.

Após o controle de qualidade dos dados de genotipagem, 24 amostras foram excluídas por apresentarem “call rate” inferior a 0,90. As 2.011 amostras restantes apresentaram “call rate” médio de $0,96162 \pm 0,00558$.

Depois do processo de filtragem dos marcadores por critérios de qualidade e de localização no genoma, permaneceram 22.241 SNPs com espaçamento médio de 157,29 Kb. A MAF média e desvio-padrão deste conjunto de marcadores foi $0,22 \pm 0,0005$, estimativa inferior à observada pelo Bovine Hapmap Consortium (2009) e por Somavilla et al. (2014) na raça Nelore (0,26), e próxima em relação à reportada por Espigolan et al. (2013) na mesma raça (0,20).

5.2. Estatística descritiva para marcadores e haplótipos

Na Tabela 3 está apresentada a descrição geral dos SNPs informativos e das regiões núcleo formadas pelos mesmos, as proporções das extensões

cobertas pelas regiões núcleo versus o total da extensão de cada cromossomo e o número de SNPs por regiões núcleo versus o número total de SNPs informativos. Nesta análise, foram excluídos os cromossomos que não apresentaram genes ou QTL de interesse para a característica estudada. Foram formadas 2.756 regiões núcleo, com tamanho médio e desvio-padrão de $27,57 \pm 29,08$ Kb, abrangendo 70,10 Mb dos 25 cromossomos estudados (3,03% do genoma). O desvio-padrão encontrado evidenciou a alta variação no tamanho das regiões núcleo, que apresentaram o mínimo de 40,44 Kb no BTA27 e o máximo de 1.324,36 Kb no BTA14. Dos SNPs utilizados, 17.312 (77,85%) participaram da formação dos blocos, com o mínimo de 10 no BTA27 e o máximo de 20 SNPs por região núcleo nos cromossomos 1, 3 a 7, 9 a 15, 18 a 21, 23, e 24.

Os resultados encontrados mostraram menor extensão do LD e um declínio mais intenso a curtas distâncias, quando comparados com os animais *Bos taurus taurus* (VILLA-ANGULO et al., 2009; PORTO-NETO et al., 2014), levando à formação de regiões núcleo menores e com poucos marcadores.(Figura 1). Assim como relatado por Somavilla et al. (2014).

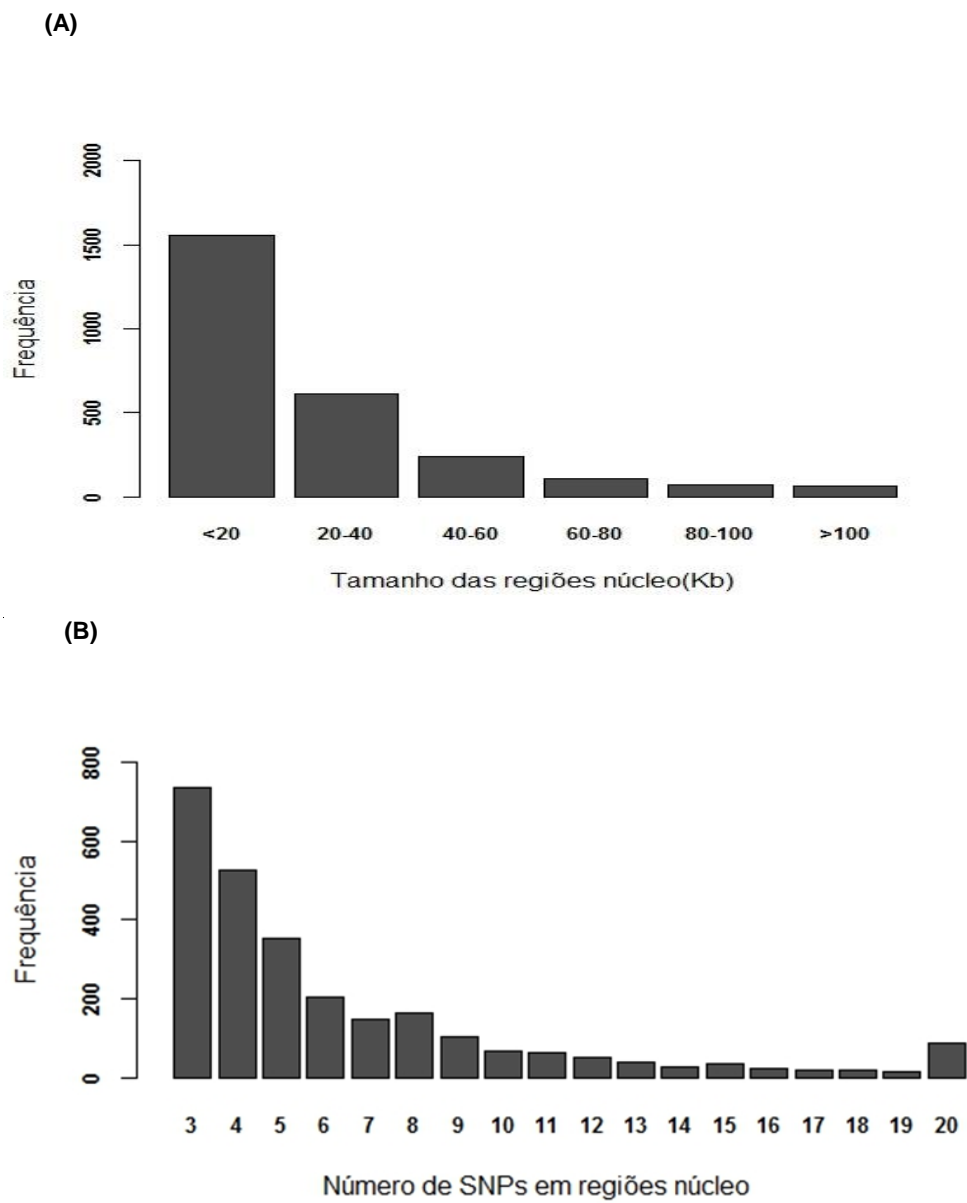


Figura 1. Distribuição do tamanho das regiões núcleo (A) e número de SNPs em regiões núcleo (B) no genoma bovino da raça Nelore.

Tabela 3. Estatística descritiva dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e regiões núcleo (“core region”- CR) distribuídos ao longo do genoma bovino da raça Nelore associados com a característica de precocidade sexual.

BTA	N° SNPs	Tamanho BTA ^a (Mbp)	Distância Média (SNPs) (Kb)	N° CR	Tamanho Médio CR (Kb) ±SD	Tamanho Cobertura CR (Kb) ^b	Tamanho Max CR (Kb)	Tamanho CR/ BTA (%)	CR_SNPs (n) ^c	Max CR SNPs(n)	CR_SNPs/ SNP ^d
1	1.664	158,5	95,16	213	24,17 ± 21,89	5.148,38	128,60	0,03	1.241	20	0,75
2	449	136,8	305,26	62	24,73 ± 26,72	1.533,36	178,52	0,01	311	12	0,69
3	520	121,4	233,52	51	38,58 ± 39,13	1.967,82	157,37	0,02	447	20	0,86
4	291	120,8	415,22	32	25,14 ± 35,79	804,56	176,62	0,01	188	20	0,65
5	2.518	121,1	48,13	308	28,47 ± 29,32	8.767,77	189,28	0,07	2.074	20	0,82
6	1314	119,4	90,91	169	21,46 ± 17,09	3.627,09	83,80	0,03	1.087	20	0,83
7	1432	112,6	78,66	182	18,07 ± 17,17	3.289,26	97,81	0,03	1.071	20	0,75
8	361	113,3	314,07	50	20,23 ± 17,58	991,42	87,38	0,01	247	12	0,68
9	843	105,6	125,40	110	24,36 ± 28,61	2.679,88	160,34	0,03	719	20	0,85
10	725	104,2	143,88	80	37,33 ± 36,37	2.986,57	156,72	0,03	628	20	0,87
11	760	107,2	141,20	110	17,97 ± 15,61	1.976,31	84,64	0,02	557	20	0,73
12	316	91,1	288,48	33	30,64 ± 28,72	1.011,12	122,58	0,01	242	20	0,77
13	1.893	84,2	44,50	233	25,04 ± 25,82	5.833,59	154,22	0,07	1.438	20	0,76
14	2342	83,9	36,14	290	29,70 ± 82,96	8.612,53	1.324,36	0,10	1.875	20	0,80
15	269	85,2	317,06	30	39,85 ± 47,52	1.195,61	222,91	0,01	207	20	0,77
16	441	81,7	185,31	45	32,18 ± 28,42	1.448,09	114,44	0,02	340	19	0,77
17	419	75,1	179,38	62	12,54 ± 10,48	777,44	47,73	0,01	297	18	0,71
18	594	65,9	111,11	61	39,24 ± 39,87	2.393,93	208,24	0,04	502	20	0,85
19	1.181	63,9	54,24	153	22,03 ± 21,39	3.370,75	120,29	0,05	904	20	0,77
20	1.011	71,9	71,26	134	20,56 ± 30,19	2.755,00	240,63	0,04	705	20	0,70
21	926	71,6	77,32	104	26,67 ± 26,61	2.773,88	118,22	0,04	687	20	0,74
23	237	52,5	221,65	18	68,39 ± 46,69	1.231,07	177,25	0,02	229	20	0,97
24	799	62,7	78,49	97	24,83 ± 23,94	2.408,87	126,97	0,04	630	20	0,79
27	223	45,4	203,63	31	16,56 ± 11,31	513,36	40,44	0,01	165	10	0,74
29	713	51,1	72,24	98	20,50 ± 17,75	2.009,17	94,71	0,04	521	16	0,73
Total	22.241	2.309,7		2.756		70.106,81			17.312		
Média			157,29		27,57 ± 29,08			0,03			0,77

^a Dados baseados no genoma referência UMD 3.1. ^b Tamanho de cobertura das regiões núcleo. ^c número de SNPs em regiões núcleo.

^d SNP em regiões núcleo /Total SNP-BTA

BTA - *Bos taurus* autossômicos

Na Figura 2, observa-se que houve maior concentração de haplótipos nas classes de frequências mais baixas (10 - 30%), quando comparadas com as demais classes. Estes resultados podem ser explicados pelo número de SNPs compostos em cada uma das regiões núcleo. As regiões núcleo com três ou quatro SNPs foram mais frequentes, seguidos por aquelas que apresentaram cinco a seis SNPs (Figura 1B). Resultados semelhantes foram encontrados por Qanbari et al. (2010), Fan et al. (2014) e Somavilla et al. (2014) em gado Holandês, Simental e Nelore, respectivamente.

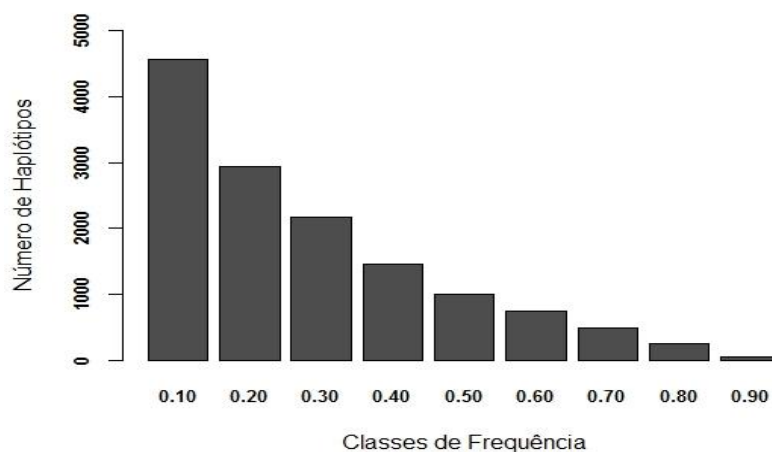


Figura 2. Distribuição do número de haplótipos em relação à frequência na população.

Há evidências de um grande número de haplótipos com baixa frequência em mais de 50% das regiões núcleo (Figura 2), o que, segundo Tajima (1989), reflete a deriva genética resultante da recente diminuição do N_e (tamanho efetivo da população). De fato, estudos realizados por Faria et al. (2009), que calcularam o N_e das principais raças zebuínas brasileiras, verificaram que houve significativa redução em consequência da baixa quantidade de reprodutores utilizados. Para a raça Nelore, o N_e foi de 85, 98, 71 e 68 para os períodos de 1979 – 1983, 1984 - 1988, 1989 - 1993 e 1994 - 1998, respectivamente. De acordo com Villa-Angulo et al. (2009), nas últimas 100 gerações, o N_e da raça Nelore passou de mais de 400 para menos de 100 animais. Outra possibilidade a ser considerada é o fato de que

as populações de *Bos taurus indicus* apresentam maior proporção de alelos de baixa frequência no painel de SNPs utilizado, o que pode portanto, influenciar as estimativas de LD (WEISS; CLARK, 2002; McKAY et al., 2007; PÉREZ O'BRIEN et al., 2014b).

5.3. Detecção de assinaturas de seleção

Para as 2.756 regiões núcleo formadas, foram realizados 20.509 testes EHH, p -valores de classes variadas foram indicados por símbolos e cores diferentes. Desta forma, pode-se observar que a Figura 3, tem padrão semelhante à distribuição dos haplótipos em função das frequências (Figura 2). A alta homozigose encontrada para os haplótipos de maior frequência na população pode ser resultado da diminuição da variabilidade e da seleção artificial baseada na disseminação de material genético de poucos reprodutores (VOZZI et al., 2006; SOMAVILLA et al., 2014).

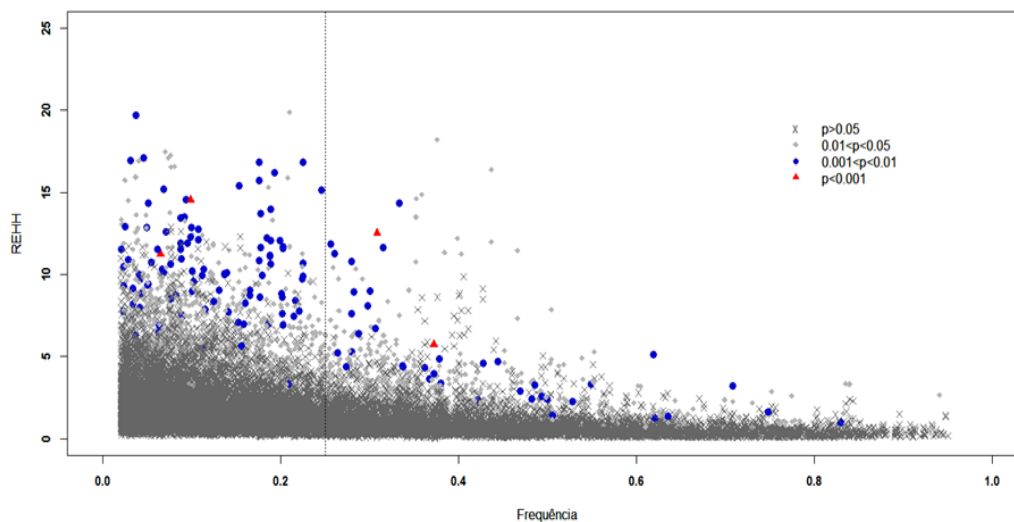


Figura 3. Distribuição dos valores REHH vs frequência dos haplótipos núcleo (haplótipos núcleo com valores de $p < 0,01$ e $p < 0,001$ se apresentam em azul e vermelho, respectivamente).

Os haplótipos de regiões núcleo com frequência menor que 25% foram descartados. Como consequência, após esta filtragem, 7.518 testes EHH foram mantidos. A descrição do número de testes EHH e das regiões significativas para

cada um dos cromossomos está apresentada na Tabela 4. Quarenta deles atingiram nível significativo correspondente a $p < 0,01$, indicando regiões do genoma que poderiam estar sob seleção recente. Mais regiões de assinaturas de seleção foram observadas em maior número nos cromossomos 1, 5, 13, 20 e 24. Os demais cromossomos apresentaram número moderado de regiões ou não exibiram região núcleo ($p > 0,01$).

Para melhor observação da distribuição das assinaturas de seleção, os p -valores transformados ($-\text{Log}_{10}$) da estatística REHH foram plotados em função da posição dos haplótipos nos cromossomos (Figura 4). Pode-se observar haplótipos com p -valores extremos na distribuição, isto é, $-\text{Log}_{10}(P)$ superior a 2, foram considerados significativos ($p < 0,01$), nos cromossomos 1, 2, 4 a 9, 11, 13, 14, 16, 20, 21, 24 e 29, indicando que estas regiões podem conter genes que controlam a precocidade sexual de fêmeas, mais especificamente a ocorrência de prenhez precoce.

Os resultados da estatística REHH ($-\text{Log}_{10} P$ valor) em função das frequências dos haplótipos das regiões núcleo (Figura 5) estão em confluência com os apresentados na Figura 4, indicam que as assinaturas de seleção com valores significativos podem ser atribuídas à seleção indireta praticada sobre todo o genoma na raça Nelore, e não sobre regiões cromossômicas específicas, o que pode ser explicado pela complexidade da arquitetura genética da característica em estudo (STRATZ et al., 2014; ZHANG et al., 2015).

Tabela 4. Estatística da aplicação do teste Homozigose do Haplótipo Estendido (EHH) em regiões de interesse no genoma de bovino da raça Nelore

BTA	Testes EHH*	$p < 0,05$ (n)	$p < 0,01$ (n)	$p < 0,001$ (n)	-Log. REHH $p < 0,01$ e $< 0,001$
1	568	62	3	0	2,15; 2,73; 2,47
2	192	17	2	0	2,01; 2,10
3	146	17	0	0	-
4	93	6	1	0	2,28
5	853	101	3	0	2,03; 2,16; 2,31
6	436	44	1	0	2,00
7	498	48	0	1	3,00**
8	142	10	1	0	2,12
9	324	31	2	0	2,29; 2,09
10	229	28	0	0	-
11	294	23	2	0	2,37; 2,44
12	83	10	0	0	-
13	667	63	8	0	2,14; 2,27; 2,36; 2,37; 2,14; 2,07; 2,46; 2,11
14	821	78	2	0	2,89; 2,06
15	90	7	0	0	-
16	104	7	1	0	2,39
17	172	17	0	0	-
18	164	11	0	0	-
19	433	37	0	0	-
20	330	37	5	1	2,57; 2,21; 2,36; 2,53; 2,01; 3,23**
21	258	22	2	0	2,26; 2,51
23	38	1	0	0	-
24	249	23	3	0	2,02; 2,54; 2,04
27	64	8	0	0	-
29	270	31	2	0	2,16; 2,50
Total	7.518	739	38	2	40

* Número de testes nos haplótipos da região núcleo com frequência $\geq 0,25$.

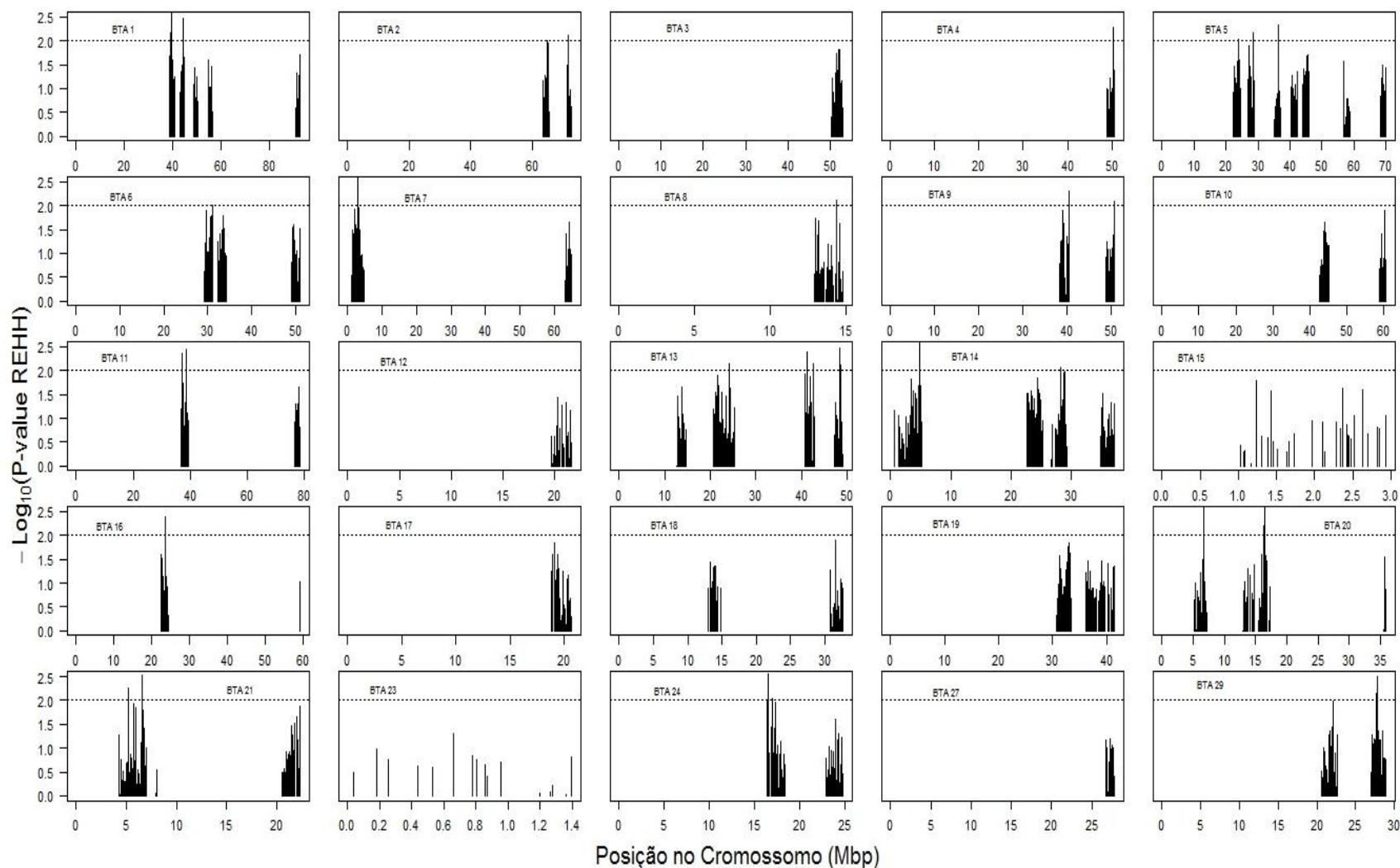


Figura 4. Mapa de p -valores para os haplótipos núcleos com frequência $\geq 0,25$ no genoma de bovinos da raça Nelore em relação à posição nos cromossomos. A linha descontínua indica $p < 0,01$.

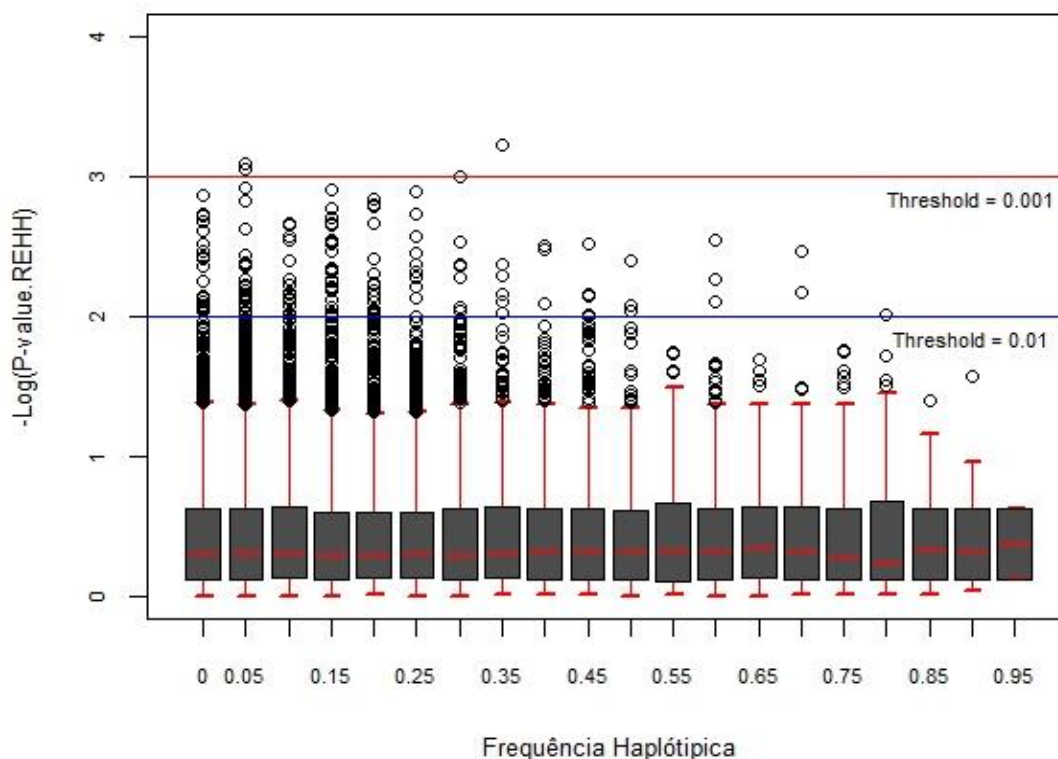


Figura 5. “Boxplot” da distribuição do $-\text{Log}_{10} p\text{-valor}$ da estatística Homozigose Relativa do Haplótipo Estendido (REHH) em função das frequências dos haplótipos núcleo. Os níveis de significância são $p\text{-valor} = 0,01$ (linha azul) e $p\text{-valor} = 0,001$ (linha vermelha).

Em vários estudos encontrados na literatura que utilizaram a metodologia REHH para identificar regiões de assinaturas de seleção em bovinos ao longo de todo o genoma, foram observados um maior número de regiões núcleos que atingiram um nível de significância de $p < 0,01$. Esses resultados corroboram com os do presente trabalho, demonstrando a intensa seleção praticada em algumas raças de bovinos para diferentes características de interesse econômico. Qanbari et al. (2010) observaram mais de 160 regiões ($p < 0,01$) com seleção positiva recente, as quais credenciaram-se como regiões candidatas a abrigar os principais genes relacionados à produção e à qualidade do leite em bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*). Estudo similar foi conduzido por Pan et al. (2013) em uma população de bovinos da raça Holandesa da China (*Bos taurus taurus*), e encontraram 541 e

125 regiões núcleos que atingiram um nível de significância de $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente.

Em trabalhos realizados por Fan et al. (2014), Somavilla et al. (2014) e Kim, Sonstegard e Rothschild (2015) com bovinos das raças Simental, Nelore e Jersey, respectivamente, e genotipados com diferentes painéis de SNPs (50K e 770K), foram identificados mais de 1.900 regiões núcleos ao longo de todo o genoma.

A identificação de regiões que mostraram sinal de seleção positiva recente é importante, já que contêm genes candidatos relacionados com características de interesse econômico para a pecuária.

5.3.1 Identificação de assinaturas de seleção sobrepostas a QTL

Regiões importantes próximas às assinaturas de seleção foram significativas ($p < 0,01$) e sobrepostas a diversos QTL localizados nos cromossomos 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 20, 21, 24 e 29 associados às características reprodutivas em bovinos como: primeiro serviço/concepção, taxa de retenção direta, facilidade de parto, idade à puberdade, duração da gestação, perímetro escrotal, taxa de nascimento de gêmeos e distocia direta (Tabela 5).

Regatieri (2013) realizou estudo de associação entre SNPs e a característica OPP em fêmeas da raça Nelore e encontrou grande número de SNPs significativos em regiões específicas em 18 cromossomos (2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 16, 17, 19, 20, 23, 24, 25 e 26). Os SNPs de maior destaque estavam nos cromossomos BTA6 (entre 86,4 e 89,4 Mb e entre 99,8 e 108,8 Mb), BTA8 (entre 57,7 e 58,4 Mb e entre 104,0 e 105,8 Mb), BTA17 (entre 19,1 e 25,6 Mb e entre 65,7 a 71,8 Mb) e BTA19 (entre 58,7 e 61,7 Mb).

Tabela 5. Descrição dos QTL relacionados com características reprodutivas, descritos na literatura próximos às regiões de assinaturas de seleção ($p < 0,01$) identificadas no genoma de bovinos da raça Nelore

(continua)

BTA	QTL	Símbolo	Posição do QTL (cM)	Posição em CR(pb)	Característica	Raça	Referência
1	10275	NRR	23,94-51,01	38864433...38930065	Taxa de não retorno	H	Schrooten et al. (2004)
1	11319	FERTRT	38,08-75,81	38864433 38930065	Tratamentos de fertilidade	H	Höglund et al. (2009)
1	3439	CONCRATE	49-100	38864433 38930065	Taxa de concepção	H;N	Boichard et al. (2003)
2	5660	NRR	49,56-115,4	64828631...64902508	Taxa de não retorno	H	Ben Jemaa et al. (2008)
2	10662	CALEASE	60,25-67,25	64828631...64902508	Facilidade de parto	A	Mcclure et al. (2010)
2	1678	CALEASE	67,25-74,84	71510203...71602623	Facilidade de parto (direto)	H	Schnabel et al. (2005)
5	10281	NRR	17,28-32,25	23788503...23881776	Taxa de não retorno	H	Schrooten et al. (2004)
5	1376	FSHC	47-82	36285097...36350258	FSH à castração	B x He	Casas et al. (2004)
6	10759	CALEASE	17,0-43,93	30992498...31065010	Facilidade de parto (direto)	A	Mcclure et al. (2010)
6	5387	GLENGTH	26,4-83,8	30992498...31065010	Duração da gestação	H	Maltecca et al. (2008)
6	3562	CALEASE	53,72	30992498...31065010	Facilidade de parto (direto)	H	Holmberg et al. (2006)
6	6068	PUBAGE	59	30992498...31065010	Idade à puberdade (EBV)	H	Daetwyler et al. (2008)
6	10090	TWIN	58,96	30992498...31065010	Taxa de gêmeos	H	Weller et al. (2008)
7	2699	DYST	10	3011684...3079449	Distocia (direta)	H	Kuhn et al. (2003)
7	10782	SCRCIR	8,41	3011684...3079449	Perímetro escrotal	H	Mcclure et al. (2010)
7	2700	SB	9	3011684...3079449	Morte fetal	H	kuhn et al. (2003)
8	10822	SC	11,34-30,51	14346229...14419707	Perímetro escrotal	A	Mcclure et al. (2010)
9	10854	SC	42,48-57,08	40419634...40503624	Perímetro escrotal	A	Mcclure et al. (2010)
9	3565	CONCEPT	77,55	40419634...40503624	Inseminações por concepção	H	Holmberg et al. (2006)
9	3566	NRR	77,55	40419634...40503624	Taxa de não retorno	H	Holmberg et al. (2006)
9	5005	INSINT	49,99-51,85	40419634...40503624	Intervalo entre inseminação	H	Höglund et al. (2009)
9	11352	DYST	nd	50658167...50725784	Distocia (direta)	H	Seidensspinner et al. (2009)
9	10293	NRR	nd	50658167...50725784	Taxa de não retorno	H	Schrooten et al. (2009)

H= Holandês; A= Angus; B= Brahman; He= Hereford; J= Jersey; F= Fleckvieh; B= Brangus; N= Normande; nd= não definido

Fonte: animalgenome.org. 2016 (www.animalgenome.org/QTLdb).

Tabela 5. Descrição dos QTL relacionados com características reprodutivas, próximos às regiões de assinaturas de seleção ($p < 0,01$) identificadas no genoma de bovinos da raça Nelore

(conclusão)

BTA	QTL	Símbolo	Posição do QTL (cM)	Posição em CR (pb)	Característica	Raça	Referência
11	9922	SPMOT	11,0-58,0	38641878...38710691	Motilidade espermática	H	Druet et al. (2009)
13	11385	DYST	39,64-72,31	24020076...24083587	Distocia (maternal-direta)	H	Seidensspinner et al. (2009)
13	11446	SB	59,9-62,6	41115351...41178728	Morte fetal	H	Kuhn et al. (2003)
14	3518	CALEASE	29,8	4751237...4817006	Facilidade de parto (direto)	H	Kaupe et al. (2007)
14	5374	CLENGTH	6,1-48,8	4751237...4817006	Duração da gestação	H	Maltecca et al. (2008)
14	3525	NRR	18,7	4751237...4817006	Taxa de não retorno	H	Kaupe et al. (2007)
14	3526	SOUND	18,7	4751237...4817006	Solidez estrutural (pénis)	H	Kaupe et al. (2007)
14	6213	PUBAGE	nd	4751237...4817006	Idade à puberdade (EBV)	H	Daetwyler et al. (2008)
14	5374	GLENGTH	6,1-48,8	28229914...28328533	Duração da gestação	H; J	Maltecca et al. (2008)
14	10959	CALEASE	33,31-43,66	28229914...28328533	Facilidade de parto (direto)	A	McClure et al. (2010)
14	5385	CLENGTH	31,1-64,5	28229914...28328533	Duração da gestação	H	Maltecca et al. (2008)
20	3573	NRR	19,14	6676574...6758626	Taxa de não retorno	H	Holmberg et al. (2006)
20	11388	SB	8,2-37,8	6676574...6758626	Morte fetal	H	Seidensspinner et al. (2009)
20	15213	CALEASE	20,9-31,36	16216130...16312341	Facilidade de parto (direto)	H	Sahana et al. (2011)
20	15210	CALVIND	20,9-31,36	16216130...16312341	Índice de partos	H	Sahana et al. (2011)
21	11389	SB	0-37,81	5189423...5264966	Morte fetal	H	Seidensspinner et al. (2009)
21	15044	CALEASE	2,97	5189423...5264966	Facilidade de parto (direto)	F	Pausch et al. (2011)
24	1642	CALEASE	8,152-30,53	16341917...16439807	Facilidade de parto (direto)	H	Ashwell et al. (2005)
29	5371	CLENGTH	0,84-61,8	27621242...27708039	Duração da gestação	H	Maltecca et al. (2008)
29	22899	FSC	31,3-32,7	27621242...27708039	Primeiro serviço/ concepção	B	Peters et al. (2013)
29	1666	SOUND	29,2-46,6	27621242...27708039	Solidez estrutural (penis)	H	Ashwell et al. (2005)

As regiões de assinaturas de seleção encontradas no BTA6 no presente estudo, relacionam-se à QTL associados à determinadas características reprodutivas (Tabela 5), que encontram-se próximas aos SNPs significativos para OPP relatados por Regatieri (2013). Estudos utilizando diferentes raças bovinas descreveram regiões genômicas no BTA6, que contêm QTL com efeitos sobre características reprodutivas de interesse econômico, tais como: taxa de prenhez, índice de fertilidade, facilidade ao parto e longevidade, evidenciando seleção positiva (DAETWYLER et al., 2008; OLSEN et al., 2009; SAHANA et al., 2010; COLE et al., 2011; PINTUS et al., 2013; MANCINI et al., 2014).

As assinaturas de seleção identificadas nos cromossomos 1, 5 e 13 demonstram evidências de seleção positiva para OPP, com provável presença de alelos que expliquem a expressão fenotípica dessa característica, uma vez que estudo de associação ampla do genoma (GWAS) relataram regiões nestes cromossomos próximas à regiões de assinatura de seleção encontradas no presente trabalho, como portadores de QTL e SNPs associados à diversas características reprodutivas em bovinos (KHATKAR; RANDHAWA; RAADSMA, 2014). O trabalho conduzido por Regatieri (2013) apresentou quantidade significativa de SNPs (5%) em regiões específicas dos cromossomos autossômicos, incluindo o 1, 5 e 13, indicando potenciais regiões de QTL para a característica OPP. Igualmente, McDanel et al. (2014), descreveram a presença de um segmento genômico situado no BTA5 (58,37 -58,44 Mb), que continham uma deleção associada à diminuição da eficiência reprodutiva em cruzamentos *Bos taurus indicus*, próximos às assinaturas de seleção encontradas neste trabalho para o mesmo cromossomo. Também, esses autores demonstraram SNPs para eficiência reprodutiva em BTA1, 5, 21 e 25. Alguns cromossomos (1, 2, 5, 9, 14 e 20), identificados na presente pesquisa com assinaturas de seleção, contêm QTL para taxa de não retorno, característica que foi relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas bovinas por Khatkar et al. (2014).

O cromossomo 14 possui vários QTL identificados que afetam múltiplas características reprodutivas nos bovinos (SASAKI et al., 2013; HYEONG; IQBAL; KIM, 2014). A grande relevância do BTA14 neste estudo com a raça Nelore é

devido à identificação de assinaturas de seleção, sobrepostas a QTL para características importantes como: idade à puberdade, duração de gestação, facilidade ao parto e taxa de retenção direta. Pesquisas conduzidas por Daetwyler et al. (2008) e Hawken et al. (2012) identificaram algumas regiões cromossômicas responsáveis pela variabilidade da idade à puberdade, encontrando 169 SNPs significativos ($p < 0,001$), com maior número localizados entre 22 e 25 Mb no BTA14. Algumas das regiões genômicas de assinaturas de seleção encontradas no BTA14 para OPP localizam-se próximas a esses SNPs, o que presume associações entre essas variáveis. Estimativas de correlação genética negativa (menor que -0,3) sugerem que a seleção direcionada para animais com idade à puberdade precoce, pode resultar em alguma resposta correlacionada ao aumento da eficiência reprodutiva, em virtude das estimativas de herdabilidade apresentados pelas características idade à puberdade e OPP (MORRIS; CULLEN, 1994; JOHNSTON et al., 2013).

Os resultados encontrados no presente estudo de sobreposição entre assinaturas de seleção e QTL descritos, indicam que o processo de avaliação genética praticado nas fazendas, onde empregou-se a OPP como método de seleção para a característica de precocidade sexual, influenciaram também outras características reprodutivas. A identificação de assinaturas de seleção sobrepostas à QTL pode ser utilizada como informação inicial para a exploração de regiões do genoma nas quais existem genes importantes no controle de características de relevância econômica. Segundo Somavilla et al. (2014), existe, ainda, a possibilidade de se estudar regiões que podem ter sido alteradas em função de respostas correlacionadas.

5.4. Identificação de genes funcionais nas regiões com assinaturas de seleção

De acordo com a metodologia aplicada, foram encontradas 40 regiões significativas pela estatística REHH ($p < 0,01$), onde foram encontrados 56 genes. As descrições dessas 40 regiões estão relatadas na Tabela 6. Dos 56 genes analisados, 44 possuem funções biológicas conhecidas, entre as quais se destacam: processos biológicos envolvidos no metabolismo mitocondrial, desenvolvimento pós-embrionário, regulação da taxa de ovulação e fertilidade, resposta imune, metabolismo de triglicerídeos, proliferação celular, neurônios receptores olfativos, entre outros (Tabela 7). Estes papéis biológicos sugerem que tais genes podem influenciar, em maior ou menor escala, as características reprodutivas de fêmeas, em especial, a ocorrência de prenhez precoce. Dentre os 44 genes com funções conhecidas, subgrupo cujos produtos proteicos aparentemente estão mais envolvidos com a característica em estudo, foi escolhido para discussão.

A complexidade da embriogênese impõe a atribuição de múltiplos processos celulares que intervêm no desenvolvimento do embrião. Os genes relacionados ao metabolismo de proteínas (*GFM2* e *GALNT6*), lipídeos (*PIP4K2A* e *HEXB*), transcrição (*CDC40*) e processo de morfogênese (*SPTBN1*) merecem atenção pelo fato de que, em confluência, podem estar associados com respostas biológicas inter-relacionadas com a precocidade sexual de fêmeas Nelore. Investigações mais aprofundadas dos genes sob seleção positiva com função em processos celulares, inclusive de expressão gênica, são recomendadas para elucidar os mecanismos adjacentes ao desenvolvimento embrionário em bovinos e para corroborar os dados encontrados no presente trabalho.

Tabela 6. Total de genes por cromossomo identificados pela estatística Homozigose Relativa do Haplótipo Estendido (REHH) nas regiões cromossômicas significativas ($p < 0,01$).

Cromossomo	Posição das regiões (em pb) identificadas pela análise REHH	Total de genes identificados na região	Genes com função conhecida	Genes sem função conhecida
1	38864433...38930065	0	0	0
1	39529880...39598604	0	0	0
1	44242642...44346061	4	4	0
2	64828631...64902508	1	1	0
2	71510203...71602623	2	1	1
4	50381692...50455566	1	1	0
5	23788503...23881776	1	0	1
5	28552221...28629665	4	4	0
5	36285097...36350258	1	1	0
6	30992498...31065010	1	1	0
7	3011684...3079449	2	2	0
8	14346229...14419707	0	0	0
9	40419634...40503624	2	2	0
9	50658167...50725784	0	0	0
11	37228780...37291133	2	2	0
11	38641878...38710691	1	1	0
13	24020076...24083587	1	1	0
13	41115351...41178728	1	0	1
13	41125311...41202232	0	0	0
13	41148514...41211985	0	0	0
13	42478765...42543252	6	6	0
13	42613940...42716842	0	0	0
13	48362628...48429346	1	0	1
13	48617062...48688022	2	1	1
14	4751237...4817006	0	0	0
14	28229914...28328533	0	0	0
16	23629461...23694440	0	0	0
20	6676574...6758626	2	2	0
20	16216130...16312341	0	0	0
20	16350212...16415350	0	0	0
20	16350212...16415350	0	0	0
20	16415092...16483764	0	0	0
20	16434388...16517921	0	0	0
21	5189423...5264966	1	1	0
21	6586616...6664038	1	1	0
24	16341917...16439807	0	0	0
24	16525223...16594212	0	0	0
24	16973152...17052179	0	0	0
29	27621242...27708039	10	5	5
29	27751352...27861891	9	7	2
Total		56	44	12

Tabela 7. Genes localizados próximos às regiões cromossômicas de assinaturas de seleção no genoma bovino da raça Nelore e candidatos a influenciar as características reprodutivas de fêmeas.

(continua)

Gene	Gene ID	BTA	Posição (pb)*	Processos biológicos
<i>TBC1D23</i>	518370	1	44199166...44255977	Resposta imune e apoptose
<i>NIT2</i>	520620	1	44261477...44281308	Metabolismo de composto de nitrogênios na célula e apoptose
<i>TOMM70A</i>	507707	1	44292838...44332178	Metabolismo mitocondrial e apoptose
<i>LNP1</i>	507217	1	44261441...44281386	Desenvolvimento do sistema nervoso central
<i>NCKAP5</i>	786958	2	64102656...65214068	Proliferação celular
<i>DBI</i>	768330	2	71561192...71566372	Metabolismo de triglicerídeos
<i>LOC781951</i>	781951	4	50364596...50387098	Resposta imune
<i>GALNT6</i>	506903	5	28543995...28615499	Metabolismo de proteínas
<i>TRNAG-CCC</i>	100170915	5	28552221...28629665	RNA transportador
<i>CELA1</i>	281139	5	28615582...28637018	Desenvolvimento embrionário
<i>TMEM117</i>	614719	5	36197271...36316933	Crescimento celular (Retículo endoplasmático)
<i>SLC4A8</i>	537901	5	28468245...28576109	Transporte transmembranar (bicarbonato de sódio)
<i>BMPR1B</i>	407128	6	30797077...31322263	Regulação da taxa de ovulação, fertilidade e apoptose
<i>WNT3A</i>	522467	7	2948313...3017653	Desenvolvimento embrionário
<i>WNT9A</i>	511308	7	3070478...3077105	Desenvolvimento embrionário
<i>CDC40</i>	514003	9	40471774...40520275	Transcrição a partir do promotor de RNA polimerase II
<i>METTL24</i>	785203	9	40335194...40462569	Domínio metiltransferase
<i>EML6</i>	516921	11	37289720...37575519	Regulação da transcrição
<i>SPTBN1</i>	526027	11	37028024...37241384	Transporte de proteínas- citocinese mitótica e Morfogênese
<i>CCDC85A</i>	525800	11	38706388...38930062	Transdução de sinal celular
<i>PIP4K2A</i>	533289	13	23899335...24086139	Metabolismo de lipídeos / Desenvolvimento dos megacariócitos
<i>MGC133636</i>	515992	13	42481841...42485869	Regulação negativa da atividade de endopeptidase
<i>LOC617402</i>	617402	13	42488775...42493106	Regulação negativa da atividade de endopeptidase
<i>CST8</i>	617395	13	42500560...42508896	Regulação negativa da atividade de endopeptidase
<i>LOC531692</i>	531692	13	42520281...42529176	Regulação negativa da atividade de endopeptidase

*Fonte: Banco de dados Gene (NCBI - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>), 2016.

Tabela 7. Genes localizados próximos às regiões cromossômicas de assinaturas de seleção no genoma bovino da raça Nelore e candidatos a influenciar as características reprodutivas de fêmeas

(conclusão)

Nome Gene	Gene ID	BTA	Posição (pb)	Processos biológicos
<i>LOC781567</i>	781567	13	42533830...42536605	Regulação negativa da atividade de endopeptidase
<i>LOC505033 - CST9L</i>	505033	13	42540766...42543484	Regulação negativa da atividade de endopeptidase
<i>FERMT1</i>	524427	13	48617012...48677728	Polaridade celular epitelial/ proliferação de queratinócitos
<i>GFM2</i>	527467	20	6669159...6740437	Processo catabólico de GTP / Metabolismo de proteínas
<i>HEXB</i>	618571	20	6721327...6753670	Ovogênese/Metabolismo de lipídeos
<i>GABRG3</i>	613670	21	4534950...5336913	Transporte transmembranar/Transmissão sináptica
<i>ADAMTS17</i>	538131	21	6514303...6926926	Proteólise
<i>LOC513062</i>	513062	29	27855446...27856369	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC514864</i>	514864	29	27845519...27846454	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC781383</i>	781383	29	27837610...27838499	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>OR8G2</i>	532490	29	27330800...27331735	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC781319</i>	781319	29	27622831...27629154	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC512722</i>	512722	29	27656041...27656977	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC787694</i>	787694	29	27820502...27821434	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC510984</i>	510984	29	27786854...27787786	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>OR8D2</i>	521903	29	27693146...27694087	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC787625</i>	787625	29	27770678...27771604	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC782191</i>	782191	29	27750649...27751581	Neurônios receptores olfativos (ORNs)
<i>LOC781359</i>	781359	29	27615864...27618144	Neurônios receptores olfativos (ORNs)

Durante o desenvolvimento embrionário, a apoptose tem importância fundamental na morfogênese e na ovogênese (CUI et al., 2011; MERESMAN, 2011). Nesse momento do desenvolvimento, ocorre intensa proliferação e diferenciação celular, bem como aumento da complexidade das estruturas embrionárias. A apoptose resulta na eliminação de mais de 99% das células germinativas do ovário por meio da atresia folicular. Menos de 1% das células germinativas que culminaram em ovócitos está sujeita a sofrer apoptose durante a última fase da ovogênese na maioria das espécies de mamíferos (TILLY, 2001; MATSUD et al., 2012). Numerosos genes possuem propriedades pró-apoptóticas e podem ser ativados ou inibidos por variedade de sinais intrínsecos ou extrínsecos. Alguns dos genes identificados no presente trabalho desempenham esse tipo de função.

O gene *TBC1D23* (TBC1 domain family, member 23), por exemplo, é considerado pró-apoptótico (RAB-GAP) em células somáticas e germinativas, realizando função essencial na depuração de agentes patogênicos (VICTORINO; ALPER, 2013). Da mesma forma, o gene *NIT2* (Nitrilase family, member2), que se expressa em múltiplos tecidos e cuja proteína geralmente atua no citoplasma, desempenha importante ação inibitória no crescimento celular. A expressão ectópica de *NIT2* foi associada com a proteína 14-3-3, que é altamente conservada e fundamental na regulação do ciclo celular e apoptose (MHAWECH, 2005; LIN et al., 2007). Outro gene, cujos transcritos apresentam funções pró-apoptóticas é o *TOMM70A* (Translocase of outer mitochondrial membrane 70 homolog A). Além disso, este gene codifica uma proteína que participa na regulação e na translocação de proteínas através da membrana mitocondrial (ALVAREZ-DOLADO et al., 1999, EDMONSON et al., 2002, JOSEPH; HOOD, 2012), o que permitiu que Byrne et al. (2010) o associassem à transição entre o desenvolvimento fetal tardio e o nascimento em ovelhas.

A taxa de apoptose pode ser utilizada para avaliar a qualidade de ovócitos e embriões (ROTH; HANSON, 2004; RODRÍGUEZ et al., 2006). Vários estudos têm evidenciado estreita associação entre o processo de apoptose e a morte de ovócitos e células da granulosa, demonstrando que o evento está envolvido com a indução da atresia folicular (TILLY et al., 1991; JANOWSKI et al., 2012). Em bovinos, demonstrou-se que taxas de apoptose de 5 a 30% nas células da granulosa, influenciam positivamente o desenvolvimento de ovócitos (FENG et al., 2007; JANOWSKI et al., 2012). Warzych et al. (2013) demonstraram que existe associação positiva entre a morfologia dos ovócito e o índice de apoptose das células do cumulus. Tal sugestão está de acordo com o fato de que os ovócitos entregam fatores anti-apoptóticos (*BMPR1B*) em células do cumulus, o que poderia explicar a atresia mais tardia em células do cumulus em comparação com as células da granulosa (IRVING-RODGERS et al., 2001; MANABE et al., 2004).

Alguns dos genes identificados como atuantes na proliferação celular, também exercem efeito em processos como o desenvolvimento cerebral, reprodução e alimentação. O gene *NCKAP5* (NCK-associated protein 5) é expresso essencialmente nas células cerebrais, leucócitos e trofoblastos da placenta de humanos (MATUOKA et al., 1997; XIA et al., 2014). Este gene foi associado com o ganho de peso médio diário e com o consumo de matéria seca em bovinos (SERÃO et al., 2013), componentes importantes da eficiência alimentar. Desse modo, o gene *NCKAP5* merece destaque, uma vez que as características de eficiência alimentar estão diretamente ligadas à reprodução (GUIMARÃES et al., 2011; FUNSTON et al., 2012; GUNN et al., 2014; NEL; RIMBACH; PILLAY, 2015).

O tecido adiposo tem papel dinâmico na homeostase energética em todo o corpo, agindo como um endócrino (TOFFOLATTI et al., 2006; HAUSMAN; BARB; LENTS, 2012). Neste sentido, o gene *DBI* (Diazepam binding inhibitor “GABA receptor modulator, acyl-CoA binding protein”) codifica proteína envolvida no

metabolismo dos lipídios e no deslocamento de beta-carbolinas e benzodiazepinas, as quais modulam a transdução de sinal dos receptores GABA (ácido gama-aminobutírico) localizados nas sinapses cerebrais. O GABA influencia fortemente a liberação dos hormônios *LH* (hormônio luteinizante) e *FSH* (hormônio folículo estimulante), por meio da estimulação da secreção de *GnRH* (hormônio liberador de gonadotrofina) (KAH et al., 1992; SLOLEY et al., 1992; FORTES et al., 2010). Pesquisa desenvolvida por Li et al. (2009) relacionou o gene *DBI* com a regulação pré-ovulatória e o processo ovulatório em bovino, como resposta ao pico de *LH*.

Quatro genes relacionados ao desenvolvimento embrionário (*CELA1*, *BMPR1B*, *WNT3A* e *WNT9A*) também foram identificados. Alguns destes genes já foram associados a características econômicas importantes em trabalhos descritos na literatura. Um exemplo disso é o gene *CELA1* (Chymotrypsin-like elastase family member 1), que é expresso no endométrio de bovino, e é essencial na sobrevivência do embrião no período de pré-implantação (KILLEEN et al., 2014).

Outro gene associado ao mesmo processo biológico é o *BMPR1B* (Bone morphogenetic protein receptor, type IB), este pertence à superfamília *TGF- β 1* (Fator de crescimento transformador - β 1), que é amplamente relacionada à foliculogênese e à ovulação em bovinos, ovinos, ratos, suínos, cabras, búfalos e humanos (BODIN, 2006; FARHADI et al., 2013; NILSSON; ZHANG; SKINNER, 2013; AHLAWAT et al., 2014; LI et al., 2014). O trabalho conduzido por García et al. (2015), detectou produção abundante de mRNAs para do gene *BMPR1B*, durante o desenvolvimento precoce de blastocistos em bovino. Os autores sugerem que o embrião poderia ser alvo das proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), durante o deslocamento ao longo do oviduto, o que forneceu novas evidências que sugerem que a sinalização por BMPs poderia ter função potencial na pré-implantação de embriões de bovinos, especialmente nos estágios iniciais

de crescimento (PENNINGTON; EALY, 2012; WANG; YAO, 2014). Além disso, padrões diferentes de expressão do gene *BMPR1B*, sugerem função inibitória na diferenciação e na atresia folicular durante a taxa de ovulação em fêmeas bovinas (GASPERIN et al., 2014). Desse modo, esse gene é um candidato promissor a ser estudado, objetivando melhor compreensão dos processos biológicos que controlam a foliculogênese ovariana e a taxa de ovulação.

O alelo Booroola (FecB) do gene *BMPR1B* está diretamente correlacionado com a alta taxa de ovulação em ovelhas (MULSANT et al., 2001; LÓPEZ-RAMÍREZ et al., 2014; CHEN et al., 2015). A causa potencial da alta taxa de ovulação é o produto da fase folicular precoce devido ao aumento dos receptores de *LH* em células da granulosa (HENDERSON et al., 1987; SOUZA et al., 2001). Estudo conduzido por Marchitelli e Nardone (2015) permitiu a observação de polimorfismos no gene *BMPR1B* (rs109496270, rs109117120 e rs110544775) que estão associados à taxa de ovulação em bovinos da raça Maremmana (*Bos taurus taurus*) originária da região da Toscana e Lazio, Itália. Desta forma, o estudo do gene *BMPR1B* poderia ser indicado para situações em que seja importante o aumento da taxa de ovulação, como no caso do uso dos rebanhos de empresas que se especializam na produção e comercialização de embriões.

O gene *WNT3A* (Wingless-type MMTV integration site family, member 3A) é considerado ativador da via de sinalização WNT canônica, envolvida nas mais importantes funções relacionadas à embriogênese, à formação dos precursores mesodérmicos, e aos processos de cardiogênese, regeneração de órgãos e formação óssea (CHEN et al., 2009; PRAKASH, 2014). Também está associado à regulação da gonadotrofina, e modula, em conjunto com o FSH, a regulação das células da granulosa por meio da via de sinalização WNT/beta-catenina (HERNANDEZ; HUNZICKER-DUNN; NILSON, 2009; SCHREIBER; SPICER, 2012). Denicol et al. (2013) demonstraram a presença de vários genes da família dos WNT, incluindo *WNT3A* e *WNT9A*, na pré-implantação do embrião bovino (dia

6, estágio de mórula), os quais apresentaram associação com o aumento na proliferação celular (WANG et al., 2006; SMADJA et al., 2010). Kempet al. (2005) observaram que alguns membros da família de genes WNT (*WNT3A*, *WNT6*, *WNT7B*, *WNT9A*, *WNT10B*), exibiram altos níveis de expressão em blastocistos de embriões de ratos. A alta expressão da via de sinalização WNT canônica pode inibir o desenvolvimento do embrião bovino (HANSEN; DENICOL; DOBBS, 2014), uma vez que limita o desenvolvimento embrionário na fase de blastocisto e o número de blastômeros (DENICOL et al., 2013).

O gene *CCDC85A* (Coiled-coil domain containing 85A) é expresso no endométrio de humanos (KOBAYASHI, 2014; BRUEGGMANN et al., 2014). Tanikawa et al. (2013) realizaram GWAS em população de 15.000 mulheres japonesas e observaram a associação significativa do gene *CCDC85A* com a idade da menarca. Em bovinos este gene está localizado próximo (-8 Kb) da região do *FSHR* (Follicle-stimulating hormone receptor), que se encontra sob seleção positiva na raça Nelore (SOMAVILLA, 2014). Em estudo conduzido por Fortes et al. (2010), o gene *FSHR* foi vinculado com a idade a puberdade em bovinos. Porto-Neto et al. (2014) consideraram que regiões com distância menores a 10 Kb estão em desequilíbrio de ligação, ou seja, provavelmente os genes *CCDC85A* e *FSHR* podem estar ligados. Entretanto, no presente estudo a região que contém o gene *FSHR* não foi significativa.

Os genes descritos anteriormente com funções conhecidas na manutenção da prenhes, podem ser importantes para o programa de seleção praticada no rebanho estudado para características de precocidade sexual em fêmeas e, portanto, poderia ser esperado evidenciar genes que participam destes processos.

As análises dos genes *MGC133636*, *LOC617402*, *CST8*, *LOC531692*, *CST9* e *LOC505033*, encontrados no cromossomo 13, revelaram suas relações com processos biológicos de regulação negativa das atividades endopeptídicas. Estes genes, membros da superfamília das proteínas inibidoras das cisteína

proteínase (CST), geralmente estão associados além da inibição e regulação de cisteína proteínase, à quimiotaxia de neutrófilos e ao processamento de hormônios relacionados à implantação do embrião (VRAY et al., 2002; SONG et al., 2010, BASTON-BUEST et al., 2010; ZHAO et al., 2014). Investigações em suínos, bovinos e outros mamíferos associaram algumas proteínas codificadas pelos genes da superfamília CST, como o *CST6*, com o rápido aumento da elongação do trofoblasto durante a pré-implantação na gestação (GEISERT et al., 1997; GRAY et al., 2004; SIMMONS et al., 2009; FORDE et al., 2014; 2015). A alta afinidade de CTS com o colágeno (KIRSCHKE et al., 1982) e a elastina (MASON et al., 1982) sugere que os CST desempenhem funções importantes na fixação da placenta de porcas jovens, entre os dias 13-18 da gestação por meio de proteólises limitadas do glicocálice epitelial uterino (GEISERT et al., 1997).

Alguns membros desta família como o *CST8* (Cystatin 8 “cystatin-related epididymal specific”) e o *CST9* (Cystatin-9-like) são altamente expressos no trato reprodutivo masculino (epidídimo e testículos) enquanto que em outros tecidos apresentam baixos níveis de expressão (NATH, 2013; FAN et al., 2014b). Acredita-se que o *CST8* possua papel importante na regulação das proteínas inibidoras da protease do epidídimo (CORNWALL et al., 2007), proporcionando atividade específica de ação antimicrobiana nos espermatozoides (WANG et al., 2005). Também possui função contraceptiva, o que sugere papel importante na fertilidade (O’RAND et al., 2004). Ensaio *in vitro* com ratos nocauteados, em que o gene *CST8* foi desligado funcionalmente, apresentaram problemas de fertilidade, incluindo a falta de capacidade dos espermatozoides para unirem-se à zona pelúcida e fundirem-se com o ovócito. Pesquisas adicionais comprovaram que espermatozoides de ratos nocauteados (*CST8* *-/-*) não sofreram reação acrossomal induzida pela progesterona, mostrando redução da fosforilação da tirosina associada com a capacitação espermática, o que indica atividade relevante do gene *CST8* durante a fertilização (CHAU; CORNWALL, 2011). Em

fêmeas de ratos descobriu-se que o mRNA dos genes CST estão associados principalmente às células iniciais do corpo lúteo e à expressão temporal no desenvolvimento do folículos primários e secundários (HSIA; CORNWALL, 2003; HSIA et al., 2005).

Assinaturas de seleção no BTA 29 evidenciaram a presença de múltiplos genes sob seleção (*LOC513062*, *LOC514864*, *LOC781383*, *OR8G2*, *LOC781319*, *LOC512722*, *LOC510984*, *LOC787694*, *LOC787625*, *LOC782191*, *LOC781359* e *OR8D2*), que fazem parte da família de receptores olfativos (ORs). Similar aos genes envolvidos com a resposta imune, esses genes representam ferramenta essencial nos processos comportamentais, como na reprodução e caça. Os ORs codificam proteínas – G, pertencentes à Classe I ou A, juntamente com os receptores para opsinas e catecolaminas (BOCKAERT; PIN, 1999). Estas proteínas fornecem a base para a detecção de moléculas odoríferas voláteis pelos neurônios sensoriais olfativos (BUCK; AXEL, 1991). A capacidade de identificar moléculas presentes no ar, por meio do ato de cheirar, proporciona aos seres vivos a capacidade de traduzi-las em informações (HOWARD et al., 2015) e desenvolver respostas propícias que permitam a sobrevivência, a alimentação e a reprodução (HAYDEN; TEELING, 2014; PAUDEL et al., 2015; DA SILVA et al., 2015). A explicação fisiológica para estes genes estarem associados à OPP, é que receptores olfativos podem atuar nas células germinativas que são promotoras dos gametas (DIEDRICHS et al., 2012), afetando sua produção e, conseqüentemente, a reprodução. Os genes ORs, normalmente apresentam alto grau de polimorfismo (UEHARA, 2008). Este genes encontram-se amplamente distribuídos em todo o genoma dos mamíferos, e na maior parte das espécies, encontra-se números consideráveis de pseudogenes (NIIMURA; NEI, 2007; NIIMURA, 2013). Embora só tenhamos encontrado ORs no cromossomo 29, Lee et al. (2013) por meio de análises do sequenciamento do genoma bovino, localizaram ORs em diferentes regiões cromossômicas, distribuídos em 25

cromossomos. Entre os ORs evidenciados naquele trabalho, 881 apresentaram função conhecida e 190 são pseudogenes. O grande número de pseudogenes encontrados são próprios dos padrões evolutivos dos ORs, indicando perda de função resultantes do acúmulo de mutações e da pressão de seleção (HAYDEN; TEELING, 2014).

As interações entre a molécula de odor (odorante) e seus respectivos receptores (sistemas quimiossensoriais) ativam determinadas vias de transdução de sinal que ocasionam a despolarização do neurônio, gerando impulsos elétricos que são transmitidos até o cérebro. Os quimiorreceptores estão presentes nos gametas, agindo na quimiotaxia entre espermatozóide e óvulo. Os espermatozóides expressam quimiorreceptores que não apresentam grande afinidade por qualquer outra molécula, devido à seleção negativa dentro do testículo, mas são potencialmente receptivos a quimiorreceptores fornecidos pelas células da granulosa que rodeiam os ovócitos e o líquido folicular, viabilizando a fecundação (ZIEGLER et al., 2010; FOSTER; ROURA; THOMAS, 2014).

Os diferentes processos biológicos observados na Tabela 9 corroboram a premissa de que a maior parte das características de interesse econômico na produção animal, não só são controladas por muitos genes e regiões do genoma, mas também envolvem diversos processos biológicos. Dessa forma, muito provavelmente os genes identificados neste trabalho controlam apenas parte da característica sob seleção. Mais estudos devem ser realizados no sentido de melhorar o conhecimento a respeito das rotas metabólicas que envolvem as características associadas à precocidade sexual em fêmeas Nelores, demonstrando assim, a interligação dos genes envolvidos com a fecundação, a embriogênese e a prenhez.

CONCLUSÕES

A aplicação da análise estatística REHH, em QTLs previamente mapeados para características reprodutivas de fêmeas bovinas, permitiu a identificação de blocos do genoma da raça Nelore que apresentam padrões de homozigose e frequências compatíveis com assinaturas de seleção recente nos cromossomos 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 20, 21 e 29. Dentro dessas regiões foi identificado um número importante de genes que desempenham, de forma geral, papéis fundamentais em processos biológicos relevantes que podem estar associados à precocidade sexual em fêmeas da raça Nelore, tais como: metabolismo mitocondrial, desenvolvimento pós-embriônico, regulação da taxa de ovulação e fertilidade, resposta imune, metabolismo de triglicerídeos, proliferação celular, neurônios receptores olfativos, entre outras. O grande número de regiões cromossômicas e genes identificados estão de acordo com o esperado, uma vez que já é sabido que precocidade sexual é uma característica complexa e influenciada por diversos fatores.

A investigação de mecanismos regulatórios da expressão dos genes associados aos processos biológicos descritos anteriormente pode oferecer conhecimentos sobre os mecanismos moleculares que afetam a característica ocorrência de prenhez precoce, contribuindo para o aprimoramento dos programas de melhoramento genético da raça Nelore.

REFERÊNCIAS

ABIEC-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Rebanho Bovino Brasileiro**. Disponível em: < http://www.abiec.com.br/3_rebanho.asp>. Acesso em: 21 oct de 2015.

ACAR, D. B.; BIRDANE, M.K.; DOGAN, N.; GÜRLER H. Effect of the stage of estrous cycle on follicular population, oocyte yield and quality, and biochemical composition of serum and follicular fluid in Anatolian water buffalo. **Animal Reproduction Science**, v. 137, p. 8-14, 2013.

AHLAWAT, S.; SHARMA, R.; MAITRA, A.; TANTIA, M. S.; ROY, M.; MANDAKMALE, S. New genetic polymorphisms in Indian goat BMPR1B gene, **The Indian Journal of Animal Sciences**, v. 84, n. 1, 2014.

ALENCAR, M. M.; FRAGA, A. B.; SILVA, A. M. Adaptação de genótipos a ambientes tropicais: resistência à mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*, Linnaeus) e ao carrapato (*Boophilus microplus*, Canestrini) em diferentes Genótipos Bovinos. **Agrociencia** (Montecillo), Uruguay, v. IX, n. 1, p. 579-585, 2005.

ALVAREZ-DOLADO, M.; GONZÁLEZ-MORENO, M.; VALENCIA, A.; ZENKE, M.; BERNAL, J.; MUÑOZ, A. Identification of a Mammalian Homologue of the Fungal Tom70 Mitochondrial Precursor Protein Import Receptor as a Thyroid Mitochondrial Precursor Protein Import Receptor as a Thyroid Hormone-Regulated Gene in Specific Brain Regions. **Journal of Neurochemistry**, v. 73, n. 6, p. 2240-2249, 1999.

AMSTALDEN, M.; GARCIA, M. R.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 66, n. 5, p. 1555-1561, 2002.

ANIMAL QTLdb. **National Animal Genome Research Program - NAGRP Bioinformatics Team**. Disponível em: < <http://www.animalgenome.org>> Acesso em: 11 fev. 2016.

ARANDA, D. **Detección de QTLs de importancia económica y análisis de genes candidatos en poblaciones porcinas comerciales españolas**. 2002. Tesis (Doctoral). Departamento de Ciencias Animal y de Alimento, Universidad Autónoma de Barcelona España, 2002. Disponível em: <<http://www.tdx.cat/handle/10803/5635>>. Acesso em: 01 jun. 2015.

ARDLIE, K. G.; KRUGLYAK, L.; SEIELSTAD, M. Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 4, p. 299-309, 2002.

ARIAS, J. A.; KEEHAN, M.; FISHER, P.; COPPIETERS, W.; SPELMAN, R. A high density linkage map of the bovine genome. **BMC Genetics**, v. 10, n. 18, 2009.

ASHWELL, M. S.; HEYEN, D. W.; WELLER, J. I.; RON, M.; SONSTEGARD, T. S.; VAN TASSELL, C. P. ; LEWIN, H. A. Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 11, p. 4111-4119, 2005.

ASSUMPÇÃO, T.; SOUZA, M. A; ALBERTON, C.; PALLAORO, R.; KITAGAWA, C., SILVA N. A. M. Características reprodutivas de machos bovinos da raça Nelore da fase pré-púbere à maturidade sexual. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 148-154, 2013.

AZAMBUJA, P. S. **Sistemas alimentares para o acasalamento de novilhas aos 14/15 meses de idade**. 2003. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

BAMSHAD, M.; WOODING, S.P. Signatures of natural selection in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, v 4, n. 2, p. 99–111, 2003.

BARRETT, J. C.; FRY, B.; MALLER, J.; DALY, M. J. HaploView: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v. 2, n. 2, p. 263-265, 2005.

BARROZO, D.; BUZANSKAS M. E.; OLIVEIRA, J. A.; MUNARI, D. P.; NEVES H. H. R.; QUEIROZ, S. A. Genetic parameters and environmental effects on temperament score and reproductive traits of Nelore cattle. **Animal**, v. 6, n. 1, p. 36–40, 2012.

BASTON-BUEST, D. M.; SCHANZ, A.; BUEST, S.; FISCHER, J. C.; KRUESSEL, J. S.; HESS, A. The embryo's cystatin C and F expression functions as a protective mechanism against the maternal proteinase cathepsin S in mice. **Reproduction**, v. 139, n. 4, p. 741–748, 2010.

BEAVIS, W. D. QTL analyses: power, precision, and accuracy. **Molecular Dissection of Complex Traits**, v. 1998, p.145-162, 1998.

BELTRAN, M.P. **Possíveis efeitos da leptina e do IGF-1 plasmático sobre a puberdade e a precocidade sexual de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*)**. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

BELTRÁN, N. A. R.; MEIRA, C. T.; DE OLIVEIRA, H. N.; PEREIRA, G. L.; SILVA, J. A. I. V.; DA MOTA, M. D. S.; CURI, R. A. Prospection of genomic regions divergently selected in cutting line of Quarter Horses in relation to racing line. **Livestock Science**, v. 174, p. 1-9, 2015.

BEN JEMAA, S.; FRITZ, S.; GUILLAUME, F.; DRUET, T.; DENIS, C.; EGGEN, A.; GAUTIER, M. Detection of quantitative trait loci affecting non-return rate in French dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 125, n. 4, p. 280-288, 2008.

BODIN, L. 2006. Genes mayores en ganado ovino, implicaciones en la reproducción. **Revista Pequeños Ruminantes**, v. 7, n. 3, p. 38-45, 2006.

BOHMANOVA, J.; SARGOLZAEI, M.; SCHENKEL, F.S. Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. **BMC Genomics**, v. 11, n. 1, 2010.

BOICHARD, D.; GROHS, C.; BOURGEOIS, F.; CERQUEIRA, F.; FAUGERAS, R.; NEAU, A.; RUPP, R.; AMIGUES, Y.; BOSCHER, M. Y.; LEVÉZIEL, H. Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. **Genetics Selection Evolution**, v. 35, n. 1, p. 77-102, 2003.

BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic parameters and relationships of heifer pregnancy and age at first calving with gain yearling and mature weight in Nelore cattle. **Livestock Science**, v. 141, n. 1, p. 12–16, 2011.

BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G. D.; RORATO, P. R. N. Associações genéticas entre pesos e características reprodutivas em rebanhos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 596-601, 2008.

BOLIGON, A. A.; SILVA, J. A. V.; SESANA, R. C.; SESANA, J. C.; JUNQUEIRA, J. B.; ALBUQUERQUE, L. G. D. Estimation of genetic parameters for body weights, scrotal circumference, and testicular volume measured at different ages in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 4, p. 1215-1219, 2010.

BOLORMAA, S.; PRYCE, J. E.; REVERTER, A.; ZHANG, Y.; BARENDSE, W.; KEMPER, K.; TIER, B.; SAVIN, K.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. A Multi-Trait, Meta-analysis for Detecting Pleiotropic Polymorphisms for Stature, Fatness and Reproduction in Beef Cattle. **PLoS Genetics**, v. 10, n. 3, e1004198, 2014.

BOMBA, L.; NICOLAZZI, E. L.; MILANESI, M.; NEGRINI, R.; MANCINI, G.; BISCARINI, F.; AJMONE-MARSAN, P. Relative extended haplotype homozygosity signals across breeds reveal dairy and beef specific signatures of selection. **Genetics Selection Evolution**, v. 4, n. 1, p. 1-14, 2015.

BOVINE HAPMAP CONSORTIUM. Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. **Science**, v. 324, n. 5926, p.528–532, 2009.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Bovinos e Bubalinos.** Disponível em:<
<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: 13 jun. 2015.

BROWN, E. A.; PILKINGTON, J. G.; NUSSEY, D. H.; WATT, K. A.; HAYWARD, A. D.; TUCKER, R.; GRAHAM, A. L.; PATERSON, S.; BERARDI, D.; PEMBERTON, J. M.; SLATE, J. Detecting genes for variation in parasite burden and immunological traits in a wild population: testing the candidate gene approach. **Molecular Ecology**, v. 22, n. 3, p. 757-773, 2013.

BRUEGGMANN, D.; TEMPLEMAN, C.; STARZINSKI-POWITZ, A.; RAO, N. P.; GAYTHER, S. A.; LAWRENSON, K. Novel three-dimensional in vitro models of ovarian endometriosis. **Journal of Ovarian Research**, v. 7, n.1, p.1-11, 2014.

BRUMATTI, R. C.; FERRAZ J. B. S.; ELER, J. P, FORMIGONNI, I .B. Development of selection index in beef cattle under the focus of a bio-economic model. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 230, p. 205–213, 2011.

BUCK, L; AXEL. R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. **Cell**, v. 65, n. 1, p. 175–187, 1991.

BURNS, B. M.; FORDYCE, G.; HOLROYD R. G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf-Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, v. 122, Issues 1–2, p. 1 – 22, 2010.

BYRNE, K.; VUOCOLO, T.; GONDRO, C.; WHITE, J. D.; COCKETT N. E.; HADFIELD, T.; BIDWELL, C. A.; WADDELL, J. N.; TELLAM, R. L. A gene network switch enhances the oxidative capacity of ovine skeletal muscle during late fetal development. **BMC Genomics**, v. 11, 2010.

CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, supl. Especial, p. 64-71, 2009.

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v. 10, n. 1, p. 59-67, 2007.

CASAS, E.; LUNSTRA, D. D.; STONE, R. T. Quantitative trait loci for male reproductive traits in beef cattle. **Animal Genetics**, v. 35, n. 6, p. 451-453, 2004.

CATTELAM J. Desmame precoce na produção de bovinos de corte. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 190-198, 2014.

CHAU, K. M.; CORNWALL, G. A. Reduced fertility in vitro in mice lacking the cystatin CRES (cystatin-related epididymal spermatogenic): rescue by exposure of spermatozoa to dibutyryl cAMP and isobutylmethylxanthine. **Biology of Reproduction**, v. 84, n. 1, p. 140-152, 2011.

CHEN, H.; HEY, J.; SLATKIN, M. A hidden Markov model for investigating recent positive selection through haplotype structure. **Theoretical Population Biology**, v. 99, p. 18-30, 2015.

CHEN, Q.; ZHANG, Y.; LU, J.; WANG, Q.; WANG, S.; CAO, Y.; WANG, H; DUAN, E. (2009). Embryo–uterine cross-talk during implantation: the role of Wnt signaling†. **Molecular Human Reproduction**, v. 15, n. 4, p. 215-221, 2009.

CHEN, X.; SUN, H.; TIAN, S.; XIANG, H.; ZHOU, L.; DUN, W.; ZHAO, X. Increasing litter size in a sheep breed by marker-assisted selection of BMP1B A746G mutation. **Journal of Genetics**, v. 94, n.1, p. 139-142, 2015.

COLE, J. B.; WIGGANS, G. R.; MA, L.; SONSTEGARD, T.S.; LAWLOR JR.; T. J.; CROOKER, B. A.; VAN TASSELL, C.P.; YANG, J.; WANG, S.; MATUKUMALLI, L.K.; DA, Y. Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. **BMC Genomics**, v. 12, 2011.

CORNWALL, G. A.; HORSTEN, V.; HENNING, H.; SWARTZ, D.; JOHNSON, S.; CHAU, K.; WHELLY, S. Extracellular quality control in the epididymis. **Asian Journal of Andrology**, v. 9, n. 4, p. 500-507, 2007.

COSTA, RAPHAEL BERMAL. **Associação e seleção genômica para características relacionadas à eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Nelore**. 2013. iv, 64 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 2013.

COSTA, R. B.; CAMARGO, G. M.; DIAZ, I. D.; IRANO, N.; DIAS, M. M.; CARVALHEIRO, R.; BOLIGON, A.; BALDI, F.; OLIVEIRA, N. H HUMBERTO TONHATI, H.; ALBUQUERQUE, L. G. Genome-wide association study of reproductive traits in Nelore heifers using Bayesian inference. **Genetics Selection Evolution**, v. 47, n. 1, 2015.

COUTINHO, L. L.; JORGE, E.K.; ROSARIO, M.F.; MOURA, A. S. A. M. T.; LEDUR, M.C. 2007. **Genômica Animal**. 2007. Disponível em: < http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/genomica_animal_000fzfl2nmm_02wx5ok0cpxoo6aipz2t68.pdf >. Acesso em: 19 mar. 2015.

CUI, J.; MINER, B. M.; ELDRIDGE, J. B.; WARRENFELTZ, S. W.; DAM, P.; XU, Y.; PUETT, D. Regulation of gene expression in ovarian cancer cells by luteinizing hormone receptor expression and activation, **BMC Cancer**, v. 11, n.1, 2011.

DAETWYLER, H. D.; SCHENKEL, F. S.; SARGOLZAEI, M.; ROBINSON, J. A genome scan to detect quantitative trait loci for economically important traits in Holstein cattle using two methods and a dense single nucleotide polymorphism map. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 8, p. 3225-3236, 2008.

DA ROCHA, M. G.; LOBATO, J. F. P. Avaliação do desempenho reprodutivo de novilhas de corte primíparas aos dois anos de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1388-1395, 2002.

DA SILVA, J. M.; GIACHETTO, P. F.; DA SILVA, L. O. C.; CINTRA, L. C.; PAIVA, S. R.; CAETANO, A. R.; YAMAGISHI, M. E. B. Genomic Variants Revealed by Invariably Missing Genotypes in Nelore Cattle. **PloS One**, v. 10 n. 8, e0136035, 2015.

DAVIS G. H. Major genes affecting ovulation rate in sheep. **Genetics Selection Evolution**, v.37, suppl. 1, p. S11–S23, 2005.

dbSNP. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_summary.cgi> Acesso em: 19 mar. 2015.

De CAMARGO, G.; CARDOSO, D.; GIL, F.M.M.; FONSECA P. D. S.; ZETOUNI, L.; BRAZ, C. U.; DE FREITAS A. C.; SOUZA F. R. P.; ASPILCUETA-BORQUIS, R.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE L. G.; REGITANO, L. C. A., TONHATI, H. First polymorphisms in JY-1 gene in cattle (*Bos taurus indicus*) and their association with sexual precocity and growth traits. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 12, p. 10105–10109, 2012.

DENICOL, A. C.; DOBBS, K. B.; MCLEAN, K. M.; CARAMBULA, S. F.; LOUREIRO, B.; HANSEN, P. J. Canonical WNT signaling regulates development of bovine embryos to the blastocyst stage, **Scientific reports**, v. 3, 2013.

DIAS, L. T.; EL FARO, L.; ALBUQUERQUE, L. G. D. Estimativas de herdabilidade para idade ao primeiro parto de novilhas da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 97-102. 2004.

DIEDRICHS, F.; MLODY, B.; MATZ, P.; FUCHS, H.; CHAVEZ, L.; DREWS, K.; ADJAYE, J. Comparative molecular portraits of human unfertilized oocytes and primordial germ cells at 10 weeks of gestation. **International Journal of Developmental Biology**, v. 56, p. 789-797, 2012

DRIVER, A. M.; HUANG, W.; GAJIC, S.; MONSON, R. L.; ROSA, G. J.; KHATIB, H. Short communication: Effects of the progesterone receptor variants on fertility traits in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 8, p. 4082-4085, 2009.

DRUET, T.; FRITZ, S.; SELLEM, E.; BASSO, B.; GERARD, O.; SALAS-CORTES, L.; EGGEN, A. Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 126, n. 4, p. 269-277, 2009.

DU, F. X, CLUTTER, A. C.; LOHUIS, M. M. Characterizing linkage disequilibrium in pig populations. **International Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 3, p. 166-178, 2007.

EDEA, H.; DADI, S. W.; KIM, T.; DESSIE, T.; LEE, H.; KIM, J. J.; KIM, K. S. Genetic diversity, population structure and relationships in indigenous cattle populations of Ethiopia and Korean Hanwoo breeds using SNP markers. **Frontiers in Genetics**, v. 4, p. 1–9, 2013.

EDMONSON, A. M, MAYFIELD, D. K, VERVOORT, V.; DUPONT, B. R.; ARGYROPOULOS, G. Characterization of a human import component of the mitochondrial outer membrane, TOMM70A. **Cell Communication and Adhesion**, v. 9, n. 1, p. 15–27, 2002.

ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; TEIXEIRA, L. A. Seleção para precocidade em novilhas de corte. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de Corte**. Piracicaba: FEALQ, v. 2, p. 801-812, 2010.

ELER, J.P.; SILVA, J.A.; FERRAZ, J.B.S.; DIAS, F.; OLIVEIRA, H.N.; EVANS, J.L.; GOLDEN, B.L. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nellore heifers. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 4, p. 951–954, 2002.

ELSIK, C. G.; TELLAM, R. L.; WORLEY, K. C. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. **Science**, v. 324, n. 5926, p. 522-528, 2009.

ESPIGOLAN, R.; BALDI, F.; BOLIGON A, A.; SOUZA, F. R. P.; GORDO, D. G. M.; TONUSSI, R. L.; CARDOSO, D. F.; OLIVEIRA, H. N.; TONHATI, H. SARGOLZAEI, M.; SCHENKEL, F. S; CARVALHEIRO, R.; FERRO, J.A.; ALBUQUERQUE, L. G. Study of whole genome linkage disequilibrium in Nellore cattle. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, 2013.

EUCLIDES FILHO, K.; FIGUEIREDO, G. R.; EUCLIDES, V. P. B.; SILVA, L. O. C.; CUSINATO, V. R. Eficiência bionutricional de animais da raça Nelore e seus mestiços com Caracu, Angus e Simental. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 331-334, 2002.

FAN, B.; GLENN, K.; GEIGER, B.; MILEHAM, A.; ROTHSCHILD, M. Investigation of QTL regions on Chromosome 17 for genes associated with meat color in the pig. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 125, n. 4, p. 240-247, 2008.

FAN, H.; WU, Y.; QI, X.; ZHANG, J. ; LI J. ; GAO, X. ; ZHANG, L. ; LI, J. Genome-wide detection of selective signatures in Simmental cattle. **Journal of Applied Genetics**, v. 55, n. 3, p. 343-351, 2014.

FAN, K.; JIANG, J.; WANG, Z.; FAN, R.; YIN, W.; SUN, Y.; LI, H. Expression and Purification of Soluble Porcine Cystatin 11 in *Pichia pastoris*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.174, n. 5, p.1959-1968, 2014b.

FARHADI, A.; GENUALDO, V.; PERUCATTI, A.; HAFEZIAN, S. H.; RAHIMI-MIANJI, G.; DE LORENZI, L.; P. PARMA P.; L. IANNUZZI, L.; IANNUZZI, A. Comparative FISH mapping of BMPR1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes on cattle, river buffalo, sheep and goat chromosomes. **Journal of Genetics**, v. 92, n. 3, p. 595-597, 2013.

FARIA, F. J. C.; FILHO, A. E.; MADALENA, F. E.; JOSAHKIAN, L. A. Pedigree analysis in the Brazilian Zebu breeds. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 126, n. 2, p. 148-153, 2009.

FERNÁNDEZ, M. E.; LIRÓN, J. P.; PRANDO, A.; ROGBERG-MUÑOZ, A.; PERAL-GARCÍA, P.; BALDO, A.; GIOVAMBATTISTA, G. Evidence of association of a BTA20 region peaked in ISL1 with puberty in Angus bulls. **Livestock Science**, v. 167, p. 9-18, 2014.

FERRAZ, J. B.; ELER, J. P. Melhoramento genético para aumento de produtividade em gado de corte no Brasil: A história, o presente e o futuro. In: **PIRES**, V. A. Bovinocultura de corte. Piracicaba, FEALQ, 2010.

FERRAZ, J. B.; ELER, J. P. Seleção de *Bos indicus* para precocidade sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 167-171, 2007.

FERRAZ, J. B.; FELICIO, E. P. Production systems—an example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238–243, 2010.

FOOTE R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**, v. 75, n. 1, p. 119-139, 2003.

FORDE, N.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E.; LONERGAN, P. 'Conceptualizing' the Endometrium: Identification of Conceptus-Derived Proteins During Early Pregnancy in Cattle. **Biology of Reproduction**, v. 92, n. 6, 2015.

FORDE, N.; MCGETTIGAN, P. A.; MEHTA, J. P.; O'HARA, L.; MAMO, S.; BAZER, F. W.; SPENCER, T.E.; LONERGAN, P. Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle. **Reproduction**, v. 147, n. 5, p. 575-587, 2014.

FORTES, M. R.; REVERTER, A.; ZHANG, Y.; COLLIS, E.; NAGARAJ, S. H.; JONSSON, N. N.; PRAYAGAA, K. C.; BARRIS, W.; HAWKEN, R. J. Association weight matrix for the genetic dissection of puberty in beef cattle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 31, p. 13642-13647, 2010.

FOSTER, S. R.; ROURA, E.; THOMAS, W. G. Extrasensory perception: odorant and taste receptors beyond the nose and mouth. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 142, n. 1, p. 41-61, 2014.

FRIES, L. A. Genética para um sistema de produção de ciclo curto. In: PATIÑO, H. O e MEDEIRO; F. S., I simpósio da carne bovina: da produção ao mercado consumidor. Anais São Borja: Ed. UFRGS, 2003. p. 47-82.

FUNSTON, R. N.; MARTIN, J. L.; LARSON, D. M.; ROBERTS, A. J. Physiology and Endocrinology Symposium: Nutritional aspects of developing replacement heifers. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 4, p. 1166-1171, 2012.

GABRIEL, S. B.; SCHAFFNER, S. F.; NGUYEN, H.; MOORE, J. M.; ROY, J.; BLUMENSTIEL, B.; HIGGINS, J.; DEFELICE, M.; LOCHNER, A.; FAGGART, M.; LIU-CORDERO, S. N.; ROTIMI, C.; ADEYEMO, A.; COOPER, R.; WARD, R.; LANDER, E. S.; DALY, M. J.; ALTSHULER, D. The structure of haplotype blocks in the human genome. **Science**, v. 296, n. 5576, p. 2225-2229, 2002.

GARCÍA, D.; CAÑON, J.; DUNNER, S. Genetic location of inheritable traits through association studies: A review. **Current Genomics**, v. 3, n. 3, p.181-200, 2002.

GARCÍA, D.; PEREIRA, I. G.; SILVA, F.; FONSECA.; PIRES, A. V.; PESSOA, M. C.; OLIVEIRA, R. A. M. Modelos lineares generalizados mistos na avaliação genética da prenhez precoce na raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 3, p. 675-682, 2012.

GARCÍA, E. V.; MICELI, D. C.; RIZO, G.; VALDECANTOS, P. A.; BARRERA, A. D. Effect of early addition of bone morphogenetic protein 5 (BMP5) to embryo culture medium on in vitro development and expression of developmentally important genes in bovine preimplantation embryos, **Theriogenology**, v. 84, Issue 4, p. 589-599, 2015.

GASPERIN, B. G.; FERREIRA, R.; ROVANI, M. T.; BORDIGNON, V.; DUGGAVATHI, R.; BURATINI, J.; GONÇALVES, P. B. Expression of receptors for BMP15 is differentially regulated in dominant and subordinate follicles during follicle deviation in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 144, n. 3, p. 72-78, 2014.

GAUTIER, M.; NAVES, M. Footprints of selection in the ancestral admixture of a New World Creole cattle breed. **Molecular Ecology**, v. 20, n. 15, p. 3128-3143, 2011.

GEISERT, R. D.; BLAIR, R. M.; PRATT, T.; ZAVY, M. T. Characterization and proteolytic activity of a cathepsin L-like polypeptide in endometrium and uterine flushings of cycling, pregnant and steroid-treated ovariectomized gilts. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 9, n. 4, p. 395-402, 1996.

GLICK, G.; SHIRAK, A.; ULIEL, S.; ZERON, Y.; EZRA, E.; SEROUSSI, E.; RON, M.; WELLER, J. I. Signatures of contemporary selection in the Israeli Holstein dairy cattle. **Animal Genetics**, v. 43, suppl. 1, p. 45-55, 2012.

GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, N. F.; TORRES-JÚNIOR, J. R.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S.; Perfil de FSH e LH na divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 1, p. 11-16, 2008.

GODDARD, M. E.; HAYES, B. J. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, p. 381-391, 2009.

GOTTSCHALL, C. S.; FERREIRA, E. T.; MÁRQUEZ, P.; GALARZA, A. A.; TANURE, S.; LOURENZEN, G.; BITTENCOURT, H. R. Influências das relações entre o ganho médio diário de peso, a idade e o peso no primeiro acasalamento no desempenho reprodutivo de novilhas de corte acasaladas aos 14 e 24 meses. **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, p. 335-342, 2006.

GRAY, C. A.; ADELSON, D. L.; BAZER, F. W.; BURGHARDT, R. C.; MEEUSEN, E. N.; SPENCER, T. E. Discovery and characterization of an epithelial-specific galectin in the endometrium that forms crystals in the trophectoderm. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 21, p. 7982-7987, 2004.

GRESSLER, S. L.; GRESSLER, M. G. M.; BERGMANN, J. A. G. Fatores ambientes e estimativos de parâmetros genéticos do perímetro escrotal na raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 986-994, 2014.

GUIMARÃES, J. D.; GUIMARÃES, S. E. F.; SIQUEIRA, J. B.; PINHO, R. O.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; SILVA, M. R.; BORGES, J. C. Seleção e manejo reprodutivo de touros zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 379-388, 2011.

GUIMARÃES, P. E. M.; COSTA, M. C. R. SNPs: sutis diferenças de um código. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 26, p. 24-27, 2002.

GURGUL, A.; EMIK, E.; PAWLINA, K.; SZMATOLA, T.; JASIELCZUK, I.; BUGNON-
PONIEWIERSKA, M. The application of genome-wide SNP genotyping methods in studies on livestock genomes. **Journal of Applied Genetics**, v. 55, n. 2, p. 197-208, 2014.

GUNN, P. J.; SCHOONMAKER, J. P.; LEMENAGER, R. P.; BRIDGES, G. A. Feeding excess crude protein to gestating and lactating beef heifers: Impact on parturition, milk composition, ovarian function, reproductive efficiency and pre-weaning progeny growth, **Livestock Science**, v. 167, p. 435-448, 2014.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7. Ed. São Paulo: Editora Manole, 2004. 513 p.

HANSEN, P. J.; DENICOL, A. C.; DOBBS, K. B. Maternal embryokines that regulate development of the bovine preimplantation embryo. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 38, n. 6, p. 589-598, 2014.

HAUSMAN, G.J.; BARBA, C.R. E LENTS, C.A. Leptin and reproductive function. **Biochimie**, v. 94, p. 2075-2081, 2012.

HAYDEN, S.; TEELING, E. C. The molecular biology of vertebrate olfaction. **The Anatomical Record**, v. 297, n. 11, p. 2216-2226, 2014.

HAYES, B. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; MACEACHERN, S., SAVIN, K.; MCPARTLAN, H.; MACLEOD, I.; GODDARD, M. E. A genome map of divergent artificial selection between *Bos taurus* dairy cattle and *Bos taurus* beef cattle. **Animal Genetics**, v. 40, n. 2, p. 176-84, 2009.

HAYES, B.J.; LIEN, S.; NILSEN, H. OLSEN, H.G.; BERG, P.; MACEACHERN, S.; POTTER, S.; MEUWISSEN, T.H.E. The origin of selection signatures on bovine chromosome 6. **Animal Genetics**, v. 39, n. 2, p.105-111, 2008.

HAWKEN, R.J.; ZHANG, Y.D.; FORTES, M.R.; COLLIS, E.; BARRIS, W.C.; CORBET, N.J.; WILLIAMS, P.J.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R.G.; WALKLEY, J.R.; BARENDSE, W.; JOHNSTON, D.J.; PRAYAGA, K.C.; TIER, B.; REVERTER, A.; LEHNERT, S. A. Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 5, p. 1398 – 1410, 2012.

HENDERSON, K. M.; MCNATTY, K. P.; O'KEEFFE, L. E.; LUN, S.; HEATH, D. A.; PRISK, M. D. Differences in gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production by granulosa cells from Booroola x Merino ewes which were homozygous, heterozygous or non-carriers of a fecundity gene influencing their ovulation rate. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.81, n. 2, p. 395-402, 1987.

HENRY, B. A.; GODING, J. W.; TILBROOK, A. J.; DUNSHEA, F. R.; CLARKE, I. J. Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinising hormone without affecting food intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight. **Journal of Endocrinology**, v.168, n. 1, p. 67-77, 2001.

HERNANDEZ, GIFFORD J. A.; HUNZICKER-DUNN, M. E; NILSON, J. H Conditional deletion of beta-catenin mediated by Amhr2cre in mice causes female infertility. **Biology of Reproduction**, v. 80, n. 6, p. 1282–1292, 2009.

HILL, W. G.; ROBERTSON, A. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 38, n. 6, p. 226-231, 1968.

HÖGLUND, J. K.; BUITENHUIS, A. J.; GULDBRANDTSEN, B.; SU, G.; THOMSEN, B.; LUND, M. S. Overlapping chromosomal regions for fertility traits and production traits in the Danish Holstein population. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 11, p. 5712-5719, 2009.

HOLMBERG, M.; ANDERSSON-EKLUND, L. Quantitative trait loci affecting fertility and calving traits in Swedish dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 9, p. 3664-3671, 2006.

HOWARD, J. T.; MALTECCA, C.; HAILE-MARIAM, M.; HAYES, B. J.; PRYCE, J. E. Characterizing homozygosity across United States, New Zealand and Australian Jersey cow and bull populations. **BMC Genomics**, v 16, n. 1, 2015.

HSIA, N.; BROUSAL, J. P.; HANN, S. R.; CORNWALL, G. A. Recapitulation of germ cell- and pituitary-specific expression with 1.6 kb of the cystatin-related epididymal spermatogenic (Cres) gene promoter in transgenic mice. **Journal of Andrology**, v. 26, n. 2, p. 249–257, 2005.

HSIA, N.; CORNWALL G. A. Cres2 and Cres3: new members of the cystatin-related epididymal spermatogenic subgroup of family 2 cystatins. **Endocrinology**, v. 144, n. 3, p. 909–915, 2003.

HU, Z-L.; PARK, C. A.; WU, X-L.; REECY, J. M. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. **Nucleic Acids Research**, v. 41:D871-D879, 2013.

HUANG, W.; KIRKPATRICK, B. W.; ROSA, G. J.; KHATIB, H. A Genome-wide association study using selective DNA pooling identifies candidate markers for fertility in Holstein cattle. **Animal Genetics**, v. 41, n. 6, p. 570-8, 2010.

HYEONG, K. E.; IQBAL, A.; KIM, J. J. A Genome Wide Association Study on Age at First Calving Using High Density Single Nucleotide Polymorphism Chips in Hanwoo (*Bos taurus coreanae*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 10, p. 1406-1410, 2014.

ILLUMINA INC. (2015). Disponível em: <
http://www.illumina.com/Documents/products/datasheets/datasheet_bovineHD.pdf
>. Acesso em: 10 maio. 2015.

IRVING-RODGERS, H. F.; VAN WEZEL, I. L.; MUSSARD, M. L.; KINDER J. E.; RODGERS, R. J. Atresia revisited: two basic patterns of atresia of bovine antral follicles. **Reproduction**, v. 122, n. 5, p. 761–775, 2001.

JANOWSKI, D.; SALILEW-WONDIM, D.; TORNER, H.; TESFAYE, D.; GHANEM, N.; TOMEK, W.; EL-SAYED, A.; SCHELLANDER, K.; HÖLKER, M. Incidence of apoptosis and transcript abundance in bovine follicular cells is associated with the quality of the enclosed oocyte. **Theriogenology**, v.78, n. 3, p. 656-669, 2012.

JOHNSTON, D.J.; CORBET, N.J.; BARWICK, S.A.; WOLCOTT, M.L.; HOLROYD, R. G. Genetic correlations of young bull reproductive traits and heifer puberty traits with female reproductive performance in two tropical beef genotypes in northern Australia. **Animal Production Science**, v. 54, n. 1, p. 74–84, 2013.

JOSEPH, A. M.; HOOD, D. A. Plasticity of TOM complex assembly in skeletal muscle mitochondria in response to chronic contractile activity. **Mitochondrion**, v. 12, n. 2, p. 305-312, 2012.

KAH, O.; TRUDEAU, V. L.; SLOLEY, B. D.; CHANG, J. P.; DUBOURG, P.; YU, K. L.; PETER, R. E. Influence of GABA on gonadotrophin release in the goldfish. **Neuroendocrinology**, v. 55, n. 4, p. 396–404, 1992.

KATIB, H.; HUANG, W.; MIKHELL, D.; SCHUTZKUS, V.; MONSON, R. L. Effects of signal transducer and activator of transcription (STAT) genes STAT1 and STAT3 genotypic combinations on fertilization and embryonic survival rates in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 12, p. 6186-6191, 2009.

KAUPE, B.; BRANDT, H.; PRINZENBERG, E. M. ; ERHARDT, G. Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 1, p. 11-21, 2007.

KEMP, C.; WILLEMS, E.; ABDO, S.; LAMBIV, L.; LEYNS, L. Expression of all Wnt genes and their secreted antagonists during mouse blastocyst and postimplantation development. **Developmental Dynamics**, v. 233, n. 3, p.1064–1075, 2005.

KEMPER, K. E.; SAXTON, S. J.; BOLORMAA, S.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Selection for complex traits leaves little or no classic signatures of selection. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, 2014.

KHATKAR, M. S.; COLLINS, A.; CAVANAGH, J. A. L.; HAWKEN, R. J.; HOBBS, M.; ZENGER, K. R.; BARRIS, W.; McCLINTOCK, A. E.; THOMSON, P. C.; NICHOLAS, F. W.; RAADSMA, H. W. A first-generation metric linkage disequilibrium map of bovine chromosome 6. **Genetics**, v. 174, n. 1, p. 79-85, 2006.

KHATKAR, M. S.; RANDHAWA, I. A. S.; RAADSMA, H. W. Meta-assembly of genomic regions and variants associated with female reproductive efficiency in cattle. **Livestock Science**, v. 166, p. 144-157, 2014.

KILLEEN, A. P.; MORRIS, D. G.; KENNY, D. A.; MULLEN, M. P.; DISKIN, M. G.; WATERS, S. M. Global gene expression in endometrium of high and low fertility heifers during the mid-luteal phase of the estrous cycle. **BMC Genomics**, v.15, n.1, 2014.

KIM, E. S.; SONSTEGARD, T. S.; ROTHSCHILD, M. F. Recent artificial selection in US Jersey cattle impacts autozygosity levels of specific genomic regions. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, 2015.

KIM, J. G.; SMITH; T. P. L.; SNELLING, W. M.; VALLET, J. L.; CHRISTENSON, R. K. Linkage mapping of the bovine bone morphogenetic protein receptor-1B (BMPR1B) to chromosome 6. **Animal Genetics**, v. 34, n. 4, p. 311-311, 2003.

KIM, Y.; NIELSEN, R. Linkage disequilibrium as a signature of selection sweeps. **Genetics**, v. 167, n. 3, p.1513-1524, 2004.

KINDER, J. E.; BERGFELD, E. G. M.; WEHRMAN, M. E.; PETERS, K. E.; KOJIMA, F. N. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**, n. 49, p. 393-407, 1995.

KIRSCHKE, H.; KEMBHAVI, A. A.; BOHLEY, P.; BARRETT, A. Action of rat liver cathepsin L on collagen and other substrates. **The Biochemical Journal**, v. 201, n. 2, p.-372.1982.

KÜHN, C.; BENNEWITZ, J.; REINSCH, N., XU, N.; THOMSEN, H.; LOOFT, C.; BROCKMANN, G. A.; SCHWERIN, M.; WEIMANN C.; HIENDLEDER, S.; ERHARDT G.; MEDJUGO, I.; FÖRSTER, M.; BRENIG, B.; REINHARDT, F.; REENTS, R.; RUSS, I.; AVERDUNK, G.; BLÜMEL.; KALM, E. Quantitative trait loci mapping of functional traits in the German Holstein cattle population. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 360-368, 2003.

KWOK, P.Y.; GU, Z. Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them?. **Molecular Medicine Today**, v. 5, n. 12, p. 538–543, 1999.

LAODIM, T.; KOONAWOOTRITTRIRON, S.; ELZO, M. A.; SUWANASOPEE, T. Genome-wide linkage disequilibrium in a Thai multibreed dairy cattle population. **Livestock Science**, v. 180, p. 27-33, 2015.

LAUREANO, M. M. M.; BOLIGON, A. A.; COSTA, R. B.; FORNI, S.; SEVERO, J. L. P.; ALBUQUERQUE, L. G. Estimativas de herdabilidade e tendências genéticas para características de crescimento e reprodutivas em bovinos da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 1, n. 1, p. 143-152, 2011.

LENSTRA, J. A.; GROENEVELD, L. F.; EDING, H.; KANTANEN, J.; WILLIAMS, J. L.; TABERLET, P.; NICOLAZZI, E. L.; SÖLKNER, J.; SIMIANER, H.; CIANI, E.; GARCIA, J. F.; BRUFORD, M. W.; AJMONE-MARSAN, P.; WEIGEND, S. Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. **Animal Genetics**, v. 43, n. 5, p. 483–502, 2012.

LEWONTIN, R. C. The interaction of selection and linkage. I. General considerations; heterotic models. **Genetics**, v. 49, n. 1, p. 49-67, 1964.

LI, Q.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J. J.; SMITH, G. W. Gene expression profiling of bovine preovulatory follicles: gonadotropin surge and prostanoid-dependent up-regulation of genes potentially linked to the ovulatory process, **Reproduction**, v. 137, n. 2, p. 297-307, 2009

LIMA, S. P. G. **Estudo do polimorfismo da região promotora do gene do hormônio de crescimento bovino (bGH), em rebanhos Nelore selecionados para peso pós-desmama**. 2003. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, “Júlio de mesquita Filho”, Jaboticabal, 2003.

LIN, C. H.; CHUNG, M. Y.; CHEN, W. B.; CHIEN, C. H. Growth inhibitory effect of the human NIT2 gene and its allelic imbalance in cancers. **FEBS Journal**, v. 274, n. 11, p. 2946–2956, 2007.

LIRA, T.; ROSA, E. M. GARNERO, A. V. Parâmetros genéticos de características produtivas e reprodutivas em zebuínos de corte (revisão). **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 1-22, 2008.

LÓPEZ-RAMÍREZ, R. B.; MAGAÑA-SEVILLA, H. F.; ZAMORA-BUSTILLOS, R.; RAMÓN-UGALDE, J. P.; GONZÁLEZ-MENDOZA, D. Analysis of the 3' end regions of the GDF9 and BMP1B genes in Blackbelly sheep from Yucatán, Mexico. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 41, n. 1, p. 123-128, 2014.

LUND, M. S.; SORENSEN, P.; GULDBRANDTSEN, B.; SORENSEN, D. A. Multitrait fine mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibria and linkage analysis. **Genetics**, v. 163, n. 1, p. 405-410, 2003.

MACEDO, L. O. B. Modernização da pecuária de corte bovina no Brasil e a importância do crédito rural 1. **Agroanalysis**, v. 25, n. 6, p. 35-36, 2005.

MACEDO, M. P.; BASTOS, J. F. P.; BIANCHINI SOBRINHO, E.; RESENDE, F. D. D.; FIGUEIREDO, L. A. D.; RODRIGUES NETO, A. J. Características de carcaça e composição corporal de touros jovens da raça Nelore terminados em diferentes sistemas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1610-1620, 2001.

MALTECCA, C.; WEIGEL, K. A.; KHATIB, H.; COWAN, M.; BAGNATO, A. Whole-genome scan for quantitative trait loci associated with birth weight, gestation length and passive immune transfer in a Holstein x Jersey crossbred population. **Animal Genetics**, v. 40, n. 1, p. 27-34, 2008.

MANABE, N.; GOTO, Y.; MATSUDA-MINEHATA, F.; INOUE, N.; MAEDA, A.; SAKAMAKI, K.; MIYANO, T. Regulation mechanism of selective atresia in porcine follicles: regulation of granulosa cell apoptosis during atresia. **Journal of Reproduction and Development**, v. 50, n. 5, p. 493-514, 2004.

MANCINI, G.; GARGANI, M.; CHILLEMI, G.; NICOLAZZI, E.; MARSAN, P.; VALENTINI, A.; PARISSET, L. Signatures of selection in five Italian cattle breeds detected by a 54 K SNP panel. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 2, p. 957–965, 2014.

MARCHITELLI, C.; NARDONE, A. Mutations and sequence variants in GDF9, BMP15, and BMPR1B genes in Maremmana cattle breed with single and twin births. **Rendiconti Lincei**, p.1-8, 2015.

MARSON, E. P. **Caracterização da frequência de heterozigose em genes ligados à precocidade sexual em novilhas de corte compostas**. 2005. 87 p. Tese (Doutor em Zootecnia). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo. 2005.

MASON, R. W.; JOHNSON, D. A.; BARRETT, A. J.; CHAPMAN, H. A. Elastolytic activity of human cathepsin L. **Biochemical Journal**, v. 233, n. 3, p. 925–927, 1986.

MATSUDA, F.; INOUE, N.; MANABE, N.; OHKURA, S. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells. **Journal of Reproduction and Development**, v. 58, n. 1, p. 44–50, 2012.

MATTAR, M.; SARAH, L. M.; OLIVEIRA J. A.; ESPASANDIN, A.; QUEIROZ S. A. Fatores genéticos e ambientais sobre a probabilidade de prenhez precoce em bovinos Caracu. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1405-1410, 2007.

MATTOS, S.; ROSA, A.N. Desempenho reprodutivo de fêmeas de raças zebuínas. **Informativo Agropecuario**, v. 10, n. 112, p. 29-34, 1984.

MATUKUMALLI, L. K.; LAWLEY, C. T.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; ALLAN, M. F.; HEATON, M. P.; VAN TASSELL, C. P. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. **PLoS ONE**, v. 4, n. 4, e5350, 2009.

MATUOKA, K.; MIKI, H.; TAKAHASHI, K; TAKENAWA, T. A novel ligand for an SH3 domain of the adaptor protein Nck bears an SH2 domain and nuclear signaling motifs. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 239, n. 2, p. 488-492, 1997.

McCUE, M. E.; BANNASCH, D. L.; PETERSEN, J. L.; GURR, J.; BAILEY, E.; BINNS, M. M; DISTL, O.; GUÉRIN, G.; HASEGAWA, T.; HIL, W. E. A high density SNP array for the domestic horse and extant perissodactyla: utility for association mapping, genetic diversity, and phylogeny studies. **PLoS Genetics**, v. 8, n. 1, e 1002451, 2012.

McCLURE, M. C.; MORSCI, N. S.; SCHNABEL, R. D.; KIM, J. W.; YAO, P.; ROLF, M. M.; MCKAY, S. D.; GREGG, S. J.; CHAPPLE, R. H.; S. L. NORTHCUTT, S.L.; TAYLOR, J. F. A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, post-natal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. **Animal Genetics**, v. 41, n. 6, p. 597-607, 2010.

McDANELD, T.G.; KUEHN, L. A.; THOMAS, M.G.; POLLAK, E.J.; KEELE, J.W.; Deletion on chromosome 5 associated with decreased reproductive efficiency in female cattle, **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 1378-1384, 2014.

McKAY, S.D.; SCHNABEL, R.D.; MURDOCH, B.M.; MATUKUMALLI, L.K.; AERTS, J.; COPPIETERS, W.; CREWS, D.; DIAS NETO, E.; GILL, C.A.; GAO, C.; MANNEN, H.; STOTHARD, P.; WANG, Z.; VAN TASSEL, C.P.; WILLIAMS, J.L.; TAYLOR, J.F.; MOORE, S.S. Whole genome linkage disequilibrium maps in cattle. **BMC Genetics**, v. 8, n. 74, 2007.

McRAE, A. F.; McEWAN, J. C.; DODDS, K. G.; WILSON, T.; CRAWFORD, A. M.; SLATE, J. Linkage disequilibrium in domestic sheep. **Genetics**, v. 160, n. 3, p. 1113–1122, 2002.

MEIRA, C. T.; CURI, R. A.; FARAH, M. M., OLIVEIRA H. N.; BÉLTRAN, N. A. R.; SILVA J. A. IIV.; Da MOTA, M. D. S. Prospection of genomic regions divergently selected in racing line of Quarter Horses in relation to cutting line. **Animal**, v. 8 n. 11, p. 1754-1764, 2014.

MELO, T. P.; CARVALHEIRO, R.; TAKADA, L.; BALDI, F.; OLIVEIRA, H. N.; DIAS, M. M.; ALBUQUERQUE, L. G. Genome-wide Association of Age at First Calving in Nelore Cattle using Phenotypes from Genotyped and Ungenotyped Animals. **In 10th WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION ASAS**. 2014.

MELLO, R. R. C. Puberdade e maturidade sexual em touros bovinos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10, n. 3, p. 11-28, 2014.

MENEGASSI, S. **Avaliação reprodutiva de touros Braford por meio de marcadores moleculares STRs e SNPs**. 2014. Tese Faculdade de Agronomia, Programa de pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), Brasil, 2014.

MERESMAN, G. Relevancia de la apoptosis en la reproducción femenina. **Investigación Clínica**, v. 52, n. 3, 2011.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, n. 4, p. 1819-1829, 2001.

MHAWECH, P. 14-3-3 Proteins--an Update. **Cell Research**, v. 15, n. 4, p. 228–236, 2005.

MOKRY, F. B.; BUZANSKAS, M. E.; DE ALVARENGA MUDADU, M.; DO AMARAL GROSSI, D.; HIGA, R. H.; VENTURA, R. V.; DE ALMEIDA REGITANO, L. C. Linkage disequilibrium and haplotype block structure in a composite beef cattle breed. **BMC Genomics**, v. 15 (Suppl 7), S6, 2014.

MOON, S.; KIM, T. H.; LEE, K. T.; KWAK, W.; LEE, T.; LEE, S. W.; KIM, H. A genome-wide scan for signatures of directional selection in domesticated pigs. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, 2015.

MORRIS, C. A.; CULLEN, N. G. A note on genetic correlations between pubertal traits of males or females and lifetime pregnancy rate in beef cattle. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 3, p. 291-297, 1994.

MORRISON, C. D.; DANIEL, J. A.; HOLMBERG, B. J.; DJIANE, J.; RAVER, N.; GERTLER, A.; KEISLER, D. H. Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. **Journal of Endocrinology**, v.168, n.2, p. 317-324, 2001.

MULSANT, P.; LECERF, F.; FABRE, S.; SCHIBLER, L.; MONGET, P.; LANNELUC, I.; PISSELET, C.; RIQUET J.; MONNIAUX D.; CALLEBAUT I.; CRIBIU, E.; THIMONIER, J.; TEYSSIER, J.; BODIN, L.; COGNIÉ, Y.; CHITOUR N.; ELSEN, J.M. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes, **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 9, p. 5104-5109, 2001.

NATH, D. Genetic regulation of epididymal microenvironment. **International Journal of Current Research**, v. 5, Issue, 10, p.2803-2809, 2013.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 27 nov. 2015.

NEL, K.; RIMBACH, R.; PILLAY, N. Dietary protein influences the life-history characteristics across generations in the African striped mouse **Rhabdomys**. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 323, n. 2, p. 97-108, 2015.

NEPOMUCENO, D. D. **Efeito do manejo nutricional sobre a maturação do eixo reprodutivo somatotrófico no início da puberdade de novilhas Nelore**. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

NIIMURA, Y. Identification of olfactory receptor genes from mammalian genome sequences. In Olfactory Receptors. **Methods in Molecular Biology**, v. 1003, p. 39-49, 2013.

NIIMURA, Y.; NEI, M. Extensive gains and losses of olfactory receptor genes in mammalian evolution. **PLoS One**, v. 2, n. 8, e708, 2007.

NIELSEN, R, HELLMANN, I, HUBISZ, M, BUSTAMANTE, C, CLARK A. G. Recent and ongoing selection in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 11, p. 857–868, 2007.

NILSSON, E.; ZHANG, B; SKINNER, M. K Gene bionetworks that regulate ovarian primordial follicle assembly. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, 2013.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in South America *Bos indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 361–372, 2004.

NEVES, H. H. R.; DESIDÉRIO, J. A.; PIMENTEL, E. C. G.; SCALEZ, D. C. B. QUEIRO, S. Preliminary study to determine extent of linkage disequilibrium and estimates of autozygosity in Brazilian Gyr dairy cattle. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 246, p. 99-108, 2015.

O'RAND, M. G.; WIDGREN, E. E.; SIVASHANMUGAM, P.; RICHARDSON, R. T.; HALL, S. H.; FRENCH, F. S.; VANDE VOORT, C. A.; RAMACHANDRA, S. G.; RAMESH, V.; RAO, A. J. Reversible immunocontraception in male monkeys immunized with eppin. **Science**, v. 306, n. 5699, p.1189-1190, 2004.

OLSEN, H.G.; HAYES, B.J.; KENT, M.P.; NOME, T.; SVENDSEN, M.; LIEN, S. A genome-wide association study for QTL affecting direct and maternal effects of stillbirth and dystocia in cattle. **Animal Genetics**, v. 41, n. 3, p. 273-280, 2009.

PAN, D.; ZHANG, S.; JIANG, J.; JIANG, L.; ZHANG, Q.; LIU J. Genome-wide detection of selective signature in Chinese Holstein. **PLoS One**, v. 8, n. 3, 2013.

PARMENTIER, M.; LIBERT, F.; SCHURMANS, S.; SCHIFFERMANN, S.; LEFORT, A.; EGGERICKX, D.; LEDENT, C.; MOLLEREAU, C., GÉRARD, C.; PERRET, J.; GROOTEGOED, A.; VASSART, G. Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. **Nature**, v. 355, p. 453-455, 1992.

PAUDEL, Y.; MADSEN, O.; MEGENS, H. J.; FRANTZ, L. A.; BOSSE, M.; CROOIJMANS, R. P.; GROENEN, M. A. Copy number variation in the speciation of pigs: a possible prominent role for olfactory receptors. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, 2015.

PAUSCH, H.; FLISIKOWSKI, K.; JUNG, S.; EMMERLING, R.; EDEL, C.; GÖTZ, K. U.; FRIES, R. Genome-wide association study identifies two major loci affecting calving ease and growth-related traits in cattle. **Genetics**, v. 187, n. 1, p. 289-297, 2011.

PATERSON, A. H. Of blending, beans, and bristles: the foundations of QTL mapping. In: **Molecular Dissection of Complex Traits**. New York: CRC Press, p. 1-10, 1998.

PENNINGTON, K. A.; EALY, A. D. The expression and potential function of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in bovine trophectoderm. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 10, n. 12, 2012.

PEÑAGARICANO, F.; KHATIB, H. Association of milk protein genes with fertilization rate and early embryonic development in Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Research**, v. 79, n. 1, p. 47-52, 2011.

PEREIRA, P. M. R. C.; PINTO, M.F.; ABREU, U. G. P.; LARA, J. A. F. D. Características de carcaça e qualidade de carne de novilhos super precoces de três grupos genéticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p.1520-1527, 2009.

PÉREZ O'BRIEN A. M.; MÉSZÁROS, G.; UTSUNOMIYA, Y. T.; SONSTEGARD, T. S.; GARCIA, J. F.; VAN TASSELL, C. P.; CARVALHEIRO, B. R.; DA SILVA, E. M.; SÖLKNER, J. Linkage disequilibrium levels in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using medium and high density SNP chip data and different minor allele frequency distributions. **Livestock Science**, v. 166, p. 121-132, 2014b.

PÉREZ O'BRIEN A. M.; UTSUNOMIYA Y. T.; MÉSZÁROS, G.; BICKHART, D. M.; LIU, G. E.; VAN TASSELL, C. P.; SONSTEGARD, T. S.; DA SILVA, M. V.; GARCIA, J. F.; SÖLKNER, J. Assessing signatures of selection through variation in linkage disequilibrium between taurine and indicine cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 46, n. 1, 2014a.

PETERSEN, J. L.; MICKELSON, J. R.; COTHRAN, E. G.; ANDERSSON, L. S.; AXELSSON, J.; BAILEY, E.; MCCUE, M. E. Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide SNP data. **PloS One**, v. 8, n. 1, e54997. 2013.

PINTUS, E.; SORBOLINI, S.; ALBERA, A.; GASPA, G.; DIMAURO, C.; STERI, R.; MARRAS, G.; MACCIOTTA, N. P. P. Use of locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) regression to study selection signatures in Piedmontese and Italian Brown cattle breeds. **Animal Genetics**, v. 45, Issue 1, p.1-11, 2013.

PIRES, A. V. **Bovinocultura de Corte - Volume I**. São Paulo: Editor: Fealq, 2010. 1760 p.

RODRÍGUEZ, A.; DIEZ, C.; IKEDA, S.; ROYO, L. J.; CAAMAÑO, J. N.; ALONSO-MONTES, C.; GOYACHE, F.; ALVAREZ, I.; FACAL, N.; GOMEZ, E. Retinoids during the in vitro transition from bovine morula to blastocyst. **Human Reproduction**, v. 21, n. 8, p. 2149–2157, 2006.

PORTO-NETO, L.; KIJAS, J.; REVERTER, A. The extent of linkage disequilibrium in beef cattle breeds using high-density SNP genotypes. **Genetics Selection Evolution**, v. 46, n. 2, 2014.

ROTH, Z.; HANSEN, P. J. Involvement of apoptosis in disruption of developmental competence of bovine oocytes by heat shock during maturation. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 6, p.1898–906, 2004.

PRAKASH, R. Regulation of WNT genes in stem cells development and organogenesis. **International Journal of Pharmacognosy**, v.1, n.6, p: 366-372, 2014.

RANDHAWA, I. A.; KHATKAR, M. S.; THOMSON, P. C.; RAADSMA, H. W. Composite selection signals can localize the trait specific genomic regions in multi-breed populations of cattle and sheep. **BMC Genetics**, v. 15, 2014.

REGATIERI, I. C. **Associação entre polimorfismos de base única e precocidade sexual em fêmeas da raça Nelore**. 2013. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento Animal)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

REGITANO L.C.A. Importância da genética molecular para o melhoramento de ruminantes. In: **V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal**, 2004, Pirassununga - SP. Anais do V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2004.

REGITANO, L. C. A.; VENERONI, G. B. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento animal. Anais do II Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal. **Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos – SP – Brasil** – 22 e 23 de junho de 2009.

RÍOS-UTRERA, Á.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, V. D.; VILLAGÓMEZ AMEZCUA-MANJARREZ, E.; ZÁRTE-MARTÍNEZ, J. P. Heredabilidad de características reproductivas de Vacas InduBrasil. **Agronomía Mesoamericana**, v. 24, n. 2, 293-300, 2013.

ROLF, M. M.; DECKER, J. E.; MCKAY, S. D., TIZIOTO, P. C.; BRANHAM, K. A.; WHITACRE, L. K.; HOFF, J.; REGITANO, I.; TAYLOR, J. F. Genomics in the United States beef industry. **Livestock Science**, v. 166, p. 84-93, 2014.

PRASAD, A.; SCHNABEL, R. D.; MCKAY, S. D.; MURDOCH, M. B.; STOTHARD, P.; KOLBEHDARI, D.; WANG, Z.; TAYLOR, J. F.; MOORE, S. S. Linkage disequilibrium and signatures of selection on chromosomes 19 and 29 in beef and dairy cattle. **Animal Genetics**, v. 39, n. 6, p. 597-605, 2008.

ROVIRA, J. Manejo nutritivo de los rodeos de cria em pastoreo. 1a ed. Montevideo: Editora Hemisfério Sur, 1996. 288p.

QANBARI, S.; GIANOLA, D.; HAYES, B.; SCHENKEL, F.; MILLER, S.; MOORE, S.; THALLER, G.; SIMIANER, H. Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. **BMC Genomics**, v.12, n. 1, 2011.

QANBARI, S.; SIMIANER, H. Mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. **Livestock Science**, v. 166, p. 133 – 143, 2014.

QANBARI, S.; PIMENTEL, E.; TETENS, J.; THALLER, G.; LICHTNER, P.; SHARIFI, A.R.; SIMIANER, H. The pattern of linkage disequilibrium in German Holstein cattle. **Animal Genetics**, v. 41, n. 4, p. 346–356, 2010.

QUIRINO, C. R.; BERGMANN, J. A. G.; VALE FILHO, V. R.; ANDRADE, V. J.; REIS, S. R.; MENDONÇA, R. M.; FONSECA, C. G. Genetic parameters of libido in Brazilian Nellore bulls. **Theriogenology**, v. 62, Issues 1–2, p. 1–7, 2004.

SABETI, P. C.; REICH, D. E.; HIGGINS, J. M.; LEVINE, H. Z.; RICHTER, D. J.; SCHAFFNER, S. F.; GABRIEL, S. B.; PLATKO, J. V.; PATTERSON, N. J.; MCDONALD, G. J.; ACKERMAN, H. C.; CAMPBELL, S. J.; ALTSHULER, D.; COOPER, R.; KWIATKOWSKI, D.; WARD, R.; LANDER, E. S. Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. **Nature**, v. 419, n. 6009, p. 832–837, 2002.

SAHANA, G.; GULDBRANDTSEN, B.; BENDIXEN, C.; LUND, M. S. Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. **Animal Genetics**, v. 41, n. 6, p. 579-588, 2010.

SALOMON-TORRES, R.; MATUKUMALLI, L. K.; VAN TASSELL, C. P.; VILLA-ANGULO, C.; GONZALEZ-VIZCARRA, V. M.; VILLA-ANGULO, R. High Density LD-Based Structural Variations Analysis in Cattle Genome. **PloS One**, v. 9, n. 7, e103046, 2014.

SANTOS, K. G.; MELO, C. S.; PALES, A. P. Seleção de touros através da puberdade, maturidade e fatores envolvidos na fertilidade. **Revista Eletrônica da Faculdade de Montes Belos**, v. 1, n. 1, p. 72-87, 2005.

SASAKI, S.; IBI, T.; IKEDA, S.; SUGIMOTO, Y. A genome-wide association study reveals a quantitative trait locus for age at first calving in delta/ notch-like EGF repeat containing on chromosome 2 in Japanese Black cattle. **Animal Genetics**, v. 45, n. 2, p. 285-287, 2013.

SCHEET, P.; STEPHENS, M. A Fast and Flexible Statistical Model for Large-Scale Population Genotype Data: Applications to Inferring Missing Genotypes and Haplotypic Phase. **The American Journal of Human Genetics**, v. 78, n. 4, p. 629-644, 2006.

SCHNABEL, R. D.; SONSTEGARD, T. S.; TAYLOR, J. F.; ASHWELL, M. S. Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. **Animal Genetics**, v. 36, n. 5, p. 408-416, 2005.

SCHREIBER, N. B.; SPICER, L. J. Effects of Fibroblast Growth Factor 9 (FGF9) on Steroidogenesis and Gene Expression and Control of FGF9 mRNA in Bovine Granulosa Cells. **Endocrinology**, v. 153, n. 9, p. 4491-4501, 2012.

SCHLÖTTERER, C. Hitchhiking mapping – functional genomics from the population genetics perspective, **Trends in Genetics**, v. 19, p. 32–38, 2003.

SCHROOTEN, C.; BINK, M. C. A. M.; BOVENHUIS, H. Whole genome scan to detect chromosomal regions affecting multiple traits in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3550-3560, 2004.

SEIDENSPINNER, T.; BENNEWITZ, J.; REINHARDT, F.; THALLER, G. Need for sharp phenotypes in QTL detection for calving traits in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 126, n. 6, p. 455-462, 2009.

SERÃO, N. V.; GONZALEZ-PENA, D.; BEEVER, J. E.; BOLLERO, G. A. SOUTHEY, B. R.; FAULKNER, D. B.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L. Bivariate genome-wide association analysis of the growth and intake components of feed efficiency. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, 2013.

SHIOTSUKI, L.; PEREIRA, M. C.; VECHETINI, M.E.; SILVA, J. A.; FORMIGONI, I. B.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic association between pregnancy success in heifers and visual scores of conformation and finishing precocity in Nelore cattle. **In: 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, 2006, Belo Horizonte, MG, Brasil, Instituto Prociência, 2006. p. 3-81.

SHIOTSUKI, L.; SILVA, J. A. V.; TONHATI, H.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic associations of sexual precocity with growth traits and visual scores of conformation, finishing, and muscling in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 5, p. 1591-1597, 2009.

SIMMONS, R. M.; ERIKSON, D. W.; KIM, J.; BURGHARDT, R. C.; BAZER, F. W.; JOHNSON, G. A.; SPENCER, T. E. Insulin-like growth factor binding protein-1 in the ruminant uterus: potential endometrial marker and regulator of conceptus elongation. **Endocrinology**, v. 150, n. 9, p. 4295-4305, 2009.

SLOLEY, B.D.; KAH, O.; TRUDEAU, V.L.; DULKA, J.G.; PETER R.E Amino acid neurotransmitters and dopamine in brain and pituitary of the goldfish: involvement in the regulation of gonadotropin secretion. **Journal of Neurochemistry**, v. 58, Issue 6, p. 2254–2262, 1992.

SMADJA, D. M.; D'AUDIGIER, C.; WEISWALD, L. B.; BADOUAL, C.; DANGLES-MARIE, V.; MAUGE, L.; EVRARD, S.; LAURENDEAU, I.; LALLEMAND, F.; GERMAIN, S.; GRELAC, F.; DIZIER, B.; VIDAUD, M.; BIECHE, I.; GAUSSEN, P. The Wnt antagonist Dickkopf-1 increases endothelial progenitor cell angiogenic potential. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 30, n. 12, p. 2544–2552, 2010.

SILVA FILHO, A. H. S.; ARAÚJO, A. A.; RODRIGUES, A. P. R. Indução da puberdade em novilhas com uso da hormonioterapia. **Ciência Animal**, v. 17, n. 2, p. 83-89, 2007.

SILVA C. R.; NEVES, H.; QUEIROZ, S.; SENA, J. A. D.; PIMENTEL, E. Extent of linkage disequilibrium in Brazilian Gyr dairy cattle based on genotypes of AI sires for dense SNP markers. In: **Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**: 1-6 August 2010; Leipzig Edited by German Society for Animal Science. 2010. p. 1-29

SILVA, J. A. de V.; DIAS, L. T.; ALBUQUERQUE, L. G. de. Estudo genético da precocidade sexual de novilhas em um rebanho Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1568-1572, 2005.

SILVA, M. R.; PEDROSA, V. B.; SILVA, J. B. C.; HERRERA, L. G. G.; ELER, J. P.; ALBUQUERQUE, L. G. Parâmetros genéticos de las características andrológicas en la especie bovina. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 44, n. 1, p.1-11, 2012.

SILVA, R. C. G. **Estudo de caracterização e associação de marcadores moleculares relacionados à leptina para características de crescimento e precocidade de acabamento em bovinos da raça Nelore**. 2008. 71f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

SILVEIRA, M. V.; SOUZA, J.; SILVA, L.; FREITAS, J. A.; GONDO, A.; FERRAZ FILHO, P. Interação genótipo x ambiente sobre características produtivas e reprodutivas de fêmeas Nelore. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, n. 241, p. 223-226, 2014.

SIMIANER, H.; QANBARI, S.; GIANOLA, D. Detection of selection signatures within and between cattle populations. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 9, 2010, Leipzig. **Proceedings**. Leipzig: WCGALP, 2010.

SLATE, J. Quantitative trait locus mapping in natural populations: progress, caveats and future directions. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 2, p. 363–379, 2005.

SMITH, J. M.; HAIGH, J. The hitch-hiking effect of a favorable gene. **Genetical Research**, v. 23, n. 1, p. 23–35, 1974.

SOLLER, M.; ANDERSSON, L: Genomic approaches to the improvement of disease resistance in farm animals. **Revue Scientifique et Technique**, (International Office of Epizootics), v. 17, n. 1, p. 329- 345, 1998.

SOMAVILLA, A. L.; SONSTEGARD, T. S.; HIGA, R. H.; ROSA, A. N.; SIQUEIRA, F.; SILVA, L. O. C.; REGITANO, L. C. A. A genome-wide scan for selection signatures in Nellore cattle. **Anim Genetics**, v. 45, n. 6, p. 771-81, 2014.

SONG, G.; BAILEY, D. W.; DUNLAP, K A.; BURGHARDT, R. C.; SPENCER, T. E.; BAZER, F. W.; JOHNSON, G. A. Cathepsin B, cathepsin L, and cystatin C in the porcine uterus and placenta: potential roles in endometrial/placental remodeling and in fluid-phase transport of proteins secreted by uterine epithelia across placental areolae. **Biology of Reproduction**, v. 82, n. 5, p. 854–864, 2010.

SOUZA, C. J.; MACDOUGALL, C.; CAMPBELL, B. K.; MCNEILLY, A. S.; BAIRD, D. T. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. **Journal of Endocrinology**, v. 169, n. 2, p. R1-R6, 2001.

SOUZA, E. M.; MILAGRES J. C.; SILVA M.A.; REGAZZI A, J. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p. 926-935, 1995.

STELLA, A.; AJMONE-MARSAN, P.; LAZZARI, B.; BOETTCHER, P. Identification of selection signatures in cattle breeds selected for dairy production. **Genetics**, v. 185, n. 4, p. 1451-1461, 2010.

STRATZ, P.; WIMMERS, K.; MEUWISSEN, T. H. E.; BENNEWITZ, J. Investigations on the pattern of linkage disequilibrium and selection signatures in the genomes of German Piétrain pigs. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 131, n. 6, p. 473-482, 2014.

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, p. 585–95, 1989.

TANIKAWA, C.; OKADA, Y.; TAKAHASHI, A.; ODA, K.; KAMATANI, N.; KUBO, M.; Nakamura, Y.; MATSUDA, K. Genome wide association study of age at menarche in the Japanese population, **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, 2013.

TELLAM, R. L.; LEMAY, D. G.; VAN TASSEL, C. P.; LEWIN, H. A.; WORLEY, K. C.; ELSIK, C. G. Unlocking the bovine genome. **BMC Genomics**, v. 10, n. 193, 2009.

TEIXEIRA, R. A.; ALBUQUERQUE, L. G.; FRIES, L. A. Comparações bioeconômicas entre três idades à primeira cobertura em novilhas Nelore. **Ars Veterinaria**, v. 18, n. 3, p. 197-203, 2002.

TILLY J. L. Commuting the death sentence: how oocytes strive to survive. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 2, n.11, p.838–848, 2001.

TORRES, H. A. L.; TINEO, J. S. A.; RAIDAN, F. S. S. Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 255-260, 2015.

TOFFOLATTI, L.; GASTALDO, L. R.; PATARNELLO, T.; ROMUALDI, C.; MERLANTI, R.; MONTESISSA, POPPI, L.; CASTAGNARO, M.; BARGELLONI, L. Expression analysis of androgen-responsive genes in the prostate of veal calves treated with anabolic hormones. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 30, n. 1, p. 38-55. 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) 2015. Foreign Agricultural Service. Disponível em . <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/> Acesso 13 nov de 2015.

UTSUNOMIYA, Y. T.; PÉREZ O' BRIEN, A. M.; SONSTEGARD, T. S.; VAN TASSELL, C. P.; DO CARMO, A .S.; MÉSZÁROS, G.; SÖLKNER, J.; GARCIA, J. F. Detecting loci under recent positive selection in dairy and beef cattle by combining different genome-wide scan methods. **PLoS One**, v. 8, n. 5, e64280, 2013.

VALENTE, T. S.; SANT'ANNA, A. C.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G.; DA COSTA, M. J. P. Genetic association between temperament and sexual precocity indicator traits in Nellore cattle. **Journal of Applied Genetics**, v. 56, n. 3, p. 349-354, 2014.

VALLENDER, E. J.; LAHN B. T. Positive selection on the human genome. **Human Molecular Genetics**, v. 13 (Spec No 2): R245–R254, 2004.

VAN MARLE-KÖSTER, E.; VISSER, C.; BERRY, D. P. A review of genomic selection-Implications for the South African beef and dairy cattle industries. **South African Journal of Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 1-17, 2013.

VAN MELIS, M. H.; ELER, J. P.; ROSA, G. J. M.; FERRAZ, J. B. S.; FIGUEIREDO, L.G.G.; MATTOS, E.C.; OLIVEIRA, H.N. Additive genetic relationships between scrotal circumference, heifer pregnancy and stayability in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 12, p. 3809-3813, 2010.

VICTORINO, F.; ALPER, S. Identifying novel spatiotemporal regulators of innate immunity. **Immunologic Research**, v. 55, n. 1-3, p. 3-9, 2013.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 3, p. 275-305, 2002.

VILLA-ANGULO, R.; MATUKUMALLI, L.; GILL, C.; CHOI, J.; VAN TASSELL, C.; GREFENSTETTE, J. High-resolution haplotype block structure in the cattle genome. **BMC Genetics**, v. 10, n. 1, p. 19-31, 2009.

VITTI J. J.; GROSSMAN S. R.; SABETI P. C. Detecting natural selection in genomic data. **Annual Review of Genetics**, v. 47, p. 97-120, 2013.

VOZZI, P. A.; MARCONDES, C. R.; MAGNABOSCO, C. D. U.; BEZERRA, L. A. F.; LÔBO, R. B. Structure and genetic variability in Nellore (*Bos indicus*) cattle by pedigree analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 3, p. 482-485, 2006.

VRAY, B.; HARTMANN, S.; HOEBEKE, J. Immunomodulatory properties of cystatins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.59, p.1503–1512, 2002

WEISS K.M.; CLARK A.G. Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. **Trends Genetics**, v. 18, n. 1, p. 19-24, 2002.

WANG, H.; CHARLES, P. C.; WU, Y.; REN, R.; PI, X.; MOSER, M., BARSHISHAT-KUPPER, M.; RUBIN, J. S.; PEROU, C.; BAUTCH, V.; PATTERSON, C. Gene expression profile signatures indicate a role for Wnt signaling in endothelial commitment from embryonic stem cells. **Circulation Research**, v. 98, n. 10, p. 1331–1339, 2006.

WANG, L.; YAO, J. The microRNAs important for ovarian and early embryonic development in cattle. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 38, p. 599-605, 2014.

WANG, Z.; WIDGREN, E. E.; SIVASHANMUGAM, P.; O'RAND, M. G.; RICHARDSON, R. T. Association of eppin with semenogelin on human spermatozoa. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 5, p. 1064-1070, 2005.

WARZYCH, E.; PERS-KAMCZYC, E.; KRZYWAK, A.; DUDZINSKA, S. LECHNIAK, D. Apoptotic index within cumulus of bovine oocytes matured in vitro. **Reproductive Biology**, v. 13, n. 1, p.82-87, 2013.

WELLER, J. I.; GOLIK, M.; SEROUSSI, E.; RON, M.; EZRA, E. Detection of quantitative trait loci affecting twinning rate in Israeli Holsteins by the daughter design. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 6, p. 2469-2474, 2008.

WIBOWO, T. A.; GASKINS, C. T.; NEWBERRY, R. C.; THORGAARD, G. H.; MICHAL .J.; JIANG, Z. Genome Assembly Anchored QTL Map of Bovine Chromosome 14. **International Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 6, p. 406 – 414, 2008.

WIENER, P.; BURTON, D.; AJMORE-MARSAN, P.; DUNNER, S.; MOMMENS, G.; NIJMAN, I.; RODELLAR, C.; VALENTINI, A.; WILLIAMS, J. L. Signatures of selection? Patterns of microsatellite diversity on a chromosome containing a selected locus. **Heredity**, v. 90, n. 5, p. 350-358, 2003.

XIA, H.; BODEMPUDI, V.; BENYUMOV, A.; HERGERT, P.; TANK, D.; HERRERA, J.; BRAZIUNAS, J; LARSSON, O; PARKER, M; ROSSI, D.;SMITH, K.; PETERSON, M.; LIMPER, A.; JESSURUN, J.; CONNETT, J.;INGBAR, D.; SEM PHAN, S.;BITTERMAN, P.; HENKE, C. A. Identification of a cell-of-origin for fibroblasts comprising the fibrotic reticulum in idiopathic pulmonary fibrosis. **The American Journal of Pathology**, v. 184, n. 5, p. 1369-1383, 2014.

ZENG, Z. B. Modeling epistasis of quantitative trait loci using Cockerham's model. **Genetics**, v.160, n. 3, p. 1243-11261, 2002.

ZHANG, X.; MISZTAL, I.; HEIDARITABAR, M.; BASTIAANSEN, J. W.; BORG, R.; OKIMOTO, R.; SAPP, R.; WING, T.; HAWKEN, R.; LOURENCO, D.; VITEZICA, Z.; CHENG, H.; MUIR, W. M. Prior genetic architecture impacting genomic regions under selection: An example using genomic selection in two poultry breeds. **Livestock Science**, v. 171, p. 1-11. 2015.

ZHAO, P.; ZHOU, X.; ZOU, J.; WANG, W.; WANG, L.; PENG, X.; UN, M. Comprehensive analysis of cystatin family genes suggests their putative functions in sexual reproduction, embryogenesis, and seed formation. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 17, p. 5093–5107, 2014.

ZIEGLER, A.; SANTOS, P. S. C.; KELLERMANN, T.; UCHANSKA-ZIEGLER, B. Self/nonself perception, reproduction, and the extended MHC. **Self/nonself**, v.1, n. 3, p. 176-191, 2010.

ZHU, M.; ZHAO, S. Candidate Gene Identification Approach: Progress and Challenges. **International Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 7 p. 420-427, 2007.

ZIMIN, A. V.; DELCHER, A. L.; FLOREA, L.; KELLEY, D. R.; SCHATZ, M. C.; PUIU, D.; HANRAHAN, F.; PERTEA, G.; VAN TASSELL, C.; SONSTEGARD, T.S.; MARÇAIS, G.; ROBERTS, M.; SUBRAMANIAN, P.; YORKE, J.A.; SALZBERG, S. L. A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. **Genome Biology**, v. 10, n. 4, R42, 2009.