

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**SELEÇÃO E ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA
PRECOCIDADE SEXUAL EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Natalia Irano

Zootecnista

2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**SELEÇÃO E ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA
PRECOCIDADE SEXUAL EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Natalia Irano

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque

Coorientadora: Profa. Dra. Annaiza Braga Bignardi

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Baldi

**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**

2015

Irano, Natalia
I65s Seleção e associação genômica para precocidade sexual em bovinos da raça Nelore / Natalia Irano. – – Jaboticabal, 2015
xi, 65 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientadora: Lucia Galvão de Albuquerque

Coorientadores: Annaiza Braga Bignardi, Fernando Baldi

Banca examinadora: Ricardo Vieira Ventura, Luciana Correia de Almeida Regitano, Roberto Carvalheiro, Henrique Nunes de Oliveira
Bibliografia

1. Características reprodutivas. 2. *Bos indicus*. 3. Valor genômico.
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.2:636.082

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: SELEÇÃO E ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA PRECOCIDADE SEXUAL EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

AUTORA: NATALIA IRANO

ORIENTADORA: Profa. Dra. LUCIA GALVAO DE ALBUQUERQUE

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIÁN BALDI REY

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. ANNAIZA BRAGA BIGNARDI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL , pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. LUCIA GALVAO DE ALBUQUERQUE
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. RICARDO VIEIRA VENTURA
Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP


Profa. Dra. LUCIANA CORREIA DE ALMEIDA REGITANO
Embrapa Pecuária Sudeste / São Carlos/SP


Prof. Dr. ROBERTO CARVALHEIRO
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 31 de julho de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Natalia Irano, nascida em Jaboticabal - SP, no dia 02 de Agosto de 1985, filha de Jorge Luiz Irano e Cleide Aparecida Bartolo Irano. Zootecnista formada pela Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Durante a graduação realizou iniciação científica sob orientação da Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque. Em Março de 2010, ingressou no curso de Mestrado, no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal da mesma faculdade, como bolsista CAPES, sob orientação da Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, obtendo o título de Mestre em Julho de 2011. Iniciou o curso de Doutorado em Genética e Melhoramento Animal na mesma instituição, como bolsista da FAPESP, em Agosto de 2011. Realizou estágio de Doutorado "Sandwich", como bolsista FAPESP, sob supervisão do Prof. Dr. Flavio Schramm Schenkel, na University of Guelph - Canadá, no período de Janeiro a Outubro de 2014, submetendo-se a defesa de tese em Julho de 2015.

“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã.”

Chico Xavier

Aos meus pais, Jorge e Cleide, que sempre iluminam meus caminhos e que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse nessa etapa de minha vida. Amo vocês!!!

Dedico e Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Deus e ao meu Anjo de Guarda, em primeiro lugar, que são minha força maior, que me guiam e iluminam meus caminhos sempre.

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, pela oportunidade de realizar mais esta etapa da minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado no Brasil (Processo 2013/00848-0), no exterior (2013/13456-2) e pelo apoio financeiro do projeto temático (Processo 2009/16118-5). Ao CNPq pelo apoio financeiro do projeto de genômica (Nº 559631/2009-0/Edital MCT/CNPq/CT-AGRO/CT-BIOTEC n º42/2009 - Rede GENOPROT).

À Gensys e aos programas de melhoramento (DeltaGen e Paint) por fornecerem os dados.

À Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, pela orientação, dedicação, ensinamentos e confiança.

Aos meus coorientadores Dra. Annaiza Braga Bignardi e Dr. Fernando Baldi, pelos inúmeros ensinamentos, paciência, dedicação, que ao longo desses anos se tornaram amigos muito especiais.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Ricardo Vieira Ventura, Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano, Dr. Roberto Carvalheiro e Dr. Henrique Nunes de Oliveira, pelas sugestões que contribuíram para aprimorar este trabalho.

Ao Dr. Danísio Prado Munari e Dr. Rogério Abdallah Curi, pelas valiosas sugestões prestadas no Exame de Qualificação.

À todos os docentes do programa de Genética e Melhoramento Animal pelos ensinamentos transmitidos e dedicação.

Ao Dr. Flavio Schenkel, que foi meu supervisor durante o estágio sanduíche em Guelph, pelo grande conhecimento transferido e carinho.

Aos amigos que fizeram parte desta jornada do sanduíche, Fuxica, Fabrícia, Giovani, Strumi, Gabe, Glenn, Piccoli e Luiz, vocês contribuíram para que esses meses fora se tornassem inesquecíveis e muito especiais.

Aos colegas e amigos da salinha, Fuxica, Raphael, Fabrícia, Gregório, Mari, Marcos, Arione, Denise, Annaiza, Rodrigo, Fábio, Mário, Pati, Iara, Gordo, Diogo, Luciana Shiotsuki, Luciana Takada, Marina, Inaê, Tonussi, Medeiros, Espigolan, Gerardo, Bresolin, Daniele, Thaise, William e Larissa, dentre outros, pelos bons anos de convivência, amizade e aprendizado, e também por transformarem o ambiente de trabalho em um local agradável.

Aos meus pais e minha irmã, por acreditarem em mim, me darem todo apoio e suporte quando mais precisei, e por terem me ensinado o essencial da vida, o AMOR!!! Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus tios Fábio, Mônica, Leila, Sérgio e Márcia e, meus primos irmãos, Rafael (e Laura) e Ruan, pelo incentivo e carinho de sempre, vocês são exemplos de vida e família para mim. Família que Deus me concedeu e agradeço muito!!!

Às minhas amigas, que são minhas irmãs de coração que eu escolhi pra vida, Daiane e Duda, e aos meus pais de coração Jair e Marli, que sempre estiveram presentes. E ao meu afilhadinho abençoado Rafael, que já amo tanto!!!

Às amigas preciosas de longos anos, companheiras por toda a vida, Isa, Josi, Karina e Tania, e amigo Dudu, por todo o carinho, lealdade, amizade e companheirismo.

Às amigas iluminadas, com as quais construí um laço de amizade intenso, Fuxica e Black, meu carinho e amor por vocês são enorme. Com vocês a vida tem mais cor e alegria!!!

Aos amigos tão queridos Mari, Greg, Rapha e Lola, pelos ótimos momentos compartilhados, risadas e carinho. Como é bom conviver com vocês!!!

Aos amigos da Zoo05, que sempre estão no meu coração e muitos ainda fazem parte da minha vida. Por uma Zootecnia forte e atuante!!!

À todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Seleção genômica	3
Associação genômica	7
Objetivo geral	8
Objetivos específicos	8
REFERÊNCIAS	9
CAPÍTULO 2 – ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA CARACTERÍSTICAS INDICADORAS DE PRECOCIDADE SEXUAL DE BOVINOS DA RAÇA NELORE	17
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1. INTRODUÇÃO	19
Objetivo geral	21
Objetivos específicos	21
2. MATERIAL E MÉTODOS	21
Dados fenotípicos	21
Dados genotípicos	23
Análise dos dados	24
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4. CONCLUSÕES	37
5. REFERÊNCIAS	37

CAPÍTULO 3 – SELEÇÃO GENÔMICA PARA CARACTERÍSTICAS INDICADORAS DE PRECOCIDADE SEXUAL DE BOVINOS DA RAÇA NELORE

RESUMO	45
ABSTRACT	46
1. INTRODUÇÃO	47
Objetivo geral	48
Objetivos específicos	49
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
Dados fenotípicos	49
Dados genotípicos e população de validação	51
Análise dos dados	53
Estimação do valor genômico	55
Comparação das metodologias	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
Metodologias multi-step	56
Comparação entre as metodologias single e multi-step	60
4. CONCLUSÕES	62
5. REFERÊNCIAS	62

SELEÇÃO E ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA PRECOCIDADE SEXUAL EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

RESUMO - Objetivou-se com este estudo realizar associação genômica ampla, visando detectar regiões cromossômicas associadas a características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore, bem como avaliar metodologias para a predição de valores genômicos visando à seleção destas características. Foram utilizados dados de animais da raça Nelore, pertencentes a fazendas que integram os programas de melhoramento genético da DeltaGen® e Paint® (CRV Lagoa). As características associadas à precocidade sexual utilizadas neste estudo foram a idade ao primeiro parto (IPP), a ocorrência de prenhez precoce de novilhas (P16) e o perímetro escrotal (PE). Após o controle de qualidade e consistência dos dados fenotípicos, permaneceram para as análises informações de 68.170, 72.675 e 83.911 animais com fenótipo e de 1.738, 1.770 e 1.680 animais genotipados para IPP, P16 e PE, respectivamente, e 412.993 SNPs. No Capítulo 2, as estimativas dos efeitos dos SNPs foram obtidas utilizando-se a metodologia single-step (WssGBLUP). Todos os animais foram utilizados aplicando-se modelo animal unicaracterística para prever os valores genéticos e, posteriormente, as soluções dos efeitos dos SNPs foram obtidas a partir destes valores genéticos. Foram identificadas as 10 janelas de 150 SNPs que capturaram a maior proporção da variância explicada pelos marcadores. As 10 janelas de maior efeito obtidas para a P16 estão localizadas nos cromossomos 5, 6, 7, 14, 18, 21 e 27 e somadas explicaram 7,91% da variância genética total. Para o PE, estas janelas estão nos cromossomos 4, 8, 11, 13, 14, 19, 22 e 23, explicando 6,78% da variância total. Com as análises de GWAS foi possível identificar regiões cromossômicas associadas com P16 e PE. A identificação dessas regiões possibilita o melhor entendimento e avaliação destas características, além de indicar genes candidatos para estudos futuros de investigação de mutações causais. No Capítulo 3, foram utilizadas duas metodologias para estimar os efeitos dos marcadores multi-step - GBLUP e IBLASSO; além da metodologia single-step (ssGBLUP). O fenótipo observado foi utilizado como variável dependente para estimar o valor genômico (GEBV) usando o método single-step, enquanto que, o fenótipo corrigido (Y_c), o valor genético (EBV) e o valor genético desregredido (dEBV) foram utilizados para os métodos multi-step. Embora, de forma geral, os métodos multi-step tenham apresentado resultados semelhantes para a maioria das características, o GBLUP gerou estimativas de GEBVs mais acuradas em algumas situações. Os resultados indicaram que o dEBV foi a melhor definição de variável dependente em relação ao EBV, pois permitiu melhor acurácia de predição para todas as características. A metodologia ssGBLUP apresentou maior acurácia de predição para todas as características. A seleção genômica, por meio da utilização do método single-step, pode ser alternativa adequada para prever os valores genômicos para características indicadoras de precocidade sexual.

Palavras-chave: acurácia de predição genômica, *Bos indicus*, características reprodutivas, GWAS, single-step, valor genômico

GENOMIC SELECTION AND ASSOCIATION FOR SEXUAL PRECOCITY IN NELLORE CATTLE

ABSTRACT - The objective of this study was to perform genome-wide association to detect chromosomal regions associated with indicator traits of sexual precocity of Nellore cattle, and evaluating methodologies for prediction of genomic values to use for selection of these traits. Data from Nellore animals belonging to farms integrating animal breeding programs of DeltaGen® and Paint® (CRV Lagoa), were used. Age at first calving (AFC), the occurrence of early pregnancy of heifers (EP) and scrotal circumference (SC) were used as traits associated with sexual precocity. After quality control and consistency of phenotypic data, information of 68,170; 72,675 and 83,911 animals with phenotype, and of 1,738; 1,770 and 1,680 genotypes for AFC, EP and SC, respectively, and 412,993 SNPs, remained for analysis. In chapter 2, the estimates of the SNP effects were obtained using the single-step method (WssGBLUP). All animals were used applying single trait animal model to predict the genetic values and, subsequently, the solutions of the SNP effects were obtained from these genetic values. The 10 windows of 150 SNPs that captured the greatest proportion of variance explained by markers were identified. The 10 windows with greater effect obtained for EP are located on chromosomes 5, 6, 7, 14, 18, 21 and 27 and together explained 7.91% of the total genetic variance. For SC, these windows are on chromosomes 4, 8, 11, 13, 14, 19, 22 and 23, explaining 6.78% of the total variance. With GWAS analysis it was possible to identify chromosomal regions associated with EP and SC. Identifying these regions enables better understanding and evaluation of these traits, besides indicating candidate genes for future research studies of causal mutations. In Chapter 3, two multi-step methods were used to estimate the marker effects - GBLUP and IBLASSO; besides the single-step method (ssGBLUP). Observed phenotype was used as the dependent variable to estimate the genomic value (GEBV) using single-step method, whereas corrected phenotype (Y_c), estimated breeding value (EBV) and deregressed estimated breeding value (dEBV) were used for multi-step methods. Although, generally, multi-step methods have presented similar results for most traits, GBLUP generated estimates of GEBVs more accurate in some situations. The results indicated that dEBV was the best definition of dependent variable compared to EBV, because it obtained better accuracy of prediction for all traits. The ssGBLUP methodology presented higher accuracy of prediction for all traits. Genomic selection, using the single-step method may be a suitable alternative for predicting genomic values for indicator traits of sexual precocity.

Key-words: accuracy of genomic prediction, *Bos indicus*, genomic value, GWAS, reproductive traits, single-step

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

O Brasil possui o segundo maior rebanho comercial de bovinos do mundo, sendo composto por aproximadamente 211 milhões de cabeças, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014). Destes, cerca de 80% são animais de raças zebuínas (*Bos indicus*), principalmente da raça Nelore, que são animais com maior resistência às altas temperatura e umidade (SILVA et al., 2001; RIBEIRO et al., 2008) e à infestação de ecto e endoparasitas (OLIVEIRA; ALENCAR, 1990; SILVA et al., 2010) comparados às raças taurinas (*Bos taurus*), permitindo criação em sistemas extensivos de produção. Entretanto, estes animais ainda são menos precoces sexualmente que os taurinos (CUNDIFF, 2004), levando conseqüentemente, à uma menor eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos nacionais.

As características reprodutivas ligadas à precocidade sexual são determinantes para a eficiência econômica do sistema de produção. A redução da idade ao primeiro parto está associada à redução dos custos de produção, devido à antecipação do início da idade produtiva das vacas (PEROTTO et al., 2006). De acordo com Monsalves (2008), em estudo comparando novilhas prenhes aos 14, 18 e 24 meses, o retorno financeiro é maior quando a primeira prenhez da fêmea acontece aos 14 meses. Segundo Van Melis et al. (2010), o lucro obtido pelos produtores de gado de corte é diretamente influenciado pelas características reprodutivas, que determinam a quantidade de produtos que pode ser disponibilizada no mercado e afetam o intervalo de gerações e a intensidade de seleção. Portanto, é interessante expor novilhas à reprodução precocemente, desde que estas estejam em boas condições corporais e em rebanhos cujo objetivo seja o aumento da lucratividade.

Tendo em vista a importância econômica que as características de precocidade sexual de fêmeas apresentam dentro do cenário produtivo brasileiro, o adiantamento da idade reprodutiva das novilhas deve ser levado em consideração em programas de melhoramento genético. Entretanto, estas características são de difícil mensuração, além de serem medidas em somente um dos sexos, tardiamente

na vida do animal e, em geral, possuem baixa herdabilidade, dificultando o processo de seleção e aumentando o intervalo de gerações. Como alternativa, as características indicadoras de precocidade sexual, como por exemplo, a idade ao primeiro parto (IPP) e ocorrência de prenhez precoce (P16), medidas nas fêmeas, e o perímetro escrotal (PE), medido nos machos, podem ser utilizadas como critério de seleção. Entretanto, para a avaliação de touros para as características IPP e P16 é necessário realizar teste de progênie, sendo que estes animais terão valores genéticos (EBV) acurados disponíveis muito tempo depois que foram selecionados (HAWKEN et al., 2012). Estas avaliações são de alto custo e aumentam o intervalo de gerações, diminuindo o ganho genético anual.

Dentre estas características, o PE é considerado em, praticamente, todos os índices de seleção empregados nos diversos programas de melhoramento. Isso ocorre, principalmente, por se tratar de uma característica de fácil mensuração e de herdabilidade de média a alta magnitude (ELER et al., 2004; BOLIGON et al., 2007; VAN MELIS et al., 2010; LAUREANO et al., 2011). Entretanto, vários estudos indicam que a seleção somente para PE pode não ser adequada alternativa quando se busca melhoria no desempenho reprodutivo do rebanho devido a baixa correlação genética com características medidas diretamente nas fêmeas, como IPP, com estimativas de correlação variando entre -0,21 e -0,23 (PEREIRA et al., 2000; SILVEIRA et al., 2004; BOLIGON et al., 2007), e P16, variando de 0,12 a 0,30 (ELER et al., 2004; MEIRELLES et al., 2009; VAN MELIS et al., 2010; SANTANA JR et al., 2012). Além disso, o PE é utilizado como critério de seleção, sendo o verdadeiro objetivo a diminuição da idade das fêmeas ao primeiro parto, ou seja, o aumento da taxa de prenhez precoce. Dessa forma, as características IPP e P16, que são medidas diretamente nas fêmeas, são o verdadeiro objetivo de seleção.

Em geral, a IPP apresenta estimativas de herdabilidade de baixa a moderada magnitude (DIAS et al., 2004; FORNI; ALBUQUERQUE, 2005; GRESSLER et al., 2005; BOLIGON et al., 2007; LAUREANO et al., 2011; ELER et al., 2014; SANTANA JR et al., 2015). Segundo Laureano et al. (2011), apesar das melhorias no manejo dos animais serem alternativas mais rápidas para a redução da expressão desta característica, processos seletivos a longo prazo podem ter impacto positivo na

produtividade dos rebanhos, visto a importância econômica das características reprodutivas. Um problema na utilização da IPP na avaliação da precocidade sexual é que alguns produtores determinam uma idade ou peso das fêmeas para que estas entrem na estação de monta e, assim, não é possível a identificação das fêmeas mais precoces sexualmente. Além disso, a curta duração da estação de monta, de aproximadamente 60 dias, a que as fêmeas são expostas à reprodução, não permite que as diferenças genéticas entre os animais sejam observadas (DIAS et al., 2004). Outro problema que ocorre é devido ao fato de que somente as fêmeas que pariram fazem parte das análises, portanto, parte da variação existente na característica não pode ser estimada.

A P16 apresenta expressão fenotípica com distribuição discreta, ou seja, é uma característica binária, e vem sendo indicada para avaliar a precocidade sexual das fêmeas. A P16 é facilmente mensurada e, ao contrário da IPP, inclui na avaliação genética dados de todas as fêmeas desmamadas do rebanho, considerando que estas tiveram a mesma chance de se reproduzir (SILVA et al., 2005; MEIRELLES et al., 2009). Além disso, as estimativas de herdabilidade para esta característica relatadas na literatura (MEIRELLES et al., 2009; SHIOTSUKI et al., 2009; VAN MELIS et al., 2010; SANTANA JR et al., 2013; ELER et al., 2014), para novilhas expostas à reprodução pela primeira vez entre os 14 e 18 meses de idade, são relativamente altas, indicando assim que a mesma pode responder rapidamente à seleção. A P16 é ainda favoravelmente correlacionada com habilidade de permanência da vaca no rebanho, contribuindo para aumentar a vida útil da vaca (BUZANSKAS et al., 2010; VAN MELIS et al., 2010; SANTANA JR et al., 2012).

Seleção genômica

A seleção genômica, proposta por Meuwissen et al. (2001), é uma técnica que utiliza marcadores do tipo SNP para prever os valores genômicos. Esta seleção baseia-se na utilização de um grande conjunto destes marcadores, espalhados por todo o genoma, de forma que QTL (*quantitative trait locus*) associados às

características de interesse estejam em alto desequilíbrio de ligação com alguns destes marcadores. Assim, a soma de todos os efeitos dos SNPs (valor genômico) seria um bom preditor do mérito genético dos candidatos à seleção (HAYES et al., 2007). Para prever o mérito genético dos animais, a soma dos efeitos dos marcadores precisa ser, primeiramente, conhecida de referência, em que os animais tenham informações de pedigree (USAI et al., 2009). Posteriormente, as estimativas destes efeitos, usando os valores genômicos de animais da população de referência, que têm

Segundo Schaeffer (2006), em estudo de simulação com gado de leite, a utilização de marcadores na seleção de reprodutores, permitirá antecipar o processo de seleção, diminuir os custos da avaliação, aumentar a acurácia de seleção e o ganho genético. Segundo Dekkers (2007), Meuwissen (2007) e Muir (2007), a seleção genômica, comparada à tradicional baseada no BLUP (*best linear unbiased prediction*), fornece maior acurácia para as predições dos valores genéticos (EBV), principalmente para as características que se expressam em um sexo e/ou que sejam de baixa herdabilidade, como é o caso das características indicadoras de precocidade sexual. Além disso, Zhang et al. (2014) afirmaram ainda ser possível obter acurácias moderadas dos valores genômicos para características reprodutivas e, portanto, ser vantajosa a utilização da seleção genômica para melhorar a fertilidade das fêmeas.

De acordo com Boddhireddy et al. (2014), a seleção genômica agregou valor aos métodos tradicionais, aumentando a acurácia de predição dos EBVs, permitindo assim, ganho genético mais rápido, devido à diminuição do intervalo de gerações, e fornecendo decisão de seleção dos animais mais acurada. A acurácia de predição é importante para a aplicação da seleção genômica e depende de vários fatores, como: herdabilidade da característica, tamanho da população de referência, variável dependente utilizada para prever os valores genômicos, desequilíbrio de ligação entre SNPs e QTL, número de QTL associados à característica e qual método está sendo utilizado para prever os valores genômicos (GARRICK et al., 2009; DAETWYLER et al., 2010; DE LOS CAMPOS et al., 2013).

Várias metodologias têm sido utilizadas para prever os valores genômicos, as quais diferem quanto à suposição da distribuição *a priori* dos efeitos dos SNPs. No método GBLUP (VANRADEN, 2008; MEUWISSEN et al., 2001) assume-se que os efeitos de todos os SNPs são normalmente distribuídos, com média zero e mesma variância para todos os marcadores. Dentre os métodos com abordagem Bayesiana, os quais utilizam vários tipos de distribuições *a priori* para os efeitos e variâncias dos SNPs, podemos citar: BayesA e BayesB (MEUWISSEN et al., 2001), BayesC π (HABIER et al., 2011) e IBLASSO (LEGARRA et al., 2011).

Para a metodologia BayesA, assume-se que as variâncias diferem para cada SNP. Com o método BayesB é permitido que muitos marcadores possam ter efeito igual a zero, assumindo uma distribuição *a priori* com efeito dos SNPs igual a zero com probabilidade π e os demais com variância locus-específica com probabilidade $(1 - \pi)$. Para ambos os métodos, a distribuição marginal *a priori* para os efeitos dos SNPs é uma *t-student*, permitindo uma cauda mais longa na densidade da curva, sendo possível identificar genes com efeito maior. Outro método Bayesiano, o BayesC π , foi derivado do método BayesC (KIZILKAYA et al., 2010; SUN et al., 2011), que por sua vez é uma modificação do BayesB, substituindo os componentes das variâncias locus-específicas por variâncias de efeito comum. O BayesC π é equivalente ao BayesC com uma fração π desconhecida de SNPs com efeito diferente de zero, com distribuição uniforme $(0,1)$ *a priori* para π . O método LASSO foi proposto por Tibshirani (1996) e modificado por Legarra et al. (2011), tornando-se então *Improved Bayesian Lasso* (IBLASSO). Neste método assume-se distribuição dupla exponencial para os efeitos dos SNPs, com efeitos próximos de zero e variâncias individuais, produzindo um *shrinkage* específico de acordo com o efeito e variância do marcador.

Hayes (2009) demonstrou que a metodologia e distribuição mais adequada para a estimação dos efeitos dos SNPs é condicionada à característica que está sendo considerada, uma vez que a proporção da variância genética que é explicada pelos SNPs, varia em função da característica. Luan et al. (2009), utilizando dados de características produtivas e reprodutivas de gado Norwegian Red (*Bos taurus*), também concluíram que o método mais adequado para estimar os efeitos dos

marcadores depende da característica analisada. Colombani et al. (2013), em estudo utilizando as características produção de leite, teor de gordura e taxa de concepção, observaram que os métodos Bayesianos (BayesC π e IBLASSO) foram semelhantes ao GBLUP para a maioria das características.

Para a utilização das metodologias citadas, todos os animais utilizados nas análises precisam ser genotipados. Além disso, estes métodos são implementados mediante procedimento que envolve várias etapas (multi-step) até a predição do valor genômico, como citado em VanRaden (2008) e Hayes et al. (2009) em gado de leite. Na primeira etapa, os EBVs ou os EBVs desregredidos (dEBV), que serão utilizados como pseudo-fenótipos, são estimados pelo modelo BLUP tradicional, em que a matriz de parentesco é baseada apenas no pedigree. Em seguida, estes pseudo-fenótipos são utilizados em modelo de predição genômica para estimar os efeitos dos marcadores na população de referência e, por último, predizer os valores genômicos por um índice de seleção (VANRADEN, 2008; HAYES et al., 2009).

Entretanto, é importante considerar que, na prática, nem todos os animais com registros fenotípicos podem ser genotipados. Sendo assim, outro método foi proposto por Misztal et al. (2009) para predizer os valores genômicos, em que as informações genômicas, fenotípicas e de pedigree são integradas em um único procedimento chamado single-step. No single-step, a matriz de parentesco baseada no pedigree (**A**) e a matriz de parentesco baseada na informação genômica (**G**) são combinadas em uma única matriz **H** (LEGARRA et al., 2009). De acordo com Aguilar et al. (2010), apesar da complexidade para a criação da matriz **H** utilizada no single-step, o método é viável até mesmo para um grande conjunto de dados. Os autores afirmaram que a metodologia do single-step além de fornecer uma estrutura unificada e eliminar vários parâmetros e suposições, permite avaliações genéticas mais acuradas do que com os procedimentos multi-step.

Gao et al. (2012) e Su et al. (2012), afirmaram que o single-step pode melhorar a acurácia e reduzir o viés das predições genômicas. Segundo Misztal et al. (2013), o single-step, quando comparado aos métodos multi-step, é mais simples de ser executado e aplicável para modelos mais complicados, como por exemplo para multicaracterísticas. Além disso, diferente do multi-step que, geralmente, utiliza

a informação dos dEBV como variável dependente para prever o valor genômico, o single-step usa a informação dos fenótipos observados. As informações vindas de touros e vacas genotipados são corretamente ponderadas, evitando dupla contagem tanto das contribuições devido ao parentesco quanto das informações dos próprios registros (LOURENCO et al., 2015).

Associação genômica

Além da seleção genômica, os estudos de associação genômica ampla (GWAS) vêm sendo realizados para identificar genes que estão associados com características de interesse econômico. A descoberta desses genes e como estes atuam na expressão das características são importantes ferramentas que podem auxiliar na aplicação da seleção genômica (CHEONG et al., 2008). Várias raças de origem zebuína têm sido utilizadas em estudos de GWAS para características reprodutivas (FORTES et al., 2012; HAWKEN et al., 2012; COSTA, 2013; PETERS et al., 2013; MCDANELD et al., 2014; MELO, 2015).

Inicialmente, o GWAS era realizado pela metodologia de quadrados mínimos (REML – *restricted maximum likelihood*), aplicando-se correção de Bonferroni para inferir QTL a partir dos efeitos individuais dos SNPs. O maior problema deste método é evitar altas taxas de falso-positivos e superestimação dos efeitos dos QTL (PETERS et al., 2013). Como alternativa, os efeitos dos SNPs podem ser estimados por inferência Bayesiana, onde todos os SNPs são considerados nas análises simultaneamente. Diferentes alternativas têm sido utilizadas, entre elas, a estimação e associação de janelas de SNPs ou dos SNPs individualmente (BODDICKER et al., 2011; PETERS et al., 2012).

Segundo Wang et al. (2014), estas metodologias podem ter várias limitações se EBVs forem utilizados como pseudo-fenótipo. Quando a maioria das informações fenotípicas é proveniente de animais não genotipados, os EBVs precisam ser desregredidos (GARRICK et al., 2009). O cálculo da desregressão depende da acurácia dos EBVs, a qual não pode ser inferida diretamente em um grande conjunto de dados, sendo estimada então uma acurácia aproximada, o que torna o processo

ineficaz (SANCHEZ et al., 2008). Recentemente, o método single-step, proposto por Wang et al. (2012), tem sido utilizado nos estudos de GWAS (WANG et al., 2012; DIKMEN et al., 2013; WANG et al., 2014), onde informações de genótipo, fenótipo e pedigree podem ser incorporadas conjuntamente em uma única etapa para estimar os efeitos dos SNPs. Com este método, todos os SNPs são considerados simultaneamente com os fenótipos dos animais genotipados e não genotipados.

Os resultados obtidos na literatura indicam a existência de vários loci no genoma bovino afetando características relacionadas à reprodução (FORTES et al., 2012; HAWKEN et al., 2012; COSTA, 2013; PETERS et al., 2013; MCDANELD et al., 2014; MELO, 2015). Entretanto, tem sido observado que em vários trabalhos com bovinos, considerando as mesmas características, porém utilizando diferentes raças ou populações, diferentes regiões cromossômicas associadas a essas características são encontradas (FORTES et al., 2012; ABO-ISMAIL et al., 2014; SAATCHI et al., 2014). Segundo Tizioto et al. (2013), isto ocorre possivelmente devido às diferenças entre as raças, principalmente entre as taurinas e zebuínas, para as frequências alélicas das mutações causais ou a extensão do desequilíbrio de ligação entre os SNPs e as variantes causais. Sendo assim, a identificação de genes candidatos para características reprodutivas das fêmeas poderá contribuir para uma seleção mais eficiente destas características.

Objetivo geral

Objetivou-se com este estudo realizar associação genômica ampla, visando detectar regiões cromossômicas associadas a características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore, bem como avaliar metodologias para a predição de valores genômicos visando à seleção destas características.

Objetivos específicos

- Verificar a associação de regiões cromossômicas com as características ocorrência de prenhez precoce e perímetro escrotal, no genoma bovino, utilizando modelo unicaracterística;

- Identificar genes presentes nestas regiões cromossômicas que afetam estas características.
- Comparar as acurácias de predição das metodologias multi-step: *genomic best linear unbiased predictor* (GBLUP) e *Improved Bayesian least absolute shrinkage and selection operator* (IBLASSO), utilizando diferentes pseudo-fenótipos como variáveis dependentes, para as características idade ao primeiro parto, ocorrência de prenhez precoce e perímetro escrotal;
- Utilizar a metodologia do single-step (ssGBLUP) na predição dos valores genômicos e comparar as acurácias de predição com as dos métodos multi-step.

REFERÊNCIAS

ABO-ISMAIL, M. K.; VOORT, G. V.; SQUIRES, J. J.; SWANSON, K. C.; MANDELL, I. B.; LIAO, X.; STOTHARD, P.; MOORE, S.; PLASTOW, G.; MILLER, S. P. Single nucleotide polymorphisms for feed efficiency and performance in crossbred beef cattle. **BMC Genetics**, v. 15, 2014. Disponível em: < doi:10.1186/1471-2156-15-14 >.

AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 743-752, 2010.

BODDHIREDDY, P.; KELLY, M. J.; NORTHCUTT, S.; PRAYAGA, K. C.; RUMPH, J.; DENISE, S. Genomic predictions in Angus cattle: Comparisons of sample size, response variables, and clustering methods for cross-validation. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 485-497, 2014.

BODDICKER, N.; WAIDE, E. H.; ROWLAND, R. R. R.; LUNNEY, J. K.; GARRICK, D. J.; REECY, J. M.; DEKKERS, J. C. M. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. **Journal of Animal Science**, 2011. Disponível em: < doi:10.2527/jas.2011-4464 >.

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

BUZANSKAS, M. E.; GROSSI, D. A.; BALDI, F.; BARROZO, D.; SILVA, L. O. C.; TORRES JR, R. A. A.; MUNARI, D. P.; ALENCAR, M. M. Genetic associations between stayability and reproductive and growth traits in Canchim beef cattle. **Livestock Science**, v. 132, p. 107-112, 2010.

CHEONG, H. S.; YOON, D. H.; PARK, B. L.; KIM, L. H.; BAE, J. S.; NAMGOONG, S.; LEE, H. W.; HAN, C. S.; KIM, J. O.; CHEONG, I.; SHIN, H. D. A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. **BMC Genetics**, v. 33, n. 9, 2008. Disponível em: <doi:10.1186/1471-2156-9-33>.

COLOMBANI, C.; LEGARRA, A.; FRITZ, S.; GUILLAUME, F.; CROISEAU, P.; DUCROCQ, V.; ROBERT-GRANIÉ, C. Application of Bayesian least absolute shrinkage and selection (LASSO) by stepwise selection in French Holstein and Montbéliarde breeds. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 575-591, 2013.

COSTA, R. B. **Associação e seleção genômica para características relacionadas à eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Nelore**. 2013. 71f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, 2013.

CUNDIFF, L. V. Beef cattle: breeds and genetics. In: POND, W.G.; BELL, A. W. (Ed.). **Encyclopedia of Animal Science**. Ithaca: Cornell University, 2004. 800 p.

DAETWYLER, H. D.; PONG-WONG, R.; VILLANUEVA, B.; WOOLLIAMS, J. A. The impact of genetic architecture on genome-wide evaluation methods. **Genetics**, v. 185, p. 1021-1031, 2010.

DEKKERS, J. C. M. Marker-assisted selection for commercial crossbred performance. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 2104-2114, 2007.

DE LOS CAMPOS, G.; HICKEY, J. M.; PONG-WONG, T.; DAETWYLER, H. D.; CALUS, M. P. L. Whole-genome regression and prediction methods applied to plant and animal breeding. **Genetics**, v. 193, p. 327-345, 2013.

DIAS, L. T.; EL FARO, L.; ALBUQUERQUE, L. G. 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.

DIKMEN, S.; COLE, J. B.; NULL, D. J.; HANSEN, P. J. Genome-wide association mapping for identification of quantitative trait loci for rectal temperature during heat stress in Holstein cattle. **PLoS ONE**, v. 8, 2013. Disponível em: <doi:10.1371/journal.pone.0069202>.

ELER, J. P.; SILVA, J. A. II de V.; EVANS, J. L.; FERRAZ, J. B. S.; DIAS, F.; GOLDEN, B. L. Additive genetic relationships between heifer pregnancy and scrotal circumference in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2519-2527, 2004.

ELER, J. P.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S.; SANTANA JR, M. L. Genetic relationships among traits related to reproduction and growth of Nelore females. **Theriogenology**, v. 82, p. 708-714, 2014.

FORNI, S.; ALBUQUERQUE, L. G. Estimates of genetic correlations between days to calving and reproductive and weight traits in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1511-1515, 2005.

FORTES, M. R. S.; LEHNERT, S. A.; WOLCOTT, M.; ZHANG, Y.; BOLORMAA, S.; HOLROYD, R.; HAWKEN, R. J.; REVERTER-GOMEZ, T. Finding genes for economically important traits: Brahman cattle puberty. **Animal Production Science**, v. 52, p.143-150, 2012.

GAO, H.; CHRISTENSEN, O. F.; MADSEN, P.; NIELSEN, U. S.; ZHANG, Y.; LUND, M. S.; SU, G. Comparison on genomic predictions using three GBLUP methods and two single-step blending methods in the Nordic Holstein population. **Genetics Selection Evolution**, v. 44, p. 1-8, 2012.

GARRICK, D. J.; TAYLOR, J. F.; FERNANDO, R. L. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. **Genetics Selections Evolution**, v. 41, 2009. Disponível em: < doi: 10.1186/1297-9686-41-55>.

GRESSLER, M. G. M.; PEREIRA, J. C. C.; BERGMANN, J. A. G.; ANDRADE, V. J.; PAULINO, M. F.; GRESSLER, S. L. Aspectos genéticos do peso à desmama e de algumas características reprodutivas de fêmeas Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 4, p. 533-538, 2005.

HABIER, D.; FERNANDO, R. L.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J. Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics**, v. 12, 2011. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2105/12/186>>.

HAWKEN, R. J.; ZHANG, Y. D.; FORTES, M. R. S.; COLLIS, E.; BARRIS, W. C.; CORBET, N. J.; WILLIAMS, P. J.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R. G.; WALKLEY, J. R. W.; 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, p. 1398-1410, 2012.

HAYES, B. J. Whole Genome Association and Genomic Selection. Jaboticabal, SP: FUNEP, 120p (**Course Notes**), 2009.

HAYES, B. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; MCPARTLAN, H.; MACLEOD, I.; SETHURAMAN, L.; GODDARD, M. E. Accuracy of marker assisted selection with single markers and marker haplotypes in cattle. **Genetical Research**, v. 89, p. 215-220, 2007.

HAYES, B. J.; BOWMAN, P. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; GODDARD, M. E. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 433-443, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014.

KIZILKAYA, K.; FERNANDO, R. L.; GARRICK, D. J. Genomic prediction of simulated multibreed and purebred performance using observed fifty thousand single nucleotide polymorphism genotypes. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 544-551, 2010.

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. 63, n. 1, p. 143-152, 2011.

LEGARRA, A.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4656-4663, 2009.

LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIE, C.; CROISEAU, P.; GUILLAUME, F.; FRITZ, S. Improved Lasso for genomic selection. **Genetics Research**, v. 93, p. 77-87, 2011.

LOURENCO, D. A. L.; TSURUTA, S.; FRAGOMENI, B. O.; MASUDA, Y.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; BERTRAND, J. K.; AMEN, T. S.; WANG, L.; MOSER, D. W.; MISZTAL, I. Genetic evaluation using single-step genomic best linear unbiased predictor in American Angus. **Journal of Animal Science**, v. 93, 2015. Disponível em: <doi:10.2527/jas2014-8836>.

LUAN, T.; WOOLLIAMS, J. A.; LIEN, S.; KENT, M.; SVENDSEN, M.; MEUWISSEN, T. H. E. The accuracy of genomic selection in Norwegian Red cattle assessed by cross-validation. **Genetics**, v. 183, p. 1119–1126, 2009.

MCDANELD, T. G.; KUEHN, L. A.; THOMAS, M. G.; SNELLING, W. M.; SMITH, T. P. L.; POLLAK, E. J.; COLE, J. B.; KEELE, J. W. Genomewide association study of reproductive efficiency in female cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 1945-1957, 2014.

MEIRELLES, S. L.; ESPASANDIN, A. C.; MATTAR, M.; QUEIROZ, S. A. Genetic and environmental effects on sexual precocity traits in Nelore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1488-1493, 2009.

MELO, T. P. **Genome-wide association study of reproduction traits in Nelore cattle, including additional phenotypic information from non-genotyped animals**. 2015. 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – F C ê A á V á , U E P “Jú M F h ”, J b b , 2015.

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

MEUWISSEN, T. H. E. Genomic selection: marker assisted selection on a genome-wide scale. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 124, p. 321-322, 2007.

MISZTAL, I.; LEGARRA, A.; AGUILAR, I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4648-4655, 2009.

MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; VANRADEN, P. M.; LAWLOR, T. J. Methods to approximate reliabilities in single-step genomic evaluation. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 647-654, 2013.

MONSALVES, F. M. **Valor econômico e impacto da seleção para precocidade reprodutiva de fêmeas na raça Nelore**. 2008. 39f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, U E P “Jú M F h”, J b b , 2008.

MUIR, W. M. Comparison of genomic and traditional BLUP – estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 124, p. 342-355, 2007.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos de seis graus de sangue Holândes-Guzerá ao carrapato (*Boophilus microplus*) e ao berne (*Dermatoobia hominis*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 42, p. 127-135, 1990.

PEREIRA, E.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Correlação genética entre perímetro escrotal e algumas características reprodutivas na raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1676-1683, 2000.

PEROTTO, D.; MIYAGI, A. P.; SOUZA, J. C.; MOLETTA, J. L.; FREITAS, J. A. Estudos de características reprodutivas de animais da raça Canchim, criados a pasto, no Estado do Paraná, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 2, p. 1-6, 2006.

PETERS, S.O.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; REECY, J. M.; WEABER, R. L.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3398-3409, 2012.

PETERS, S.O.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; REECY, J. M.; WEABER, R. L.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Heritability and Bayesian genome-wide association study of first service conception and pregnancy in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 605-612, 2013.

RIBEIRO, A. R. B.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; IBELLI, A. M. G.; SOUZA, J. R. T.; PAÇO, A. L.; RAMOS, A. C. L.; MIYAJIMA, M. M.; CALABRIA, P.; CHIMENEZ, V. Respostas fisiológicas de bovinos Nelore, Senepol x Nelore e Angus x Nelore submetidos a teste de tolerância ao calor. In: VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 7., 2008, São Carlos. **Anais...** São Carlos: SBMA, 2008.

SAATCHI, M.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; GARRICK, D. J. Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate within and across ten US cattle breeds. **BMC Genomics**, v. 15, 2014. Disponível em: <doi: 10.1186/1471-2164-15-442>.

SANCHEZ, J. P.; MISZTAL, I.; BERTRAND, J. K. Evaluation of methods for computing approximate accuracies of predicted breeding values in maternal random regression models for growth traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 1057-1066, 2008.

SANTANA JR, M. L.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; MATTOS, E. C. Genetic relationship between growth and reproductive traits in Nelore cattle. **Animal**, v. 6, n. 4, p. 565-570, 2012.

SANTANA JR, M. L.; ELER, J. P.; CUCCO, D. C.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S. Genetic associations between hip height, body conformation scores, and pregnancy probability at 14 months in Nelore cattle. **Livestock Science**, v. 154, p. 13-18, 2013.

SANTANA JR, M. L.; ELER, J. P.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S. Two-trait random regression model to estimate the genetic association of scrotal circumference with female reproductive performance in Nelore cattle. **Theriogenology**, v. 83, n. 9, p. 1534-1540, 2015.

SCHAEFFER, L. R. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 123, p. 218-223, 2006.

SHIOTSUKI, L.; SILVA, J. A. II de V.; ALBUQUERQUE, L. G. Associação genética da prenhez aos 16 meses com o peso à desmama e o ganho de peso em animais da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1211-1217, 2009.

SILVA, A. M.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S. O. Infestação natural de fêmeas bovinas de corte por ectoparasitas na Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1477-1482, 2010.

SILVA, R. G.; SCALA Jr, N. L.; POCCAY, P. L. B. Transmissão de radiação ultravioleta através do pelame e da epiderme de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1939-1947, 2001.

SILVEIRA, J. C.; MCMANUS, C.; MASCIOLI, A. S.; SILVA, L. O. C.; SILVEIRA, A. C.; GARCIA, J. A. S.; LOUVANDINI, H. Fatores ambientais e parâmetros genéticos para características produtivas e reprodutivas em um rebanho Nelore no Estado do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1432-1444, 2004.

SU, G.; MADSEN, P.; NIELSEN, U. S.; MÄNTYSAARI, E. A.; AAMAND, G. P.; CHRISTENSEN, O. F.; LUND, M. S. Genomic prediction for Nordic Red Cattle using one-step and selection index blending. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 909-917, 2012.

SUN, X.; FERNANDO, R. L.; GARRICK, D. J.; DEKKERS, J. C. M. An iterative approach for efficient calculation of breeding values and genome-wide association analysis using weighted genomic BLUP. **Journal of Animal Science**, v. 89, (E-Suppl.2), e11, 2011.

TIBSHIRANI, R.: Regression shrinkage and selection via the Lasso. **Journal of the Royal Statistic Society**, v. 58, p. 267-288, 1996.

TIZIOTO, P. C.; DECKER, J. E.; TAYLOR, J. F.; SCHNABEL, R. D.; MUDADU, M. A.; SILVA, F. L.; MOURÃO, G. B.; COUTINHO, L. L.; THOLON, P.; SONSTEGARD, T. S.; ROSA, A. N.; ALENCAR, M. M.; TULLIO, R. R.; MEDEIROS, S. R.; NASSU, R. T.; FEIJÓ, G. L. D.; SILVA, L. O. C.; TORRES, R. A.; SIQUEIRA, F.; HIGA, R. H.; REGITANO, L. C. A. Genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiological Genomics**, v. 45, p. 1012-1020, 2013.

USAI, M. G.; GODDARD, M. E.; HAYES, B. LASSO with cross-validation for genomic selection. **Genetic Research**, v. 91, p. 427-436, 2009.

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 Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3809-3813, 2010.

VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4414-4423, 2008.

WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; MUIR, W. M. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research**, v. 94, p. 73-83, 2012.

WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; FERNANDO, R. L.; VITEZICA, Z.; OKIMOTO, R.; WING, T.; HAWKEN, R.; MUIR, W. M. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. **Frontiers in Genetics**, v. 5, 2014. Disponível em: <doi: 10.3389/fgene.2014.00134>.

ZHANG, Y. D.; JOHNSTON, D. J.; BOLORMAA, S.; HAWKEN, R. J.; TIER, B. Genomic selection for female reproduction in Australian tropically adapted beef cattle. **Animal Production Science**, v. 54, p. 16-24, 2014.

Capítulo 2 - Associação genômica ampla para características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore

RESUMO - Objetivou-se com este estudo realizar associação genômica ampla, visando detectar regiões cromossômicas associadas a características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore. Foram utilizados dados de animais da raça Nelore, pertencentes a oito fazendas localizadas nas regiões centro-oeste, sudeste e nordeste do Brasil, que integram os programas de melhoramento genético da DeltaGen® e Paint® (CRV Lagoa). As características associadas à precocidade sexual utilizadas neste estudo foram a ocorrência de prenhez precoce de novilhas (P16) e o perímetro escrotal (PE). Foram utilizados dados de 72.675 fêmeas e de 83.911 machos com fenótipo, sendo que destes, 1.770 fêmeas e 1.680 machos eram genotipados. As estimativas dos efeitos dos SNPs foram obtidas utilizando-se a metodologia single-step (WssGBLUP) e os fenótipos observados foram utilizados como variáveis dependentes. Todos os animais com genótipo e fenótipo disponíveis, além dos que tinham informação apenas do fenótipo, foram utilizados aplicando-se modelo animal unicaracterística para prever os valores genéticos e, posteriormente, as soluções dos efeitos dos SNPs foram obtidas a partir destes valores genéticos. Os resultados das análises de associação genômica ampla (GWAS) foram apresentados com base na proporção da variância explicada por janelas de 150 SNPs adjacentes. Foram identificadas as 10 janelas que capturaram a maior proporção da variância explicada pelos marcadores. Os resultados obtidos neste estudo indicam o caráter poligênico das características P16 e PE, constatando que as características indicadoras de precocidade sexual estudadas neste trabalho são, provavelmente, controladas por grande número de genes, com alguns de efeito moderado. As 10 janelas de maior efeito obtidas para a P16 estão localizadas nos cromossomos 5, 6, 7, 14, 18, 21 e 27 e somadas explicaram 7,91% da variância genética total. Para o PE, estas janelas estão nos cromossomos 4, 8, 11, 13, 14, 19, 22 e 23, explicando 6,78% da variância total. Com as análises de GWAS foi possível identificar regiões cromossômicas associadas com P16 e PE. A identificação dessas regiões possibilita o melhor entendimento e avaliação destas características, além de indicar genes candidatos para estudos futuros de investigação de mutações causais.

Palavras-chave: *Bos indicus*, GWAS, janelas de SNPs, variância genética, single-step

GENOME WIDE ASSOCIATION FOR INDICATOR TRAITS OF SEXUAL PRECOCITY IN NELLORE CATTLE

ABSTRACT - The objective of this study was to perform genome-wide association to detect chromosomal regions associated with indicator traits of sexual precocity of Nellore cattle. Data from Nellore animals belonging to eight farms located in the Midwest, Southeast and Northeast of Brazil, integrating animal breeding programs of DeltaGen® and Paint® (CRV Lagoa), were used. The traits associated with sexual precocity used in this study were the occurrence of early pregnancy of heifers (EP) and scrotal circumference (SC). Data of 72,675 females and 83,911 males with phenotype were used, and from these, 1,770 females and 1,680 males were genotyped. The estimates of the SNP effects were obtained using the single-step method (WssGBLUP), and the observed phenotypes were used as dependent variables. All animals with genotype and phenotype available, in addition to the information which had just phenotype, were used applying single trait animal model to predict the genetic values and, subsequently, the solutions of the SNP effects were obtained from these genetic values. Results of the analysis of GWAS were presented based on the proportion of variance explained by windows with 150 adjacent SNPs. The 10 windows that captured the greatest proportion of variance explained by markers were identified. The results of this study indicate the polygenic nature of the traits EP and SC, verifying that the indicator traits of sexual precocity studied in this work are probably controlled by many genes, with some with moderate effect. The 10 windows with greater effect obtained for EP are located on chromosomes 5, 6, 7, 14, 18, 21 and 27 and together explained 7.91% of the total genetic variance. For SC, these windows are on chromosomes 4, 8, 11, 13, 14, 19, 22 and 23, explaining 6.78% of the total variance. With GWAS analysis it was possible to identify chromosomal regions associated with EP and SC. Identifying these regions enables better understanding and evaluation of these traits, besides indicating candidate genes for future research studies of causal mutations.

Key-words: *Bos indicus*, GWAS, genetic variance, single-step, SNP windows

1. INTRODUÇÃO

As características reprodutivas, dentre elas as de precocidade sexual das fêmeas, estão diretamente relacionadas à rentabilidade do sistema de produção de gado de corte. Segundo Brumatti et al. (2011), que realizaram estudos de valores econômicos para características reprodutivas, estas podem ser até treze vezes mais importante que as características de crescimento. A idade à puberdade de fêmeas é uma característica economicamente considerável, principalmente, para *Bos indicus*, que são considerados mais tardios sexualmente quando comparados aos *Bos taurus* (CUNDIFF, 2004; SARTORI et al., 2010). Entretanto, esta é de difícil seleção uma vez que, para a identificação do início da puberdade das novilhas, que é a idade em que a fêmea expressa sua capacidade de reprodução (LANNA; DELGADO, 2000), seria necessária uma adequação no manejo, com o uso de rufião ou exames hormonais para detecção de cio, acarretando em maior custo no sistema de produção. Por outro lado, características indicadoras de precocidade sexual, como por exemplo, ocorrência de prenhez precoce (P16) e perímetro escrotal (PE), são obtidas mais facilmente no rebanho, fazendo parte da colheita rotineira de dados, podendo assim, ser utilizadas como critério de seleção.

Apesar destas características serem fáceis de medir em grande número de animais e apresentarem herdabilidade alta (VAN MELIS et al., 2010; SILVA et al., 2011; SANTANA JR et al., 2013; ELER et al., 2014), elas são limitadas ao sexo e, no caso da ocorrência de prenhez, é mensurada somente após o primeiro parto. A avaliação de touros para P16 depende de um teste de progênie, sendo que estes animais terão valores genéticos (EBV) acurados disponíveis muito tempo depois de foram selecionados (HAWKEN et al., 2012). Estas avaliações são de alto custo e aumentam o intervalo de gerações, diminuindo o ganho genético anual.

Recentemente, os avanços tecnológicos possibilitaram a utilização de painéis densos de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) para estudos de associação genômica ampla (GWAS). Assim, os SNPs associados aos QTL (*quantitative trait loci*), que influenciam na expressão das características, podem ser identificados e utilizados na construção de painéis de SNPs que auxiliarão no processo de seleção

(PETERS et al., 2012). Segundo Cochram et al. (2013), uma forma de melhorar a acurácia das predições genômicas para fertilidade é incorporando nos painéis SNPs associados a genes envolvidos com características reprodutivas.

Dentre os métodos utilizados para o GWAS, um método clássico era utilizado inicialmente, o qual se baseia no teste de um único marcador por vez, em que cada SNP é tratado como covariável no modelo (HIRSCHHORN; DALY, 2005). Apesar deste método ser vantajoso quanto à facilidade da aplicação do teste de significância, é provável que resulte em pior ajuste dos dados comparado aos métodos em que são considerados todos os SNPs em conjunto (WANG et al., 2012). Estes, por sua vez, são realizados em várias etapas (multi-step), onde os EBVs são estimados por meio de modelo BLUP tradicional e, em seguida, estes EBVs serão utilizados como pseudo-fenótipos em modelos de predição genômica para estimar os efeitos dos marcadores (VANRADEN, 2008; HAYES et al., 2009). Nestes procedimentos, apenas os animais com fenótipo e genótipo são incluídos nas análises.

O método single-step GBLUP (ssGBLUP), que integra as informações de pedigree, fenótipo e genótipo, foi proposto por Misztal et al. (2009). Segundo Wang et al. (2012), o ssGBLUP baseia-se no modelo infinitesimal, o qual assume igual variância para todos os efeitos dos SNPs, causando uma limitação no uso da metodologia, visto que esta não é a real situação para todas as características de interesse econômico. Estes autores propuseram o ssGBLUP ponderado (WssGBLUP), que combina as informações de pedigree, fenótipo e genótipo, em que diferentes pesos podem ser atribuídos para os marcadores em um processo iterativo para atualizar as soluções dos SNPs.

Com os estudos de GWAS, alguns genes associados a características reprodutivas em bovinos têm sido descritos na literatura, para animais de origem zebuína (FORTES et al., 2012; HAWKEN et al., 2012; COSTA, 2013; PETERS et al., 2013; MCDANELD et al., 2014; MELO, 2015). Entretanto, poucos trabalhos foram publicados para características indicadoras de precocidade sexual na raça Nelore.

Objetivo geral

Objetivou-se com este estudo realizar associação genômica ampla, visando detectar regiões cromossômicas associadas a características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore por meio da metodologia do single-step, trazendo subsídios para o melhor entendimento da distribuição dos genes que afetam estas características, bem como para a seleção genômica.

Objetivos específicos

- Verificar a associação de regiões cromossômicas com as características ocorrência de prenhez precoce e perímetro escrotal, no genoma bovino, utilizando modelo unicaracterística;
- Identificar genes presentes nestas regiões cromossômicas que afetam estas características.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Dados fenotípicos

Foram utilizados dados de animais da raça Nelore, pertencentes a oito fazendas localizadas nas regiões centro-oeste, sudeste e nordeste do Brasil, que integram os programas de melhoramento genético da DeltaGen[®] e Paint[®] (CRV Lagoa).

Nestas fazendas, realiza-se uma estação de monta antecipada, para as novilhas de 14 a 18 meses de idade, entre os meses de fevereiro e abril, com duração de, aproximadamente, 60 dias, onde todas as fêmeas são expostas à reprodução independente do peso e da condição corporal. A estação de monta para as vacas tem início em torno da segunda quinzena do mês de novembro com duração de, aproximadamente, 90 dias. As épocas de nascimento dos bezerros se concentram de agosto a outubro e novembro a janeiro, e os mesmos são mantidos com suas mães até os sete meses de idade a pasto. As novilhas são avaliadas

quanto à prenhez por palpação retal, aproximadamente, 60 dias após o término da estação de monta antecipada. Novilhas que não concebem na estação de monta antecipada são expostas novamente aos dois anos de idade. Os 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 progênie e, uma pequena percentagem, por sanidade.

As características associadas à precocidade sexual utilizadas neste estudo foram: a ocorrência de prenhez precoce de novilhas (P16) e o perímetro escrotal (PE). A P16 foi definida com base na concepção e parição da novilha, desde que a mesma tenha entrado na estação de monta em torno dos 16 meses de idade. Às novilhas que pariram com menos de 31 meses de idade foi atribuído o valor 1 (sucesso) e, o valor 0 (fracasso) àquelas que falharam, ou seja, que pariram depois de 31 meses de idade. O PE foi mensurado em centímetros e obtido ao sobreano.

Os efeitos fixos considerados na formação dos grupos de contemporâneos (GC), para as duas características, incluíram a safra de nascimento, fazenda e grupo de manejo ao nascimento, na desmama e ao sobreano. Foram eliminados GC sem variabilidade para P16, ou seja, aqueles em que todos os animais apresentaram a mesma categoria de resposta, e GC com registros fora dos intervalos dados pela média do grupo mais ou menos três desvios-padrão para PE. Além disso, para ambas as características, GC com menos de 4 observações foram excluídos das análises.

Para ambas as características foram considerados os efeitos aleatórios genético aditivo e residual e, como efeitos fixos, o GC. Para PE, o efeito linear da idade do animal na mensuração foi adicionado ao modelo como covariável. Os números de animais utilizados nas análises e alguns resultados das estatísticas descritivas das características estudadas são apresentados na Tabela 1. A matriz de parentesco dos animais constituiu-se de 203.017 animais.

Tabela 1. Número de animais nas análises de associação genômica (N_{anim}), média, valores mínimos (Mín) e máximos (Máx) e herdabilidade (h^2) para as características indicadoras de precocidade sexual.

Características	N_{anim}	Média/Percentagem*	Mín	Máx	h^2
P16 (%)	73.359	18,6*	--	--	0,30
PE (cm)	87.612	26,75	15	40	0,41

P16: ocorrência de prenhez precoce; PE: perímetro escrotal.

Dados genotípicos

Foram utilizados genótipos de 1.770 fêmeas, nascidas entre 2007 e 2009, e de 1.680 machos, nascidos entre 1993 e 2012. Além disso, foram utilizados genótipos de 611 touros (pais das fêmeas e machos utilizados neste estudo), nascidos entre 1965 e 2006, dos quais 223 tinham informação fenotípica para PE. Todos os animais genotipados, com exceção de parte dos touros, tinham registros de desempenho e genealogia disponíveis. As fêmeas foram escolhidas entre novilhas contemporâneas que tinham sido expostas à reprodução em uma idade precoce (14 a 18 meses de idade) e, os machos jovens, entre aqueles contemporâneos que tinham fenótipo mensurado ao sobreano. Os touros genotipados escolhidos foram aqueles que tinham progênie avaliada na base Aliança Nelore, que tiveram material biológico (sêmen ou pêlo) encontrado. Os animais foram genotipados utilizando-se o painel de alta densidade Illumina Bovine HD assay (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), contendo 777.962 SNPs.

O controle de qualidade dos genótipos foi efetuado em um processo iterativo, onde a cada iteração eram excluídos, primeiramente, os SNPs e, em seguida, as amostras, repetindo-se até que nenhum SNP ou amostra fossem excluídos. Os seguintes critérios de exclusão para os SNPs foram utilizados: regiões não-autossômicas; mapeados na mesma posição; *p-value* para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg menor que 10^{-5} ; frequência do alelo menor (MAF) menor que 2%, *GenCall* menor que 15% e eficiência da genotipagem de cada SNP (*call frequency*) menor que 95%. Para as amostras, aquelas com *call rate* menor que 90% e/ou duplicadas foram excluídas. Após o controle de qualidade, permaneceram para as análises 412.993 SNPs.

Análises dos dados

As estimativas dos efeitos dos SNPs foram obtidas utilizando-se a metodologia single-step ponderado (WssGBLUP), proposta por Wang et al. (2012). Os fenótipos observados das características P16 e PE foram utilizados como variáveis dependentes. Todos os animais com genótipo e fenótipo disponíveis, além dos que tinham informação apenas do fenótipo, foram utilizados aplicando-se modelo animal unicaracterística para prever os valores genéticos:

$$y = Xb + Z_a a + e$$

em que, y é o vetor de fenótipos observados tanto dos animais genotipados quanto dos animais não genotipados (para P16, é o vetor de); X é a matriz de incidência dos efeitos fixos; b é o vetor dos efeitos fixos, incluindo grupo de contemporâneos e, como covariável, a idade em que o PE foi mensurado para a característica PE; Z_a é a matriz de incidência dos efeitos genéticos aditivos; a é o vetor aleatório dos efeitos genéticos aditivos; e e é o vetor dos efeitos residuais. Para a característica P16 foi assumido modelo de limiar, sendo que este relaciona o fenótipo observado na escala categórica com uma escala subjacente normal contínua.

Para os efeitos genéticos é assumido que $a \sim N(0, H\sigma_a^2)$, em que H é a matriz de parentesco baseada tanto na informação genômica quanto na informação de pedigree e σ_a^2 é a variância genética aditiva. Para os efeitos residuais, assumiu-se que $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$, em que I é uma matriz identidade e σ_e^2 é a variância residual. Como σ_e^2 não é estimável na escala subjacente (GIANOLA; FOULLEY, 1983), foi atribuído o valor 1 para a σ_e^2 , para a característica P16. A matriz H possui a seguinte inversa (AGUILAR et al., 2010):

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

em que, A é a matriz do numerador do coeficiente de parentesco baseada no pedigree para todos os animais; A_{22} é a matriz do numerador do coeficiente de parentesco baseada no pedigree somente para os animais genotipados; e G é a

matriz de parentesco genômica para os animais genotipados, calculada conforme apresentado por VanRaden (2008).

$$\mathbf{G} = \mathbf{ZDZ}'\lambda$$

em que, \mathbf{Z} é a matriz obtida da subtração da matriz de genótipos \mathbf{M} pela matriz \mathbf{P} que contém a frequência alélica do segundo alelo; \mathbf{D} é uma matriz diagonal de pesos para as variâncias dos SNPs; e λ é uma razão de variâncias ou uma constante de normalização (VANRADEN, 2008):

$$\lambda = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_a^2} = \frac{1}{\sum_{i=1}^M 2p_i(1-p_i)}$$

em que, M é o número de SNPs e p_i é a frequência alélica do segundo alelo do marcador i .

As soluções dos efeitos dos SNPs (\hat{u}) foram obtidas a partir dos valores genéticos, seguindo o seguinte algoritmo (WANG et al., 2012 – cenário S1):

1. Na primeira iteração $\mathbf{D}_{(t)} = \mathbf{I}$; $\mathbf{G}_{(t)} = \mathbf{ZD}_{(t)}\mathbf{Z}'\lambda$, em que t é o número de iteração.
2. Calcula o valor genético de todos os animais utilizando o ssGBLUP.
3. Calcula $\hat{u}_{(t)} = \lambda\mathbf{D}_{(t)}\mathbf{Z}'\mathbf{G}_{(t)}^{-1}\hat{\mathbf{a}}_g$; em que $\hat{\mathbf{a}}_g$ é o valor genético estimado dos animais genotipados.
4. Calcula os pesos $d_{i(t+1)} = \hat{u}_{i(t)}^2 2p_i(1-p_i)$ para cada SNP (ZHANG et al., 2010).
5. Normaliza os pesos para a variância genética aditiva permanecer constante

$$\mathbf{D}_{(t+1)} = \frac{\text{tr}(\mathbf{D}_{(0)})}{\text{tr}(\mathbf{D}_{(t+1)})} \mathbf{D}_{(t+1)}.$$
6. Calcula $\mathbf{G}_{(t+1)} = \mathbf{ZD}_{(t+1)}\mathbf{Z}'\lambda$.
7. $t = t + 1$.
8. Sai ou volta para o passo 3.

Dessa forma, a matriz G foi recalculada para a predição dos efeitos dos SNPs a cada iteração, enquanto o \hat{a}_g foi obtido uma única vez, não sendo alterado durante as iterações. Três iterações foram realizadas no total.

Os programas da família BLUPF90 (MISZTAL, 2012) foram utilizados para as análises de WssGBLUP. A análise para P16 foi executada por abordagem Bayesiana e consistiu em uma única cadeia de 300.000 ciclos, com um *burn-in* conservativo de 30.000 ciclos. O período de descarte amostral foi de 30, assim 9.000 amostras foram efetivamente utilizadas.

Os resultados das análises de GWAS foram apresentados com base na proporção da variância explicada por janelas de 150 SNPs adjacentes. Foram identificadas as 10 janelas que capturaram a maior proporção da variância explicada pelos marcadores para ambas as características. Para a P16, estas janelas variaram de 0,58 (cromossomo 27) a 3,02 Mb (cromossomo 21), tendo em média 1,04 Mb, enquanto que para o PE, variaram de 0,52 (cromossomo 19) a 1,91 Mb (cromossomo 13) com média de 0,93 Mb.

Para a identificação dos genes foi utilizada a ferramenta Map Viewer do genoma bovino disponível no NCBI, utilizando o mapa de referência UMD 3.1 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9913&build=104.0). Foram considerados somente os genes que estavam dentro das janelas de 150 SNPs. Foi realizada pesquisa manual para conhecimento da função metabólica dos genes identificados, afim de entender a ação desses genes sobre as características estudadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Assim como nos estudos de simulação de Wang et al. (2012) e Melo (2015), com a recomputação dos pesos dos SNPs a cada iteração, e subsequente recálculo dos efeitos dos marcadores, os SNPs de menor efeito tiveram seus efeitos reduzidos, com efeitos mais próximos de zero, enquanto que os de maior efeito tornaram-se ainda maiores (resultados não apresentados). Contudo, a terceira iteração mostrou maior número de picos em diferentes cromossomos. As janelas

que capturaram a maior proporção da variância explicada pelos marcadores, obtidas na segunda iteração, podem ser observadas na Figura 1, onde o Manhattan Plot é apresentado para ambas as características P16 e PE.

De acordo com Wang et al. (2012), a segunda iteração foi a que possibilitou maior acurácia de estimação dos efeitos dos SNPs com o WssGBLUP. Segundo os autores, na segunda iteração ocorreu uma combinação de ponderadores que minimizaram as estimativas de erros e refletiram a realidade de que SNPs adjacentes a um QTL contribuíram para a estimativa daquele QTL. Melo (2015) relatou que, para o WssGBLUP utilizando dados simulados, das três iterações analisadas, a segunda iteração foi melhor por detectar mais precisamente os QTL, sendo que na terceira iteração, sinais falso positivos podem ter sido capturados pelos marcadores.

As proporções das variâncias explicadas pelas janelas (Figura 1) indicam o caráter poligênico das características P16 e PE, isto é, as características indicadoras de precocidade sexual estudadas neste trabalho são, provavelmente, controladas por grande número de genes, com alguns de efeito moderado. As 10 janelas de maior efeito obtidas para a P16 estão localizadas nos cromossomos 5, 6, 7, 14, 18, 21 e 27 e somadas explicaram 7,91% da variância genética total. O cromossomo 21 apresentou as duas janelas de maior efeito para P16, explicando 2,31% da variância total. Os genes conhecidos, encontrados nestas janelas estão apresentados na Tabela 2.

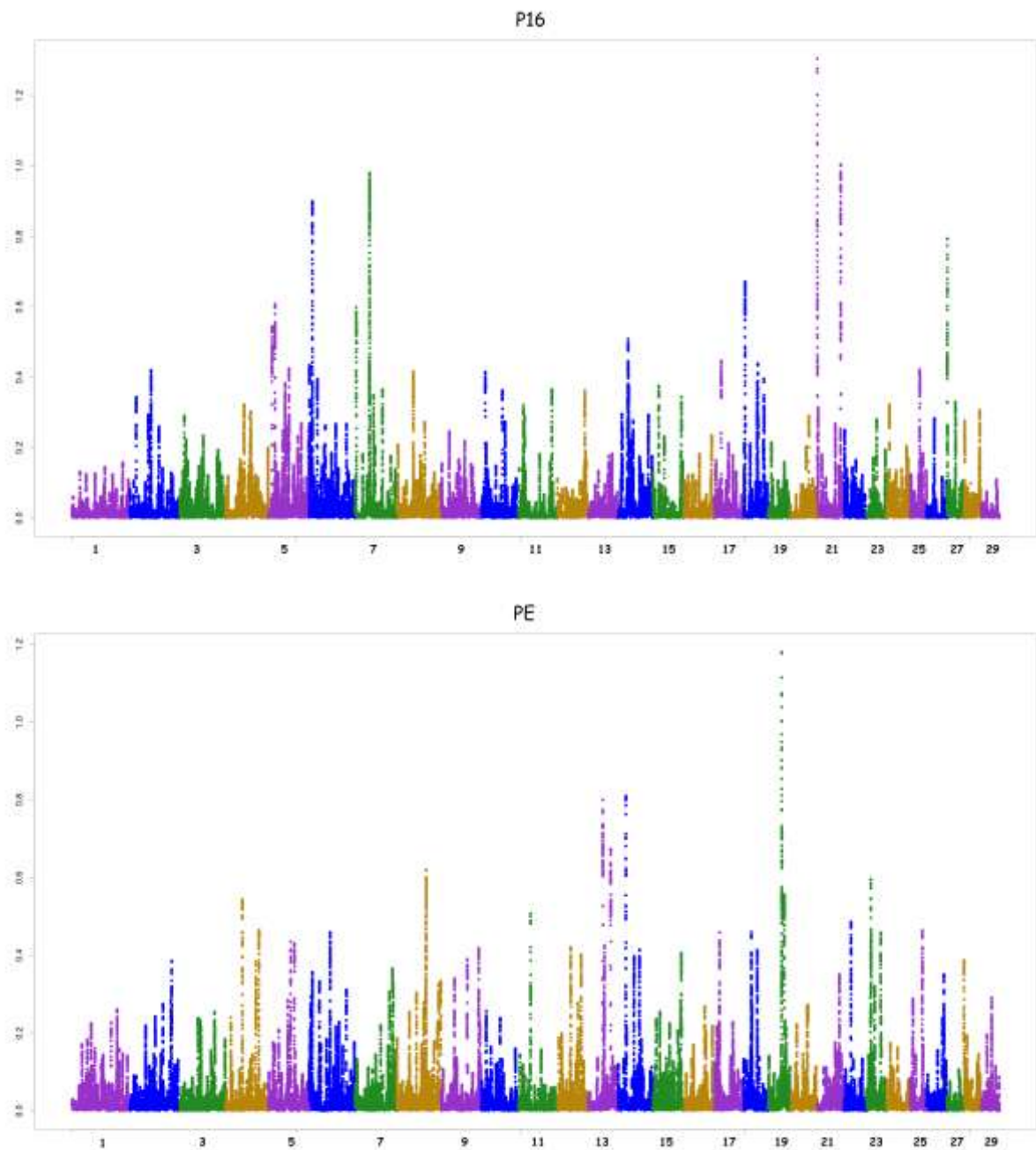


Figura 1. Manhattan Plot para ocorrência de prenhez precoce (P16) e perímetro escrotal (PE) em bovinos da raça Nelore. O eixo y representa a proporção da variância explicada pelas janelas de 150 SNPs e o número dos cromossomos está indicado no eixo x.

Foram encontradas, no presente estudo, janelas associadas à característica P16 que também foram previamente associadas às características idade ao primeiro

parto (Chr05/16,06-17,12Mb e Chr07/41,29-42,03Mb) e reconcepção de novilhas (Chr14/22,61-23,40Mb), por Melo (2015), utilizando dados reais (mesmo banco de dados e critério metodológico deste estudo). Estes resultados coincidentes já eram esperados uma vez que tanto P16 como idade ao primeiro parto são características indicadoras de precocidade sexual de fêmeas e apresentam correlação genética favorável (ELER et al., 2014).

Tabela 2. Identificação dos genes, com base nas 10 janelas de 150 SNPs que explicaram a maior variância genética, para a característica ocorrência de prenhez precoce em bovinos da raça Nelore.

Chr	Posição (pb)	Genes	Var (%)
5	8885458-10124194	<i>LOC104972336, LOC104972335, SYT1, LOC104972334, PAWR, LOC104972337, LOC104972338, PPP1R12A, OTOGL, LOC616702, LOC100139469, LOC104972340, LOC104972339, LOC100849027, PTPRQ</i>	0,54
	16060262-17119004	<i>MGAT4C, LOC101906434, LOC781871</i>	0,61
6	10646200-11661005	<i>LOC781502, LOC101907884, LOC104972659, NDST4</i>	0,90
	3116169-3849099	<i>LOC104969038, PRSS38, LOC100138519, LOC784059, SNAP47, JMJD4, ZNF354B, VN2R401P, VN2R402P, VN2R403P, LOC104969039, LOC100295355, ATP13A1, GMIP, LPAR2, PBX4, LOC104969040, CILP2, YJEFN3, NDUFA13, TSSK6, GATAD2A</i>	0,60
7	41289319-42032123	<i>MGAT1, LOC104969159, ZFP62, LOC618125, LOC614895, LOC104972830, LOC530231, OR2V1, LOC100299289, LOC101902906,</i>	0,98

		LOC104972831, BTNL9, OR2V2, LOC508420, LOC104969160, TRNAL- AAG, TRNAT-UGU, TRIM7, TRNAA-UGC, TRNAK-CUU, TRNAV-AAC, TRNAV-CAC, TRIM41, GNB2L1, TRIM52, LOC509006, IFI47, ZNF496, NLRP3	
14	22610144-23399257	LOC104974016, PCMTD1, LOC101906226, LOC104974020, ST18, LOC100141260, LOC101906592, FAM150A, RB1CC1, LOC104974017, NPBWR1, OPRK1	0,51
18	4263730-4907873	LOC104974747, LOC101905587, MON1B, LOC104974727, SYCE1L, ADAMTS18, LOC104974729, LOC104974728	0,67
21	8725-3028689	SNRPN, SNURF, NDN, MAGEL2, MKRN3, LOC789575, LOC100336464, LOC101908683, LOC101904983, LOC789520, LOC104968504, LOC101905258, LOC101905210, LOC619073, LOC789547, LOC101905329, LOC104975302, LOC100139608, LOC615561, LOC101906493, LOC101905769, LOC101909016, LOC101902420, LOC101906577, LOC101909328, LOC100848941, LOC101907203, UBE3A, LOC100140958, ATP10A	1,31
	61928582-62528341	SYNE3, LOC100847284, GLRX5, LOC104975438, TCL1B, TCL1A, TUNAR, C21H14orf132	1,00
27	992755-1574730	CSMD1, LOC104976023	0,79

Chr: cromossomo; Var: variância genética aditiva explicada pela janela.

Dentre os genes dessas regiões, alguns se destacam por atuarem como receptores olfativos, como os genes da janela Chr07/41,29-42,03Mb (*LOC618125*, *LOC614895*, *LOC530231*, *OR2V1*, *LOC100299289*, *OR2V2* e *LOC508420*), além do *LOC100139608* situado na janela Chr21/0,01-3,02Mb. Existe uma explicação fisiológica para estes genes estarem associados à P16, pois receptores olfativos podem atuar nas células germinativas que são as precursoras dos gametas (DIEDRICHS et al., 2012), afetando sua produção e, conseqüentemente, a reprodução. Eles também estão presentes nos próprios gametas, agindo na quimiotaxia entre espermatozoide e óvulo a fim de promover a fecundação de gametas cujos alelos dos genes do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) sejam os mais diferentes possíveis (ZIEGLER et al., 2010), garantindo a possibilidade de sucesso na fecundação.

Alguns genes presentes nesta janela do cromossomo 7 já haviam sido identificados em estudos de assinatura de seleção com diversas raças bovinas, como o gene *MGAT1* (QANBARI et al., 2011), que possui função na produção de gametas (SHI et al., 2004), ou detectados em estudos de mapeamento fino, como o gene *ZNF496*, associado à fertilidade de bovinos leiteiros (GOLIK et al., 2011). Um grupo de genes identificado em outra janela do cromossomo 7 (Chr07/3,12-3,85Mb) atua como receptores vomeronasais (*VN2R401P*, *VN2R402P* e *VN2R403P*). Presentes no órgão vomeronasal em mamíferos, eles possuem como função detectar feromônios ligados à reprodução e escolha dos parceiros sexuais (STOWERS; KUO, 2015), garantindo a imunidade da futura prole.

A região Chr21/0,01-3,02Mb está sob efeito epigenético da metilação e engloba os genes *SNRPN*, *SNURF*, *NDN*, *MAGEL2* e *UBE3A*. Esses genes têm função conhecida na implantação de embriões de diversas espécies. Assim, a não implantação de embriões pode ser causada por erros na organização do *imprinting* desses genes ou pelo fato deles serem diferencialmente expressos durante o processo de implantação (O'DOHERTY et al., 2012). Além disso, o gene *MAGEL2* também já foi relatado como essencial para o desenvolvimento da placenta de suínos (JIANG et al., 2014) e associado com a característica PE em bovinos Nelore (UTSUNOMIYA et al., 2014).

Outros genes ainda destacam-se por papel biológico ou por serem expressos em tecidos alvo para a reprodução. O gene *PAWR* (Chr05/8,89-10,12Mb) tem sua expressão alterada no folículo pré-ovulatório de bubalinos (RAO et al., 2011) e o gene *LPAR2* (Chr07/3,12-3,85Mb) é importante para o desenvolvimento da prenhez de bovinos com efeito sobre o corpo lúteo (KOWALCZYK-ZIEBA et al., 2012). Os genes *GNB2L1* (Chr07/41,29-42,03Mb) e *MON1B* (Chr18/4,26-4,91Mb) atuam no desenvolvimento do embrião podendo estar diretamente associados com taxa de prenhez em fêmeas e manutenção do conceito em estágio inicial (COCHRAN et al., 2013; JIANG et al., 2014). O gene *LOC101905587 (TIMP1)*, também localizado no cromossomo 18, participa do desenvolvimento folicular em bovinos (HAYASHI et al., 2010), bem como do remodelamento do endométrio (MITKO et al., 2008). Ainda, há o gene *RB1CC1* (Chr14/22,61-23,40Mb) que participa da meiose e está associado à falha ovariana prematura em mulheres (LEDIG et al., 2010).

A janela encontrada no cromossomo 14 encontra-se situada entre as regiões 20 e 30 Mb. Alguns estudos encontraram SNPs nestas regiões associados com diversas características em diferentes raças bovinas: idade à puberdade em machos e fêmeas, intervalo de anestro pós-parto, facilidade de parto, altura de garupa, estatura, tamanho corporal, taxa de natimorto, níveis de hormônio de crescimento (IGF-I), peso e deposição de gordura (BOLORMAA et al., 2011a; BOLORMAA et al., 2011b; KARIM et al., 2011; PAUSCH et al., 2011; FORTES et al., 2012; HAWKEN et al., 2012; FORTES et al., 2013).

Ainda em outros estudos com bovinos, para características reprodutivas, foram detectadas regiões que também foram encontradas neste trabalho, como as regiões Chr05/8,89-10,12Mb (FORTES et al., 2014; HÖGLUND et al., 2014; SAATCHI et al., 2014), Chr07/3,12-3,85Mb e Chr07/41,29-42,03Mb (HÖGLUND et al., 2014), Chr21/0,01-3,02Mb (HÖGLUND et al., 2014; SAATCHI et al., 2014). Com isso, é possível reforçar que existem regiões em comum de grande influência para características reprodutivas entre as raças bovinas.

Para o PE, as janelas de maior efeito estão localizadas nos cromossomos 4, 8, 11, 13, 14, 19, 22 e 23, explicando 6,78% da variância genética total. Na Tabela 3 estão apresentados os genes encontrados para a característica PE. Dentre os genes

para esta característica, o *OVOL2* (Chr13/37,83-38,93Mb) destaca-se por ser altamente expresso nos testículos, na espermatogênese, e também nos ovários, em níveis mais baixos, em ratos (UNEZAKI et al., 2004). Chalmel et al. (2012) encontraram expressão deste gene na função regulatória das células germinativas masculinas em humanos.

Tabela 3. Identificação dos genes, com base nas 10 janelas de 150 SNPs que explicaram a maior variância genética, para a característica perímetro escrotal em bovinos da raça Nelore.

Chr	Posição (pb)	Genes	Var (%)
4	48976782-49824079	<i>SLC26A4, LOC104972047, CBLL1, SLC26A3, TRNASTOP-UCA, DLD, LOC101906258, LAMB1, MIR2418, NRCAM, LOC104972048</i>	0,54
8	73907982-75004202	<i>TRNASTOP-CUA, EBF2, MIR2898, MIR2404-2, LOC101907345, TRNAW-CCA, LOC104969415, TRNAG-CCC, PPP2R2A, LOC104969416, BNIP3L</i>	0,62
11	29596527-30373422	<i>EPCAM, MSH2, KCNK12, TRNAG-UCC, LOC104973335, LOC786908, LOC104973336, MSH6, FBXO11, LOC100300972, LOC104933337</i>	0,51
13	37826545-38932531	<i>PCSK2, LOC104973771, SLC6A9, LOC101904180, LOC104973772, LOC100335935, BFSP1, DSTN, RRBP1, BANF2, LOC104973773, LOC104973774, SNX5, MGME1, OVOL2, LOC104973775, CSRP2BP, ZNF133, LOC101904281, LOC101906934, LOC539166, DZANK1, POLR3F, SEC23B, LOC100295268, DTD1</i>	0,80
	63267570-65181056	<i>BPIFB1, BPIFB5, CDK5RAP1, SNTA1,</i>	0,67

		<p><i>CBFA2T2, NECAB3, C13H20orf144, ACTL10, E2F1, PXMP4, ZNF341, CHMP4B, RALY, EIF2S2, ASIP, AHCY, ITCH, DYNLRB1, MAP1LC3A, PIGU, TP53INP2, NCOA6, GGT7, ACSS2, GSS, MYH7B, TRPC4AP, EDEM2, PROCR, MMP24</i></p>	
14	17826493-18510261	<p><i>KLHL38, LOC614414, LOC100848930, FBXO32, WDYHV1, ATAD2, ZHX1, C14H8orf76, FAM83A, TRNAM-CAU, LOC104974006, TBC1D31, DERL1</i></p>	0,81
19	36909118-37520214	<p><i>LOC104975061, LRRC59, EME1, MRPL27, XYLT2, TMEM92, LOC104975062, LOC618012, COL1A1, HILS1, SGCA, PPP1R9B, PDK2, ITGA3, DLX3, DLX4, LOC100196902, LOC104975063, LOC104975067, LOC104975066, LOC104975065, LOC104975064, TAC4, KAT7, LOC101902801, FAM117A</i></p>	1,18
	48689556-49207130	<p><i>DDX42, FTSJ3, PSMC5, SMARCD2, TCAM1, GH1, CD79B, SCN4A, PRR29, ICAM2, LOC506088, LOC616254, LOC100140873, TRNAG-UCC, TEX2, LOC104975109, LOC101902037, LOC104975110, PECAM1</i></p>	0,56
22	16978077-17986079	<p><i>TADA3, LOC104975513, CAMK1, OGG1, BRPF1, CPNE9, MTMR14, LOC101907007, LHFPL4, SETD5, THUMPD3, LOC104975514, SRGAP3, LOC104975515, RAD18, CAV3, OXTR, SSUH2, LMCD1</i></p>	0.49

		<i>LOC104969558, LOC104969567,</i>	
		<i>LOC104969575, LOC100847495,</i>	
23	14017403-14741325	<i>LOC104969576, LRFN2, LOC101907037,</i>	0,60
		<i>TRNAI-UAU</i>	

Chr: cromossomo; Var: variância genética aditiva explicada pela janela.

Vários outros genes relacionados ao crescimento e desenvolvimento testicular foram identificados. Muitos participam também diretamente da espermatogênese, como o gene *HILS1*, que remodela a cromatina durante a produção de gametas (YAN et al., 2003), os genes *KAT7* e o *ICAM2*, presentes nas células de Sertoli (VIJA et al., 2013; XIAO et al., 2013), o *TCAM1* que é expresso nos espermatócitos (KURIHARA et al., 2014), o *SLC26A3*, essencial para a capacitação espermática (CHAN; SUN, 2014), e o *RAD18*, essencial para a manutenção genômica no processo de produção de espermatozoides (SUN et al., 2009).

Ainda se destacam os genes *FBXO32* (Chr14/17,83-18,51Mb) e *EBF2* (Chr08/73,91-75Mb) relacionados à infertilidade e hipogonadismo em homens (TRARBACH et al., 2005; BONACHE et al., 2014), respectivamente, e também o gene *GH1* (Chr19/48,69-49,21Mb) associado com características seminais e de comportamento sexual em bovinos (PAL et al., 2014).

A janela do cromossomo 14 associada à PE neste estudo também foi encontrada por Utsunomiya et al. (2014), em estudo com a mesma raça e mesma característica, e por Fortes et al. (2012), em estudo com touros Brahman para a característica idade do animal com 26 cm de perímetro escrotal. Todavia, muitas regiões de efeito maior apresentadas no presente estudo foram diferentes das encontradas por Utsunomiya et al. (2014). Pode-se explicar tal fato pelo uso de diferentes metodologias e critérios de controle de qualidade dos SNPs, bem como da constituição genética da população e número de animais utilizados no estudo.

Entre as duas janelas observadas neste trabalho no cromossomo 19, mais próximo da janela Chr19/36,91-37,52Mb, Fortes et al. (2012) encontraram o gene *IGFBP4*, associado com idade à puberdade em bovinos da raça Brahman. Este

mesmo gene foi associado anteriormente às características concepção de novilhas e anestro pós-parto (LUNA-NEVAREZ et al., 2011; HAWKEN et al., 2012). Druet et al. (2008) encontraram no cromossomo 23, na mesma região observada neste trabalho, dois QTL afetando as características porcentagem de espermatozoides vivos com membrana citoplasmática intacta e concentração de esperma. Costa (2013), trabalhando com as características idade ao primeiro parto e reconcepção de novilhas, encontrou duas regiões associadas a estas características, nos cromossomos 8 e 13, respectivamente, próximas às regiões associadas a PE neste trabalho.

Cabe ressaltar que a região aqui apresentada do cromossomo 14 associada com P16, é, em parte, reportada em estudo com bovinos da raça Nelore para maciez de carne (MAGALHÃES, 2015), e a região do cromossomo 13 associada a PE, foi anteriormente associada à espessura de gordura, também em bovinos da raça Nelore (FERNANDES JÚNIOR, 2015). Isso indica, possivelmente, que essas regiões tenham efeito pleiotrópico, visto sua associação agora às características indicadoras de precocidade sexual.

As janelas com maior efeito encontradas para as duas características não foram coincidentes, apesar da existência de correlação genética moderada para essas características em bovinos da raça Nelore (SANTANA JR et al., 2015). Esse fato também foi observado por Camargo et al. (2015), em estudo de mutações causais, em que SNPs altamente significativos para características andrológicas não foram significativos para características reprodutivas em fêmeas. Com isso, é possível sugerir que a correlação genética entre as características reprodutivas de machos e fêmeas se deve a genes de efeito menor que contribuem para ambas e/ou a genes de maior influência em uma característica e menor na outra. Ainda pode ocorrer ligação cromossômica, pois como se observa nas janelas reportadas acima, há genes nas janelas associadas à PE que exercem função na reprodução de fêmeas (*ITGA3* – ZHAO et al., 2010; *DLX3* – DEGRELLE et al., 2011; *FAM117A* – DROUILHET et al., 2009; *DERL1* – NDIAYE et al., 2010; *E2F1* – GIRARD et al., 2015; *MAP1LC3A* – BANG et al., 2014; *LRFN2* – COLE et al., 2011), e também

genes nas janelas associadas à P16 que apresentam funções na fertilidade de machos (TSSK6 – BISSONNETTE et al., 2009).

4. CONCLUSÕES

Com as análises de GWAS foi possível identificar regiões cromossômicas associadas com ocorrência de prenhez precoce e perímetro escrotal. A identificação dessas regiões possibilita o melhor entendimento e avaliação destas características, além de indicar genes candidatos para estudos futuros de investigação de mutações causais.

5. REFERÊNCIAS

AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 743-752, 2010.

BANG, S.; SHIN, H.; SONG, H.; SUH, C. S.; LIM, H. J. Autophagic activation in vitrified-warmed mouse oocytes. **Reproduction**, v. 148, p. 11-19, 2014.

BISSONNETTE, N.; LÉVESQUE-SERGERIE, J. P.; THIBAULT, C.; BOISSONNEAULT, G. Spermatozoal transcriptome profiling for bull sperm motility: a potential tool to evaluate semen quality. **Reproduction**, v. 138, p. 65-80, 2009.

BOLORMAA, S.; HAYES, B. J.; SAVIN, K.; HAWKEN, R.; BARENDSE, W.; ARTHUR, P. F.; HERD, R. M.; GODDARD, M. E. Genome-wide association studies for feedlot and growth traits in cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p. 1684-1697, 2011a.

BOLORMAA, S.; NETO, L. R. P.; ZHANG, Y. D.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; GODDARD, M. E.; BARENDSE, W. A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p. 2297-2309, 2011b.

BONACHE, S.; ALGABA, F.; FRANCO, E.; BASSAS, L.; LARRIBA, S. Altered gene expression signature of early stages of the germ line supports the pre-meiotic origin of human spermatogenic failure. **Andrology**, v. 2, n. 4, p. 596-606, 2014.

BOSCH, M. A.; HOU, J.; FANG, Y.; KELLY, M. J.; RONNEKLEIV, O. K. Beta-estradiol regulation of the mRNA expression of T-type calcium channel subunits: role of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta. **Journal of Comparative Neurology**, v. 512, p. 347-358, 2009.

BRUMATTI, R. C.; FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P.; FORMIGONNI, I. B. Desenvolvimento de índice de seleção em gado corte sob o enfoque de um modelo bioeconômico. **Arquivo Zootécnico**, v. 60, n. 230, p. 205-213, 2011.

CAMARGO, G. M. F.; PORTO-NETO, L. R.; KELLY, M. J.; BUNCH, R. J.; MCWILLIAM, S. M.; TONHATI, H.; LEHNERT, S. A.; FORTES, M. R. S.; MOORE, S. S. Non-synonymous mutations mapped to chromosome X associated with andrological and growth traits in beef cattle. **BMC Genetics**, v. 16, 2015. Disponível em: <DOI 10.1186/s12864-015-1595-0>.

CHALMEL, F.; LARDENOIS, A.; EVRARD, B.; MATHIEU, R.; FEIG, C.; DEMOUGIN, P.; GATTIKER, A.; SCHULZE, W.; JÉGOU, B.; KIRCHHOFF, C.; PRIMIG, M. Global human tissue profiling and protein network analysis reveals distinct levels of transcriptional germline-specificity and identifies target genes for male infertility. **Human Reproduction**, v. 27, n. 11, p. 3233-3248, 2012.

CHAN, H. C.; SUN, X. *SLC26* anion exchangers in uterine epithelial cells and spermatozoa: clues from the past and hints to the future. **Cell Biology International**, v. 38, p. 1-7, 2014.

COCHRAN, S. D.; COLE, J. B.; NULL, D. J.; HANSEN, P. J. Discovery of single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with fertility and production traits in Holstein cattle. **BMC Genetics**, v. 14, 2013. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2156/14/49>>.

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. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/408>>.

COSTA, R. B. **Associação e seleção genômica para características relacionadas à eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Nelore**. 2013. 71f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias V á , U E P “Jú M F h”, J b b , 2013.

CUNDIFF, L. V. Beef cattle: breeds and genetics. In: POND, W.G.; BELL, A. W. (Ed.). **Encyclopedia of Animal Science**. Ithaca: Cornell University, 2004. 800 p.

DEGRELLE, S. A.; MURTHI, P.; EVAÏN-BRION, D.; FOURNIER, T.; HUE, I. Expression and localization of *DLX3*, *PPARG* and *SP1* in bovine trophoblast during binucleated cell differentiation. **Placenta**, v. 32, p. 917-920, 2011.

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.

DROUILHET, L.; LECERF, F.; BODIN, L.; FABRE, S.; MULSANT, P. Fine mapping of the *FecL* locus influencing prolificacy in Lacaune sheep. **Animal Genetics**, v. 40, n. 6, p. 804-812, 2009.

DRUET, T.; FRITZ, S.; SELLEM, E.; BASSO, B.; GÉRARD, O.; SALAS-CORTES, L.; HUMBLLOT, P.; DRUART, X.; 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, p. 269-277, 2009.

ELER, J. P.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S.; SANTANA JR, M. L. Genetic relationships among traits related to reproduction and growth of Nelore females. **Theriogenology**, v. 82, p. 708-714, 2014.

FERNANDES JÚNIOR, G. A. Seleção genômica para características de carcaça em bovinos da raça Nelore. 2015. 71f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

FORTES, M. R. S.; LEHNERT, S. A.; BOLORMAA, S.; REICH, C.; FORDYCE, G.; CORBET, N. J.; WHAN, V.; HAWKEN, R. J.; REVERTER, A. Finding genes for economically important traits: Brahman cattle puberty. **Animal Production Science**, v. 52, p. 143-150, 2012.

FORTES, M. R. S.; KEMPER, K.; SASAZAKI, S.; REVERTER, A.; PRYCE, J. E.; BARENDSE, W.; BUNCH, R.; MCCULLOCH, R.; HARRISON, B.; BOLORMAA, S.; ZHANG, Y. D.; HAWKEN, R. J.; GODDARD, M. E.; LEHNERT, S. A. Evidence for pleiotropism and recent selection in the *PLAG1* region in Australian Beef cattle. **Animal Genetics**, v. 44, p. 636-647, 2013.

FORTES, M. R. S.; SUHAIMI, A. H. M. S.; PORTO-NETO, L. R.; MCWILLIAM, S. M.; FLATSCHER-BADER, T.; MOORE, S. S.; D’OCCHIO, M. J.; MEIRA, C. T.; THOMAS, M. G.; SNELLING, W. M.; REVERTER, A.; LEHNERT, S. A. Post-partum anoestrus in tropical beef cattle: A systems approach combining gene expression and genome-wide association results. **Livestock Science**, v. 166, p. 158-166, 2014.

GIANOLA, D.; FOULLEY, J. L. Sire evaluation for ordered categorical data with a threshold model. **Genetics Selection Evolution**, v. 15, n. 2, p. 201-224, 1983.

GIRARD, A.; DUFORT, I.; DOUVILLE, G.; SIRARD, M. A. Global gene expression in granulosa cells of growing, plateau and atretic dominant follicles in cattle. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 13, 2015. Disponível em: <10.1186/s12958-015-0010-7>.

GOLIK, M.; GLICK, G.; REICHER, S.; SHIRAK, A.; EZRA, E.; ZERON, Y.; GOOTWINE, E.; RON, M.; WELLER, J. I.; SEROUSSI, E. Differential expression of ruminant *ZNF496* variants: Association with quantitative trait locus affecting bovine milk concentration and fertility. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 2092-2102, 2011.

HAWKEN, R. J.; ZHANG, Y. D.; FORTES, M. R. S.; COLLIS, E.; BARRIS, W. C.; CORBET, N. J.; WILLIAMS, P. J.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R. G.; WALKLEY, J. R. W.; 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, p. 1398-1410, 2012.

HAYASHI, K. G.; USHIZAWA, K.; HOSOE, M.; TAKAHASHI, T. Differential genome-wide gene expression profiling of bovine largest and second-largest follicles: identification of genes associated with growth of dominant follicles. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 8, n. 11, 2010. Disponível em: <<http://www.rbej.com/content/8/1/11>>.

HAYES, B. J.; BOWMAN, P. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; GODDARD, M. E. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 433-443, 2009.

HIRSCHHORN, J. N.; DALY, M. J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, p. 95-108, 2005.

HÖGLUND, J. K.; SAHANA, G.; GULDBRANDTSEN, B.; LUND, M. S. Validation of associations for female fertility traits in Nordic Holstein, Nordic Red and Jersey dairy cattle. **BMC Genetics**, v. 15, n. 8, 2014. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2156/15/8>>.

JIANG, C.; YANG, Y.; HUANG, C.; WHITELAW, B. Promoter characterization and functional association with placenta of porcine *MAGEL2*. **Gene**, v. 547, p. 63-69, 2014.

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

KOWALCZYK-ZIEBA, I.; BORUSZEWSKA, D.; SAULNIER-BLACHE, J. S.; LOPES DA COSTA, L.; JANKOWSKA, K.; SKARZYNSKI, D. J.; WOCLAWEK-POTOCKA, I. Lysophosphatidic acid action in the bovine corpus luteum – An in vitro study. **Journal of Reproduction and Development**, v. 58, n. 6, p. 661-671, 2012.

KURIHARA, M.; SHIRAISHI, A.; SATAKE, H.; KIMURA, A. P. A conserved noncoding sequence can function as a spermatocyte-specific enhancer and a bidirectional promoter for a ubiquitously expressed gene and a testis-specific long noncoding RNA. **Journal of Molecular Biology**, v. 426, p. 3069-3093, 2014.

LANNA, D. P.; DELGADO, E. F. Eficiência biológica e econômica de bovinos de corte. In: Convenção Nacional da Raça Canchim. 4., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: EMBRAPA – CPPSE, ABCCAN, 2000.

LEDIG, S.; RÖPKE, A.; WIEACKER, P. Copy number variants in premature ovarian failure and ovarian dysgenesis. **Sexual Development**, v. 4, p. 225-232, 2010.

LUNA-NEVAREZ, P.; RINCON, G.; MEDRANO, J. F.; RILEY, D. G.; CHASE, C. C. JR.; COLEMAN, S. W.; VANLEEUEWEN, D. M.; DEATLEY, K. L.; ISLAS-TREJO, A.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone-insulin-like growth factor axis in straightbred and crossbred Angus, Brahman, and Romosinuano heifers: population genetic analyses and association of genotypes with reproductive phenotypes. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 926-934, 2011.

MAGALHÃES, A. F. B. Utilização de informações genômicas para o melhoramento genético de características da carne em bovinos da raça Nelore. 2015. 59f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UEP “Jú M F h”, J b b , 2015.

MCDANELD, T. G.; KUEHN, L. A.; THOMAS, M. G.; SNELLING, W. M.; SMITH, T. P. L.; POLLAK, E. J.; COLE, J. B.; KEELE, J. W. Genomewide association study of reproductive efficiency in female cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 1945-1957, 2014.

MELO, T. P. **Genome-wide association study of reproduction traits in Nelore cattle, including additional phenotypic information from non-genotyped animals**. 2015. 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrária V á , U E P “Jú M F h”, J b b , 2015.

MISZTAL, I.; LEGARRA, A.; AGUILAR, I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4648-4655, 2009.

MISZTAL, I. **BLUPF90 – a flexible mixed model program in Fortran 90**. Manual. Animal and Dairy Science, University of Georgia, Athens, GA, USA. 2012, 25p. Disponível em: <<http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blup90.pdf>>.

MITKO, K.; ULBRICH, S. E.; WENIGERKIND, H.; SINOWATZ, F.; BLUM, H.; WOLF, E.; BAUERSACHS, S. Dynamic changes in messenger RNA profiles of bovine endometrium during the oestrous cycle. **Reproduction**, v. 135, p. 225-240, 2008.

NDIAYE, K.; LUSSIER, J. G.; PATE, J. L. Molecular characterization and expression of DERL1 in bovine ovarian follicles and corpora lutea. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 8, 2010. Disponível em: <<http://www.rbej.com/content/8/1/94>>.

O'DOHERTY, A. M.; O'SHEA, L. C.; FAIR, T. Bovine DNA methylation imprints are established in an oocyte size-specific manner, which are coordinated with the expression of the DNMT3 family proteins. **Biology of Reproduction**, v. 86, n. 3, 2012. Disponível em: <10.1095/biolreprod.111.094946>.

PAL, A.; CHAKRAVARTY, A. K.; CHATTERJEE, P. N. Polymorphism of growth hormone gene and its association with seminal and sexual behavioral traits in crossbred cattle. **Theriogenology**, v. 81, p. 474-480, 2014.

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

PETERS, S. O.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; REECY, J. M.; WEABER, R. L.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3398-3409, 2012.

PETERS, S. O.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; REECY, J. M.; WEABER, R. L.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Heritability and Bayesian genome-wide association study of first service conception and pregnancy in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 605-612, 2013.

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, 2011. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/318>>.

RAO, J. U.; SHAH, K. B.; PUTTAIAH, J.; RUDRAIAH, M. Gene expression profiling of preovulatory follicle in the Buffalo cow: Effects of increased IGF-I concentration on periovulatory events. **PLoS One**, v. 6, n. 6, 2011. Disponível em: <10.1371/journal.pone.0020754>.

SAATCHI, M.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; GARRICK, D. J. Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate within and across ten US cattle breeds. **BMC Genomics**, v. 15, 2014. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/15/442>>.

SANTANA JR, M. L.; ELER, J. P.; CUCCO, D. C.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S. Genetic associations between hip height, body conformation scores, and pregnancy probability at 14 months in Nelore cattle. **Livestock Science**, v. 154, p. 13-18, 2013.

SANTANA JR, M. L.; ELER, J. P.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S. Two-trait random regression model to estimate the genetic association of scrotal circumference with female reproductive performance in Nelore cattle. **Theriogenology**, v. 83, p. 1534-1540, 2015.

- SARTORI, R.; BASTOS, M. R.; BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; ERENO, R. L.; BARROS, C. M. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Society of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 67, p. 357-375, 2010.
- SHI, S.; WILLIAMS, S. A.; SEPPO, A.; KURNIAWAN, H.; CHEN, W.; YE, Z.; MARTH, J. D.; STANLEY, P. Inactivation of the *Mgat1* gene in oocytes impairs oogenesis, but embryos lacking complex and hybrid N-Glycans develop and implant. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 22, p. 9920-9929, 2004.
- SILVA, M. R.; PEDROSA, V. B.; SILVA, J. C. B.; ELER, J. P.; GUIMARÃES, J. D.; ALBUQUERQUE, L. G. Testicular traits as selection criteria for Young Nellore bulls. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 2061-2067, 2011.
- STOWERS, L.; KUO, T. H. Mammalian pheromones: emerging properties and mechanisms of detection. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 34, p. 103-109, 2015.
- SUN, J.; YOMOGIDA, K.; SAKAO, S.; YAMAMOTO, H.; YOSHIDA, K.; WATANABE, K.; MORITA, T.; ARAKI, K.; YAMAMURA, K. I.; TATEISHI, S. Rad18 is required for long-term maintenance of spermatogenesis in mouse testes. **Mechanisms of Development**, v. 126, p. 173-183, 2009.
- TRARBACH, E. B.; BAPTISTA, M. T. M.; GARMES, H. M. Molecular analysis of *KAL-1*, *GnRH-R*, *NELF* and *EBF2* genes in a series of Kallmann syndrome and normosmic hypogonadotropic hypogonadism patients. **Journal of Endocrinology**, v. 187, p. 361-368, 2005.
- UNEZAKI, S.; NISHIZAWA, M.; OKUDA-ASHITAKA, E.; MASU, Y.; MUKAI, M.; KOBAYASHI, S.; SAWAMOTO, K.; OKANO, H.; ITO, S. Characterization of the isoforms of MOVO zinc finger protein, a mouse homologue of *Drosophila* Ovo, as transcription factors. **Genetics**, v. 336, p. 47-58, 2004.
- UTSUNOMIYA, Y. T.; CARMO, A. S.; NEVES, H. H. R.; CARVALHEIRO, R.; MATOS, M. C.; ZAVAREZ, L. B.; ITO, P. K. R. K.; O'BRIEN, A. M. P.; SÖLKNER, J.; PORTO NETO, L. R.; SCHENKEL, F. S.; MCEWAN, J.; COLE, J. B.; SILVA, M. V. G. B.; VAN TASSELL, C. P.; SONSTEGARD, T. S.; GARCIA, J. F. Genome-wide mapping of loci explaining variance in scrotal circumference in Nellore cattle. **PLoS One**, v. 9, n. 2, 2014. Disponível em: <10.1371/journal.pone.0088561>.
- 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, p. 3809-3813, 2010.
- VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4414-4423, 2008.

- VIJA, L.; MEDURI, G.; COMPERAT, E.; VASILIU, V.; IZARD, V.; FERLICOT, S.; BOUKARI, K.; CAMPARO, P.; VIENGCHAREUN, S.; CONSTANCIS, E.; DUMITRACHE, C.; LOMBÈS, M.; YOUNG, J. Expression and characterization of androgen receptor coregulators, *SRC-2* and *HBO1*, during human testis ontogenesis and in androgen signaling deficient patients. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 375, p. 140-148, 2013.
- WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; MUIR, W. M. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research**, v. 94, p. 73-83, 2012.
- XIAO, X.; CHENG, C. Y.; MRUK, D. D. Intercellular adhesion molecule-2 is involved in apical ectoplasmic specialization dynamics during spermatogenesis in the rat. **Journal of Endocrinology**, v. 216, n. 1, p. 73-86, 2013.
- YAN, W.; MA, L.; BURNS, K. H.; MATZUK, M. M. *HILS1* is a spermatid-specific linker histone H1-like protein implicated in chromatin remodeling during mammalian spermiogenesis. **PNAS**, v. 100, n. 18, p. 10546-10551, 2003.
- ZHANG, Z.; LIU, J.; DING, X.; BIJMA, P.; DE KONING, D. J.; ZHANG, Q. Best linear unbiased prediction of genomic breeding values using a trait-specific marker-derived relationship matrix. **PLoS One**, v. 5, n. 9, 2010. Disponível em: <doi:10.1371/journal.pone.0012648>.
- ZHAO, Y.; GARCIA, J.; KOLP, L.; CHEADLE, C. The impact of luteal phase support on gene expression of extracellular matrix protein and adhesion molecules in the human endometrium during the window of implantation following controlled ovarian stimulation with a GnRH antagonist protocol. **Fertility and Sterility**, v. 94, n. 6, p. 2264-2271, 2010.
- 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.

Capítulo 3 - Seleção genômica para características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore

RESUMO - Objetivou-se com este estudo avaliar modelos para a predição de valores genômicos visando à seleção de características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore. Para este estudo foram utilizados dados de animais da raça Nelore, provenientes de oito fazendas localizadas nas regiões centro-oeste, sudeste e nordeste do Brasil, que integram os programas de melhoramento genético da DeltaGen[®] e Paint[®] (CRV Lagoa). As características associadas à precocidade sexual utilizadas neste estudo foram a idade ao primeiro parto (IPP), a ocorrência de prenhez precoce de novilhas (P16) e o perímetro escrotal (PE). Após o controle de qualidade e consistência dos dados fenotípicos, permaneceram para as análises informações de 68.170, 72.675 e 83.911 animais com fenótipo e de 1.738, 1.770 e 1.680 animais genotipados para IPP, P16 e PE, respectivamente, e 412.993 SNPs. Os métodos foram comparados pela metodologia da validação cruzada, utilizando-se o *k-fold*, sendo considerados cinco grupos. Foram utilizadas duas metodologias para estimar os efeitos dos marcadores multi-step - *genomic best linear unbiased predictor* (GBLUP) e *improved Bayesian least absolute shrinkage and selection operator* (IBLASSO); além da metodologia single-step (ssGBLUP). O fenótipo observado foi utilizado como variável dependente para estimar o valor genômico (GEBV) usando o método single-step, enquanto que, o fenótipo corrigido (Yc), o valor genético (EBV) e o valor genético desregredido (dEBV) foram utilizados para os métodos multi-step. As acurácias de predição das metodologias multi-step foram comparadas considerando a correlação entre os GEBVs e as variáveis dependentes utilizadas nas análises, nas populações de validação. Para o método single-step, a correlação foi calculada entre os GEBVs e os Yc. O grau de inflação/deflação das predições genômicas foi obtido pelo coeficiente de regressão da variável dependente sobre o GEBV, para os animais do conjunto de validação. As estimativas de acurácia obtidas com os métodos multi-step variaram de 0,56 a 0,71 para IPP, de 0,53 a 0,66 para P16 e de 0,46 a 0,54 para PE. Embora, de forma geral, os métodos multi-step tenham apresentado resultados semelhantes para a maioria das características, o GBLUP gerou estimativas de GEBVs mais acuradas em algumas situações. Os resultados indicaram que o dEBV foi a melhor definição de variável dependente em relação ao EBV, pois permitiu melhor acurácia de predição para todas as características. Para a comparação entre os métodos single e multi-step, foram considerados os resultados obtidos com o método GBLUP, quando o Yc foi considerado como variável dependente. A metodologia ssGBLUP apresentou maior acurácia de predição para todas as características. A seleção genômica, por meio da utilização do método single-step, pode ser alternativa adequada para predizer os valores genômicos para características indicadoras de precocidade sexual.

Palavras-chave: acurácia de predição genômica, *Bos indicus*, características reprodutivas, single-step, valor genômico

GENOMIC SELECTION FOR INDICATOR TRAITS OF SEXUAL PRECOCITY IN NELLORE CATTLE

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate models to predict genomic breeding values in order to use selection on indicator traits of sexual precocity in Nellore cattle. For this study, data from Nellore animals belonging to eight farms located in the Midwest, Southeast and Northeast of Brazil, which integrate animal breeding programs of DeltaGen[®] e Paint[®] (CRV Lagoa), were used. Age at first calving (AFC), the occurrence of early pregnancy of heifers (EP) and scrotal circumference (SC) were used as traits associated with sexual precocity. After quality control and consistency of phenotypic data, information of 68,170; 72,675 and 83,911 animals with phenotype, and of 1,738; 1,770 and 1,680 genotypes for AFC, EP and SC, respectively, and 412,993 SNPs, remained for analysis. Methods were compared by cross validation methodology, using the k-fold with five groups being considered. Two multi-step methods were used to estimate the marker effects - genomic best linear unbiased prediction (GBLUP) and Improved Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (IBLASSO); besides the single-step method (ssGBLUP). Observed phenotype was used as the dependent variable to estimate the genomic value (GEBV) using single-step method, whereas corrected phenotype (Yc), estimated breeding value (EBV) and deregressed estimated breeding value (dEBV) were used for multi-step methods. The accuracies of prediction for multi-step procedures were compared considering the correlation between GEBVs and dependent variables used in the analysis, in the validation population. For single-step method, the correlation was calculated between GEBVs and Yc. The degree of inflation/deflation of genomic predictions was obtained by regression coefficient of variable dependent on the GEBV for the animals in validation set. Estimates of accuracy obtained with multi-step methods ranged from 0.56 to 0.71 for AFC, from 0.53 to 0.66 for EP and from 0.46 to 0.54 for SC. Although, generally, multi-step methods have presented similar results for most traits, GBLUP generated estimates of GEBVs more accurate in some situations. The results indicated that dEBV was the best definition of dependent variable compared to EBV, because it obtained better accuracy of prediction for all traits. To compare the methods single and multi-step, were considered the results obtained with the method GBLUP, when Yc was considered as a dependent variable. The ssGBLUP methodology presented higher accuracy of prediction for all traits. Genomic selection, using the single-step method may be a suitable alternative for predicting genomic values for indicator traits of sexual precocity.

Key-words: accuracy of genomic prediction, *Bos indicus*, genomic value, reproductive traits, single-step

1. INTRODUÇÃO

As características reprodutivas ou aquelas que são relacionadas à reprodução vêm recebendo cada vez mais atenção pelos pesquisadores e produtores, devido sua importância econômica em um sistema de produção de gado de corte (SANTANA JR et al., 2012). Dentre as características reprodutivas, as que indicam precocidade sexual, como a idade ao primeiro parto e ocorrência de prenhez precoce, mensuradas diretamente na fêmea, e perímetro escrotal, medido no macho, têm sido avaliadas em programas de melhoramento de gado de corte.

Existem algumas limitações para a seleção destas características, principalmente devido ao fato destas serem limitadas ao sexo e serem mensuradas tardiamente na vida do animal. No caso da prenhez precoce, o fenótipo é obtido somente após o primeiro parto, e para perímetro escrotal, por volta dos 18 meses de idade. Uma possível forma de diminuir o intervalo de gerações e ainda aumentar a acurácia de predição dos valores genéticos destas características é utilizando as informações genômicas por meio da seleção genômica (MEUWISSEN et al., 2001). Com a disponibilidade de novas técnicas, o genoma pôde ser explorado por meio dos marcadores SNP (*single nucleotide polymorphisms*) e a seleção genômica implantada para estimar os valores genômicos.

Apesar de várias metodologias terem sido propostas para predizer os valores genômicos, não há consenso sobre qual a melhor a ser utilizada para cada característica. O GBUP (*genomic best linear unbiased predictor* – MEUWISSEN et al., 2001) e os métodos Bayesianos, utilizando várias distribuições *a priori* para os efeitos dos SNPs (MEUWISSEN et al., 2001; XU, 2003; YI; XU, 2008), são exemplos destas metodologias. O método GBUP assume o modelo infinitesimal (muitos genes de pequenos efeitos) e distribuição normal para os efeitos dos SNPs, com média zero e variância igual para todos os marcadores. Entre os métodos Bayesianos, o método LASSO foi proposto por Tibshirani (1996) e modificado por Legarra et al. (2011), utilizado então para a implementação do IBLASSO. Este é um modelo hierárquico, no qual as variâncias individuais de cada SNP são modeladas seguindo uma distribuição exponencial.

As metodologias citadas acima são implementadas mediante procedimento que envolve várias etapas (multi-step), como por exemplo, em VanRaden (2008) e Hayes et al. (2009) em gado de leite. Uma avaliação típica é realizada em três etapas: (a) avaliação tradicional com um modelo animal, (b) estimação dos efeitos genômicos para um número relativamente pequeno de animais genotipados, e (c) estimação dos valores genômicos por um índice de seleção. O uso deste procedimento nas avaliações genéticas requer a utilização de vários parâmetros e suposições, resultando em uma metodologia complexa. Misztal et al. (2009), visando simplificar o procedimento multi-step, propuseram a metodologia do single-step, em que a informação genômica é incorporada na primeira etapa, em que a matriz de parentesco baseada no pedigree (**A**) é combinada a uma matriz de parentesco genômica (**G**) baseada na informação dos marcadores moleculares. Assim, a matriz **A** pode ser modificada em uma matriz **H**, que inclui tanto **A** quanto as diferenças baseadas na informação genômica (**AÄ**), ou seja, as diferenças entre **A** e **G**: $H = A + A\ddot{A}$.

Gao et al. (2012) e Su et al. (2012), afirmaram que o single-step pode melhorar a acurácia e reduzir o viés das predições genômicas. Segundo Misztal et al. (2013), o single-step, quando comparado aos métodos multi-step, é mais simples de ser executado e aplicável para modelos mais complicados, como por exemplo para multicaracterísticas. Além disso, diferente do multi-step que, geralmente, utiliza a informação dos dEBV como variável dependente para predizer o valor genômico, o single-step usa a informação dos fenótipos observados. As informações vindas de touros e vacas genotipados são corretamente ponderadas, evitando dupla contagem tanto das contribuições devido ao parentesco quanto das informações dos próprios registros (LOURENCO et al., 2015).

Objetivo geral

Objetivou-se com este estudo utilizar várias metodologias para a predição de valores genômicos visando à seleção de características indicadoras de precocidade sexual de bovinos da raça Nelore.

Objetivos específicos

- Comparar as acurácias de predição das metodologias multi-step: *genomic best linear unbiased predictor* (GBLUP) e *improved Bayesian least absolute shrinkage and selection operator* (IBLASSO), utilizando diferentes pseudo-fenótipos como variáveis dependentes, para as características idade ao primeiro parto, ocorrência de prenhez precoce e perímetro escrotal;
- Utilizar a metodologia do single-step (ssGBLUP) na predição dos valores genômicos e comparar as acurácias de predição com as dos métodos multi-step.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Dados fenotípicos

Para este estudo foram utilizados dados de animais da raça Nelore, provenientes de oito fazendas localizadas nas regiões centro-oeste, sudeste e nordeste do Brasil, que integram os programas de melhoramento genético da DeltaGen[®] e Paint[®] (CRV Lagoa).

O manejo reprodutivo nas fazendas consideradas no estudo consta de duas estações de monta, uma para vacas e outra para as novilhas. A estação de monta para as vacas tem início em torno da segunda quinzena do mês de novembro com duração de, aproximadamente, 90 dias. Para as novilhas de 14 a 18 meses de idade, realiza-se uma estação de monta antecipada, entre os meses de fevereiro e abril, com duração de, aproximadamente, 60 dias. Todas as novilhas são expostas à reprodução independente do peso e da condição corporal. As épocas de nascimento dos bezerros se concentram de agosto a outubro e novembro a janeiro, e os mesmos são mantidos com suas mães até os sete meses de idade a pasto. As novilhas são avaliadas quanto à prenhez por palpação retal, aproximadamente, 60 dias após o término da estação de monta antecipada. Novilhas que não concebem na estação de monta antecipada são expostas novamente aos dois anos de idade. Os 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 progênie e, uma pequena percentagem, por sanidade.

Neste estudo, foram utilizadas as seguintes características associadas à precocidade sexual: idade ao primeiro parto das fêmeas (IPP), ocorrência de prenhez precoce de novilhas (P16) e perímetro escrotal (PE). A IPP foi medida em dias e obtida pela diferença entre a data do primeiro parto e a data de nascimento da fêmea. A P16 foi definida com base na concepção e parição da novilha, desde que a mesma tenha entrado na estação de monta em torno dos 16 meses de idade. Às novilhas que pariram com menos de 31 meses de idade foi atribuído o valor 1 (sucesso) e, o valor 0 (fracasso) àquelas que falharam, ou seja, que pariram depois de 31 meses de idade. O PE foi mensurado em centímetros e obtido ao sobreano.

Os grupos de contemporâneos (GC) foram constituídos por safra de nascimento, fazenda e grupo de manejo ao nascimento, desmama e ao sobreano, para todas as características. Para a IPP e PE, dados fenotípicos fora dos intervalos dados pela média do GC mais ou menos três desvios-padrão foram excluídos. Para P16, foram eliminados GC sem variabilidade, ou seja, aqueles em que todos os animais apresentaram a mesma categoria de resposta (0 ou 1). Para todas as características, GC com menos de 4 observações foram excluídos das análises.

Após a preparação dos arquivos de dados, foram utilizadas nas análises informações de 68.726 e 73.359 fêmeas e 87.612 machos, para IPP, P16 e PE, respectivamente, com fêmeas nascidas entre 1993 a 2010 e machos nascidos entre 1993 a 2012. Em todas as análises foi utilizado um arquivo de pedigree, incluindo até nove gerações, com 203.017 animais na matriz de parentesco.

Para a predição dos valores genéticos (EBV) foram realizadas análises unicaracterísticas utilizando modelo animal. Para todas as características foram considerados os efeitos aleatórios genético aditivo e residual e, como efeitos fixos, o GC. Para PE, o efeito linear da idade do animal na mensuração foi adicionado ao modelo como covariável.

Os componentes de covariância foram obtidos utilizando os programas da família BLUPF90 (MISZTAL, 2012). A análise para P16 foi executada por abordagem Bayesiana e consistiu em uma única cadeia de 300.000 ciclos, com um *burn-in* conservativo de 30.000 ciclos. O período de descarte amostral foi de 30,

assim 9.000 amostras foram efetivamente utilizadas. Os EBVs desregredidos (dEBVs), utilizados nas análises, foram calculados de acordo com o método de VanRaden e Wiggans (1991). O número de GC utilizados nas análises e alguns resultados das estatísticas descritivas das características utilizadas neste estudo estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Número de grupos de contemporâneos (N_{GC}), média, mínimo (Mín) e máximo (Máx), herdabilidade (h^2) e acurácia média dos EBVs (acc_e) e dos dEBVs (acc_d) das características indicadoras de precocidade sexual em bovinos da raça Nelore.

Característica	N_{GC}	Média/Percentagem*	Mín	Máx	h^2	acc_e	acc_d
IPP (dias)	3.750	1.046	750	1.200	0,21	0,50	0,65
P16 (%)	2.559	18,6*	--	--	0,30	0,60	0,75
PE (cm)	4.050	26,75	15	40	0,41	0,66	0,78

IPP: idade ao primeiro parto; P16: ocorrência de prenhez precoce; PE: perímetro escrotal.

Dados genotípicos e população de validação

Foram genotipados 2.295 fêmeas, nascidas entre 2007 e 2009, e 1.800 machos, nascidos entre 1993 e 2012, utilizando-se o painel de alta densidade Illumina Bovine HD assay (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), contendo 777.962 SNPs. Além disso, foram utilizados genótipos de 611 touros (pais das fêmeas e machos utilizados neste estudo), nascidos entre 1965 e 2006, dos quais 223 tinham informação fenotípica para PE.

O controle de qualidade dos genótipos foi efetuado em um processo iterativo, onde a cada iteração eram excluídos, primeiramente, os SNPs e, em seguida, as amostras, repetindo-se até que nenhum SNP ou amostra fossem excluídos. Os seguintes critérios de exclusão para os SNPs foram utilizados: regiões não-autossômicas; mapeados na mesma posição; *p-value* para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg menor que 10^{-5} ; frequência do alelo menor (MAF) menor que 2%, *GenCall* menor que 15% e eficiência da genotipagem de cada SNP (*call frequency*) menor que 95%. Para as amostras, aquelas com *call rate* menor que 90% ou duplicadas foram excluídas. Após o controle de qualidade, permaneceram para as

análises informações de 1.738, 1.770 e 1.680 animais com genótipo e fenótipo para IPP, P16 e PE, respectivamente, e 412.993 SNPs.

Os métodos foram comparados pela metodologia da validação cruzada, utilizando-se o *k-fold*, sendo considerados cinco grupos. Para isso, foi feita uma subamostragem aleatória de tamanho fixo, em que os animais genotipados foram divididos em cinco grupos com 20% dos animais em cada grupo, levando em consideração os GC, para que animais de mesmo GC não fossem separados. Quatro destes grupos foram considerados como população de treinamento e foram utilizados para estimar os efeitos dos SNPs, enquanto que, outro único grupo foi considerado como validação e foi utilizado para prever os valores genômicos. Repetiu-se então esse processo por 5 vezes, utilizando-se diferentes conjuntos de validação, até que todos os animais tivessem seus valores genômicos preditos (LEGARRA et al., 2008; VERBYLA et al., 2010; RESENDE et al., 2012).

Como apenas animais genotipados foram mantidos nos conjuntos de validação, a população foi a mesma para validar os diferentes métodos, de acordo com a característica. Para as populações de treinamento houve três cenários: um incluindo todos os animais que tinham fenótipos disponíveis (TREIN_s), sendo utilizado nas análises de single-step; e, os outros dois, utilizados nas análises multi-step, um considerando apenas os animais com fenótipos e genótipos (TREIN_m) e, o outro, animais com variáveis dependentes (EBV ou dEBV) e genótipos disponíveis (TREIN_t). Neste último cenário, a informação dos touros genotipados foi incluída nas análises, e para PE, além dos touros, a informação de mães genotipadas (750 vacas) também foi incluída. Na Tabela 2, estão apresentados o número de animais nas populações de treinamento e validação e total de touros genotipados utilizados para as características estudadas.

Tabela 2. Número médio de animais nas populações de treinamento total (TREIN_s), somente animais genotipados e com fenótipo (TREIN_m), genotipados e com pseudo-fenótipo (TREIN_t), de validação (VAL) e número de touros genotipados (N_t) para as características indicadoras de precocidade sexual.

Característica	TREIN _s	TREIN _m	TREIN _t	VAL	N _t
IPP	68.170	1.390	1.903	348	513
P16	72.675	1.416	1.923	354	507
PE	83.911	1.344	2.475	336	381

IPP: idade ao primeiro parto; P16: ocorrência de prenhez precoce; PE: perímetro escrotal.

Análise dos dados

Foram utilizadas duas metodologias multi-step para estimar os efeitos dos marcadores: *genomic best linear unbiased predictor* (GBLUP) e *improved Bayesian least absolute shrinkage and selection operator* (IBLASSO); além da metodologia single-step (ssGBLUP). O fenótipo observado foi utilizado como variável dependente para estimar o valor genômico (GEBV) usando o método single-step, enquanto que, o fenótipo corrigido (Y_c) para as soluções BLUE (*best linear unbiased estimator*) das equações de modelos mistos, o EBV e dEBV foram utilizados para os métodos multi-step.

O seguinte modelo foi aplicado para os métodos GBLUP e IBLASSO, utilizando os EBVs ou dEBVs, calculados nas populações de treinamento, como variáveis dependentes:

$$y = \mu 1 + Wg + e$$

em que, y é o vetor de EBVs ou dEBVs dos animais genotipados; μ é a média geral; 1 é o vetor de 1s; W é a matriz de incidência dos efeitos dos marcadores; g é o vetor aleatório dos efeitos dos marcadores; e e é o vetor dos efeitos residuais.

O modelo utilizado para os métodos GBLUP e IBLASSO quando o Y_c foi utilizado como variável dependente pode ser representado como:

$$y = \mu 1 + Z_a u + Wg + e$$

em que, y é o vetor de Y_c dos animais genotipados; Z_a é a matriz de incidência dos efeitos genéticos; e u é o vetor aleatório dos efeitos genéticos. Assume-se que u apresenta distribuição normal, com média zero e variância $A\sigma_u^2$, sendo que A é a matriz de parentesco e σ_u^2 é a variância genética aditiva não explicada pelos marcadores.

Para o método GBLUP, assumiu-se distribuição $g \sim N(0, \mathbf{G}\sigma_g^2)$, em que σ_g^2 é a variância do efeito do marcador com variância constante *a priori* para todos os marcadores e \mathbf{G} é a matriz de parentesco genômica, definida segundo VanRaden (2008): $\mathbf{G} = \mathbf{M}\mathbf{M}' / \sum 2p_iq_i$, onde p e q são as frequências dos alelos no locus i e \mathbf{M} é a matriz $n \times m$ (n é o número de animais e m é o número de marcadores) que especifica os SNPs em cada locus. Para os efeitos residuais, assumiu-se que $e \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_e^2)$, em que \mathbf{I} é uma matriz identidade e σ_e^2 é a variância residual.

Para o método IBLASSO, assumiu-se a seguinte distribuição exponencial *a priori* para os efeitos dos SNPs (g):

$$g|\lambda \sim \Pi_j \frac{\lambda}{2} \exp(-\lambda|g_j)$$

em que, λ é o parâmetro “h”, com *priori* vaga, sendo uniforme entre 0 e 1.000.000. Esse parâmetro determina a forma da distribuição dos efeitos dos SNPs. A parametrização consiste em estimar as variâncias individuais dos SNPs, condicional à regularização do parâmetro λ (VANRADEN, 2008).

O seguinte modelo foi aplicado para o método ssGBLUP, utilizando o fenótipo observado como variável dependente:

$$y = \mathbf{X}b + \mathbf{Z}_a u + e$$

em que, y é o vetor de fenótipos tanto dos animais genotipados quanto dos animais não genotipados; \mathbf{X} é a matriz de incidência dos efeitos fixos; e b é o vetor dos efeitos fixos. Neste caso, para os efeitos genéticos é assumido que $u \sim N(0, \mathbf{H}\sigma_u^2)$, em que \mathbf{H} é a matriz de parentesco baseada tanto na informação genômica quanto

na informação de pedigree e σ_u^2 é a variância genética aditiva. A matriz \mathbf{H} possui a seguinte inversa (AGUILAR et al., 2010):

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

em que, \mathbf{A} é a matriz do numerador do coeficiente de parentesco baseada no pedigree para todos os animais; \mathbf{A}_{22} é a matriz do numerador do coeficiente de parentesco baseada no pedigree somente para os animais genotipados; e \mathbf{G} é a matriz de parentesco genômica como definida acima.

Para a característica P16, foi assumido modelo de limiar, sendo que este relaciona o fenótipo observado na escala categórica com uma escala subjacente normal contínua. Para σ_e^2 foi atribuído o valor 1, pois σ_e^2 não é estimável na escala subjacente (GIANOLA; FOULLEY, 1983).

As análises utilizando os métodos GBLUP e IBLASSO foram realizadas com o software GS3, desenvolvido por Legarra et al. (2011), disponível em <http://snp.toulouse.inra.fr/~alegarra>. Para as análises utilizando o ssGBLUP, foram usados os programas da família BLUPF90 (MISZTAL, 2012). Para a característica P16 ou quando o IBLASSO foi utilizado, as análises foram realizadas em uma única cadeia de 300.000 iterações, com um período de *burn-in* de 30.000 e os resultados foram salvos a cada 30 ciclos, assim 9.000 amostras foram efetivamente utilizadas.

Estimação do valor genômico

Com base nas soluções dos efeitos estimados dos marcadores com os diferentes modelos, os GEBVs foram calculados usando a fórmula a seguir:

$$GEBV_i = \sum_{j=1}^p \mathbf{z}_{ij} \beta_j,$$

em que, \mathbf{z}_{ij} é o genótipo do indivíduo i para o marcador j ; e β_j é o efeito estimado do marcador j .

Comparação das metodologias

As acurácias de predição das metodologias multi-step foram comparadas considerando a correlação entre os GEBVs e as variáveis dependentes utilizadas nas análises, nas populações de validação. Para o método single-step, a correlação foi calculada entre os GEBVs e os Y_c . Quando a acurácia foi baseada nos Y_c , a correlação foi dividida pela raiz quadrada da herdabilidade, como descrito por Hayes et al. (2010) e, quando foi baseada nos dEBVs, foi dividida pela acurácia média dos dEBVs. O grau de inflação/deflação das predições genômicas, ou seja, a escala dos GEBVs comparados à escala das variáveis dependentes, foi obtido pelo coeficiente de regressão (b_1) da variável dependente sobre o GEBV, para os animais do conjunto de validação. Estimativas de b_1 próximas a 1 indicam predições com escala similar às das variáveis dependentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Metodologias multi-step

As estimativas de acurácia variaram de 0,56 a 0,71 para IPP, de 0,53 a 0,66 para P16 e de 0,46 a 0,54 para PE (Tabela 3). Para a característica IPP, os métodos mostraram similaridade entre as acurácias estimadas. Todavia, houve uma tendência de subestimação dos GEBVs para o método GBLUP, enquanto que os coeficientes de regressão foram próximos à unidade com o método IBLASSO. Para a P16, as acurácias de predição obtidas com o GBLUP foram superiores às obtidas com o IBLASSO. As predições utilizando o IBLASSO tenderam a ser inflacionadas, enquanto aquelas com o GBLUP foram deflacionadas.

Para o PE, independente de qual variável dependente foi utilizada, ambos os métodos mostraram as mesmas acurácias de predição. Como pode ser observado, quando a característica apresenta herdabilidade de magnitude alta, como é o caso do PE, os métodos não mostraram diferenças entre si. Os coeficientes de regressão tiveram mesma tendência que para a característica P16, mas foram mais próximos à unidade.

Tabela 3. Acurácia média de predição dos GEBVs ($r(\text{GEBV}, Y)$) com base nas variáveis dependentes utilizadas nas análises multi-step e coeficiente de regressão médio ($b(Y, \text{GEBV})$) das variáveis dependentes sobre os GEBVs.

Característica	Y	$r(\text{GEBV}, Y)$		$b(Y, \text{GEBV})$	
		GBLUP	IBLASSO	GBLUP	IBLASSO
IPP	EBV	0,56	0,57	1,16	0,99
	dEBV	0,70	0,71	1,15	0,99
P16	EBV	0,57	0,53	1,13	0,78
	dEBV	0,66	0,62	1,12	0,81
PE	EBV	0,46	0,46	1,08	0,94
	dEBV	0,54	0,54	1,05	0,93

IPP: idade ao primeiro parto; P16: ocorrência de prenhez precoce; PE: perímetro escrotal; Y: variável dependente; EBV: valor genético; dEBV: valor genético desregredido; GEBV: valor genômico.

Apesar da menor herdabilidade obtida para a IPP, as acurácias de predição observadas para esta característica foram superiores em relação àquelas para P16 e para PE, em todas as situações. Provavelmente, isso ocorreu devido à distribuição bimodal apresentada pela característica IPP, ou seja, uma distribuição com dois picos distintos, sendo um referente às novilhas precoces e outro às não precoces. Villumsen et al. (2009) realizaram estudo de simulação para testar se as predições genômicas são acuradas para características de baixa e moderada herdabilidades. Embora os autores tenham encontrado uma relação entre a herdabilidade e a acurácia de predição, sendo que conforme a herdabilidade era menor a acurácia foi mais baixa, um decréscimo de apenas 2% na acurácia foi obtido para uma característica com herdabilidade de 0,10 em comparação a uma de 0,30. Segundo os autores, altas acurácias de predição podem ser obtidas para características de baixa herdabilidade e, assim, a seleção genômica é especialmente interessante para estas características. Zhang et al. (2014) encontraram resultado semelhante ao deste estudo, em que a acurácia de predição para a característica taxa de desmame, com baixa herdabilidade (0,13) para gado de corte Brahman, foi maior

que para a característica idade à primeira detecção de corpo lúteo, com alta herdabilidade (0,56), dentre outras características.

Embora as metodologias tenham apresentado resultados semelhantes para a maioria das características, o método GBLUP gerou estimativas de GEBVs mais acuradas em algumas situações. Além disso, uma vantagem do GBLUP em comparação ao IBLASSO foi o tempo computacional das análises, as quais foram realizadas no mesmo computador, que possui processador Intel Xeon, 251 GB de memória RAM e sistema operacional Linux. Utilizando o GBLUP, o tempo médio das análises foi cerca de 20 minutos para cada característica e, com o IBLASSO, foi por volta de 5 dias, considerando 300.000 iterações.

Os resultados do presente trabalho concordam com os de vários autores que mostraram que o método GBLUP apresenta acurácias muito próximas às dos métodos Bayesianos de seleção de variáveis para várias características em gado de leite e corte (HAYES et al., 2009; MALTECCA et al., 2012; CHEN et al., 2013; CHEN et al., 2014). Maltecca et al. (2012) observaram que o método GBLUP, obteve acurácia de predição igual ou levemente inferior ao do IBLASSO, dentre outros modelos, para algumas características de produção de leite de animais da raça Holandesa, nos Estados Unidos. Chen et al. (2013) e Chen et al. (2014) relataram que o método GBLUP foi melhor ou similar ao BayesB para consumo alimentar e características de mérito de carcaça, utilizando diferentes estratégias de formação da população de treinamento para Angus e Charolês, no Canadá.

Em alguns trabalhos de GWAS (*genome-wide association study*) foram encontrados vários genes relacionados à expressão das características reprodutivas, em gado de corte (HAWKEN et al., 2012; PETERS et al., 2013). A partir dos resultados obtidos com as análises de GWAS para as características P16 e PE no capítulo anterior e, resultados obtidos por Melo (2015) para IPP (utilizando mesmo banco de dados e critério metodológico), pode-se afirmar que as características indicadoras de precocidade sexual estudadas neste trabalho são, provavelmente, controladas por grande número de genes, com alguns deles de efeito moderado, sendo que os genes encontrados nas 10 janelas de maior variância

explicaram 7,18, 7,91 e 6,78% da variância fenotípica das características IPP, P16 e PE, respectivamente.

Alguns trabalhos na literatura têm mostrado que as diferenças de acurácia entre o GBLUP e os métodos Bayesianos de seleção de variáveis (IBLASSO, dentre outros) são devido ao número de genes envolvidos na expressão fenotípica da característica. Colombani et al. (2013) compararam alguns métodos para seleção genômica das características produção de leite, teor de gordura e taxa de concepção em gado de leite da raça Holandesa e Montbéliarde, na França. Os autores concluíram que os métodos Bayesianos de seleção de variáveis (BayesA e BayesB) tiveram melhor desempenho para a característica teor de gordura, provavelmente, devido ao baixo número de SNPs associados a algum QTL, ou seja, trata-se de uma característica que não é afetada por grande número de genes. Entretanto, para a característica reprodutiva taxa de concepção, que é possivelmente uma característica afetada por um grande número de genes, em que cada gene tem um pequeno efeito, os autores obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo.

Da mesma forma, em bovinos de leite, Hayes et al. (2010) observaram que o método GBLUP foi mais acurado que o Bayesiano (BayesA) para características que são explicadas por muitos genes (características lineares de tipo) e, que o inverso ocorre, quando se trata de características explicadas por poucos genes (porcentagem de gordura e cor da pelagem). Legarra et al. (2011) encontraram estimativas de acurácia maiores com o IBLASSO que com o GBLUP para a característica porcentagem de gordura em animais da raça Holandesa, a qual, segundo os autores, é controlada por genes de efeito maior como o *DGAT1*. Entretanto, para a raça Montbéliarde que apresenta MAF extremamente baixa (4%) para o gene *DGAT1*, os autores não observaram diferença entre os métodos, não causando assim variação genética na população.

No que diz respeito à decisão de qual variável dependente utilizar para a estimação dos GEBVs, os resultados indicaram que o dEBV foi a melhor definição em relação ao EBV, pois obteve melhor acurácia de predição para todas as características, independente do método utilizado, além de apresentar coeficientes

de regressão que indicaram menor grau de inflação/deflação. Assim como neste estudo, Ostensen et al. (2011) relataram que o dEBV utilizado como pseudo-fenótipo resultou em maiores acurácias para o valor genômico que aquelas obtidas usando o EBV. Segundo os autores o aumento em acurácia com o dEBV foi de 18 e 39% para as características taxa de conversão alimentar e ganho diário para suínos.

Comparação entre as metodologias single e multi-step

As acurácias de predição obtidas com o método ssGBLUP, com base nos Y_c e os coeficientes de regressão dos Y_c sobre os GEBVs são apresentados na Tabela 4. A acurácia de predição da IPP foi superior às obtidas para P16 e PE, embora IPP tenha apresentado uma menor estimativa de herdabilidade, como discutido no item anterior. Entretanto, os coeficientes de regressão para IPP e P16 ficaram distantes de 1, principalmente para P16 (Tabela 4).

Tabela 4. Acurácia média de predição dos GEBVs com base nos Y_c ($r(\text{GEBV}, Y_c)$) e coeficiente de regressão médio dos Y_c sobre os GEBVs ($b(Y_c, \text{GEBV})$), de acordo com os métodos GBLUP e ssGBLUP.

Características	$r(\text{GEBV}, Y_c)$		$b(Y_c, \text{GEBV})$	
	GBLUP	ssGBLUP	GBLUP	ssGBLUP
IPP	0,47	0,66	0,80	1,42
P16	0,22	0,30	0,54	0,20
PE	0,43	0,53	0,89	1,03

IPP: idade ao primeiro parto; P16: ocorrência de prenhez precoce; PE: perímetro escrotal; GEBV: valor genômico; Y_c : fenótipo corrigido.

Para a comparação entre os métodos single e multi-step, foram considerados os resultados obtidos com o método GBLUP, quando o Y_c foi considerado como variável dependente. Para a metodologia GBLUP, os GEBVs foram preditos a partir

das informações dos marcadores e dos Yc dos animais em um conjunto de dados relativamente pequeno ($TREIN_m$), enquanto para o ssGBLUP, uma combinação de informações dos marcadores, pedigree e fenótipos dos animais em um grande conjunto de dados ($TREIN_s$) foi utilizada (Tabela 2).

A metodologia ssGBLUP obteve resultados mais acurados para todas as características. Provavelmente, isto se deve ao fato deste método utilizar todas as informações disponíveis (animais genotipados e não genotipados) para prever os GEBVs. Com o ssGBLUP, os fenótipos dos animais não genotipados também fornecem informação por meio da matriz de parentesco, que combina tanto informações baseadas no pedigree quanto nos genótipos. Além disso, a predição genômica é mais acurada quando a informação de pedigree é incluída no modelo, devido ao fato de que os SNPs podem não estimar toda a variância genética aditiva. Entretanto, os coeficientes de regressão obtidos com o método GBLUP indicaram predições dos GEBVs com escala pouco mais próxima das variáveis dependentes que os coeficientes obtidos com o ssGBLUP, com exceção da característica PE.

Alguns trabalhos encontrados na literatura mostraram resultados semelhantes ao deste estudo. Gao et al. (2012) e Su et al. (2012), utilizaram dados de várias características de touros da raça Holandesa e Nordic Red, respectivamente, para comparar os métodos single e multi-step (GBLUP), na Dinamarca. Em ambos os trabalhos, os autores observaram que o single-step foi mais acurado e afirmaram que este método pode melhorar a acurácia das predições genômicas.

Em outros estudos, a metodologia do single-step mostrou similaridade com o método multi-step. Aguilar et al. (2010), visando utilizar o single-step nas avaliações genéticas de gado de leite Holandês, nos Estados Unidos, e comparar este método com o multi-step (GBLUP), concluíram que os resultados obtidos com a metodologia do single-step foram tão acurados quanto os obtidos com o multi-step. Ainda nos Estados Unidos, Chen et al. (2011) trabalharam com um conjunto de dados de frangos de corte comercial, e concluíram que o método single-step gerou resultados semelhantes aos do multi-step (BayesA). Os autores afirmaram ainda que modelos multicaracterísticas poderiam facilmente ser utilizados com a metodologia do single-step. Christensen et al. (2012) compararam os métodos BLUP baseado somente no

pedigree, single-step original, single-step ajustado e multi-step (GBLUP), para as características ganho diário e taxa de conversão alimentar em suínos da raça Duroc, na Dinamarca. Os autores concluíram que o método single-step forneceu acurácias similares às do multi-step e que esta metodologia pode substituir completamente o método tradicional, baseado somente no pedigree, em um sistema de avaliação genética.

4. CONCLUSÕES

Entre os métodos multi-step, o GBLUP pode ser indicado para a seleção genômica das características indicadoras de precocidade sexual, uma vez que apresentou resultados similares aos do IBLASSO e é mais simples de se implementar em programas de melhoramento genético. Os resultados indicaram ainda que o dEBV foi a melhor definição de variável dependente para estimar os efeitos dos marcadores em relação ao EBV utilizando os métodos multi-step.

Tendo em vista que o método single-step utiliza todas as informações disponíveis, a seleção genômica, por meio da utilização desta metodologia, pode ser alternativa adequada para prever os valores genômicos para características indicadoras de precocidade sexual.

5. REFERÊNCIAS

AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 743-752, 2010.

CHEN, C. Y.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; TSURUTA, S.; MEUWISSEN, T. H. E.; AGGREY, S. E.; WING, T.; MUIR, W. M. Genome-wide marker-assisted selection combining all pedigree phenotypic information with genotypic data in one step: An example using broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 23-28, 2011.

CHEN, L.; SCHENKEL, F.; VINSKY, M.; CREWS JR., D.H.; LI, C. Accuracy of predicting genomic breeding values for residual feed intake in Angus and Charolais beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 4669-4678, 2013.

CHEN, L.; VINSKY, M.; LI, C. Accuracy of predicting genomic breeding values for carcass merit traits in Angus and Charolais beef cattle. **Animal Genetics**, v. 46, p. 55-59, 2014.

CHRISTENSEN, O. F.; MADSEN, P.; NIELSEN, B.; OSTERSEN, T.; SU, G. Single-step methods for genomic evaluation in pigs. **Animal**, v. 6, p. 1565-1571, 2012.

COLOMBANI, C.; LEGARRA, A.; FRITZ, S.; GUILLAUME, F.; CROISEAU, P.; DUCROCQ, V.; ROBERT-GRANIÉ, C. Application of Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) and Bayes Cπ_h selection in French Holstein and Montbéliarde breeds. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 575-591, 2013.

GAO, H.; CHRISTENSEN, O. F.; MADSEN, P.; NIELSEN, U. S.; ZHANG, Y.; LUND, M. S.; SU, G. Comparison on genomic predictions using three GBLUP methods and two single-step blending methods in the Nordic Holstein population. **Genetics Selection Evolution**, v. 44, p. 1-8, 2012.

GIANOLA, D.; FOULLEY, J. L. Sire evaluation for ordered categorical data with a threshold model. **Genetics Selection Evolution**, v. 15, n. 2, p. 201-224, 1983.

HAWKEN, R. J.; ZHANG, Y. D.; FORTES, M. R. S.; COLLIS, E.; BARRIS, W. C.; CORBET, N. J.; WILLIAMS, P. J.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R. G.; WALKLEY, J. R. W.; 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, p. 1398-1410, 2012.

HAYES, B. J.; BOWMAN, P. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; GODDARD, M. E. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 433-443, 2009.

HAYES, B. J.; PRYCE, J.; CHAMBERLAIN, A. J.; BOWMAN, P. J.; GODDARD, M. E. Genetic architecture of complex traits and accuracy of genomic prediction: coat colour, milk-fat percentage, and type in Holstein cattle as contrasting model traits. **Genetics**, v. 6, p. 1-11, 2010.

LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIE, C.; MANFREDI, E.; ELSSEN, D. J. M. Performance of genomic selection in mice. **Genetics**, v. 180, p. 611-618, 2008.

LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIE, C.; CROISEAU, P.; GUILLAUME, F.; FRITZ, S. Improved Lasso for genomic selection. **Genetics Research**, v. 93, p. 77-87, 2011.

LOURENCO, D. A. L.; TSURUTA, S.; FRAGOMENI, B. O.; MASUDA, Y.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; BERTRAND, J. K.; AMEN, T. S.; WANG, L.; MOSER, D. W.; MISZTAL, I. Genetic evaluation using single-step genomic best linear unbiased predictor in American Angus. **Journal of Animal Science**, v. 93, 2015. Disponível em: <doi:10.2527/jas2014-8836>.

MALTECCA, C.; PARKER, K. L.; CASSADY, J. P. Application of multiple shrinkage methods to genomic predictions. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1777-1787, 2012.

MELO, T. P. **Genome-wide association study of reproduction traits in Nelore cattle, including additional phenotypic information from non-genotyped animals**. 2015. 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

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

MISZTAL, I.; LEGARRA, A.; AGUILAR, I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4648-4655, 2009.

MISZTAL, I. **BLUPF90 – a flexible mixed model program in Fortran 90**. Manual. Animal and Dairy Science, University of Georgia, Athens, GA, USA. 2012, 25p. Available in: <<http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blup90.pdf>>. Accessed in Jan 2015.

OSTERSEN, T.; CHRISTENSEN, O. F.; HENRYON, M.; NIELSEN, B.; SU, G.; MADSEN, P. Deregressed EBV as the response variable yield more reliable genomic predictions than traditional EBV in pure-bred pigs. **Genetics Selection Evolution**, v. 43, 2011. Disponível em: <<http://www.gsejournal.org/content/43/1/38>>.

PETERS, S. O.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; REECY, J. M.; WEABER, R. L.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Heritability and Bayesian genome-wide association study of first service conception and pregnancy in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 605-612, 2013.

RESENDE JR., M. F. R.; MUÑOZ, P.; RESENDE, M. D. V.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; DAVIS, J. M.; JOKELA, E. J.; MARTIN, T. A.; PETER, G. F.; KIRST, M. Accuracy of genomic selection methods in a standard dataset of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.). **Genetics**, v. 190, p. 1503–1510, 2012.

SANTANA JR, M. L.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; MATTOS, E. C. Genetic relationship between growth and reproductive traits in Nelore cattle. **Animal**, v. 6, n. 4, p. 565-570, 2012.

SU, G.; MADSEN, P.; NIELSEN, U. S.; MÄNTYSAARI, E. A.; AAMAND, G. P.; CHRISTENSEN, O. F.; LUND, M. S. Genomic prediction for Nordic Red Cattle using one-step and selection index blending. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 909-917, 2012.

TIBSHIRANI, R.: Regression shrinkage and selection via the Lasso. **Journal of the Royal Statistic Society**, v. 58, p. 267-288, 1996.

VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4414–4423, 2008.

VANRADEN, P. M.; WIGGANS, G. R. Derivation, calculation, and use of national animal model information. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2737-2746, 1991.

VERBYLA, K. L.; CALUS, M. P. L.; MULDER, H. A.; HAAS, Y.; VEERKAMP, R. F. Predicting energy balance for dairy cows using high-density single nucleotide polymorphism information. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2757–2764, 2010.

VILLUMSEN, T. M.; JANSS, L.; LUND, M. S. The importance of haplotype length and heritability using genomic selection in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.126, p. 3-13, 2009.

XU, S. Estimating polygenic effects using markers of the entire genome. **Genetics**, v. 163, p. 789–801, 2003.

YI, N.; XU, S. Bayesian LASSO for quantitative trait loci mapping. **Genetics**, v. 179, p. 1045-1055, 2008.

ZHANG, Y. D.; JOHNSTON, D. J.; BOLORMAA, S.; HAWKEN, R. J.; TIER, B. Genomic selection for female reproduction in Australian tropically adapted beef cattle. **Animal Production Science**, v. 54, p. 16-24, 2014.