UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS À EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS DA RAÇA NELORE

Raphael Bermal Costa
Zootecnista

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS À EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS DA RAÇA NELORE

Raphael Bermal Costa
Zootecnista

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque

Co-orientadora: Profa. Dra. Arione Augusti Boligon

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Sebástian Baldi Rey

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

2013

Costa, Raphael Bermal
C837a Associação e seleção genômica para características relacionadas à eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Nelore / Raphael Bermal Costa. – – Jaboticabal, 2013
iv, 64 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientadora: Lucia Galvão de Albuquerque
Banca examinadora: Henrique Nunes de Oliveira, Roberto Carvalheiro, Simone Cristina Méo Niciura, Maria Eugênia Zerlotti Mercadante
Bibliografia

1. Bovinos de corte. 2. Características reprodutivas. 3. GWAS. 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.

unesp **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS Ã EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS DA RAÇA NELORE

AUTOR: RAPHAEL BERMAL COSTA

ORIENTADORA: Profa. Dra. LUCIA GALVAO DE ALBUQUERQUE
CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. ARIONE AUGUSTI BOLIGON
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIÁN BALDI REY

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

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

Profa. Dra. SIMONE CRISTINA MÉO NICIURA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / São Carlos/SP

Profa. Dra. MARIA EUGENIA ZERLOTTI MERCADANTE
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

Data da realização: 23 de setembro de 2013.

Aos meus pais, José e Célia, por serem minha maior inspiração, meu maior exemplo, meu mundo... Sem vocês eu jamais teria conseguido.

DEDICO

À minha avó Maria (in memorian), saudosamente

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me iluminar sempre.

À minha orientadora, Profª. Drª. Lucia Galvão de Albuquerque, por acreditar em mim, mas acima de tudo, pela amizade nesses longos anos de trabalho em conjunto.

Aos meus co-orientadores Dr. Fernando Baldi e Dra. Arione Boligon, pela paciência e amizade.

Aos professores Dr.Josineudson Augusto II Vasconcelos Silva e Dr. Ricardo da Fonseca pelas valiosas sugestões no exame geral de qualificação.

Aos Prof. Dr. Henrique Nunes de Oliveira, Dr. Roberto Carvalheiro, Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante e Dra. Simone Cristina Méo Niciura pelas sugestões dadas na defesa de tese, que melhoraram muito nosso trabalho.

Aos meus valiosos amigos Tirinha, Fuxica, Gordo, Diogo, Denise, Rodrigo, Rafael Espigolan, Inaê (Jú), Rafael Tonussi, Fabrícia, Gerardo, Rafael Medeiros, Mari, Marcos, Luciana Takada, Larissa, Dani, Fabio e a todos os outros colegas e companheiros da “salinha” e da faculdade por fazerem parte de minha formação e pelo apoio.

À minha amiga, companheira de viagem e confidente Iara, pela imensa contribuição, carinho e amizade. Sem você, minha jornada seria muito mais difícil.

Aos meus amigos Lola, Black, Laka, Frank, Vini, Caio, João Emmanuel por fazerem minha jornada em Jaboticabal ainda mais especial.

Ao meu grande amigo Gregório, que além de contribuir enormemente na minha formação profissional, contribui para o meu desenvolvimento pessoal. Meu muito obrigado!

Aos meu amigos de Ribeirão Preto, Bruna Ratochinski, Bruno Vieira, Carla Moreno, Eloah Macedo, Fábio Sordi, Fernanda Galeani, Jefferson Oliotti, Marielen Mauro por entenderem minha ausência e me mostrarem o verdadeiro significado da amizade.

À toda minha família, em especial à Tia Tita, Tia Alice, Tia Dé e Tio Chico, deixo aqui registrado meu eterno amor e meu eterno obrigado!

À todos os meu primos, que são muiiiiiiitos. Amo cada um de vocês!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado e apoio financeiro (Processo: 2011/01811-7)

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Raphael Bermal Costa, nascido em São Paulo - SP, no dia 31 de dezembro de 1982, filho de José Muffa Costa e Célia Maria Bermal Costa. Zootecnista formado pela Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Durante a graduação, foi bolsista PET, e realizou iniciação científica sob orientação da Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque. Em agosto de 2004, ingressou 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, concluindo o curso em dezembro de 2005. Iniciou o curso de doutorado em Genética e Melhoramento Animal na mesma instituição em agosto de 2010, submetendo-se a defesa de tese em setembro de 2013.

RESUMO: As características reprodutivas são fundamentais ao melhoramento genético de bovinos de corte, pois impõem limites à intensidade de seleção, determinam o intervalo entre gerações e estão diretamente relacionadas com a economia do sistema. Com relação às fêmeas, um desafio é a identificação de características facilmente mensuráveis que sejam geneticamente relacionadas com a fertilidade. Objetivou-se com este estudo detectar polimorfismos de DNA associados a características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore, bem como a avaliação de modelos para predição de valores genéticos a partir de dados genômicos. Para tanto, foram genotipadas 1853 fêmeas nascidas entre 2007 e 2009, utilizando-se SNPs de alta densidade Illumina Bovine HD assay (Illumina, San Diego, CA, USA), e após a o controle de qualidade, foram utilizados 305.348 SNPs. No Capítulo 2, aplicou-se o modelo BAYESCπ para estimar os efeitos de marcadores e associá-los às características dias para o primeiro parto (DPP) e reconcepção de fêmeas primíparas (REC). Foram encontrados 42 SNPs significativos associados à REC e 13 para DPP. Esses SNPs explicam 11,32% da variância fenotípica da característica reconcepção de fêmeas primíparas e 3,48% da variância fenotípica da característica dias para o primeiro parto. Esses resultados permitirão montar painéis de baixa densidade específicos para a raça Nelore. No Capítulo 3, foram utilizados três modelos para estimação dos efeitos dos marcadores (para as características reconcepção de fêmeas primíparas, dias para o primeiro parto, idade ao primeiro parto e ocorrência de prenhez precoce): melhor estimador linear não viesado (GBLUP), BAYESCπ e Improved Bayesian least absolut shrinkage and selection operator (IBLASSO). As definições de variável dependente foram: a medida direta do fenótipo; fenótipo corrigido, valor genético e valor genético desregredido. A metodologia BAYESCπ foi mais adequada para estivação dos efeitos dos SNPs e dos valores genômicos para todas as características estudadas. A estimação dos valores genômicos utilizando a medida direta do fenótipo como variável dependente levou a estimativas mais acuradas dos valores genômicos.

Palavras-chave: bovinos de corte, características reprodutivas, GWAS, seleção genômica,SNP.

ABSTRACT: Reproductive traits are fundamental to genetic improvement of beef cattle as they impose limits on the selection intensity, determine the generation interval and are directly related to the economy of the system. With respect to the females, a challenge is to identify traits that are easily measurable and are genetically related to fertility. The objective of this study was to detect DNA polymorphisms associated with reproductive traits in Nellore females, as well as to evaluate models to predict breeding values from genomic data. So, 1853 females born between 2007 and 2009 were genotyped, using high-density SNP Illumina Bovine HD assay (Illumina , San Diego , CA , USA), and after quality control , 305,348 SNPs were used. In Chapter 2, BAYESCπ was applied to estimate the marker effects and associate them to the traits days to first calving (DFC), and heifers rebreeding (HR). 42 significant SNPs were associated with HRC and 13 to DFCD. These SNPs explain 11.32 % of the phenotypic variance of the trait HR and 3.48 % of the phenotypic variance of the trait DFC. These results will enable to create low-density panels specific to Nellore breed. In Chapter 3 , three models were used to estimate the effects of markers (for traits heifers rebreeding, days to first calving, age at first calving, and occurrence of early pregnancy) : best linear unbiased estimator (GBLUP) BAYESCπ and Improved Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (IBLASSO) . The definitions of the dependent variable were the direct measurement of the phenotype; corrected phenotype, breeding value and deregressed breeding value. BAYESCπ was most appropriate for estimation of the effects of SNPs and genomic values for all traits. The estimation of genomic values using the direct measurement of the dependent variable phenotype led to more accurate estimates of the genomic values .

Keywords : beef cattle , genomic selection, GWAS, reproductive traits, SNP.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais 5
Características reprodutivas em programas de melhoramento genético 5
Dos marcadores moleculares à seleção genômica 9
OBJETIVOS 14
Objetivo geral 14
Objetivos específicos 14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 14
CAPÍTULO 2 - Estudo de associação genômica ampla com características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore por inferência Bayesiana 26
INTRODUÇÃO 28
MATERIAL E MÉTODOS 30
Dados fenotípicos 30
Dados genotípicos 31
Análise dos dados 31
Identificação dos genes 32
RESULTADOS E DISCUSSÃO 33
REFERÊNCIAS 41
CAPÍTULO 3 – COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS DE PREDIÇÃO DE VALORES GENÔMICOS PARA CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE FÊMEAS DA RAÇA NELORE 45
INTRODUÇÃO 47
MATERIAL E MÉTODOS 49
Dados fenotípicos 49
População de treinamento e dados genotípicos 50
Análise dos dados 50
Validação dos modelos 53
Comparação dos modelos 53
RESULTADOS 54
Habilidade de predição de GEBV baseado no fenótipo corrigido 54
Acurácia de predição 55
Viés de predição 56
Similaridade entre GEBVs estimados pelas diferentes metodologias 57
DISCUSSÃO 58
CONCLUSÕES 60
REFERÊNCIAS 61

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Características reprodutivas em programas de melhoramento genético

Nos programas de seleção para bovinos de corte visa-se, primordialmente, o melhoramento de características de desenvolvimento ponderal, dando pouca ênfase para características reprodutivas (Snelling et al., 2010). Porém, do ponto de vista econômico, a eficiência reprodutiva é de grande importância, uma vez que a antecipação da vida reprodutiva das fêmeas está diretamente ligada à eficiência e à lucratividade da produção de carne bovina. Dessa forma, o melhoramento genético de características indicadoras de eficiência reprodutiva é de relevância para manter a posição do Brasil como maior exportador de carne bovina.

Segundo Martin et al. (1992), o desempenho produtivo das novilhas depende da idade em que as fêmeas entram em reprodução pela primeira vez. Conforme estes autores, novilhas que parem cedo têm maior vida produtiva que as fêmeas mais tardias; assim, novilhas que parem pela primeira vez aos dois anos de idade deverão produzir mais bezerros que as que parem aos três anos de idade. Beretta et al. (2001) verificaram que reduzindo a idade ao primeiro parto de quatro para três e de três para dois anos de idade, ocorre um aumento significativo na produtividade do sistema de cria. Este aumento seria consequência da redução das categorias improdutivas (compostas pelas fêmeas de um e dois anos que ainda não entraram em reprodução), liberando áreas para outras categorias (como fêmeas em reprodução) e reduzindo o custo energético por unidade de produto. Além desses aspectos, rebanhos com maior precocidade sexual possuem maior disponibilidade de animais, tanto para venda como para seleção, permitindo maior intensidade seletiva e menor intervalo de gerações e, consequentemente, progressos genéticos mais rápidos.

Apesar da importância das características reprodutivas na vida do animal e no sistema de produção, há dificuldade em empregá-las nos programas de melhoramento genético devido aos problemas de mensuração e às baixas correlações genéticas com outras características. Outro problema com relação às características reprodutivas é o fato de as mesmas se expressarem em apenas um

sexo e tardiamente na vida do animal. Para avaliação dos touros para características reprodutivas de fêmeas, os mesmos devem ser submetidos a testes de progênie. Esses testes são indicados no caso de características de baixa herdabilidade, expressas em apenas um sexo, ou medidas após a morte do animal. Essas avaliações são de custo extremamente elevados e contribuem para o aumento do intervalo de gerações, resultando na diminuição da taxa de ganho genético anual. De acordo com Pereira (2004), o teste só se justifica na medida em que contribui para aumentar a precisão na escolha dos reprodutores, como é o caso das características relacionadas à eficiência reprodutiva.

Autores como Phocas et al. (1998) e Brumatti et al. (2011) realizaram estudos de valores econômicos para características reprodutivas, comprovando sua maior importância no sistema de produção quando comparadas às características de desenvolvimento ponderal. No estudo de Brumatti et al. (2011), por exemplo, os autores demonstraram, por meio de índices econômicos, que as características reprodutivas podem ser até treze vezes mais importantes que as características de crescimento

Sabendo-se da importância econômica dessas características, pode-se dizer que o adiantamento da idade reprodutiva de fêmeas poderá levar a otimização do sistema de produção. Uma forma de se detectar precocidade sexual, e consequentemente, eficiência reprodutiva de fêmeas, é expor as novilhas precocemente. Esta prática de manejo não prejudica o desempenho reprodutivo futuro dos animais, desde que os manejos nutricional, sanitário e reprodutivo durante esse período sejam adequados. Verificou-se que se a primeira prenhez acontecer aos 14 meses, ao invés dos 24 meses, os custos de produção diminuem (Formigoni et al. 2005 e Monsalves, 2008). Segundo estes autores os custos variáveis, principalmente relacionados à nutrição, aumentarão, entretanto, o custo capital de formação da matriz será reduzido, pois ela entrará um ano antes em reprodução e dará, pelo menos, um bezerro a mais. Monsalves (2008) estudou o valor econômico para a probabilidade de prenhez em três situações distintas: novilhas prenhes aos 14, 18 e 24 meses. Encontrou que quanto mais jovem a novilha ficava prenhe, mais compensador era em termos financeiros. Portanto, o manejo de estação de monta para novilhas precoces é interessante de ser avaliado como estratégia a ser adotada

por aqueles que visam maior produtividade e rentabilidade. Monsalves (2008) avaliou também que a taxa de prenhez de novilhas é uma característica de grande valor econômico e apresenta variabilidade genética suficientemente grande para ser considerada como critério de seleção. Eler et al (2010) citam que a redução do primeiro parto de três para dois anos produziria um aumento de 16% no retorno econômico do sistema. Além disso, estudos como o de Van Melis et al. (2010) mostram que essa característica possui correlação genética alta (0,82) e no sentido desejado com longevidade de vacas Nelore. Em outras palavras, novilhas que concebem mais cedo, permanecem produtivas no rebanho por mais tempo.

São poucas as características indicadoras de eficiência reprodutiva utilizadas nos programas de melhoramento no Brasil, dentre elas, o perímetro escrotal, idade ao primeiro parto, habilidade de permanência e prenhez de novilhas (Doyle et al. 2000; Mercadante et al., 2000; Pereira et al., 2000; Cyrillo et al., 2001; Garnero et al., 2001; Eler et al., 2002; Silva et al., 2003,) têm sido publicadas em sumários de touros. As baixas estimativas de herdabilidade das características reprodutivas indicam que as variações nas mesmas são causadas por diferenças ambientais, o que justificaria a não inclusão dessas características nos índices de seleção. Além disso, a dificuldade de mensuração de características reprodutivas, bem como a dificuldade de interpretação das mesmas e, portanto, falta de registros zootécnicos acurados, limitam a utilização dessas características em programas de melhoramento genético.

Dentre as principais características reprodutivas, a reconcepção de fêmeas primíparas é um dos grandes problemas da bovinocultura de corte. Alguns estudos relatam perdas de significativas de prenhez entre o primeiro e segundo parto (Fahmy, 1971; Rovira, 1974 e Gottschall et al., 2008). Mercadante et al. (2003) analisaram animais da raça Nelore e reportaram diferença entre a concepção média total do rebanho e a reconcepção de fêmeas primíparas igual a 20%. Assim, incrementos nas taxas de reconcepção das novilhas poderão elevar a eficiência econômica da pecuária de corte.

A característica idade ao primeiro parto vem sendo utilizada recentemente como critério de seleção, apesar de suas estimativas de herdabilidade de baixa a moderada magnitude (Pereira et al., 2000; Dias et al., 2004; Forni e Albuquerque,

2005; Gressler et al., 2005; Boligon et al., 2007; Laureano et al., 2011). Entretanto, a seleção para esta característica apresenta algumas limitações. Grande parte da variabilidade genética entre indivíduos para esta característica não é detectada, devido ao fato de que a maioria dos produtores utiliza a idade ou o peso das fêmeas como critério para o início da vida reprodutiva, reduzindo o grupo de fêmeas que serão avaliadas e, assim, somente uma pequena porção da variabilidade total é mensurada, além de não permitir identificar as novilhas com maior precocidade sexual. Entretanto, 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 fator de relevância, que interfere nas taxas de reconcepção de fêmeas de modo geral, é o período compreendido entre o primeiro parto e o primeiro cio pós-parto, o qual pode ser mais longo dependendo de variáveis como idade da vaca ao parto, peso do bezerro ao nascimento e tipo de manejo (Nunes-Dominquez et al., 1991). Segundo Lobato & Magalhães (2001), para a evolução dos sistemas pecuários de corte é necessário a redução da idade de primeiro serviço das novilhas e de altas taxas de repetição de prenhez. É importante salientar que a concepção subsequente em fêmeas destinadas a reprodução ainda é um dos pontos críticos a ser explorado na pecuária de corte nacional, uma vez que quedas bruscas nas taxas de fertilidade são observadas, principalmente, em novilhas expostas precocemente à reprodução.

As estimativas de herdabilidade para a característica reconcepção de novilhas, em geral, são baixas. Trabalhando com dados 1.727 animais da raça Nelore, Silva et al (2002) encontraram estimativas de herdabilidade de 0,20 para esta característica , sob modelo de limiar por inferência bayesiana. Medida inferior (0,15) foi encontrada por Pereira et al. (2007), que sugeriram que a baixa herdabilidade da característica pode ser devida a efeitos ambientais. Terakado (2010) estimou coeficiente de herdabilidade para esta característica de 0,17, em um rebanho da raça Nelore. De acordo com Pereira (2008), um fator muito importante na reconcepção de fêmeas primíparas é o desgaste fisiológico devido à lactação

concomitante ao crescimento, o que poderia causar aumento nas variâncias residuais.

Dos marcadores moleculares à seleção genômica

A seleção assistida por marcadores (SAM) foi inicialmente proposta com o intuito de se aumentar a acurácia das DEPS e, como consequência, aumentar o ganho genético. Para isso, propôs-se utilizar informações provenientes de marcadores moleculares previamente associados a características de importância econômica, e aliá-los aos dados fenotípicos e de pedigree (Dekkers, 2004). A SAM é especialmente útil para características de baixa herdabilidade, medidas tardiamente na vida do animal e medidas em apenas um sexo, servindo como uma ferramenta a ser aliada à seleção tradicional para características de mensuração difícil, como é o caso das características indicadores de precocidade sexual e eficiência reprodutiva (Meuwissen e Goddard,1996).

Na última década, vários estudos em gado de leite têm reportado QTL associados a características reprodutivas utilizando principalmente marcadores microssatélites (Schrooten et al., 2000; Kühn et al., 2003; Ashwell et al., 2004; Schnabel et al., 2005; Höglund et al., 2009). Entretanto, em gado de corte, ainda são escassos os estudos de identificação de marcadores moleculares associados a características reprodutivas das fêmeas. Com relação às características reprodutivas existe maior dificuldade para extrapolar os resultados obtidos nos estudos de marcadores moleculares em gado de leite para gado de corte, uma vez que as características utilizadas como indicadoras de fertilidade nos rebanhos leiteiros e de corte são normalmente diferentes. Neste sentido, marcadores moleculares têm sido associados com o intervalo entre partos em bovinos da raça Brangus (Oliveira et al., 2005 e Weimer et al., 2007), bem como com a taxa de partos gemelar e a taxa ovulatória em bovinos de uma linha sintética, representando 12 raças (Allan et al., 2007; Allan et al. 2009).

Um dos problemas em se implementar SAM é que somente uma proporção pequena da variância genética total é capturada pelos marcadores moleculares, limitando o ganho genético (Solberg et al. 2008). Até a poucos anos atrás, o escasso

número assim como o alto custo dos marcadores limitava sua implementação, sendo que delineamentos experimentais específicos eram desenvolvidos para reduzir o impacto do pequeno número de marcadores sobre o poder dos testes estatísticos (Daetwyler et al. 2008). Atualmente, o desenvolvimento de um painel que identifica um grande número de SNPs do genoma bovino deverá permitir avanços significativos nos estudos de localização e associação de genes que afetam as características de importância econômica. Com o desenvolvimento deste painel uma maior proporção do genoma bovino é coberta, com um número suficiente de marcadores, incrementando o LD entre os marcadores e, consequentemente, as chances de encontrar QTLs associados às características de interesse econômico.

Em várias espécies de animais domésticos, o estudo dos milhares de polimorfismos SNP espalhados ao longo do genoma, conhecido como análise genômica, tem possibilitado o maior conhecimento da arquitetura genética de diferentes populações (Kijas et al. 2009; McKay et al. 2008; Gibbs et al., 2009), bem como detectar diferenças genéticas entre e dentro de populações (Zenger et al. 2006). Esses estudos permitem ainda determinar a relação entre a perda de alelos e o aumento da consangüinidade devido à seleção (Muir et al. 2008), além de identificar e localizar regiões no genoma sujeitas à seleção (Hayes et al. 2006; Prasad et al. 2008; Sonstegard et al. 2009; Barendse et al. 2009) e associá-las com características de importância econômica (Barendse et al. 2007; Hayes et al. 2009; Sherman et al., 2009). Recentemente, Kolbehdari et al. (2008) utilizaram um painel de SNP de baixa densidade (1.536 marcadores SNP) para associa-lo com a vida útil, a facilidade do parto e várias medidas indicadoras de fertilidade em filhas de 462 touros Holstein no Canadá. Os mesmos autores encontraram 32 SNP associados de forma significativa com estas características. Kim et al. (2009), utilizaram um painel de 9.919 marcadores SNP e encontraram 95 marcadores significativamente associados com a taxa gemelar em bovinos da raça Holstein.

Uma das maiores dificuldades tem sido a incorporação, nos programas de avaliação genética, dos dados proveniente dos marcadores moleculares em conjunto com a informação dos poligenes, visando a predição dos valores genéticos por meio do BLUP (*Best Linear Unbiased Predictor* ou Melhor preditor linear não viesado) para as características de importância econômica. Atualmente, o valor

genético dos animais pode ser obtido a partir de dados genômicos (Bennewitz et al., 2009; Calus et al., 2009). Visando superar as limitações da SAM, Meuwissen et al. (2001) propuseram a utilização da chamada seleção assistida por marcadores considerando todo o genoma (*Genome-wide marker assisted selection* ou seleção genômica). Esse tipo de seleção considera um conjunto muito denso de marcadores cobrindo todo o genoma o que, potencialmente, explica toda a variância genética, assumindo-se que os marcadores estejam em desequilíbrio de ligação com os QTLs de forma que os efeitos sejam válidos para a população. De acordo com Dekkers (2007), Muir (2007) e Meuwissen (2007) a seleção genômica comparada à tradicional, baseada no BLUP, fornece predições dos valores genéticos com maior acurácia, principalmente para as características que se expressam em um único sexo e/ou que sejam de baixa herdabilidade, menor incremento na consanguinidade, além de antecipar o processo de seleção no caso de características mensuradas tardiamente na vida do animal ou de mensuração difícil e de alto custo. Schrooten et al. (2005) relataram aumento no progresso genético entre 19 a 31% em comparação com o teste de progênie, quando os marcadores moleculares explicaram 50% da variância genotípica. Recentemente, em vários países como Estados Unidos, Canadá, Nova Zelândia e Holanda, os valores genéticos de touros para produção de leite vêm sendo preditos a partir de informações genômicas (Hayes et al., 2009b).

Uma série de metodologias está sendo proposta para estimar os efeitos de cada marcador associado a características de importância econômica. O método dos quadrados mínimos (QM) foi o primeiro a ser utilizado com tal propósito, entretanto, apresenta uma série de limitantes que inviabilizam sua utilização (Meuwissen et al., 2001). Segundo Resende et al. (2012), as principais limitações do método QM são: impossibilidade de estimar todos os efeitos simultaneamente, o que conduz a uma superestimação dos efeitos significativos; a acurácia do método é baixa; somente marcadores com grande efeito serão detectados; e falha na detecção da variação genética pelos marcadores.

Para superar estes problemas, várias alternativas estão descritas na literatura tais como, técnicas de “ridge regression” (RRBLUP) (Whittaker et al., 2000), *Genomic Best Linear Unbiased Predictor* - GBLUP (Meuwissen et al., 2001) e inferência Bayesiana utilizando vários tipos de distribuições a *priori* para os efeitos e

variâncias SNPs (Meuwissen et al., 2001; Xu, 2003; Yi e Xu, 2008). Resende et al., (2012) dividiram as metodologias de estimação de efeitos de SNPs em duas categorias: métodos de estimação penalizada (RR-BLUP, GBLUP, LASSO) e métodos de estimação Bayesiana (BAYESA, BAYESB, BAYESCπ, BLASSO E IBLASSO). Segundo os mesmos autores, os estimadores penalizados são obtidos como uma solução para um problema de otimização, em que "a função objetivo é definida pela soma dos quadrados dos resíduos e a complexidade do modelo". Esses métodos diferem entre si de acordo com a função de penalização, que produzem diferentes *shrinkage*. Os métodos Bayesianos o *shrinkage* é controlado pela informação *a priori* assumida pra cada efeito.

Meuwissen et al. (2001) apresentaram duas metodologias Bayesianas, BayesA e BayesB. Essas metodologias se tornaram populares e amplamente utilizadas em estudos de seleção genômica, devido à simplicidade de implementação, visto que cada *locus* apresenta uma variância individual. Além disso, estudos demonstraram que o LD entre SNP e QTL é melhor explorado do que quando comparado com as metodologias de quadrados mínimos ou *ridge-regression* (Habier at al., 2011;Hayes et al., 2009; Habier et al., 2007; Meuwissen et al., 2001), logo, essas metodologias podem levar a estimativas de GEBVs mais acuradas. Para estas metodologias, assume-se, *a priori*, que o efeito do SNP é zero com probabilidade π, e apresentam uma distribuição normal com média zero e variâncias *locus*-específicas com probabilidade (1 – π). Essas variâncias *locus*-específicas apresentam distribuição qui-quadrado invertida escalonada, com poucos graus de liberdade e com um parâmetro de escala derivado de uma variância genética aditiva previamente assumida, sob pressuposições genéticas variáveis. Gianola (2009) demonstrou que as distribuições *a posteriori* das variâncias locus-específicas das metodologias BayesA e BayesB apresentam apenas um grau de liberdade quando comparadas com a distribuição *a priori*, independentemente do número de genótipos e/ou fenótipos utilizados, contrariando os conceitos de teoria Bayesiana. Essa limitação é ainda mais importante com o aumento da densidade de SNPs (Habier et al., 2011).

Além disso, nas metodologias BayesA e BayesB, a probabilidade π de um SNP ter efeito nulo é considerada conhecida. Para BayesA, a probabilidade de π é tratada como zero para que nenhum SNP tenha efeito nulo. Na metodologia BayesB,

π apresenta probabilidade maior que zero para concordar com a pressuposição de que muitos SNPs apresentam efeito nulo. Para lidar com esses problemas, π deve ser tratado como desconhecido e, portanto, estimado.

A metodologia BAEYSCπ. Neste caso, os efeitos dos SNPs têm uma variância comum, seguindo uma distribuição chi-quadrado invertida escalonada *a priori*, com v_g graus de liberdade e um parâmetro de escala S_g^2. Sendo assim, o efeito de um SNP utilizado com probabilidade (1-π) é uma mistura de distribuições t de Student $t(0, v_g, S_g^2)$. Assume-se que o parâmetro π tem uma distribuição uniforme (0,1) *a priori*. Essa metodologia parece ser mais interessante por levar em consideração a arquitetura genética da característica.

O método LASSO, proposto por Tibshirani (1996) e modificado por Legarra et al. (2011), para se tornar então Improved Bayesian LASSO (IBLASSO) consiste em dividir as fontes de variação em um termo puramente residual (σ_e^2) e um devido aos SNP (σ_g^2). É um modelo hierárquico, no qual as variâncias individuais de cada SNP são modeladas seguindo uma distribuição exponencial. Essa metodologia combina seleção de variáveis e *shrinkage* dos coeficientes de regressão.

Em termos gerais, os modelos hierárquicos ou bayesianos foram os que resultaram em maiores acurácias na estimação dos efeitos dos SNPs. Entretanto, Hayes (2009a) demonstrou que a metodologia e distribuição mais adequadas para a estimação dos efeitos dos QTLs são condicionadas à característica que está sendo considerada, uma vez que o número de SNPs assim como a proporção da variância genética que é explicada pelos marcadores varia em função da característica.

Em situações nas quais os SNP não cobrem completamente o genoma, isto é, os SNP disponíveis não são capazes de explicar todos os QTL, sub-estimando parte da variância, pode existir uma perda na acurácia de seleção (Calus e Veerkamp, 2007). Para incrementar a acurácia de predição dos valores genéticos, Haley e Visscher (1998) sugeriram considerar a informação dos marcadores moleculares em conjunto com a informação dos poligenes, considerando assim aquela fração da variância genética que não é levada em conta pelos marcadores. No mesmo sentido, Calus e Veerkamp (2007) mostraram, a partir de dados simulados, que no caso de características de baixa herdabilidade e com um baixo desequilíbrio de ligação entre os marcadores (r^2~0,10), a acurácia de seleção aumentou quando a

informação dos marcadores e dos poligenes foi considerada em conjunto. Entretanto, Legarra et al. (2008), a partir de dados reais e utilizando uma maior quantidade de marcadores do que os autores acima citados, não encontraram vantagem em termos de acurácia em combinar as informações dos poligenes e dos marcadores. Tais resultados indicam que à medida que o número de marcadores aumenta, existe uma maior abrangência do genoma e a vantagem (maior acurácia) de incluir a informação dos poligenes diminui.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo geral deste projeto é a detecção de polimorfismos de DNA associados a características relacionadas à eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Nelore, bem como a avaliação de modelos para predição de valores genéticos a partir de dados genômicos visando seleção genômica para estas características.

Objetivos específicos

- Estudar a associação de polimorfismos (SNP) com as características reconcepção de fêmeas primíparas e dias para o primeiro parto no genoma bovino;
- Estimar os efeitos dos SNPs sobre estas características;
- Estudar o efeito de diferentes metodologias sobre a estimação dos valores genômicos e sobre as avaliações genéticas dos animais a partir de dados genômicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, M.F., THALLMAN, R.M., CUSHMAN, R.A., ECHTERNKAMP, S.E., WHITE, S. N., KUEHN, L.A., CASAS, E., SMITH, P.L. Association of a single nucleotide polymorphism in SPP1 with growth traits and twinning in a cattle population selected for twinning rate. **Journal of Animal Science**, 85: 341-347, 2007.

ALLAN, M.F., KUEHN, L.A., CUSHMAN, R.A., W. SNELLING, M., ECHTERNKAMP, S.E., THALLMAN, R.M.. Confirmation of quantitative trait loci using a low-density single nucleotide polymorphism map for twinning and ovulation rate on bovine chromosome 5. **Journal of Animal Science**, 87, 46-56, 2009.

ASHWELL, M.S., HEYEN, D.W., SONSTEGARD, T.S., VAN TASSELL, C.P., DA, Y., VANRADEN, P.M., RON, M., WELLER, J.I., LEWIN, H.A. Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.468-475, 2004.

BARENDSE, W., HARRISON, B.E., BUNCH, R.J., THOMAS, M.B., TURNER, L.B. Genome wide signatures of positive selection: The comparison of independent samples and the identification of regions associated to traits. **BMC Genomics**, 10, 178, 2009.

BARENDSE, W., REVERTER, A., BUNCH, R.J., HARRISON, B.E., BARRIS, W., THOMAS, M.B. A validated whole-genome association study of efficient food conversion in cattle. **Genetics**, 176, 1893-1905, 2007.

BENNEWITZ, J., SOLBERG, T., MEUWISSEN, T. Genomic breeding value estimation using nonparametric additive regression models. **Genetics Selection Evolution**, 41:20, 2009.

BERETTA, V., LOBATO, J.F.P., MIELITZ, C.G.A. Produtividade e eficiência biológica de sistemas pecuários criadores diferindo na idade das novilhas ao primeiro parto e na taxa de natalidade do rebanho de cria no Rio Grande de Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1278-1288, 2001.

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.

BRUMATTI, R. C. FERRAZ, R. C., ELER, J. P. Desenvolvimento de índices de seleção em gado de corte sob enfoque de um modelo bioeconômico. **Archivos de Zootecnia,** v.60, p. 205-213, 2011.

CALUS, M.P.L., ROOS, S.P.W., VEERKAMP, R.F. Estimating genomic breeding values from the QTL-MAS workshop data using a single SNP and haplotype/IBD approach. **BMC Proceedings**, 3, S01 - S10, 2009.

CALUS, M.P.L.; VEERKAMP, R.F. Accuracy of breeding value when using and ignoring the polygenic effect in genomic breeding value estimation with a marker density of one SNP per cM. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 124, 362-368, 2007.

CYRILLO, J.N.S.G., RAZOOK, A.G., FIGUEIREDO, L.A., BONILHA NETO, L.M., MERCADANTE, M.E.Z., TONHATI, H. Estimativas de tendências e parâmetros genéticos do peso padronizado aos 378 dias de idade, medidas corporais e perímetro escrotal de machos Nelore de Sertãozinho, SP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30, 56-65, 2001.

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

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.

DEKKERS, J.C.M.,. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock:strategies and lessons**. Journal of Animal Science.** 82: p313-328, 2004

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

DOYLE, S.P., GOLDEN, B.L., GREEN, R.D. AND BRINKS, J.S. Additive genetic parameter estimates for heifer pregnancy and subsequent reproduction in Angus females. **Journal of Animal Science**, 78, 2091-2098, 2000.

ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; TEIXEIRA, L. D. Seleção para precocidade sexual em novilhas de corte. In: PIRES, V. A. **Bovinocultura de corte.** Piracicaba: FEALQ, 2010.

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

FAHMY, M.H.; LALANDE, G.; HIDIROGLOU, M. Reproductive performance and growth of Shorthorn purebred and crossbred cows. **Animal Production**, v.13, p.7-14, 1971.

FORMIGONI, I.B. et al Economic importance od stayability and heifer pregnancy in cow-calf production systems in Brazil: A bioeconomic simulation. In: **WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION**, 8, 2006, Belo Horizonte. Anais…

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.

FORNI S., ALBUQUERQUE L.G. Avaliação de fatores de ambiente e estimativas de parâmetros genéticos para a característica dias para o parto na raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**., 35, 1329–1335, 2006.

GARNERO, A. V., LOBO, R.B., BEZERRA, L.A.F., OLIVEIRA, H.N. Comparação entre alguns critérios de seleção para crescimento na raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30, 714-718, 2001.

GIANOLA, D. Priors in whole-genome regression: the bayesian alphabet returns. **Genetics**. Jul;194(3):573-96. 2013.

GIBBS, R.A., TAYLOR, J.F., VAN TASSELL, C.P. Genome-Wide Survey of SNP Variation Uncovers the Genetic Structure of Cattle Breeds. **Science**, 324, 528-532, 2009.

GOTTSCHALL, C.S.; MARQUES, P.R.; CANELLAS, L.C.; ALMEIDA, M.R. Aspectosrelacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, n.164, 2008.

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., R. L. FERNANDO, K. KIZILKAYA, AND D. J. GARRICK. Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics** 12:186. 2011.

HALEY, C.S., VISSCHER, P.M. Strategies to Utilize Marker-Quantitative Trait Loci Associations. **Journal of Dairy Science**, 81, 85-97, 1998.

HAYES, B.J., LIEN, S., NILSEN, H., OLSEN, H.G., BERG, P., MACEACHERN, S., POTTER, S., MEUWISWSEN, T.E. The origin of selection signatures on bovine chromosome 6. **Animal Genetics**, 39, 105-101, 2006.

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

HAYES, B.J., BOWMAN, P.J., CHAMBERLAIN, A.J., GODDARD, M.E. Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **Journal of Dairy Science**, 92, 433–443, 2009b.

HÖGLUND, J.K., GULDBRANDTSEN, B., SU, G., THOMSEN, B., LUND, M.S. Genome scan detects quantitative trait loci affecting female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2136-2143, 2009.

KIJAS, J.W., TOWNLEY, D., DALRYMPLE, B.P., HEATON, M.P., MADDOX, J.F., MCGRATH, A., WILSON, P., INGERSOLL, R.G., MCCULLOCH, R., MCWILLIAM, S., TANG, D., MCEWAN, J., COCKETT, N.V., ODDY, H., NICHOLAS, F.W., RAADSMA, H.A.A Genome Wide Survey of SNP Variation Reveals the Genetic Structure of Sheep Breeds. **PLoS ONE**, 4, e4668. doi:10.1371/journal.pone.0004668, 2009.

KIM E.-S., BERGER P.J., KIRKPATRICK B.W. Genome-wide scan for bovine twinning rate QTL using linkage disequilibrium. **Animal Genetics,** v.40, p.300-307, 2009.

KOLBEHDARI, D., Z. WANG, J. R. GRANT, B. MURDOCH, A. PRASAD, Z. XIU, E. MARQUES, P. STOTHARD, MOORE, S. S. A whole-genome scan to map quantitative trait loci for conformation and functional traits in Canadian Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**, 2008.

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

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., C. ROBERT-GRANIE, P. CROISEAU, F. GUILLAUME, AND S.FRITZ. 2011. Improved Lasso for genomic selection. **Genetics Research (Camb.)** 93:77–87.

LOBATO, J.F.P.; MAGALHÃES, F.R. Comportamento reprodutivo de vacas primíparas aos 24 e 36 meses de idade.**Arquivos da Faculdade de Veterinária - UFRGS** v.29, n.2, p.139-146, 2001.

MARTIN, L. C., J. S. BRINKS, R. M. BOURDON, AND L. V. CUNDIFF. 1992. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. **J. Anim. Sci**. 70:4006-4017.

MCKAY, S.D., SCHNABEL, R.,D., MURDOCH, B.M., MATUKUMALLI, L.K., AERTS, J., COPPIETERS, W., CREWS, D., NETO, E.D., GILL, C.A., GAO, C., MANNEN, H., WANG, Z., VAN TASSELL, C. P., WILLIAMS, J. L., TAYLOR, J.F., MOORE, S.S,. An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. **BMC Genetics**. 9, Special section, 1-9, 2008.

MERCADANTE, M.E.Z., LOBO, R.B., OLIVEIRA, H.N. Estimativas de (co)variância entre características de reprodução e de crescimento em fêmeas de um rebanho Nelore**. Revista Brasileira de Zootecnia**, 29, 997-1004, 2000.

MERCADANTE, M.E.Z.; PACKER, I.U.; RAZOOK, A.G.; CYRILLO J.N.S.G.; FIGUEIREDO, L.A. Direct and correlated responses to selection for yearling weight on reprodutive performance of Nelore cows. **Journal of Animal Science**,v.81, p.376-384, 2003.

MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E. 1996 The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. **Genetics Selection Evolution**. 28: 161–176.

MEUWISSEN, T.H.E., HAYES, B.J., GODDARD, M.E. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. **Genetics**, 157, 1819-1829, 2001.

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

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**, 124, 342-355, 2007.

MONSALVES, F. M. **Valor econômico e impacto da seleção para precocidade reprodutiva de fêmeas na raça Nelore.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, FCAV, 2008.

MUIR, W.M., WONG, G.K., ZHANG,Y., WANG, J., GROENEN, M.A.M., CROOIJMANS, R. P.M.A., MEGENS, H.J., ZHANG, H., OKIMOTO, R., VEREIJKEN, A., JUNGERIUS, A., ALBERS, G.A.A., LAWLEY, C.T., DELANY, M.,E., MACEACHERNE, S., CHENG, H.H. Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 105, 17312-17317, 2008.

NEWMAN, S.; MORRIS, C. A.; BAKER, R. L. Genetic improvement of beef cattle in New Zealand: breeding objectives. **Livestock Production Science**, v. 32, p. 111–130, 1992.

NUNEZ-DOMINGUEZ R., CUNDIFF G.E., L.V., DICKERSON GREGORY K.E., KOCHR.M. Lifetime production of beef heifers calving first at two vs three years ofage. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3467-3479, 1991.

OLIVEIRA, J.F.C., NEVES, J.P.I, ALMEIDA, E.A., STEIGLEDER, C.S., MORAES, J.C.F., GONÇALVES, P.B D., WEIMER, T.A. Association between reproductive traits and four microsatellites in Brangus-Ibagé cattle. **Genetics and Molecular Biology**, 28, 1, 54-59, 2005

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**, 29, 1676-1683, 2000.

PEREIRA, J.C.C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 4. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2004.

PEREIRA, M.C.; SILVA, J.A.IIV. e ALBUQUERQUE, L.G. Estimativas de parâmetros genéticos da reconcepção de novilhas Nelore utilizando inferência Bayesiana. In: REUNIÓN LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL, 20, 2007, Cuzco. **Anais...** Cuzco: Asociacion Latinoamericana de Produccion Animal, 2007.

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**, 29, 1676-1683, 2000.

PHOCAS, F. et al Developing a breeding objective for a French purebred beef cattle selection programme **Livestock Production Science**, v.57, p. 49-65, 1998

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

RESENDE M. F. R. JR., MUÑOZ P., RESENDE M. D. V., GARRICK D. J.,FERNANDO R. L., et al., 2012 Accuracy of genomic selection methods in a standard dataset of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.). **Genetics 190**: 1503–1510.

ROVIRA, J. (Ed). Reproduccion y manejo de los rodeos de cria. Montevideo:Hemisferio Sur, 1974. 293p.

SCHNABEL, R.D., SONSTEGARD, T.S., TAYLOR, J.F, ASHWELL, M.S. Whole-genome scan to detect QTL for milk production,conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. **Animal Genetics**, v.36, p408-416, 2005.

SHERMAN, E.L., NKRUMAH, J.D, MOORE, S.S. Whole Genome SNP associations with feed intake and feed efficiency in beef cattle. **Journal Animal Science** first published on September 11, 2009.

SILVA, J.A.IIV.; VAN MELIS, M. H.; ELER, J.P. et al. Heritability for subsequent rebreeding in Nelore cows estimated with bayesian inference. **In: WCGALP, 7,** Montpellier, França. 2002.

SILVA, J.A.V.; VAN MELIS, M.H.; ELER, J.P. E FERRAZ, J.B.S. Estimação de parâmetros genéticos para probabilidade de prenhez aos 14 meses e altura na garupa em bovinos da raça nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 32, 1141-1146, 2003.

SNELLING, W. M., R. A. CUSHMAN, M. R. FORTES, A. REVERTER, G. L. BENNETT, J. W. KEELE, L. A. KUEHN, T. G. MCDANELD, R. M. THALLMAN, AND M. G. THOMAS. 2012. Physiology and Endocrinology Symposium: How single nucleotide polymorphism chips will advance our knowledge of factors controlling puberty and aid in selecting replacement beef females**. Journal of Animal Science.** 90:1152-1165.

SOLBERG, T.R.; SONESSON, A.K.; WOOLLIAMS, J.A.; MEUWISSEN, T.H.E. Genomic selection using different marker types and densities. **Journal of Animal Science**, 86, 2447-2454, 2008.

SONSTEGARD, T.S., MA, L., COLE, J. B., WIGGANS, G.R., CROOKER, B.A., VAN TASSELL, C.P., MARIANI, B.D.D, DA, Y. Genome signature of artificial selection for high milk yield in holstein cattle. In: PLANT & ANIMAL GENOMES CONFERENCE, 17., 2009. San Diego, CA. **Proceedings…** San Diego: Neuveden, 2009, 474.

TERAKADO, A. P. N. **Associações genéticas entre perímetro escrotal e características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

TIBSHIRANI, R. Regression shrinkage and selection via the Lasso. **Journal of the Royal Statistical Society B** 58:267–288. 1996.

SCHROOTEN, C., BOVENHUIS, H., COPPIETERS, W., VAN ARENDONK, J.A. Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.795-806, 2000.

SCHROOTEN, C., BOVENHUIS, H., VAN ARENDONK, J.A.M.; BIJMA, P. Genetic Progress in Multistage Dairy Cattle Breeding Schemes Using Genetic Markers. **Journal of Dairy Science**, 88, 1569–1581, 2005.

VAN MELIS, M. H.**;** OLIVEIRA, H. N.; ELER, J. P. et al. Additive genetic relationship of longevity with fertility and production traits in Nellore cattle based on bivariate models **Genetics and Molecular Research,** v.9, p.176-187, 2010.

WEIMER, T.A., STEIGLEDER. C.S., MACHADO, M.S., ALMEIDA, S.E.M., OLIVEIRA, J.F. C., MORAES J.C.F., HENKES, L.E. Identification of molecular markers on bovine chromosome 18 associated to calving interval in a Brangus-Ibagé cattle herd**. Ciência Rural,** 37, 1502-1505, 2007.

WHITTAKER, J.C., THOMPSON, R., VISSCHER, P.M. Marker-assisted selection using ridge regression. **Genetics Research**, 75, 249-252, 2000.

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

YI, N., XU, S. Bayesian LASSO for Quantitative Trait Loci Mapping. **Genetics**, 179, 1045-1055, 2008.

ZENGER, K.R., KHATKAR, M.,S., CAVANAGH, J.A.L., HAWKEN, R.J., RAADSMA, H.W. Genome-wide genetic diversity of Holstein Friesian cattle reveals new insights into Australian and global population variability, including impact of selection**. Animal Genetics**, 38, 7-14, 2006.

CAPÍTULO 2 - Estudo de associação genômica ampla com características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore por inferência Bayesiana

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi identificar regiões do genoma bovino que mais influenciam as características idade ao primeiro parto (IPP) e reconcepção de primíparas (REC) em fêmeas da raça Nelore usando um chip de SNPs de alta densidade. Foram utilizados dados de 1853 fêmeas pertencentes à Agropecuária Jacarezinho LTDA. A genotipagem foi realizada utilizando-se o painel BovineHD BeadChip de alta densidade (777.962 SNPs), segundo o protocolo da Illumina - Infinium® II Assay Multi-Sample, com o aparelho HiScan™SQ System. Após o controle de qualidade dos dados genômicos, 305.348 SNPs foram utilizados para as análises de associação genômica. Foi utilizada a metodologia BAYESCπ para estimação dos efeitos dos SNPs. Foram considerados significativos os SNPs com Bayes Factor (BF) maior que 150. O número de SNPs significativos foi de 42 para REC e 19 para IPP. Os conjuntos de SNPs associados às características reconcepção de fêmeas primíparas e idade ao primeiro parto explicaram, respectivamente, 11,32% e 6,42% da variância fenotípica destas características. Os resultados deste trabalho irão contribuir para o desenvolvimento de painéis específicos para animais da raça Nelore, considerando as características reconcepção de fêmeas primíparas e idade ao primeiro parto.

Palavras-chave: associação genômica ampla; BAYESCπ; idade ao primeiro parto; reconcepção de fêmeas primíparas.

GENOME WIDE ASSOCIATION STUDY WITH REPRODUCTIVE TRAITS IN NELLORE HEIFERS USING BAYESIAN INFERENCE

ABSTRACT: The aim of this study was to identify regions of the bovine genome that influence the traits age at first calving (AFC), and heifers rebreeding (HR) in Nellore females using a high density chip of SNPs. Data from 1853 females belonging to the Agricultural Jacarézinho LTDA were uses. Genotyping was performed using the BovineHD BeadChip high density chip (777,962 SNPs) according to the protocol of Illumina - Infinium Assay II ® Multi-Sample HiScan with the unit SQ ™ System. After the quality control of genomic data, 305,348 SNPs were used for analyzes of genome-wide association. BAYESCπ methodology was used to estimate the SNPs effects. SNPs with Bayes Factor (BF) greater than 150 were considered significant. The number of significant SNPs was 42 and 19 for HR and AFC, respectively. The sets of SNPs associated with HR and AFC explained, respectively, 11.35% and 6.42% of the phenotypic variance of these traits. The results of this work will contribute to the functional genomics estudies.

Keywords: BAYESCπ; age at first calving; genome-wide association; heifers rebreeding.

INTRODUÇÃO

A produção de carne bovina em regiões tropicais é baseada, principalmente, em raças de origem zebuína que são mais adaptadas ao clima e resistentes a parasitas que as taurinas. Um dos componentes que aumenta o custo de produção é o início tardio da vida reprodutiva das fêmeas zebuínas. Brummati et al. (2011) verificaram que, para bovinos de corte em sistemas de produção tropicais, as características reprodutivas possuem alto valor econômico, sendo até treze vezes mais importantes que as de crescimento e carcaça. Antecipar o início do ciclo reprodutivo traz benefícios econômicos ao produtor e uma maior rentabilidade.

No Brasil, os programas de melhoramento genético têm dado ênfase, essencialmente, às características de crescimento e desenvolvimento ponderal e pouca atenção tem sido dada às características reprodutivas de bovinos de corte, apesar da grande influência que estas exercem na produtividade e eficiência reprodutiva dos rebanhos (Boligon e Albuquerque, 2011; Formigoni et al., 2005; Shiotsuki et al., 2009). De acordo com Evans (2003) as fêmeas em idade reprodutiva representam cerca de 70% dos custos do sistema de produção de bovinos de corte.

A reconcepção de fêmeas primíparas é um dos grandes problemas da bovinocultura de corte. Estudos reportam perdas de significativas de prenhez entre o primeiro e segundo parto (Fahmy, 1971; Rovira, 1974 e Gottschall et al., 2008). Mercadante et al. (2003) analisaram animais da raça Nelore e reportaram reduções de até 20% da primeira para a segunda concepção. Portanto, melhorias nas taxas de reconcepção das novilhas poderão elevar a eficiência econômica da pecuária de corte.

Por se tratar de uma característica de fácil mensuração e por ser boa indicadora de precocidade sexual de fêmeas a idade ao primeiro parto tem sido incluída como objetivo de seleção em programas de melhoramento genético (Dias et al., 2004). Entretanto, selecionar diretamente para menor idade ao primeiro parto não é simples, pois alguns produtores atrasam a entrada das fêmeas na reprodução, determinando idade ou peso para início da vida reprodutiva, o que dificulta a identificação das fêmeas sexualmente precoces. Além disso, esta característica, geralmente, apresenta estimativas de herdabilidade de magnitudes baixas a moderadas (0,09 a 0,28) (Mercadante et al., 2000; Pereira et al., 2000; Dias et al.,

2004a; Boligon et al., 2010), sendo que, na maioria dos estudos, as estimativas de herdabilidade para esta característica são baixas, indicando que a resposta à seleção para idade ao primeiro parto pode ser lenta.

As características reprodutivas de fêmeas são medidas em somente um dos sexos, são mensuradas tardiamente e, em geral, possuem baixa herdabilidade. Desta forma, para avaliação genética dos animais com um nível de acurácia satisfatório é necessário um grande número de indivíduos mensurados. A seleção genômica pode trazer benefícios para a avaliação dessas características reprodutivas, pois permite aumentar a acurácia de avaliação e diminuir o intervalo de gerações por meio da inclusão da informação genotípica nos modelos de avaliação (Snelling et al., 2012).

De acordo com Peters et al. (2012), estudos de associação entre SNPs provenientes de painéis de alta de densidade e características de interesse econômicos (GWAS) possuem muitas aplicações práticas, por exemplo, detecção de QTLs e construção de bibliotecas de genes. Esses estudos são úteis também para se conhecer a estrutura genética da população e para posterior aplicação de seleção genômica e seleção assistida por marcadores. Inicialmente, GWAS eram realizadas pela metodologia de quadrados mínimos, aplicando-se correção de Bonferroni para se fazer inferências sobre QTLs a partir de efeitos individuais de SNPs. Os maiores problemas enfrentados com essa metodologia são as altas taxas de falso-positivos e a superestimação dos efeitos de QTLs e dos SNPS. Uma alternativa para lidar com esses problemas é a estimação de efeitos dos SNPs por inferência Bayesiana, onde todos os SNPs são considerados nas análises simultaneamente. Diferentes alternativas têm sido usadas, entre elas, a estimação e associação de janelas de SNPs (Boddicker et al., 2011, Peters et al., 2012) ou dos SNPs individualmente (Liu et al., 2012)

O objetivo desse trabalho foi identificar as regiões do genoma bovino que mais influenciam as características idade ao primeiro parto (IPP) e reconcepção de primíparas (REC) em fêmeas da raça Nelore usando um painel de SNPs de alta densidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados fenotípicos

Foram utilizados dados de fêmeas da raça Nelore pertencentes à Agropecuária Jacarezinho LTDA. Nesta fazenda duas estações de monta com duração aproximada de 70 dias são realizadas. Na estação de monta antecipada, que ocorre entre os meses de fevereiro e abril, com duração de aproximadamente 60 dias, novilhas entre 14-16 meses de idade são expostas precocemente. Todas as novilhas são expostas à reprodução independente do peso e da condição corporal. São utilizadas inseminação artificial, monta controlada ou reprodutores múltiplos, com uma relação touro:vaca de 1:30. A verificação de prenhez ocorre, aproximadamente, 60 dias após o término da estação de monta antecipada. Novilhas que não concebem nesta estação são expostas à reprodução novamente aos dois anos de idade. Os critérios de descarte de fêmeas são: falha reprodutiva até os dois anos de idade, falha da vaca em um ano, baixa avaliação de desempenho de progênies e, uma pequena percentagem, por sanidade. Próximo à data provável de parição, as fêmeas são levadas aos piquetes de maternidade. Após o parto, os bezerros são separados por sexo e idade e, juntamente com suas respectivas mães, são transferidos para outra pastagem e permanecem juntos até o desmame. Após os sete meses de idade, os bezerros são desmamados e reagrupados, permanecendo juntos até o sobreano (18 meses de idade).

A característica reconcepção de fêmeas primíparas (REC) é uma característica binária e foi definida atribuindo-se o valor 2 (sucesso) ou valor 1 (fracasso) para as fêmeas que pariram ou não pariram, respectivamente, dado que elas já haviam tido um primeiro parto. Idade ao primeiro parto (IPP), medida em dias, foi obtida pela diferença entre a data do primeiro parto e a data de nascimento da novilha.

A definição de grupo de contemporâneos (GC) para REC foi: fazenda, ano e estação de nascimento da vaca e sexo do bezerro. Foram eliminados GC sem variabilidade para a REC, ou seja, aqueles em que todos os animais apresentaram a mesma categoria de resposta (1 ou 2).

Para IPP, o GC foi constituído por fazenda, ano e estação de nascimento e grupos de manejo ao nascimento, desmama e sobreano. Dados fenotípicos fora dos

intervalos dados pela média do GC mais ou menos três desvios-padrão também foram excluídos. Para ambas as características, GC com menos de 4 observações foram excluídos.

Dados genotípicos

Foram genotipadas 1853 fêmeas nascidas entre 2007 e 2009, utilizando-se painel de alta densidade Illumina Bovine HD assay (Illumina, San Diego, CA, USA). Foram considerados apenas SNPs localizados nos autossomos. O controle de qualidade dos SNPs foi realizado iterativamente, utilizando os seguintes critérios: genecall score maior que 0,70; Call Rate superior a 0,98; minor allele frequency maior que 0,02; p-value para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) maior que 10^{-5}. Também foram excluídos SNPs altamente correlacionados ($r^2 > 0,995$), mantendo-se apenas um de cada grupo. Finalmente, as amostras com Call rate inferior a 0,90 foram excluídas da análise. O processo foi repetido até que nenhum SNP nem amostras fossem excluídos, resultando em uma base de dados final de 1853 novilhas com 305.348 SNPs considerados.

Análise dos dados

As estimativas dos efeitos dos SNPs foram feitas utilizando-se a metodologia BAYESCπ (Habier et al., 2011). Nessa metodologia, o efeito dos SNPs têm uma variância comum, seguindo uma chi-quadrado invertida escalonada *a priori*, com v_g graus de liberdade e um parâmetro de escala S_g^2. Sendo assim, o efeito de um SNP utilizado com probabilidade (1-π) é uma mistura de distribuições t de Student $t(0, v_g, S_g^2)$. Nesse estudo, foi atribuído o valor 4 ao parâmetro v_g, e S_g^2 foi calculado a partir da variância genética aditiva, de acordo com Habier et al. (2011).

As análises foram realizadas utilizando o software GS3 desenvolvido por Legarra et al. (2011) e disponível em http://snp.toulouse.inra.fr/~alegarra. Foram utilizadas 300.000 iterações MCMC, com período de burn-in de 30.000 com resultados salvos a cada 30 ciclos.

As variáveis dependentes utilizadas nas análises foram os fenótipos observados das características REC e IPP. Todas as fêmeas com genótipo e fenótipo disponíveis foram utilizadas aplicando-se o seguinte modelo:

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{Xb} + \boldsymbol{Zu} + \boldsymbol{Wg} + \boldsymbol{e},$$

em que **y** é o vetor de fenótipos; $\boldsymbol{X}$ é uma matriz de incidência dos efeitos sistemáticos; $\boldsymbol{b}$ é o vetor de efeitos sistemáticos; $\boldsymbol{Z}$ é uma matriz de incidência dos efeitos poligênicos; $\boldsymbol{u}$ é um vetor aleatório dos efeitos poligênicos de todos os indivíduos no pedigree; $\boldsymbol{W}$ é uma matriz (n x p) que consiste dos genótipos de *p* marcadores SNP para cada um dos n animais; $\boldsymbol{g}$ é um vetor aleatório de efeitos de SNP; $\boldsymbol{e}$ é um vetor de efeitos residuais. Para as duas características foi considerado o efeito sistemático de GC. Para REC foi considerado como covariável, o efeito linear do período de descanso (número de dias pós-parto até o início da segunda estação de monta). Para a distribuição *a priori* da variância residual, assumiu-se uma chi-quadrado invertida com 4 graus de liberdade.

Para se avaliar a significância dos SNPs sobre as características, calculou-se o Bayes Factor (BF), aplicando-se a seguinte fórmula:

$$BF = \frac{(\frac{p}{1-p})}{(\frac{\pi}{1-\pi})} \ ,$$

em que *p* é a probabilidade *a posteriori* de um SNP ser incluído da análise e π é a probabilidade *a priori* de um SNP ser incluído na análise. Foram considerados significativos os SNPs com estimativas de BF maior que 150 (Varona et al., 2001).

Identificação dos genes

Para a identificação dos genes mais próximos aos SNPs significativos foi utilizada a ferramenta Map Viewer do genoma bovino disponível no NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9913&build=6.1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de SNPs cujos BF foram maiores que 150 foi de 42 para REC e 19 para IPP (Figuras 1 e 2). Todos SNPs significativos para IPP também o foram para REC (Tabela 1). Esperava-se que isso acontecesse, pois ambas as características são indicadoras de eficiência reprodutiva em bovinos de corte e devem ser controladas, pelo menos em parte, pelos mesmos grupos de genes.

Os 42 SNPs que foram significativos para REC estão localizados em 35 regiões no genoma, distribuídas em 18 cromossomos, sendo que, dessas regiões, 27 são genes codificadores de proteínas, seis são pseudogenes e dois são "miscellaneous" RNA (miscRNA). Entende-se por pseudogene, uma sequência nucleotídica similar a um gene normal, mas que não se expressa. Por definição, miscRNA são misturas de pequenas sequências de RNA que desempenham diversas funções após sua formação.

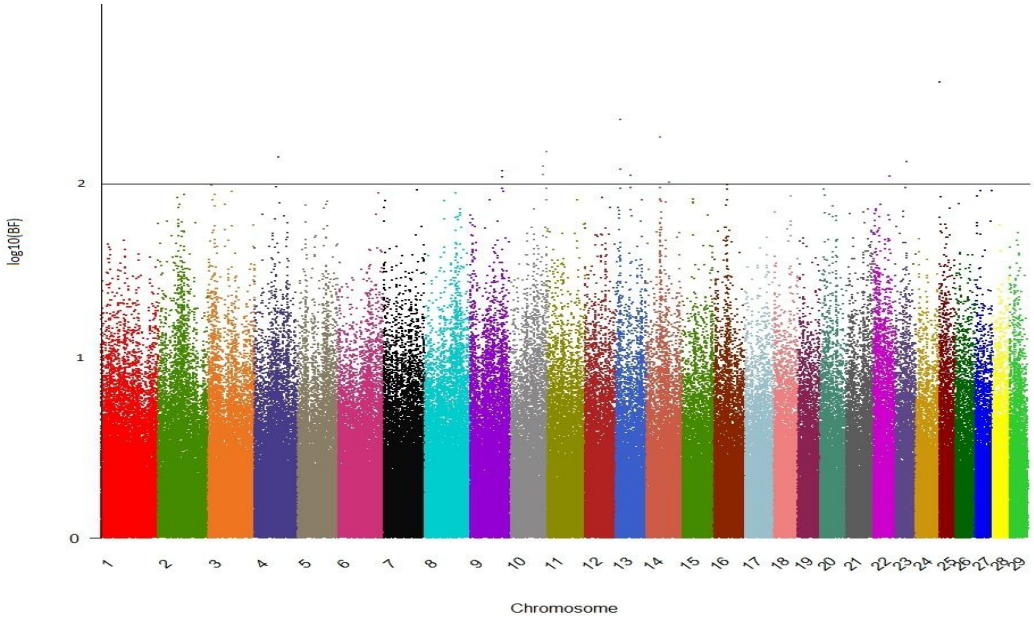

Figura 1. Manhattan plot para idade ao primeiro parto. O eixo y representa o valor do logaritmo na base 10 do Bayes Factor. O número de cada cromossomo está indicado no eixo x.

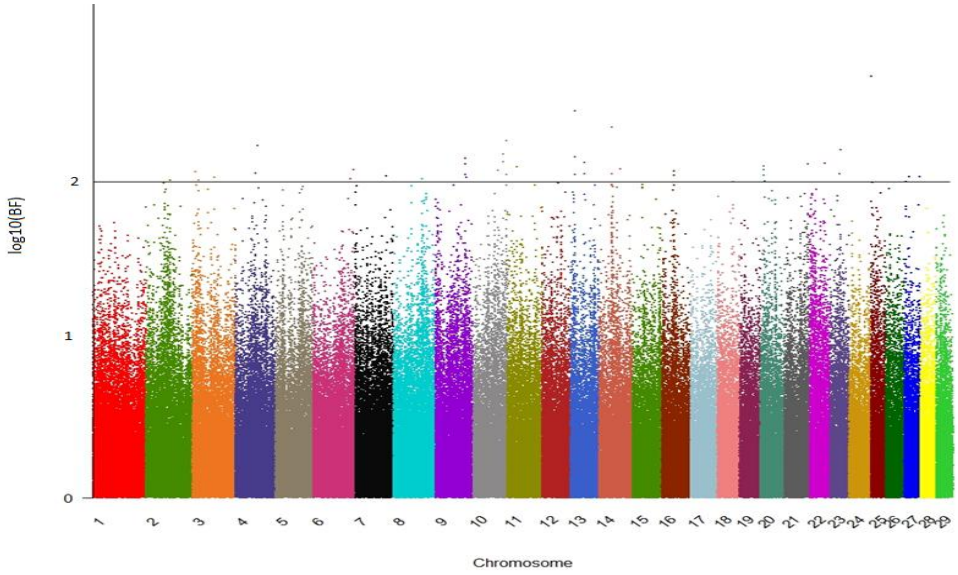

Figura 2. Manhattan plot para reconcepção de fêmeas primíparas. O eixo y representa o valor do logaritmo na base 10 do Bayes Factor. O número de cada cromossomo está indicado no eixo x.

Essas regiões podem ser agrupadas de acordo com a função metabólica que desempenham no organismo. Assim, podem-se classificá-las em grupos de genes que atuam na formação e fisiologia do sistema nervoso central (LOC781274, NEUROD6, GPR98, GALC, MIR124A-2, MAPK8IP3, RBFOX1 e ODZ3); na formação e fisiologia do sistema reprodutor em fêmeas (FMRD3, CYP7B1, LOC782102); no metabolismo de lipídeos (ELOVOL5); no crescimento ósseo (DDR2 e COL24A1); como receptores olfativos (LOC514434) e no metabolismo basal (LOC787257, ADAM22, LOC100295124, LOC100847971, LOC785763, SEL1L, HAAO, KIF16B, CAMK1D, ARMC4, SDCCAG8, LOC783434, GTF2H2, OCLN, LOC529061, LOC529061, FHIT, LOC782601). Estes últimos atuam nas mais diferentes vias metabólicas que incluem: sinalização entre células, síntese e transporte de proteínas, transporte de oxigênio, proliferação e sobrevivência de células, processo de transcrição e metabolismo de nucleotídeos e histonas, transporte e formação de membrana celular e seus receptores, etc.

Genes que atuam na formação e fisiologia do sistema nervoso central têm seu papel na reprodução, pois influenciam na formação, diferenciação e comunicação dos neurônios e na síntese de hormônios reprodutivos do eixo hipotálamo-hipófise, agindo na cascata de hormônios que coordena o ciclo estral em

fêmeas. Assim, as regiões do genoma aqui apresentadas são candidatas à seleção assistida por marcadores por motivos biológicos inerentes à fisiologia animal. Fortes et al. (2010), Fortes et al.(2011), Fortes et al. (2012) e Hawken et al. (2012) detectaram outros genes que pertencem a este mesmo grupo, isto é, que atuam sobre o sistema nervoso central, associados a características de puberdade e fertilidade em zebuínos da raça Brahman e compostos tropicais.

Da mesma forma, genes que atuam na formação e fisiologia do sistema reprodutor feminino devem afetar o início do ciclo estral, a concepção, a prenhez e sua manutenção e o parto. Os genes deste grupo detectados nesse estudo, em geral, atuam na formação de tecidos específicos e síntese de hormônios. Destaca-se, como exemplo, o gene LOC782102 que forma a estrutura do óvulo responsável pela atração do espermatozoide. Assim, polimorfismos nesse gene poderiam tornar a proteína mais ou menos funcional para atrair o gameta masculino, facilitando ou dificultando uma prenhez.

O metabolismo de lipídeos está intimamente relacionado à reprodução (Long, 1985). De acordo com esses autores, em bovinos leiteiros, o sucesso da reconcepção pós-parto deve-se ao fato de o animal ter reserva de gordura acumulada no organismo que o possibilite ciclar novamente. No período pós-parto, vacas leiteiras entram em balanço energético negativo e mobilizam gordura corporal para a produção de leite, visto que não conseguem atender a toda demanda energética somente via alimentação. Portanto, a presença de alelos favoráveis de genes ligados ao metabolismo energético pode estar ligado a um melhor desempenho reprodutivo. Podem-se citar muitos genes ligados ao metabolismo de gordura e, consequentemente, reprodução em bovinos leiteiros (Clempson et al 2011a, Clempson et al 2011b).

Em bovinos de corte, esse mecanismo também foi comprovado, pois genes dessa via metabólica foram identificados nesse e em outros estudos (Fortes et al., 2010).

Tabela 1. SNPs significativos para as características reconcepção de fêmeas primíparas e idade ao primeiro parto. (*) Indica SNPs em comum para as duas características.

SNP	BTA	Posição no cromossomo	gene	Distância
BovineHD0200019275	2	66.618.544	LOC781274	32.131
BovineHD0300002153	3	6.820.316	DDR2	0
BovineHD0300004387	3	13.529.885	LOC787257	97.632
BovineHD0300017549	3	58.324.511	COL24A1	0
BovineHD0400035711	4	65.529.242	NEUROD6	36.652
BovineHD0400020154*	4	72.761.718	ADAM22	0
BovineHD0700027122	7	92.796.302	GPR98	0
BovineHD0800023325	8	77.860.555	FRMD3	32.334
BovineHD0900024229*	9	86.427.969	LOC784274	58.945
BovineHD0900024233*	9	86.443.282	LOC784274	74.258
BovineHD0900024387*	9	86.9312.92	SASH1	0
BovineHD0900024630*	9	87.622.468	LOC100847971	132.138
BovineHD1000022473	10	78.547.946	LOC785763	83.898
BovineHD1000027195*	10	94.149.370	SEL1L	184.234
BovineHD1000027196*	10	94.150.213	SEL1L	185.077
BovineHD1000029149*	10	100.682.598	GALC	50.483
BovineHD1000029156	10	100.692.866	GALC	40.215
BovineHD1100007588	11	25.331.444	HAAO	129.881
BovineHD1300002848*	13	10.469.479	KIF16B	230.839
BovineHD1300003397*	13	12.043.707	CAMK1D	83.121
BovineHD1300003401	13	12.047.548	CAMK1D	86.962
BovineHD1300010715*	13	37.037.785	ARMC4	0
BovineHD1300010716	13	37.041.136	ARMC4	0
BovineHD1400008910*	14	30.847.011	MIR124A-2	31.490
BovineHD1400008946*	14	30.992.834	CYP7B1	0
BovineHD1400015365*	14	54.735.529	LOC782102	1.572.261
BovineHD1600009851	16	34.426.540	SDCCAG8	0
BovineHD1600009861	16	34.439.744	SDCCAG8	0
BovineHD1800012552	18	42.481.407	LOC783434	109.417
BovineHD2000003208*	20	10.148.419	GTF2H2	0
BovineHD2000003210	20	10.153.352	OCLN	1.557
BovineHD2000003214	20	10.160.002	OCLN	0
BovineHD2000003968	20	12.416.566	LOC529061	0
BovineHD2100018913	21	64.294.259	LOC100847341	592.456
BovineHD2200012027*	22	41.764.132	FHIT	0
BovineHD2300006979	23	25.155.638	ELOVL5	104
BovineHD2300008276*	23	29.144.150	LOC514434	0
BovineHD2500000286*	25	1.323.539	MAPK8IP3	0
BovineHD2500001186*	25	5.120.120	RBFOX1	297.144
BovineHD2700001047	27	3.081.686	LOC782601	69.309
BovineHD2700003551	27	12.300.159	ODZ3	56.728
BovineHD2700012809	27	44.150.097	ZNF385D	0

O crescimento, evidentemente, influencia a reprodução, pois animais que possuem maior massa corporal são mais tardios sexualmente (Silva et al., 2003). Genes relacionados ao crescimento já foram relacionados à fertilidade e puberdade em zebuínos e compostos tropicais (Hawken et al 2012 e Fortes et al 2012) e corroboram os resultados encontrados aqui para genes relacionados ao crescimento ósseo.

No presente estudo muitos genes relacionados ao metabolismo basal e celular mostraram associação significativa com ambas as características. Isto pode ser explicado pelo fato desses genes atuarem em vários tecidos afetando o desenvolvimento celular e corporal como um todo e assim contribuindo para o desempenho geral. Pode-se aventar a hipótese de que esses genes tenham um efeito pleiotrópico importante já que não são tecido-específicos e atuam nas mais diversas células do corpo e em várias vias metabólicas. Neste grupo de genes, encontra-se, por exemplo, o gene SDCCAG8 que age no centríolo, organela responsável pela formação dos fusos cromossomais na divisão celular. Mutações nesse gene podem afetar tanto o processo de mitose como de meiose. Assim, erros na formação de gametas em número e constituição dos cromossomos podem ocorrer levando a infertilidade e dificuldade de reprodução.

Existem evidências que os animais escolhem seus parceiros para reprodução, com base nos genes do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), que atuam no sistema imunológico, de forma que os parceiros tenham alelos diferentes dos seus (Yamazaki et al., 1978; Eklund, 1997; Penn e Potts, 1998). Isto mantém a variabilidade genética da progênie, garantindo a viabilidade da espécie. O reconhecimento dos alelos do MHC é feito por odores exalados por cada indivíduo em mecanismo não muito bem esclarecido. Assim, a capacidade de sentir esses odores vem do sistema olfativo e seus receptores. Cabe aqui uma reflexão de que, na atualidade, por causa da inseminação artificial (IA), os animais não têm oportunidade de escolha dos parceiros podendo levar a uma possível redução na variabilidade dos genes do MHC, afetando a imunidade. Assim, a realização de testes genéticos para identificação destes alelos do MHC pode ser utilizada para planejamento dos acasalamentos, priorizando as melhores combinações para esses

loci. Por fim, é importante considerar que muitos desses genes ainda não têm função nem expressão plenamente conhecidas.

Os resultados obtidos nesse estudo em relação à localização cromossômica são semelhantes aos de vários trabalhos publicados na literatura envolvendo associações entre SNPs e características reprodutivas. Sahana et al. (2010) encontraram SNPs afetando características de fertilidade na maioria dos cromossomos de fêmeas da raça Danish e Swedish. Os SNPs foram associados ao índice de fertilidade para prenhez, ao intervalo da primeira à última inseminação em vacas, ao número de inseminações por concepção em vacas e ao intervalo do parto à primeira inseminação. Schulman et al. (2011) relataram um SNP significativo no cromossomo BTA1 e no cromossomo BTA4, associados, respectivamente, às características número de inseminação e taxa de não retorno ao parto, em novilhas da raça Finnish Ayrshire. Pausch et al. (2011) descreveram três SNPs significativos para facilidade de parto em fêmeas da raça Fleckvieh no cromossomo BTA21. Hawken et al. (2011) encontraram SNPs significativos (P<0,001) nos cromossomos BTA6 e BTA21 para intervalo de anestro pós-parto e nos cromossomos BTA6, BTA17 e BTA21 para a primeira ovulação pós-parto antes do desmame, em animais da raça Brahman.

Os resultados do presente estudos divergem dos relatados por Fortes et al. (2012). Os autores encontraram SNPs significativamente associados à idade à puberdade em novilhas Brahman apenas no cromossomo BTA14.

É importante ressaltar que os 42 SNPs juntos explicaram 11,35% (Tabela 2) da variância fenotípica da característica REC e os 19 SNPs significativos para IPP explicaram 6,42% (Tabela 3) da variância fenotípica dessa característica. Com esses resultados é possível gerar um painel específico para animais da raça Nelore.

Tabela 2. SNPs significativos para a característica reconcepção de fêmeas primíparas, percentagem da variância fenotípica explicada pelo SNP (%VP) e percentagem acumulada (%VPA).

SNP	BTA	%VP	%VPA
BovineHD1000022473	10	1,45	1,45
BovineHD0900024233	9	1,25	2,70
BovineHD1400008910	14	1,08	3,78
BovineHD0300017549	3	1,02	4,80
BovineHD1600009861	16	0,69	5,49
BovineHD1000029156	10	0,55	6,04
BovineHD1300002848	13	0,37	6,41
BovineHD1300010716	13	0,37	6,78
BovineHD2500001186	25	0,35	7,13
BovineHD1400015365	14	0,34	7,47
BovineHD2700003551	27	0,31	7,78
BovineHD1600009851	16	0,3	8,08
BovineHD2000003210	20	0,27	8,35
BovineHD2200012027	22	0,26	8,61
BovineHD2300006979	23	0,25	8,86
BovineHD2000003214	20	0,24	9,10
BovineHD1300003397	13	0,22	9,32
BovineHD1300010715	13	0,22	9,54
BovineHD2700012809	27	0,21	9,75
BovineHD1400008946	14	0,19	9,94
BovineHD0900024387	9	0,17	10,11
BovineHD1300003401	13	0,16	10,27
BovineHD0900024630	9	0,15	10,42
BovineHD2000003208	20	0,15	10,57
BovineHD2700001047	27	0,09	10,66
BovineHD0800023325	8	0,08	10,74
BovineHD0900024229	9	0,08	10,82
BovineHD1000029149	10	0,08	10,9
BovineHD0700027122	7	0,07	10,97
BovineHD0300004387	3	0,05	11,02
BovineHD0400020154	4	0,05	11,07
BovineHD1000027195	10	0,05	11,12
BovineHD1800012552	18	0,05	11,17
BovineHD1000027196	10	0,04	11,21
BovineHD2500000286	25	0,04	11,25
BovineHD0200019275	2	0,03	11,28
BovineHD2000003968	20	0,03	11,31
BovineHD1100007588	11	0,02	11,33
BovineHD0300002153	3	0,01	11,34
BovineHD0400035711	4	0,01	11,35
BovineHD2100018913	21	0	11,35
BovineHD2300008276	23	0	11,35

Tabela 3. SNPs significativos para a característica idade ao primeiro parto, percentagem da variância fenotípica explicada pelo SNP (%VP) e percentagem acumulada (%VPA).

SNP	BTA	%VP	%VPA
BovineHD0900024233	9	1,02	1,02
BovineHD1400008910	14	0,82	1,84
BovineHD2500001186	25	0,82	2,66
BovineHD1000029149	10	0,61	3,27
BovineHD0900024630	9	0,52	3,79
BovineHD1300010715	13	0,51	4,30
BovineHD2500000286	25	0,37	4,67
BovineHD1300003397	13	0,25	4,92
BovineHD2000003208	20	0,22	5,14
BovineHD0400020154	4	0,21	5,35
BovineHD1000027195	10	0,21	5,56
BovineHD0900024229	9	0,15	5,71
BovineHD1300002848	13	0,14	5,85
BovineHD1400015365	14	0,14	5,99
BovineHD2200012027	22	0,12	6,11
BovineHD2300008276	23	0,09	6,20
BovineHD1400008946	14	0,08	6,28
BovineHD0900024387	9	0,07	6,35
BovineHD1000027196	10	0,07	6,42

CONCLUSÕES

Para a característica reconcepção de fêmeas primíparas foi encontrado um conjunto de 42 SNPs significativos que explica 11,35% da variância fenotípica.

Para a característica idade ao primeiro parto foi encontrado um conjunto de 19 SNPs que explica 6,42% da variância fenotípica.

Os resultados deste estudo auxiliarão na condução de estudos de genômica funcional.

REFERÊNCIAS

BODDICKER N., WAIDE E., ROWLAND R., LUNNEY J., GARRICK D., REECY J. & DEKKERS J. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. **Journal of Animal Science**,2011.

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

BRUMATTI, R. C. FERRAZ, R. C., ELER, J. P. Desenvolvimento de índices de seleção em gado de corte sob enfoque de um modelo bioeconômico. **Archivos de Zootecnia,** v.60, p. 205-213, 2011.

CLEMPSON, A. M. et al Polymorphisms in the autosomal genes for mitochondrial function TFAM and UCP2 are associated with performance and longevity in dairy cows. **Animal**, p.1-9, 2011a

CLEMPSON, A. M. et al Evidence that leptin genotype is associated with fertility, growth, and milk production in Holstein cows. **Journal Dairy Science,** v.94, p.3618–3628, 2011b.

EKLUND, A. The major histocompatibility complex and mating preferences in wild house mice. **Behavioral Ecology** 8, 630–634, 1997.

EVANS, A.C.O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Animal Reproduction Science**, 78:289-306, 2003.

FORMIGONI, I.B.; FERRAZ, J.B.S.; SILVA, J.A.II.V. et al. Valores econômicos para habilidade de permanência e probabilidade de prenhez aos 14 meses em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.220-226, 2005.

FORTES, M. R. S. et al. Association weight matrix for the genetic dissection of puberty in beef cattle. **PNAS**, v.107, p. 13642–13647, 2010.

FORTES, M. R. S. et al. A single nucleotide polymorphism-derived regulatory gene network underlying puberty in 2 tropical breeds of beef cattle. **Journal of Animal Science,** v.89, p.1669–1683, 2011.

FORTES, M. R. S. et al. The IGF1 pathway genes and their association with age of pubertyin cattle. **Animal Genetics** 44, 91–95, 2012.

HABIER, D., R. L. FERNANDO, K. KIZILKAYA, AND D. J. GARRICK. Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics** 12:186. 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**, 2011.

LONG, D. R. Lipid Utilization during Reproduction in Female *Kinosternon flavescens*. **Herpetologica**, 41 (1), 58-65, 1985.

LEGARRA, A., C. ROBERT-GRANIE, P. CROISEAU, F. GUILLAUME, AND S.FRITZ.. Improved Lasso for genomic selection. **Genetics Research. (Camb.)** 93:77–87, 2011.

MERCADANTE, M.E.Z.; PACKER, I.U.; RAZOOK, A.G.; CYRILLO J.N.S.G.; FIGUEIREDO, L.A. Direct and correlated responses to selection for yearling weight on reprodutive performance of Nelore cows. **Journal of Animal Science**,v.81, p.376-384, 2003.

NEWMAN, S.; MORRIS, C. A.; BAKER, R. L. Genetic improvement of beef cattle in New Zealand: breeding objectives. **Livestock Production Science**, v. 32, p. 111–130, 1992.

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.

PENN, D.J., POTTS, W.K. MHC-disassortative mating preferences reversed by cross-fostering. **Biological Sciences** 265, 1299–1306, 1998.

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**, 29, 1676-1683, 2000.

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 analyses of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, 2012.

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

SCHULMAN N.F., SAHANA G., ISO-TOURU, T., McKAY, S.D., SCHNABEL, R.D., LUND M.S., TAYLOR, J.F., VIRTA, J., VIKKI, J.H. Mapping of fertility traits in Finnish Ayrshire by genome-wide association analysis. **Genetics Selection Evolution**, v.42, p.263-269, 2011.

SHIOTSUKI, L., SILVA, J.A.V., TONHATI, H., ALBUQUERQUE, L.G. Genetic associations of sexual precocity with growth traits and visual scores of conformation,

finishing, and muscling in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v.87, p.1591-1597, 2009.

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

SILVA, J.A.V.; VAN MELIS, M.H.; ELER, J.P. E FERRAZ, J.B.S. Estimação de parâmetros genéticos para probabilidade de prenhez aos 14 meses e altura na garupa em bovinos da raça nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 32, 1141-1146, 2003.

SNELLING, W. M., R. A. CUSHMAN, M. R. FORTES, A. REVERTER, G. L. BENNETT, J. W. KEELE, L. A. KUEHN, T. G. MCDANELD, R. M. THALLMAN, AND M. G. THOMAS. 2012. Physiology and Endocrinology Symposium: How single nucleotide polymorphism chips will advance our knowledge of factors controlling puberty and aid in selecting replacement beef females**. Journal of Animal Science.** 90:1152-1165.

VANDERHAEGHEN, P., S. SCHURMANS, G. VASSARTANDM. PARMENTIER. Olfactory receptors are displayed on dog mature sperm. **Journal of Cell Biology.** 123: 1441–1452, 1993.

VARONA, L., L. A. GARCIA-CORTES, AND M. PEREZ-ENCISO. Bayes factor for detection of quantitative trait loci. **Genetics Selection Evolution**. 33:133–152, 2001.

YAMAZAKI, K., YAMAGUCHI, M., BOYSE, E. A. Mating preference tests with recombinant congenic strain BALB. HTG*. **Immunogenetics** 6, 261–264, 1978.

CAPÍTULO 3 – Comparação de metodologias de predição de valores genômicos para características reprodutivas de fêmeas da raça nelore

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi verificar a qualidade de predições genômicas para características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore. Foram utilizados dados de 1853 fêmeas pertencentes à Agropecuária Jacarezinho LTDA. A genotipagem foi realizada utilizando-se o painel BovineHD BeadChip de alta densidade (777.962 SNPs), segundo o protocolo da Illumina - Infinium® II Assay Multi-Sample, com o aparelho HiScan™SQ System. Após o controle de qualidade dos dados genômicos, 305.348 SNPs foram utilizados para as análises seleção genômica. Foram utilizados três modelos para estimação dos efeitos dos marcadores: melhor estimador linear não viesado (GBLUP), , BAYESCπ e Improved Bayesian least absolut shrinkage and selection operator (IBLASSO). As definições de variável dependente foram: a medida direta do fenótipo; fenótipo corrigido, valor genético e valor genético desregredido. As habilidades de predição das diferentes metodologias aplicadas nesse estudo foram estimadas pela correlação média entre os (pseudo)fenótipos observados e preditos nas populações de validação. As correlações entre (pseudo)fenótipos e GEBV também foram calculados e utilizados como indicadores de acurácia de predição dos modelos. Os coeficientes de regressão dos (pseudo)fenótipos sobre os GEBVs na população de treinamento foram calculados e considerados como indicadores de viés de predição do GEBV. A metodologia BAYESCπ foi mais adequada para estivação dos efeitos dos SNPs e dos valores genômicos para todas as características estudadas. A estimação dos valores genômicos utilizando a medida direta do fenótipo como variável dependente levou a estimativas mais acuradas dos valores genômicos.

Palavras-chave: dias para o primeiro parto, idade ao primeiro parto, ocorrência de prenhez precoce; reconcepção de fêmeas, valor genômico.

COMPARISON OF METHODS OF PREDICTION OF GENOMIC BREEDING VALUES FOR REPRODUCTIVE TRAIS IN NELLORE HEIFERS

ABSTRACT: The objective of this study was to assess the quality of genomic predictions for reproductive traits in Nellore females. Data from 1853 females belonging to the Agopecuária Jacarézinho LTDA were used. Genotyping was performed using the high density (777,962 SNPs) BovineHD BeadChip according to the protocol of Illumina - Infinium Assay II ® Multi-Sample HiScan with the unit SQ ™ System. After the quality control of genomic data, 305,348 SNPs were used for genomic selection analyzes. Three models were used to estimate the effects of the markers: best linear unbiased estimator (GBLUP), BAYESCπ, and Improved Bayesian least absolut shrinkage and selection operator (IBLASSO). The definitions of the dependent variable were the direct measurement of the phenotype; corrected phenotype, breeding value and deregressed breeding value. The predictive abilities of the different methodologies used in this study were estimated by the average correlation between observed and predicted (pseudo) phenotypes in the validation population. Correlations between (pseudo) phenotypes and GEBV were also calculated and used as indicators of the accuracy of prediction of the models. The regression coefficients of the (pseudo) phenotypes on GEBVs in the training population were calculated and considered as indicators of bias of prediction of GEBV. The methodology BAYESCπ was more suitable for estimation of the effects of SNPs and genomic values for all traits. The estimation of genomic values using the direct measurement of the phenotype as dependent variable led to more accurate estimates of the genomic values.

Keywords: age at first calving, days to first calving, genomic value, heifers rebreeding, occurrence of early pregnancy.

INTRODUÇÃO

As características ligadas à reprodução influenciam diretamente a rentabilidade dos sistemas de produção de gado de corte. Tanto quantidade de produtos disponível para ser enviada ao mercado e, como o intervalo de gerações e a intensidade de seleção, dependem das taxas reprodutivas do rebanho. Além de influenciar a taxa de ganho genético, a manutenção das matrizes é um componente importante dos custos de produção, que aumentam à medida que as taxas reprodutivas do rebanho diminuem (Massière, 2009).

Atualmente, os programas de melhoramento de gado de corte para as raças zebuínas no Brasil, têm incluído algumas características indicadoras de precocidade sexual, como perímetro escrotal, idade ao primeiro parto e prenhez precoce. Entretanto, dentre estas características, apenas o perímetro escrotal é considerado em vários índices de seleção empregados nos diversos programas de melhoramento, por se tratar de uma característica de fácil mensuração e com magnitude de herdabilidade de média a alta (Boligon et al., 2007; Van Melis et al., 2010; Laureano et al., 2011). Entretanto, em vários trabalhos com bovinos da raça Nelore, tem-se estimado baixas correlações genéticas do perímetro escrotal com algumas características reprodutivas de fêmeas, tais como idade ao primeiro parto (Pereira et al., 2000; Boligon et al., 2007), prenhez precoce (Meirelles et al., 2009; Van Melis et al., 2010), reconcepção (Pereira, 2008) e dias para o parto (Pereira et al., 2000; Pereira, et al., 2002). Assim, seleção somente para perímetro escrotal pode não ser uma estratégia eficiente quando se busca melhoria no desempenho reprodutivo do rebanho.

No melhoramento genético tradicional, a predição do valor genético é realizada utilizando apenas as observações fenotípicas de cada animal e o pedigree, sem nenhum conhecimento da arquitetura genética das características selecionadas. A seleção genômica que foi proposta por Meuwissen et al. (2001), baseia-se no uso de um conjunto denso de marcadores SNPs, que cobre todo o genoma, para predição do valor genômico. A seleção genômica comparada à tradicional, permite a obtenção de predições dos valores genéticos (genômicos) com maior acurácia, principalmente, para as características que se expressam em um único sexo, de alto custo de mensuração e/ou que sejam de baixa herdabilidade,

como é o caso das características reprodutivas. Além disto, possibilita a seleção de animais mais jovens com consequente diminuição do intervalo de gerações (Schaeffer, 2006).

Desde a proposta de Mewissen et al. (2001), uma série de metodologias, sejam de caráter frequentista ou Bayesiano, surgiram com o propósito de se estimar efeitos dos marcadores. São exemplos dessas metodologias: “ridge regression” (Whittaker et al., 2000); GBLUP (Meuwissen et al., 2001) e inferência Bayesiana utilizando vários tipos de distribuições *a priori* para os efeitos e variâncias dos SNPs (Meuwissen et al., 2001; Xu, 2003; Yi e Xu, 2008). Segundo Resende et al. (2012), para se obter um método adequado para a seleção genômica, este deve considerar três condições: 1) acomodar a arquitetura genética da característica em termos de genes de pequenos e grandes efeitos e suas distribuições; 2) realizar a regularização do processo de estimação em presença de multicolinearidade e grande número de marcadores; 3) realizar a seleção de covariáveis (marcadores) que afetam a característica em análise.

Hayes et al. (2009), em estudo de simulação, mostraram que a metodologia GBLUP apresenta acurácia similar à de outros métodos mais complexos, sendo vantajosa porque a única informação *a priori* necessária é uma estimativa da variância genética da característica em questão. Além disso, os autores relataram que a inclusão do efeito poligênico no modelo é importante para capturar e selecionar QTLs de baixa frequência não capturados pelos marcadores.

Entre os métodos Bayesianos, Habier et al. (2011) relataram que o método BAYESCπ apresenta a vantagem de propiciar informação sobre a arquitetura genética da característica e identificar as posições de QTLs por modelagem da frequência de SNPs não nulos. Já o método do Improved Bayesian LASSO (IBLASSO) é vantajoso em relação aos métodos bayesianos como BAYESA e BAYESB, por ser livre de informação *a priori*. Enquanto que no LASSO original, uma moda conjunta é estimada e espera-se que a maioria dos marcadores tenham efeitos iguais a zero (Usai et al., 2009), no BLASSO são estimadas médias *a posteriori*, produzindo valores diferentes de zero.

O objetivo desse trabalho foi comparar metodologias para predição de valores genéticos a partir de dados genômicos, utilizando diferentes definições de pseudo-

fenótipos, visando à seleção genômica para características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados fenotípicos

Para este estudo foram utilizados dados de fêmeas da raça Nelore provenientes da Agropecuária Jacarezinho LTDA. A estação de monta para vacas tem início em torno da segunda quinzena do mês de novembro com duração de, aproximadamente, 70 dias. Para as novilhas de 14 a 16 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. Os sistemas de acasalamentos utilizados são: inseminação artificial; monta controlada e reprodutor múltiplo, com relação touro:vaca de 1:30.

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. As fêmeas são descartadas seguindo os seguintes critérios: ausência de concepção até dois anos de idade; falha da vaca em um ano; progênie com baixo desempenho e sanidade.

A característica reconcepção de novilhas primíparas (REC) é uma característica binária e foi definida atribuindo-se o valor 2 (sucesso) ou valor 1 (fracasso) para as novilhas que pariram ou não pariram, respectivamente, dado que elas já haviam parido anteriormente. A característica ocorrência de prenhez precoce (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 foi atribuído o valor 2 (sucesso) e, àquelas que falharam o valor 1 (fracasso). A idade ao primeiro parto (IPP), medida em dias, foi obtida pela diferença entre a data do primeiro parto e a data de nascimento da fêmea.

Para REC, o grupo de contemporâneos (GC) foi definido por fazenda, ano e estação de nascimento da vaca, sexo do bezerro. Para P16, o GC foi definido por

fazenda, ano e estação de nascimento. Foram eliminados GC sem variabilidade para a REC e P16, ou seja, aqueles em que todos os animais apresentaram a mesma categoria de resposta (1 ou 2).

Para a IPP, o GC foi constituído por fazenda, ano e grupo de manejo ao nascimento, desmama e ao sobreano.

Para todas as características, GC com menos de 4 observações foram excluídos. Para a IPP, dados fenotípicos fora dos intervalos dados pela média do GC mais ou menos três desvios-padrão também foram excluídos.

População de treinamento e dados genotípicos

Foram utilizadas fêmeas nascidas entre 2007 e 2009, que foram genotipadas utilizando o painel de SNPs de alta densidade Illumina Bovine HD assay (Illumina, San Diego, CA, USA). O controle de qualidade dos genótipos foi realizado de forma iterativa, seguindo os critérios de inclusão:

- SNPs autossômicos;
- genecall score (GS) > 0,70;
- Call Rate (CR) > 0,98;
- minor allele frequency (MAF) > 0,02;
- p-value para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) > 10^{-5};
- SNPs altamente correlacionados ($r^2 < 0,995$).

Amostras com CR inferiores a 0,90 também foram eliminadas da análise. O processo foi repetido até que nenhum SNP nem amostra fossem excluídos, resultando em um conjunto de dados final de 1.853 novilhas, com 305.348 SNPs.

Análise dos dados

Foram utilizadas três metodologias para estimação dos efeitos dos marcadores: melhor estimador linear não viesado (GBLUP), BAYESCπ e Improved Bayesian least absolut shrinkage and selection operator (IBLASSO). Quatro definições de variável dependente (pseudo-fenótipos) foram empregados: medida direta do

fenótipo (fen), fenótipos pré-corrigidos para as soluções BLUE (Best Linear Unbiesed Estimator) das equações de modelos mistos (fenc); valores genéticos diretos (ebv) e valores genéticos desregredidos (ebvd), seguindo a metodologia descrita por Garrick et al. (2009).

Quando a medida direta do fenótipo foi utilizada, o seguinte modelo foi aplicado:

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{Xb} + \boldsymbol{Zu} + \boldsymbol{Wg} + \boldsymbol{e},\ (1)$$

em que,

y é o vetor de fenótipos; **X** é uma matriz de incidência dos efeitos sistemáticos para BAYESCπ e IBLASSO, ou de efeitos fixos para GBLUP; $\boldsymbol{b}$ é o vetor de efeitos sistemáticos para BAYESCπ e IBLASSO, ou de efeitos fixos para GBLUP; *Z* é uma matriz de incidência dos efeitos poligênicos; $\boldsymbol{u}$ é um vetor aleatório dos efeitos poligênicos de todos os indivíduos no pedigree; $\boldsymbol{W}$ é uma matriz (n x p) que consiste nos genótipos de *p* marcadores SNP para cada um dos n animais; $\boldsymbol{g}$ é um vetor aleatório de efeitos de SNP; $\boldsymbol{e}$ é um vetor de efeitos residuais.

Para REC foi considerado o efeito sistemático de GC e, como covariável, o período de descanso (efeito linear), definido como o número de dias pós-parto até o início da segunda estação de monta. Para P16 foi considerado o efeito sistemático de GC e, como covariável (efeito linear) a idade da fêmea na entrada da estação de monta. Para IPP foi considerado o efeito sistemático de GC.

Quando o fenótipo corrigido (fenc) foi utilizado como variável dependente, aplicou-se o modelo:

$$\boldsymbol{y} = \mu\mathbf{1} + \boldsymbol{Zu} + \boldsymbol{Wg} + \boldsymbol{e},\ (2)$$

em que,

y é o vetor de pseudo-fenótipos e μ é a média geral.

Para as demais definições de pseudo-fenótipo (EBV e dEBV), o seguinte modelo foi utilizado:

$$\boldsymbol{y} = \mu\mathbf{1} + \boldsymbol{Wg} + \boldsymbol{e},\ (3)$$

As análises foram realizadas utilizando o software GS3 desenvolvido por Legarra et al (2011) e disponível em http://snp.toulouse.inra.fr/~alegarra. Foram

utilizadas 300.000 iterações MCMC, com período de burn-in de 30.000 e os resultados eram salvos a cada 30 ciclos.

GBLUP

Para esta metodologia, assumiu-se que $\mathbf{g \sim N(0, G\sigma^2_g)}$ onde $\mathbf{\sigma^2_g}$ é a variância genética aditiva, e G é a matriz genômica com informação dos marcadores. As frequências alélicas utilizadas para construir G foram calculadas a partir dos genótipos observados. Com relação aos efeitos residuais, assumiu-se que $\mathbf{e \sim N(0, D\sigma^2_e)}$ onde $\mathbf{\sigma^2_e}$ é a variância residual e **D** é uma matriz diagonal.

BAYESCπ

Esta metodologia foi proposta por Habier et al. (2011). Neste caso, os efeitos dos SNPs têm uma variância comum, seguindo uma distribuição chi-quadrado invertida escalonada *a priori*, com v_g graus de liberdade e um parâmetro de escala S_g^2. Sendo assim, o efeito de um SNP utilizado com probabilidade (1-π) é uma mistura de distribuições t de Student $t(0, v_g, S_g^2)$. Assume-se que o parâmetro π tem uma distribuição uniforme (0,1) a priori. Nesse estudo, foi atribuído o valor 4 ao parâmetro v_g, e S_g^2 foi calculado a partir da variância genética aditiva, de acordo com Habier et al. (2011).

Improved Bayesian LASSO

O modelo IBLASSO (proposto por Tibshirani, 1996 e modificado por Legarra et al., 2011) consiste em dividir as fontes de variação em um termo puramente residual (σ_e^2) e um devido aos SNP (σ_g^2). É um modelo hierárquico, no qual as variâncias individuais de cada SNP são modeladas seguindo uma distribuição exponencial. Para a implementação do IBLASSO, seguiu-se a metodologia proposta por Legarra et al. (2011).

Assumiu-se que:

$$\boldsymbol{g}|\lambda \sim \prod_j \frac{\lambda}{2}\exp\left(-\lambda\left|g_j\right|\right) \quad \text{e} \quad \boldsymbol{e}|\sigma_e^2 \sim MVN(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma_e^2),$$

em que,

λ é o parâmetro “sharpness”, com *priori* vaga, sendo uniforme entre 0 e 1.000.000. A parametrização consiste em estimar as variâncias individuais dos SNPs, condicional à regularização do parâmetro λ (VanRaden, 2008).

Estimação de valores genômicos

A partir das soluções dos efeitos dos marcadores estimados pelos diferentes modelos, os GEBV foram calculados utilizando-se a seguinte fórmula:

$$GEBV_i = \sum_{j=1}^{p} X_{ij}\hat{a}_j \ ,$$

em que,

X_{ij}é o genótipo marcador do indivíduo *i* para o marcador *j*, e $\hat{a}_j$ é o efeito estimado do marcador *j*.

Validação dos modelos

Foi aplicada a metodologia *10-fold* para realizar a validação cruzada dos modelos. Para isso, foi feita uma subamostragem aleatória de tamanho fixo para todos os modelos. Os animais genotipados foram divididos em dois subgrupos. O primeiro grupo continha 90% dos animais e foi utilizado para estimar os efeitos dos SNPs. O segundo grupo, que continha 10% dos animais, teve seus (pseudo)fenótipos estimados com base nos efeitos estimados dos SNPs na população de treinamento. Repetiu-se então esse processo por 10 vezes, utilizando-se diferentes conjuntos de validação, até que todos os animais tivessem seus fenótipos preditos (Legarra et al., 2008, Verbyala et al., 2010; Resende et al., 2012)

Comparação dos modelos

Foram utilizados três critérios para comparação dos modelos: 1) as habilidades de predição GEBV a partir dos fenótipos ajustados foram estimadas pela correlação média entre os fenótipos ajustados e GEBVs preditos com as diferentes metodologias, nas populações de validação; 2) as habilidades de predição dos GEBVs a partir dos valores genéticos desregredidos foram estimados pela correlação média entre os ebvd e GEBVs, preditos com as diferentes metodologias,

nas populações de validação; 3) o viés de predição do GEBV foi obtido pelo coeficiente de regressão dos fenótipos ajustados sobre os GEBVs preditos, com as diferentes metodologias, nas populações de validação. Valores próximos a 1 denotam ausência de viés (Meuwissen et al., 2001).

A similaridade entre os GEBVs obtidos com as diferentes metodologias, foi avaliada pela correlação entre os GEBVs. Para isto, foram utilizados os GEBVs obtidos utilizando a medida direta do fenótipo como variável dependente.

RESULTADOS

Habilidade de predição de GEBV baseado no fenótipo corrigido

Neste estudo foram avaliadas três metodologias de estimação de efeitos de SNPs e GEBVs, sendo uma com abordagem frequentista (GBLUP) e duas com abordagem Bayesiana (BAYESCπ e lBLASSO). A habilidade de predição foi medida pela correlação entre os fenótipos observados e fenótipos preditos (Tabela 1). Valores variando de 0,20 a 0,27 foram estimados para a característica REC, e de 0,26 a 0,31 para IPP. Para estas duas características, observou-se uma tendência de superioridade da metodologia BAYESCπ. Quando o fenótipo corrigido para efeitos fixos foi usado como variável dependente, as metodologias IBLASSO e BAYESCπ apresentaram a mesma habilidade de predição. Maiores habilidades de predição foram encontradas para P16, que variaram de 0,52 a 0,61. Em todos os casos, a metodologia BAYESCπ apresentou uma sutil superioridade. A habilidade de predição é diretamente proporcional à magnitude da herdabilidade da característica. Após teste de hipóteses, no qual a hipótese nula era de que todas as habilidades eram iguais, concluiu-se que as estimativas de desse parâmetro não foram significativamente diferentes entre as metodologias.

Tabela 1. Habilidade de predição do GEBV com base nos fenótipos ajustados, de acordo com as metodologias GBLUP, IBLASSO e BAYESCπ.

Característica	y	Herdabilidade	GBLUP	IBLASSO	BAYESCπ
REC	fen	0,18	0,24	0,26	0,27
	fenc		0,22	0,24	0,24
	ebv		0,20	0,21	0,23
	ebvd		0,20	0,21	0,23
IPP	fen	0,20	0,29	0,31	0,31
	fenc		0,27	0,30	0,30
	ebv		0,26	0,27	0,28
	ebvd		0,26	0,27	0,28
P16	fen	0,51	0,54	0,57	0,61
	fenc		0,52	0,55	0,55
	ebv		0,52	0,52	0,53
	ebvd		0,53	0,52	0,53

REC: reconcepção de fêmeas primíparas;
IPP: idade ao primeiro parto;
P16: ocorrência de prenhez precoce;
fen: medida direta do fenótipo;
fenc: fenótipo ajustado;
ebv: valor genético;
ebvd: valor genético desregredido.

Acurácia de predição

As correlações entre os ebvd e GEBVs foram utilizadas como estimativas da habilidade de predição de GEBV baseado no valor genético desregredido (Tabela 2). As estimativas variaram de 0,27 a 0,39 para REC, de 0,37 a 0,46 para IPP e de 0,51 a 0,62 para P16. Independente da definição de pseudo-fenótipo, BAYESCπ foi a metodologia mais acurada para estimação de GEBVs para todas as características estudadas. No que diz respeito à decisão de qual pseudo-fenotipo utilizar para estimação de GEBVs, os resultados indicam que a medida direta do fenótipo é a melhor definição.

Tabela 2. Habilidade de predição e GEBV baseado nos valores genéticos desregredidos para as metodologias GBLUP, IBLASSO e BAYESCπ.

Y		GBLUP	IBLASSO	BAYESCπ
REC	fen	0,33	0,34	0,39
	fenc	0,29	0,34	0,37
	ebv	0,27	0,33	0,35
	ebvd	0,27	0,33	0,35
IPP	fen	0,42	0,42	0,46
	fenc	0,38	0,39	0,42
	ebv	0,38	0,39	0,41
	ebvd	0,37	0,39	0,41
P16	fen	0,55	0,59	0,62
	fenc	0,54	0,57	0,58
	ebv	0,51	0,55	0,58
	ebvd	0,52	0,55	0,58

REC: reconcepção de fêmeas primíparas;
IPP: idade ao primeiro parto;
P16: ocorrência de prenhez precoce;
fen: medida direta do fenótipo;
fenc: fenótipo ajustado;
ebv: valor genético;
ebvd: valor genético desregredido.

Viés de predição

O coeficiente de regressão dos (pseudo)fenótipos sobre os GEBVs foram estimados e utilizados com indicadores de viés de predição das metodologias. Valores acima de 1 indicam subestimação dos GEBVs e abaixo de 1 indicam superestimação. Os valores encontrados para todos os modelos e para todas as definições de pseudo-fenótipos seguiram a mesma tendência. Verificou-se uma tendência de superestimação dos GEBVs quando se utilizou com definição de pseudo-fenótipo o EBV e o EBVd. Entretanto, foi realizado um teste de hipóteses, onde a hipótese nula

era de que os coeficientes de regressão eram iguais à unidade. Aceitou-se a hipótese nula em todos os casos, indicando que estimativas de GEBVs não são tendenciosas.

Tabela 3. Coeficiente de regressão dos EBVs sobre os GEBVs estimados por GBLUP, IBLASSO e BAYESCπ.

Y		GBLUP	IBLASSO	BAYESCπ
REC	fen	0,92	0,89	0,96
	fenc	0,87	0,92	0,87
	ebv	1,21	1,32	1,20
	ebvd	1,02	1,15	1,20
IPP	fen	0,84	1,25	0,87
	fenc	0,88	1,14	0,81
	ebv	1,21	1,34	1,26
	ebvd	1,11	1,12	1,20
P16	fen	0,82	0,69	0,78
	fenc	0,84	0,89	0,81
	ebv	1,19	1,24	1,25
	ebvd	1,09	1,09	1,17

REC: reconcepção de fêmeas primíparas;
IPP: idade ao primeiro parto;
P16: ocorrência de prenhez precoce;
fen: medida direta do fenótipo;
fenc: fenótipo ajustado;
ebv: valor genético;
ebvd: valor genético desregredido.

Similaridade entre GEBVs estimados pelas diferentes metodologias

Apesar das diferenças em acurácias de predição entre os modelos, os coeficientes de correlação entre os GEBV estimados por diferentes modelos foram de alta magnitude (Tabela 4), indicando que a mudança na classificação dos animais, baseada nos seus GEBV, deve ser mínima entre as metodologias IBLASSO e GBLUP, para todas as características, pois o coeficiente de correlação foi praticamente igual a 1,0. Entretanto, mudanças maiores no que diz respeito à

classificação dos animais são esperadas entre as metodologias BAYESCπ com GBLUP e IBLASSO, pois as correlações entre as estimativas de GEBVs estimadas por essas metodologias, apesar de altas, foram menores, variando de 0,81 à 0,91.

Tabela 4. Correlações entre G*EBV estimados utilizando-se diferentes modelos para reconcepção e fêmeas primíparas (REC), idade ao primeiro parto (IPP) e ocorrência de prenhez precoce (P16).

METODOLOGIAS	REC	IPP	P16
GBLUB x IBLASSO	0,99	0,97	0,99
GBLUP x BAYESCπ	0,89	0,88	0,91
IBLASSO x BAYESCπ	0,90	0,81	0,90

REC: reconcepção de fêmeas primíparas;
IPP: idade ao primeiro parto;
P16: ocorrência de prenhez precoce.

DISCUSSÃO

Neste estudo, três metodologias de estimação de efeitos de SNPs e GEBVs (GBLUB, lBLASSO, BAYESCπ) foram avaliadas seguindo os critérios: habilidade de predição de GEBVs baseada no fenótipo ajustado, habilidade de predição baseada no valor genético desregredido e viés de predição para quatro características reprodutivas de fêmeas (REC, IPP e P16) de um rebanho da raça Nelore. Em todos os critérios, as metodologias foram bastante semelhantes em todos os critérios analisados. De maneira geral, a metodologia BAYESCπ gerou estimativas de GEBV mais acuradas para todas as características.

Estudos anteriores reportaram superioridade do modelo GBLUP sobre modelos de seleção de variáveis como é o caso dos modelos BAYESCπ e lBLASSO (Hayes et al., 2009; Luan et al., 2009; Legarra et al., 2011). Entretanto, outros estudos encontraram que maiores acurácias de predição são esperadas nos modelos que se utilizam de seleção de variáveis (Resende et al., 2012). Segundo estes últimos autores, isso aconteceria pelo fato desses modelos diminuírem o problema de se analisar um número muito maior de marcadores que o número de

animais genotipados, isto é, super ou subestimação dos efeitos dos SNPs por problemas de multicolinearidade.

Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com Hayes et al. (2009) que, em estudo de simulação, concluíram que a acurácia de predição dos modelos para seleção genômica é dependente da própria característica. Solberg et al. (2008) e Clark et al. (2011) relataram que a superioridade esperada dos modelos de seleção de variáveis sobre a metodologia GBLUP é raramente verificada quando dados reais são utilizados, contrariando os resultados do presente estudo. Cabe ressaltar que, apesar da pequena superioridade do modelo BAYESCπ, os modelos IBLASSO e GBLUP apresentaram praticamente a mesma habilidade de predição. Luan et al. (2009) utilizando dados de características produtivas e reprodutivas de bovinos da raça Norwegian Red, concluíram que a metodologia utilizada para estimação dos efeitos de marcadores, para posterior estimação de GEBV, é altamente dependente da característica analisada. Os autores mostraram que, para características relacionadas à produção e qualidade de leite, o modelo GBLUP foi ligeiramente mais apropriado para estimação de GEBV. E, como no presente estudo, para a característica reprodutiva facilidade de parto, modelos bayesianos foram superiores. Colombani et al. (2013) compararam diferentes modelos (GBLUP, IBLASSO e BAYESCπ) para estimar GEBV para produção de leite, porcentagem de gordura e taxa de concepção em bovinos da raça Holandesa e Montbéliard. Para as características relativas à produção e qualidade do leite, os modelos bayesianos apresentaram pequena superioridade. Com relação à característica reprodutiva, os autores concluíram que a metodologia GBLUP é mais apropriada para estimação de GEBV, conclusão esta que diverge dos resultados obtidos neste estudo.

As metodologias Bayesianas de seleção de marcadores, como é o caso da IBLASSO e BAYESCπ, oferecem uma suposição mais realista quanto à arquitetura genética da característica (VanRaden et al.,2009; Legarra et al., 2011).No presente estudo, que foi desenvolvido utilizando somente características reprodutivas, espera-se que as mesmas apresentem arquiteturas genéticas similares. A superioridade dos modelos IBLASSO e BAYESCπ com relação à GBLUP para todas as características pode ser explicada por uma arquitetura genética mais simples, com poucos loci com efeitos maiores (Resende et al., 2012).

Em diversos estudos foi observado que apenas alguns SNPs possuem realmente um maior efeito sobre as características reprodutivas. Nos trabalhos de Clempson et al (2011a), Clempson et al (2011b) foi demonstrado que SNPs localizados em genes relacionados ao metabolismo de lipídeos foram associados à características reprodutivas em bovinos leiteiros. Estes resultados foram confirmados em bovinos de corte por Fortes et al. (2010). Hawken et al. (2012) e Fortes et al (2013) associaram SNPS localizados em genes relacionados ao crescimento à características reprodutivas. Costa (2013), trabalhando com o mesmo rebanho do presente estudo, encontraram 42 SNPs significativos para REC e 19 para IPP. Esses SNPs foram divididos nas seguintes classes, de acordo com suas funções fisiológicas: formação e fisiologia do sistema nervoso central; formação e fisiologia do sistema reprodutor em fêmeas; no metabolismo de lipídeos; no crescimento ósseo; receptores olfativos e no metabolismo basal. Os 42 SNPs juntos explicaram 11,35% da variância fenotípica da característica REC e os 19 SNPs significativos para IPP explicaram 6,42% da variância fenotípica dessa característica. Vale lembrar que estas características apresentam herdabilidades de baixa a moderada (são bastante influenciadas pelo ambiente), ou seja, uma pequena porção da variância fenotípica é explicada pela variância genética (Forni & Albuquerque, 2005, Boligon et al, 2012).

CONCLUSÕES

Em geral, os métodos Bayesianos mostraram maior habilidade e acurácia de predição que o GBLUP.

A metodologia BAYESCπ foi a mais adequada para estimação dos efeitos dos SNPs e dos valores genômicos para todas as características estudadas.

A estimação dos valores genômicos utilizando a medida direta do fenótipo como variável dependente levou a estimativas mais acuradas dos valores genômicos.

REFERÊNCIAS

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.

CLARK SA, HICKEY JM, DAETWYLER HD,VAN DER WERF JHJ: The importance of information on relatives for the prediction of genomic breeding values and the implications for the makeup of reference data sets in livestock breeding schemes. *Genetics Selection Evolution*, 44:4. 2012

CLEMPSON, A. M. et al Polymorphisms in the autosomal genes for mitochondrial function TFAM and UCP2 are associated with performance and longevity in dairy cows. **Animal**, p.1-9, 2011a

CLEMPSON, A. M. et al Evidence that leptin genotype is associated with fertility, growth, and milk production in Holstein cows. **Journal Dairy Science,** v.94, p.3618–3628, 2011b.

COLOMBANI, C. ET AL. Application of Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (Lasso) and BayesCπ methods for genomic selection in French Holstein and Montbéliarde breeds. J. Dairy Sci. 96 :575–591, 2013.

GARRICK, D. J., TAYLOR, J. F., FERNANDO, R. L. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. **Genetics Selection Evolution**, 41:55, 2009.

FORTES, M. R. S. et al. Association weight matrix for the genetic dissection of puberty in beef cattle. **PNAS**, v.107, p. 13642–13647, 2010.

FORTES, M. R. S. et al. The IGF1 pathway genes and their association with age of pubertyin cattle. **Animal Genetics** 44, 91–95, 2012.

HABIER, D., R. L. FERNANDO, K. KIZILKAYA, AND D. J. GARRICK. Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics** 12:186. 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**, 2011.

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

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., C. ROBERT-GRANIE, E. MANFREDI, AND J. M. ELSEN. Performance of genomic selection in mice. **Genetics** 180: 611–618. 2008

LEGARRA, A., C. ROBERT-GRANIE, P. CROISEAU, F. GUILLAUME, AND S.FRITZ. 2011. Improved Lasso for genomic selection. **Genetics Research (Camb.)** 93:77–87.

LUAN, T. et al. The Accuracy of Genomic Selection in Norwegian Red Cattle Assessed by Cross-Validation. **Genetics** 183: 1119–1126 .2009.

MASSIÈRE, C. R. L**. Indicadores de eficiência produtiva, reprodutiva e econômica de sistemas de produção intensivo de leite do sul de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

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

MEUWISSEN, T.H.E., HAYES, B.J., GODDARD, M.E. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. **Genetics**, 157, 1819-1829, 2001.

PEREIRA, M. C. **Avaliação da reconcepção de fêmeas primíparas da raça Nelore**. 86 p. Tese (Genética e Melhoramento Animal)—Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2008.

PEREIRA, E.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Análise genética de características reprodutivas na raça Nelore. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, n. 5, p. 703–708, 2002.

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**, 29, 1676-1683, 2000.

RESENDE M. F. R. JR., MUÑOZ P., RESENDE M. D. V., GARRICK D. J.,FERNANDO R. L., et al., 2012 Accuracy of genomic selection methods in a standard dataset of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.). **Genetics 190**: 1503–1510.

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

SOLBERG, T.R.; SONESSON, A.K.; WOOLLIAMS, J.A.; MEUWISSEN, T.H.E. Genomic selection using different marker types and densities. **Journal of Animal Science**, 86, 2447-2454, 2008.

USAI, M. G.; GODDARD M. E.; HAYES, B. J. LASSO with cross-validation for genomic selection. **Genetics Research**, v. 91, n. 6, p. 427-36 Dec. 2009.

VAN MELIS, M. H.**;** OLIVEIRA, H. N.; ELER, J. P. et al. Additive genetic relationship of longevity with fertility and production traits in Nellore cattle based on bivariate models. **Genetics and Molecular Research**, v.9, p.176-187, 2010.

VANRADEN, P.M., C. P. VAN TASSELL, G.R.WIGGANS, T. S. SONSTEGARD, R. D. SCHNABEL et alInvited review: reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**. 92: 16–24, 2009

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

WHITTAKER, J.C., THOMPSON, R., VISSCHER, P.M. Marker-assisted selection using ridge regression. **Genetics Research**, 75, 249-252, 2000.

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

YI, N., XU, S. Bayesian LASSO for Quantitative Trait Loci Mapping. **Genetics**, 179, 1045-1055, 2008.