

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 26/04/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE MULTIVARIADA COM DADOS GENÔMICOS E
TRANSCRIPTÔMICOS PARA PERFIL DE ÁCIDOS
GRAXOS DA CARNE EM BOVINOS NELORE
TERMINADOS EM CONFINAMENTO**

Bianca Ferreira Olivieri

Bióloga

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE MULTIVARIADA COM DADOS GENÔMICOS E
TRANSCRIPTÔMICOS PARA PERFIL DE ÁCIDOS
GRAXOS DA CARNE EM BOVINOS NELORE
TERMINADOS EM CONFINAMENTO**

Bianca Ferreira Olivieri

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey

Coorientadores: Dra. Camila Urbano Braz

Dr. Fernando Brito Lopes

Dr. Marcos Vinícius Antunes de Lemos

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

2019

O49a Olivieri, Bianca Ferreira

 Análise multivariada com dados genômicos e transcriptômicos para perfil de ácidos graxos da carne em bovinos Nelore terminados em confinamento / Bianca Ferreira Olivieri. -- Jaboticabal, 2019

 67 p. : tabs. + 1 CD-ROM

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

 Orientador: Fernando Sebastián Baldi Rey

 Coorientadora: Camila Urbano Braz

 1. Zebu. 2. Genética animal. 3. Sequenciamento de nucleotídeos em larga escala. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ANÁLISE MULTIVARIADA COM DADOS GENÔMICOS E TRANSCRIPTÔMICOS PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE EM BOVINOS NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO

AUTORA: BIANCA FERREIRA OLIVIERI

ORIENTADOR: FERNANDO SEBASTIAN BALDI REY

COORDENADOR: MARCOS VINICIUS ANTUNES DE LEMOS

COORDENADORA: CAMILA URBANO BRAZ

COORDENADOR: FERNANDO BRITO LOPES

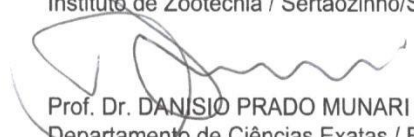
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



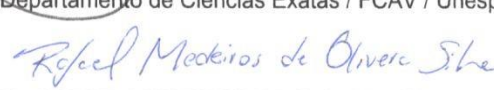
Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIAN BALDI REY
Departamento de Zootecnia / FCAV / Unesp - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. NEDENIA BONVINO STAFUZZA
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP



Prof. Dr. DANISIO PRADO MUNARI
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / Unesp - Jaboticabal



Dr. RAFAEL MEDEIROS DE OLIVEIRA SILVA
ZOETIS Brasil / São Paulo/SP



Pesquisadora Dra. ANA FABRÍCIA BRAGA MAGALHÃES
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Bianca Ferreira Olivieri – nascida no dia 22 de janeiro de 1989, na cidade de Guararapes, S.P. A autora possui Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – campus Três Lagoas, M.S., concluída em dezembro de 2011. Durante a graduação realizou estágio em Hemoglobinopatias e Talassemias no Laboratório de Genética Médica sob a supervisão da Profa. Dra. Glória Maria Gelle de Oliveira. Entre março 2012 e março de 2013, a autora ministrou aulas no Ensino Fundamental e Médio na Secretária de Ensino Estadual de São Paulo, no município de Guararapes, S.P. Em abril de 2013, autora mudou-se para Sertãozinho, S.P., onde iniciou estágio no Melhoramento Animal no Instituto de Zootecnia/ APTA – Bovinos de Corte, como bolsista CAPES, sob supervisão da pesquisadora Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante. Em março de 2014 ingressou na Pós-Graduação, no Mestrado em Genética e Melhoramento Animal na UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), campus Jaboticabal, como bolsista CAPES, sob a orientação do Prof. Dr. Fernando Baldi. Finalizou em julho de 2015 o Mestrado com a dissertação intitulada “Estudo de associação entre polimorfismos de base única com características de eficiência de conversão, consumo e desempenho em bovinos da raça Nelore”. E desde agosto de 2015 é aluna regular de Doutorado no Programa de Genética e Melhoramento Animal na UNESP – FCAV, como bolsista CAPES.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo direito a vida e por sempre me amparar nos momentos difíceis e pelas bênçãos durante toda minha caminhada acadêmica; e permitir a realização de mais esse sonho.

Ao meu orientador, prof. Dr. Fernando Baldi. Por todo ensinamento, oportunidades, incentivo, pelo grande exemplo de competência e produtividade e toda contribuição ao mundo científico.

Aos meus coorientadores Dra. Camila Urbano, Dr. Marcos Vinicius Antunes de Lemos e Dr. Fernando Brito, agradeço por todo auxílio e suporte para realização desse trabalho. E principalmente Dr. Camila por todos ensinamentos e paciência todo esse tempo.

Aos membros da banca examinadora da qualificação: Marcos Lemos, Nedenia Bonvino, Priscila Arrigucci e Mariana Berton por toda contribuição e disponibilidade.

Aos membros da banca examinadora da defesa: Danisio Munari, Nedenia Bonvino, Ana Fabrícia Magalhães e Rafael Medeiros por toda contribuição e disponibilidade.

Aos meus pais, por toda motivação, apoio e amor durante minha trajetória. Nada teria sentido sem vocês ao meu lado.

Ao Vinícius, pelo companheirismo, amor e toda paciência.

À toda minha família e amigos que me acompanharam durante todo período.

Aos meus queridos hermanos Fabieli, Mariana, Rafael, Marcos, Sabrina K, Elisa, Sabrina A., Juan, João e Gustavo muito obrigada pela partilha, companheirismo e auxílio.

Aos meus grandes amigos Ana Paula, Laiza, André, Laura, Cleisy e Naiara obrigada pelos anos de amizade compartilhada.

Aos Professores e todos os membros do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal agradeço por toda acolhida, suporte e ensinamentos.

À toda equipe da UNESP – FCAV Jaboticabal pelo suporte e toda estrutura oferecida. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE ABREVIACÕES.....	vii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	1
Ácidos graxos na carne bovina	3
Variabilidade genética do perfil de ácidos graxos na carne.....	5
Estudos de transcriptômica aplicados ao melhoramento do perfil de ácidos graxos	7
Análise de componentes principais	8
Estruturas Causais.....	10
OBJETIVOS.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
CAPÍTULO 2 – GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS IDENTIFICADOS COM VALORES EXTREMOS DE COMPONENTES PRINCIPAIS PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NA CARNE BOVINA DA RAÇA NELORE	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
Animais e fenótipos	24
Perfil de ácidos graxos	25
Quantificação de RNA (RNA-seq)	26
Alinhamento das sequências	26
Análise de Componentes Principais (PCA) e genes diferencialmente expressos (GDE)	27

Análise de Enriquecimento	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 3 – INVESTIGAÇÃO DE REDES CAUSAIS PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM BOVINOS NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO.....	46
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
Dados Fenotípicos	49
Animais e informações sobre manejo	49
Formação dos lotes e procedimento no abate	50
Determinação do Perfil de Ácidos Graxos em carne	50
Dados Genômicos.....	52
Genotipagem dos animais.....	52
Dados Transcriptômicos	52
Extração de RNA total.....	52
Verificação da concentração e integridade do RNA extraído.....	53
Alinhamento das sequências	54
Treinamento de Redes Bayesianas	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANÁLISE MULTIVARIADA COM DADOS GENÔMICOS E TRANSCRIPTÔMICOS PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE EM BOVINOS NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO	

RESUMO – A compreensão de processos regulatórios e organização molecular dos organismos vivos progrediram consideravelmente na última década. As metodologias também evoluíram com o sequenciamento de DNA e RNA e de ferramentas genômicas permitindo a análise de centenas ou milhares de genes, proteínas ou metabólitos. O uso simultâneo dessas informações auxilia na obtenção de informações relevantes sobre as variáveis que envolvem as variações fenotípicas de características de interesse. O objetivo do presente estudo foi integrar dados fenotípicos, genotípicos e transcriptômicos em busca de aprimoramento sobre os mecanismos genéticos e metabólicos que determinam o perfil de ácidos graxos na carne de bovinos Nelore, a fim de contribuir para o melhoramento da composição de ácidos graxos da carne. Foram utilizados machos da raça Nelore terminados em confinamento, abatidos com média de idade 24 meses. Amostras do músculo *L. thoracis*, entre a 12^a a 13^a costela foram coletadas para as análises de perfil de ácidos graxos, extração de RNA e de DNA. Os resultados foram apresentados nos capítulos 2 e 3. No capítulo 2, o objetivo foi identificar genes diferencialmente expressos pelo método RNA-seq e perfil de ácidos graxos no músculo *L. thoracis* com uso de componentes principais (*principal components*: PC). Foram selecionados dois grupos de 10 animais, os quais possuíam valores de PC1 e PC2 extremos (Alto x Baixo) para os grupos somatórios de ácidos graxos (AG): ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), ômega 3 (n-3) e ômega 6 (n-6) para análise de genes diferencialmente expressos - GDE ($p < 0,10$). Para o grupo AGS foram encontrados 33 GDE para PC1 e nenhum GDE para PC2; para AGMI foram 56 GDE em PC1 e 10 GDE para PC2; AGPI apresentou apenas dois GDE para PC1 e nenhum para PC2; para ômega 3 nenhum GDE foi encontrado para PC1 e nenhum para PC2; para ômega 6 sete GDE para PC1 e três GDE para PC2. A análise de enriquecimento funcional foi realizada por meio do programa DAVID v. 6.8. Dentre os GDE, foram identificados genes relacionados a metabolismo energético (*UCP3*), adipogênese (*MBNL1*), metabolismo ou catabolismo de gordura (*MVD*, *PCYT2*, *LIPE* e *EPHX2*), que desempenham um papel na biologia lipídica celular em bovinos da raça Nelore. Esses resultados contribuem para o conhecimento dos mecanismos biológicos envolvidos na expressão perfil de ácidos graxos na carne de animais Nelore. No capítulo 3, o objetivo foi utilizar dados fenotípicos, genotípicos e transcriptômicos para investigar redes causais para perfil de ácidos graxos na carne de animais da raça Nelore, para buscar genes diferencialmente expressos (GDE) relacionados com as características em estudos. Quatro regiões genômicas (eQTLs) mostraram associações significativas ($p < 0,05$) com sete fenótipos, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1c9, C18:2c, CLA, C22:6, e também com a expressão de 30 genes, incluindo *SREBF1*, *MDE9*, *ACSF2*, relacionados a metabolismo e catabolismo de lipídeos; e *ABCC3*, *ADCY1*, *OGDH*, metabolismo energético. O estudo apresentou relação causal entre a expressão do perfil de ácidos graxos e os processos metabólicos que envolvem a regulação de tal expressão, demonstraram efeitos causais entre os GDE encontrados. Os resultados encontrados no presente estudo contribuíram para o conhecimento dos mecanismos biológicos envolvidos no perfil de ácidos graxos na carne de animais Nelore. Pode ser aplicado no futuro para utilizar GDE encontrados como marcadores genéticos em bovinos Nelore para selecionar a composição lipídica que contribua para melhor nutrição e a saúde do consumidor.

Palavras – chave: *Bos taurus indicus*, genótipo, gordura intramuscular, vias metabólicas, RNA-seq

MULTIVARIATE ANALYSIS WITH GENOMIC AND TRANSCRIPTOMIC DATA FOR MEAT FATTY ACID PROFILE IN NELORE CATTLE FINISHED IN FEEDLOT

ABSTRACT – The understanding of regulatory processes and molecular organization of organisms has progressed considerably in the last 10 years. The methodologies also evolved with the sequencing of DNA, RNA and genomic tools allowing the analysis a lot of genes, proteins or metabolites. The simultaneous use of this information should help to obtain relevant information about the variables that result the phenotypic variations of traits of interest. The objective of the present study was to integrate phenotypic, genotypic and transcriptomic studies in order to clarify the genetic and metabolic mechanisms that determine the fatty acid profile in Nelore beef, in order to contribute to the improvement of the fatty acid composition of the meat. Nelore males were used in feedlot, coming from farms that integrate three breeding programs and slaughtered with an average of 24 months. Samples of the *L. thoracis* muscle between the 12th to 13th rib were collected for analysis of fatty acid profile, RNA and DNA extraction. The results were presented in chapters 2 and 3. In chapter 2, the objective was to identify genes differentially expressed by RNA-seq method and fatty acid profile in the *L. thoracis* muscle with the use of Principal Components (PC). Two groups of 10 animals were selected, which had PC1 and PC2 extreme values (High x Low) for the fatty acids (FA) groups: saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA), omega 3 (n-3) and omega 6 (n-6)) for analysis of differentially expressed genes - GDE ($p < 0.10$). The SFA group, 33 DEG for PC1 and no DEG for PC2 were found; for MUFA were found 56 DEG for PC1 and 10 DEG for PC2; PUFA presented only two DEG for PC1 and none for PC2; for omega-3 no DEG found for PC1 and none for PC2; already for Omega 6, seven DEG for PC1 and three DEG for PC2 were found. Functional enrichment analysis was performed by DAVID v. 6.8. Among the DEG, genes about the energy metabolism (*UCP3*), adipogenesis (*MBNL1*), fat metabolism or catabolism (*MVD*, *PCYT2*, *LIPE* and *EPHX2*) have been identified that play a role in cellular lipid Nelore breed. In chapter 3, the objective was to use phenotypic, genotypic and transcriptomic data to investigate causal networks for the profile of fatty acids in the meat of Nelore animals. Four genomic regions showed significant associations ($p < 0.05$) with seven phenotypes (C16: 0, C16: 1, C18: 0, C18: 1c9, C18: 2, CLA, C22: 6) and also with expression of 30 genes, including *SREBF1*, *MDE9*, *ACSF2*, related to lipid metabolism and catabolism; and *ABCC3*, *ADCY1*, *OGDH*, energy metabolism. The present study showed a causal relationship between the fatty acid profile expression and the metabolic processes that involve the regulation of such expression, demonstrated causal effects among the found DEG. The results should contributed to the knowledge of the biological mechanisms involved in the fatty acid profile in beef cattle. In the future, it may be to use DEG found as genetic markers in Nelore cattle to select the lipid composition that contributes to better nutrition and consumer health.

Keywords: Bos Taurus indicus, genotype, intramuscular fat, metabolic pathways, RNA – seq

LISTA DE ABREVIACÕES

AG – Ácidos graxos

AGS – Ácidos graxos saturados

AGI – Ácidos graxos insaturados

AGMI – ácidos graxos monoinsaturados

AGPI – Ácidos graxos poliinsaturados

HDL – *high density lipoprotein* – lipoproteína de alta densidade

LDL – *low density lipoprotein* - lipoproteína de baixa densidade

CLA – *conjugated linoleic acid* – ácido linoleico conjugado

NGS - *new generation sequencing* - sequenciamento de nova geração

FDR – *false discovery rate* – taxa de falsos positivos

GDE – genes diferencialmente expressos

PCA – *principal componentes analysis* – análise de componentes principais

PCs – *principal components* - componentes principais

LD – *linkage disequilibrium* – desequilíbrio de ligação

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

O crescimento socioeconômico da população aumentou o consumo de alimentos de origem animal, o que demanda a pecuária buscar por novas estratégias de produção animal, a fim de incrementar sua produção. No ano 2017, em decorrência dos investimentos e melhorias na produção de bovinos, o Brasil conquistou a posição de segundo maior produtor mundial de carne bovina (USDA, 2017). A demanda por carnes com características organolépticas de alta qualidade e mais saudáveis exigem o desenvolvimento de estratégias de melhoramento e ferramentas que possibilitem melhorar a qualidade da carne (Cánovas et al., 2014; Carrillo et al., 2016).

A carne bovina é um alimento altamente nutritivo, fonte de proteínas, lipídios, vitaminas do complexo B e minerais essenciais. O tipo de gordura e a proporção de ácidos graxos na carne ganham importância, pois afetam características que demonstram a qualidade do produto e a saúde do consumidor. A gordura pode apresentar composição indesejável, com alta porcentagem de ácidos graxos saturados (AGS). O consumo excessivo de gordura *trans* e de AGS aumenta os níveis séricos de colesterol e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) na corrente sanguínea, ocasionando o aumento de doenças coronárias, que são consideradas a maior causa de morte mundial (Katan et al., 1994; Wang et al., 2016). Por outro lado, os ácidos graxos insaturados (AGI), quando consumidos de maneira equilibrada, trazem benefícios à saúde humana, uma vez que podem diminuir os níveis de colesterol e LDL e aumentar as lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Tapiero et al., 2002).

Metodologias de sequenciamento de DNA e RNA tornaram-se relevantes para explicar os mecanismos relacionados a características quantitativas complexas, tais como o perfil de ácidos graxos da carne, cuja expressão é resultado dos efeitos genéticos e ambientais somado a interação entre eles (De Smet et al., 2004). Além disso, informações genômicas e transcriptômicas somadas à informação fenotípica dos animais aumentam o poder de predição e garantem a seleção de animais superiores para as características alvo de seleção.

O uso de componentes principais substituindo as variáveis originais, não prejudicou a busca por GDE, dada a grande porcentagem da variação fenotípica explicada por dois primeiros componentes. O estudo realizado com dados transcriptômicos para perfil de ácidos graxos na carne, identificou genes envolvidos com metabolismo de lipídeos e ácidos graxos, lipólise, adipogênese, fornecimento de energia a célula e componente de membrana celular. Esses resultados contribuem para o conhecimento dos mecanismos biológicos envolvidos no perfil de ácidos graxos na carne. Demonstram a possibilidade de futuramente utilizar alguns desses GDE como marcadores genéticos em bovinos Nelore para selecionar a composição lipídica que possa contribuir da melhor maneira para nutrição e saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbott BD (2009) Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR α), beta (PPAR β), and gamma (PPAR γ) in rodent and human development. **Reproductive Toxicology** 27(3-4):246-257.

Berton MP, Fonseca LFS, Gimenez DFJ, et al. (2016) Gene expression profile of intramuscular muscle in Nelore cattle with extreme values of fatty acid. **BMC Genomics** 17:972.

Benjamini Y, e Hochberg Y (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society** 57 (1): 289–300.

Boligon AA, Vicente IS, Vaz RZ, Campos GS, Souza FRP, Carneiro R, Albuquerque LG (2016) Principal component analysis of breeding values for growth and reproductive traits and genetic association with adult size in beef cattle. **Journal of Animal Science** 94(12):5014–5022.

Buchanan JW, Garmyn AJ, Hilton GG, Vanoverbeke DL, Duan Q, Beitz DC, Mateescu RG (2013) Comparison of gene expression and fatty acid profiles in concentrate and forage finished beef. **Journal of Animal Science** 91(1):1–9.

Carrillo JA, He Y, Li Y, Liu J, Erdman RA, Sonstegard TS, Song J (2016) Integrated metabolomics and transcriptome analyses reveal finishing forage affects metabolic pathways related to beef quality and animal welfare. **Scientific Reports** 6:25948.

Cesar ASM, Regitano LCA, Poleti MD, Andrade SCS, Tizioto PC, Oliveira PSN, Felício AM, Do Nascimento ML, Chaves AS, Lanna DPD, Tullio RR, Nassu RT, Koltes JE, Fritz-Waters E, Mourão GB, Zerlotini-Neto A, Reecy JM, Coutinho LL (2016) Differences in the skeletal muscle transcriptome profile associated with extreme values of fatty acids content. **BMC Genomics** 17:961.

Chen CL, Mermoud JC, Paul LN, Steussy CN, Stauffacher CV (2017) Mevalonate 5-diphosphate mediates ATP binding to the mevalonate diphosphate decarboxylase from the bacterial pathogen *Enterococcus faecalis*. **Journal of Biological Chemistry** published online.

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. **Journal of Biology and Chemistry** 226:497–509.

Gonzalez FH, Ceroni da Silva S (2006) Bioquímica hormonal. In: **Introdução à bioquímica hormonal**. 3.ed. Porto Alegre (RS): Editora da UFRGS. 7:251-312.

Grygiel-Górniak B (2014) Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review. **Nutrition Journal** 13:17.

Hauner H (2002) The mode of action of thiazolidinediones. **Diabetes Metabolism Research and Reviews** 18(2):S10-5.

Huerta-Leidenz NO, Cross HR, Savell JW, Lunt DK, Baker JF, Pelton LS, Smith B. (1993) Comparison of the fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from mature Brahman and Hereford cows. **Journal of Animal Science**, 71:625-630.

Ip, C. (1997) Review of the effects of trans fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acids, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. **American Journal of Clinical Nutrition** 66:1523-1529.

Jolliffe IT (1986) Principal component analysis. New York: Springer, 488p.

Kramer JKG, Fellner V, Dugan MER (1997) Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids** 32:1219–1228.

Long YC, Zierath JR (2006) AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. **The Journal of Clinical Investigation** 116(7):1776-1783.

R Development Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Ramayo-Caldas Y, Mach N, Esteve-Codina A, Corominas J, Castelló A, Ballester M, Estellé J, Ibáñez-Escriche N, Fernández AI, Pérez-Enciso M and Folch JM. (2012) Liver transcriptome profile in pigs with extreme phenotypes of intramuscular fatty acid composition. **BMC Genomics** 13(547):1471-2164.

Rosa ANF, Menezes GRO (2016) Artigo: Papel do Zebu na pecuária de corte brasileira. Campo Grande: Embrapa: Gado de Corte, 1 p. (Embrapa Gado de Corte. Produção Animal).

Rossato LV, Bressan MC, Rodrigues EC, Gama LT, Bessa RJB, Alves SPA (2010) Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. **Revista Brasileiro Zootecnia** 39:1127-1134.

Salopuro T, Pulkkinen L, Lindström J, Kolehmainen M, Tolppanen AM, Eriksson JG, Valle TT, Aunola S, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M (2009) Variation in the *UCP2* and *UCP3* genes associates with abdominal obesity and serum lipids: The Finnish Diabetes Prevention Study. **BMC Medical Genetics** 10:94.

Stienstra R, Duval C, Müller M, Kersten S (2007) PPARs, Obesity, and Inflammation. **PPAR Research** 2007:95974.

Tapiero H, Nguyen-Ba G, Couvreur P, Tew KD (2002) Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 56:215-222.

Tavares W, Hirata MH, Hirata RDC (2007) Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (*Ppar γ*): estudo molecular na homeostase da glicose, metabolismo de lipídeos e abordagem terapêutica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** 51(4).

Van Abeelen AFM, Krom M, Hendriks J, Grobbee DE, Adan RAH, van der Schouw YT (2008) Variations in the uncoupling protein-3 gene are associated with specific obesity phenotypes. **European Journal of Endocrinology** 158(5):669-676.

Vance JE, Tasseva G (2013) Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids** 1831(3):543-554.

Wang Q, Afshin A, Yakoob MY, Singh GM, Rehm CD, Khatibzadeh S, Micha R, Shi P, Mozaffarian D, Global Burden of Diseases Nutrition and Chronic Diseases Expert Group (2016) Impact of nonoptimal intakes of saturated, polyunsaturated, and trans fat on global burdens of coronary heart disease. **Journal of the American Heart Association** 5(1):e002891.

Wood JD, Enser M, Fisher AV, Nute GR, Richardson RI, Sheard PR (1999) Manipulating meat quality and composition, **Proceeding Nutrition Society** 58:363–370.

Yan K, Gao LN, Cui YL, Zhang Y, Zhou X (2016) The cyclic AMP signaling pathway: Exploring targets for successful drug discovery (Review). **Molecular Medicine Reports** 13(5):3715-3723.

CONCLUSÃO

O estudo realizado é um dos pioneiros em redes bayesianas com AG em animais da raça Nelore em busca de respostas para relações causais. Pode ser aplicado para desvendar redes causais com fenótipos complexos subjacentes em outras espécies. O procedimento que foi realizado em várias etapas para inferir a rede causal integrando dados fenotípicos, genotípicos e transcriptômicos demonstrou que é possível decifrar relações entre variáveis de características complexas e esclarecer relações causais entre variáveis que influenciam as características complexas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bello NM, Ferreira VC, Gianola D, & Rosa, GJM. (2018). Conceptual framework for investigating causal effects from observational data in livestock. **Journal of Animal Science**.

Benjamini Y, e Hochberg Y (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society** 57 (1): 289–300.

Civelek, ME (2018) "Essentials of Structural Equation Modeling". **Zea E-Books**. 64.

Chen L. (2012) Using eQTLs to reconstruct gene regulatory networks. In: Quantitative Trait Loci (QTL): New York, NY: **Humana Press** 871:175–189.

Friedman N, Linial M, Nachman I, & Peter D. (2000). Using Bayesian networks to analyze expression data. **Proceedings of the Fourth Annual International Conference on Computational Molecular Biology**

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. **Journal of Biology and Chemistry** 226:497–509.

Heckerman, D. (1998). A Tutorial on Learning with Bayesian Networks. **Learning in Graphical Models**, 301–354.

Kramer JKG, Fellner V, Dugan MER (1997) Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids** 32:1219–1228.

Love MI, Wolfgang H e Simon A. (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-Seq data with DESeq2. **Genome Biology** 15:550.

Peñagaricano F, Valente BD, Steibel JP, Bates RO, Ernst CW, Khatib H, Rosa GJM. (2015) Exploring causal networks underlying fat deposition and muscularity in pigs through the integration of phenotypic, genotypic and transcriptomic data. **BMC Systems Biology** 9:58.

R Development Core Team: R: A language and environment for statistical computing. (2011) In. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Rosa GJM, Valente BD, De Los Campos G, Wu XL, Gianola D, Silva MA. (2011) Inferring causal phenotype networks using structural equation models. **Genetics Selection Evolution** 43:6.

Sargolzaei M, Chesnaus JP, Schenkel F. (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **Methodology** 15:478.

Scutari M. (2010) Learning bayesian networks with the bnlearn R package. **Journal of Statistical Software**. 35(3):1–22

Tsamardinos I, Aliferis CF, Statnikov A: Algorithms for Large Scale Markov Blanket Discovery. (2003) In: **Proceedings of the 16th International Florida Artificial Intelligence Research Society Conference**. vol. 2003: Menlo Park, California: AAAI Press; 2003:376–381. 26.

Wald A. (1943) Tests of statistical hypothesis concerning several parameters when the number of observations is large. **Transactions of the American Mathematical Society**, 54, 426–482.

Sargolzaei M, Chesnaus JP, Schenkel F. (2014). A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **Methodology**, 15:478.