

LARISSA FERNANDA SIMIELLI FONSECA

**APLICAÇÃO DA BIOINFORMÁTICA NA ANÁLISE DO GENOMA E TRANSCRIPTOMA DE
BOVINOS NELORE, INTEGRANDO INFORMAÇÕES PÚBLICAS**

Relatório de Pós-doutorado realizado
na Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias, Instituto,
Câmpus de Jaboticabal.

Supervisor(a): Profa. Dra. Lucia
Galvão de Albuquerque

Nº do Processo FAPESP: 2019/16732-7

Jaboticabal, SP
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

Relatório Final

Pós-doutorado FAPESP

Item orçamentário de Auxílio à Pesquisa - Projeto Temático (processo: 2017/10630-2)

RELATÓRIO DE ATIVIDADES

Aplicação da bioinformática na análise do genoma e transcriptoma de bovinos
Nelore, integrando informações públicas

Pós-doutoranda: Larissa Fernanda Simielli Fonseca

Supervisora: Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque

Vigência: 01/10/2019 a 30/05/2023

Período: 01/06/2023 a 30/09/2023

Jaboticabal-SP

2023

RESUMO DO PROJETO E DAS REALIZAÇÕES NO PERÍODO

Resumo do projeto

As tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) aumentam consideravelmente as possibilidades de aplicação de informações moleculares no desenvolvimento de pesquisas científicas, possibilitando a caracterização da variabilidade no genoma de uma espécie e investigação de suas consequências a nível transcricional e fenotípico. Cerca de 100 touros da raça Nelore, escolhidos devido à contribuição no rebanho nacional, terão o genoma completo sequenciado e alinhado com a sequência de referência bovina, para o desenvolvimento do projeto Temático “Aspectos genéticos da qualidade, eficiência e sustentabilidade da produção de carne em animais da raça Nelore”. Este projeto temático também irá realizar o sequenciamento de RNA total extraído dos tecidos muscular e hepático, em grupos de animais Nelore de maior e menor eficiência alimentar. Sabendo-se que conhecimentos de bioinformática serão essenciais para a análise e interpretação de tais informações, o presente projeto visa, primeiramente, assessorar, na área de bioinformática, todos os estudos a serem realizados no referido projeto temático. Além disto, no presente projeto, o sequenciamento completo do genoma e transcriptoma de animais zebuínos da raça Nelore será utilizado para comparações com informações públicas de mesmo caráter, visando analisar o histórico demográfico das subespécies *Boas taurus taurus* (taurinos) e *Bos taurus indicus* (zebuínos) e identificar novos transcritos com potencial codificante, expressos em bovinos.

Resumo das atividades

No período à que esse relatório se refere (junho a setembro de 2023), a bolsista desenvolveu diversas atividades fundamentais ao andamento do projeto temático. Quanto as participações em trabalhos em andamento, durante o período, a pós-doutoranda têm atuado na orientação de trabalhos da pós-graduação e também de iniciação científica. Foram **três teses** de doutorado, uma ainda em andamento, **duas iniciações científica** e a **orientação de dois trabalhos de concussão de curso**, já concluídos.

Além da participação direta da bolsista nesses trabalhos, ela também vem atuando em trabalhos de todo o grupo, principalmente com relação ao desenvolvimento e orientação de **análises de bioinformática**, como alinhamento, montagem e análises das sequencias de DNA e RNA, bem como na utilização de **ferramentas de enriquecimento funcional genômico** e na sua **interpretação**. Houve ainda a participação em uma banca

de comissão julgadora de trabalhos de conclusão de curso, sendo membro titular de **uma banca de doutorado** (qualificação). A bolsista também foi responsável, junto à sua supervisora, pela coordenação do funcionamento e dos trabalhos realizados no **laboratório de biologia molecular**, nos quais as atividades relacionadas ao projeto temático 2017/10630-2 se desenvolveram.

Em termos de produção e divulgação de trabalhos científicos, neste período, a bolsista publicou **três artigos** em revistas científicas indexadas, **um artigo** foi submetido para a publicação, além de outros **seis artigos** que estão em fase final de preparação. **Seis resumos** foram publicados em anais de congressos nacionais, sendo um deles **premiado** como 2º melhor resumo do evento.

Além das atividades científicas diretamente relacionadas ao temático, a bolsista também vem contribuindo na área de ensino junto à graduação. Assim, como nos anos anteriores, a bolsista **foi uma das docentes responsáveis** pela disciplina de “Métodos de Melhoramento Animal”, obrigatória para o curso de graduação em Zootecnia da FCAV/UNESP.

Assim, a atuação da bolsista foi fundamental para o desenvolvimento do projeto temático e para a divulgação do conhecimento junto à graduação e pós-graduação. Abaixo, estão listados, detalhadamente, os trabalhos desenvolvidos durante o período da bolsa:

Produção Científica

Artigos publicados em revistas científicas indexadas

1. Schmidt, P.I; Cole, J.B.; Fonseca, L.F.S.; Raden, P.V.; Ma, L.; Albuquerque, L.G. Identification of candidate lethal haplotypes and genomic association with post-natal mortality and reproductive traits in Nelore cattle. Scientific Report, 2023. | <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37586-z> (DOC 1).
2. Santos, T.C.F.; Silva, E.N; Fonseca, L.F.S.; Albuquerque, L.G; Silva, D.B.S. Predição de módulos cis-regulatórios em splicing de genes associados à carcaça e características da carne de bovinos Nelore. Animal Gene, 2023 <https://doi.org/10.1016/j.angen.2022.200142> (DOC 2).

3. Torrecilhas, J.A.; Pereira, G. L.; Vito, E.S.; Fiorentini, G.; Ramirez-Zamudio, G.D.; Fonseca, Torres, R.N.S. Mudanças no metabolismo lipídico do músculo *Longissimus thoracis* em touros ao usar diferentes estratégias de alimentação durante as fases de crescimento e terminação. *Metabolites*, 2023. <https://doi.org/10.3390/metabo13101042> (DOC 3).

Artigos submetidos ou em fase final de preparação

1. Arikawa, L. M.; Schmidt, P. I.; Frezzarim, G. B.; Motta, L. F. M.; Fonseca, L. F. S.; Magalhães, A. F. B.; Silva, D. A.; Carvalheiro, R.; Chardulo, L. A. L.; Albuquerque, L. G. Genome-wide scans identify biological and metabolic pathways regulating carcass and meat quality traits in beef cattle. Artigo submetido para o periódico *Meat Science* (DOC 4)
2. Campos, G. S.; Silva, D. A.; Haroldo, H. H. R.; Lourenco, D.; Júnior, G. A .F.; Fonseca, L. F.; Albuquerque, L. G.; Carvalheiro, R. Including selected sequence variants in genomic predictions for age at first calving in Nellore cattle.(DOC 5)
3. D.B.; Frezarim, Salatta, B.M.; Fonseca, L.F.S.; dos Santos Silva, G.B.; Albuquerque, L.G. 9. Análise proteômica do músculo *Longissimus dorsi* revela proteínas e vias biológicas e proteínas associadas a características de qualidade de carne e carcaça em bovinos nelore. (DOC 6)
4. D.B.; Frezarim, Salatta, B.M.; Fonseca, L.F.S.; dos Santos Silva, G.B.; Albuquerque, L.G. Integração biológica multi ômicas para predição de marcadores moleculares em bovinos da raça Nelore. (DOC 6)
5. Salatta, B.M.; Fonseca, L.F.S.; dos Santos Silva, D.B.; Frezarim, G.B.; Albuquerque, L.G. Identificação de lncRNAs diferencialmente expressos em bovinos Nelore com diferentes perfis de ácidos graxos. (DOC 7)
6. Salatta, B.M.; Fonseca, L.F.S.; dos Santos Silva, D.B.; Frezarim, G.B.; Albuquerque, L.G. Identificação de isoformas de mRNA de genes diferencialmente expressos em bovinos Nelore com diferentes perfis de ácidos graxos. (DOC 7)
7. Fonseca, L.F.S.; dos Santos Silva, D.B.; Albuquerque, L.G. Identificação de microRNAs diferencialmente expressos associados com características de carne de bovinos da raça nelore. (DOC 8)

Trabalhos apresentados em conferências nacionais

1. Leonardo Machestropa Arikawa, Lúcio Flávio Macedo Mota, Patrícia Iana Schmidt, Gabriela Bonfá Frezarim, Bruna Maria Salatta, **Larissa Fernanda Simielli Fonseca**, Ana Fabrícia Braga Magalhães, Luis Artur Loyola Chardulo e Lucia Galvão de Albuquerque. Estudo de associação genômica ampla para características de qualidade da carne em bovinos Nelore. Anais do XV simpósio brasileiro de melhoramento animal, 24 e 25 de julho de 2023, Jataí, Goiás. (DOC 9 – página 84).
2. Lúcio Flávio Macedo Mota, Leonardo Machestropa Arikawa, Patrícia Iana Schmidt, Gabriela Bonfá Frezarim, Bruna Maria Salatta, **Larissa Fernanda Simielli Fonseca**, Henrique Nunes de Oliveira e Lucia Galvão de Albuquerque. Estudo de associação genômica ampla via modelos de norma de reação para características de eficiência reprodutiva em novilhas Nelore. Anais do XV simpósio brasileiro de melhoramento animal, 24 e 25 de julho de 2023, Jataí, Goiás. (DOC 9 – página 90, Resumo premiado – página x).
3. Patrícia Iana Schmidt, Lúcio Flávio Macedo Mota, **Larissa Fernanda Simielli Fonseca**, Gabriela Bonfá Frezarim, Leonardo Machestropa Arikawa, Daniel Jordan de Abreu Santos, Ana Fabrícia Braga Magalhães, Henrique Nunes de Oliveira, Paul Michael Vanraden e Lucia Galvão de Albuquerque. Identificação de candidatos a haplótipos letais e associação genômica com mortalidade pós-natal e características reprodutivas em bovinos Nelore. Anais do XV simpósio brasileiro de melhoramento animal, 24 e 25 de julho de 2023, Jataí, Goiás. (DOC 9 – página 99).
4. Patrícia Iana Schmidt, Lúcio Flávio Macedo Mota, **Larissa Fernanda Simielli Fonseca**, Gabriela Bonfá Frezarim, Leonardo Machestropa Arikawa, Li Ma e Lucia Galvão de Albuquerque. Identificação de eventos de recombinação para machos da raça Nelore. Anais do XV simpósio brasileiro de melhoramento animal, 24 e 25 de julho de 2023, Jataí, Goiás. (DOC 9 – página 102).
5. Gabriela Bonfá Frezarim, **Larissa Fernanda Simielli Fonseca**, Bruna Maria Salatta, Patrícia Iana Schmidt, Leonardo Machestropa Arikawa, Lúcio Flávio Macedo Mota e Lucia Galvão de Albuquerque. Integração biológica multi ômicas para predição de marcadores moleculares em bovinos da raça Nelore, considerando a maciez da carne. Anais do XV simpósio brasileiro de melhoramento animal, 24 e 25 de julho de 2023, Jataí, Goiás. (DOC 9 – página 126).
6. **Larissa Fernanda Simielli Fonseca**, Danielly Beraldo dos Santos Silva, Gabriela Bonfá Frezarim, Bruna Maria Salatta, Patrícia Iana Schmidt, Leonardo Machestropa Arikawa, Lúcio Flávio Macedo Mota e Lucia Galvão de Albuquerque. Regulação gênica por

miRNAs associados à maciez da carne em bovinos Nelore. Anais do XV simpósio brasileiro de melhoramento animal, 24 e 25 de julho de 2023, Jataí, Goiás. (DOC 9 – página 135).

Co-orientações

- ***Teses***

1. *Gabriela Bonfá Frezarim* - Integração de dados genômicos, transcriptômicos e proteômicos relacionados a características de carne e carcaça em bovinos da raça Nelore. Doutorado (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, e coorientação da **Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca**. Concluída. (Doc 6).
2. *Bruna Maria Salatta* - Identificação de *Splicing* alternativo e lncRNA de genes diferencialmente expressos em bovinos Nelore com valores extremos de ácidos graxos. Doutorado (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, e coorientação da **Dra. Larissa Fernanda Simielli Fonseca**. Em andamento. (Doc 7).

Disciplina ministrada

1. Professora da disciplina de "Métodos de Melhoramento Animal" ministrada para o curso de graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Carga horária: 30 horas. 1º semestres de 2023.

Participação em banca

- ***Qualificação de Tese Doutorado***

1. **Larissa Fernanda Simielli Fonseca** (co-orientadora e presidente da banca), Jesus Aparecido Ferro, Lúcio Flávio Macêdo Mota, Danielly Beraldo dos Santos Silva, Lucas Lima Verardo. Identificação de *splicing* alternativo e RNA longo não codificante de genes diferencialmente expressos associado a ácidos graxos em bovinos de corte. Qualificação

de Tese de Doutorado de Bruna Maria Salatta. Genética e Melhoramento Animal. FCAV/UNESP. (Doc 10).

REALIZAÇÕES NO PERÍODO

No projeto temático ao qual essa bolsa faz parte como item orçamentário, estão sendo gerados, por meio do sequenciamento completo do genoma e transcriptoma de animais zebuínos da raça Nelore, uma grande quantidade de dados, além de informações proteômicas, provenientes de análises de espectrometria de massas avançadas. Esses dados aumentam consideravelmente as possibilidades de aplicação de informações moleculares no desenvolvimento de pesquisas científicas, visando identificar variantes e novos transcritos com potencial codificante e/ou regulador, que possam ser utilizados como marcadores, objetivando o melhoramento de características de interesse econômico. Diante de tantas possibilidades, surgem desafios muito além da geração dos dados, o que também requer um laborioso trabalho, como a manipulação e interpretação dos resultados obtidos, o que demanda conhecimentos essenciais de bioinformática para a análise e interpretação de tais informações. Assim, a atuação efetiva da bolsista, durante o período de vigência da bolsa, foi fundamental para o desenvolvimento dos estudos realizados no referido projeto temático, principalmente com relação a manipulação das sequências geradas e interpretação dos resultados por meio de análises de enriquecimento funcional genômico e metabólico.

Abaixo são apresentadas, de forma detalhada, as atividades e trabalhos desenvolvidos durante o período de bolsa.

Análises Genômicas

A partir do banco de dados contendo sequências completas de 100 bovinos Nelore, escolhidos com base em suas contribuições para a diversidade genética da população de bovinos Nelore brasileira, avaliada através de um arquivo genealógico contendo 2.688.124 indivíduos no total, 9.811 reprodutores, dos quais 6.040 são fundadores e 915.371 mães, além de banco de genotipagem, que inclui mais de 62.000 animais genotipados e imputados para sequência completa, de cinco programas de melhoramento Nelore Brasileiro (DeltaGen, Nelore Qualitas, Cia do Melhoramento, CRV PAINT e Instituto de Zootecnia), foram gerados os seguintes trabalhos:

1. Identificação de candidatos a haplótipos letais e associação genômica com mortalidade pós-natal e características reprodutivas em bovinos Nelore (Doc 1 e Doc 9 – página 99)

Artigo publicado no periódico Scientific Report e resumo publicado em anais de evento nacional

Este estudo foi realizado para rastrear haplótipos recessivos letais com base no desvio da homozigose esperada da população e para testar marcadores SNP em torno da região de haplótipos letais e sua associação com reconcepção de novilhas (RN), mortalidade pós-natal (MPN) e stayability (STAY) em bovinos Nelore. Esta abordagem requer genótipos apenas de indivíduos aparentemente normais e não de embriões afetados. Um total de 62.022 animais foram genotipados e imputados a um painel de alta densidade (777.962 marcadores SNP). O software findhap.f90 foi utilizado para construir os haplótipos. Calculou-se o número esperado de indivíduos homozigotos e obteve-se a probabilidade de observar 0 homozigotos quando n é esperado. Os valores genéticos genômicos foram obtidos e desregredidos e usados em uma análise de associação ampla do genoma (GWAS) para RN, MPN e STAY. Apenas SNPs significativos dentro ou perto de regiões de haplótipos onde nenhum homozigoto foi encontrado foram selecionados. Trinta haplótipos tiveram alta frequência esperada, mas nenhum homozigoto foi observado. A maioria dos alelos presentes nesses haplótipos teve efeito médio negativo para RN, MPN e STAY. O GWAS revelou marcadores SNP significativos que implicam em diferentes mecanismos fisiológicos levando a efeitos deletérios na RN, MPN e STAY. Testes para encontrar portadores de haplótipos potencialmente letais podem ajudar os criadores a eliminá-los da população ou gerenciar acasalamentos para evitar homozigotos.

2. Varreduras do genoma completo identificam vias biológicas e metabólicas que regulam características de carcaça e de qualidade da carne em bovinos de corte (Doc 4 e Doc 9 – página 84)

Artigo submetido para o periódico Meat Science e resumo publicado em anais de evento nacional

Os estudos de associação de genomas (GWAS) fornecem conhecimento sobre a

arquitetura genética de características relacionadas à carne bovina que permitem vincular o fenótipo alvo à informação genômica, auxiliando na decisão de melhoramento. Assim, o presente estudo tem como objetivo desvendar o mecanismo genético envolvido nas características da carcaça (REA: área de olho de lombo, FB: espessura de toucinho e HCW: peso da carcaça quente) e características de qualidade da carne (SF: força de cisalhamento, MARB: índice de marmoreio, e FMI: teor de gordura intramuscular) em bovinos Nelore. Para isso, 6.910 touros jovens com informações fenotípicas e 23.859 animais genotipados com marcadores 435k foram utilizados para realizar a abordagem GBLUP ponderada em etapa única (WssGBLUP), considerando duas iterações. As 10 principais regiões genômicas explicaram 8,13, 11,81 e 9,58% da variância genética aditiva, abrigando um total de 119, 143 e 95 genes candidatos posicionais para REA, BF e HCW, respectivamente. Para características de qualidade da carne, as 10 principais janelas explicaram uma grande proporção da variância genética total para SF (14,95%), MARB (17,56%) e IMF (21,41%) em torno de 92, 155 e 111 genes candidatos, respectivamente. Genes candidatos relevantes (CAST, PLAG1, XKR4, PLAGL2, AQP3/AQP7, MYLK2, WWOX, CARTPT e PLA2G16) estão relacionados a aspectos fisiológicos que afetam o crescimento, carcaça, qualidade da carne, consumo de ração e características reprodutivas por meio de vias de sinalização que controlam o controle muscular, principais moléculas metabólicas sinalizadoras, via INS/IGF-1, metabolismo lipídico e desenvolvimento de tecido adiposo. Os resultados do GWAS forneceram insights sobre o controle genético das características estudadas, e os genes encontrados são potenciais candidatos a serem usados para melhorar as características de carcaça e qualidade da carne.

3. Incorporando variantes da sequência para melhorar a predição genômica de características reprodutivas em bovinos Nelore (Doc 5)

Artigo em fase de preparação

Foi realizada a imputação do chip HD para a sequência completa. Aproximadamente 62.000 animais genotipados com o chip BovineHD Illumina 777k (HD) foram imputados ao WGS usando 151 touros influentes como população de referência. Após imputação com o software FImpute3, filtramos variantes com base na frequência do alelo menor acima de 0,001 e desequilíbrio de ligação (r^2) maior que 0,9 usando PLINK 2.0. Após essa etapa, 4.266.603 SNPs foram retidos para análises

posteriores. Após a imputação, foi realizado um GWAS com o software GCTA para estimar os efeitos de SNPs por meio de um modelo linear misto com efeito poligênico aleatório com base na matriz **G** para todas as características reprodutivas. Também realizamos uma análise de componentes principais e incluímos os primeiros oito componentes principais como covariáveis no modelo a ser considerado para uma possível estratificação populacional. As variantes significativas foram selecionadas usando uma taxa de descoberta falsa (FDR) inferior a 5% para correção de múltiplos testes. Para todas as características, o GWAS foi treinado e testado com base na validação usando dados de animais mais velhos para prever novos dados evitando a seleção de variantes de forma privilegiada. Com base na data de nascimento, 20% dos animais mais jovens para cada característica foram excluídos do conjunto de treinamento e usados como conjunto de teste independente. Os 80% restantes (animais mais velhos) foram considerados como o conjunto de dados de treinamento. O número de variantes estruturais (VS) para cada característica foi de 208.645, 4.957, 2.208, 1.029, 751 e 185 para PE, IPP, PP18, STAY, REC e NP53. As variantes selecionadas (VS), não presentes no painel de HD, foram incluídas para predição genômica. Para todas as características as análises com o método ssGBLUP incluindo VS foram finalizadas. As acurácias de predição do GEBV usando ssGBLUP regular ou ponderado para todas as características reprodutivas, em geral, variaram de 0,34 a 0,56 entre os métodos, e o b_1 variou de 0,83 a 1,11 entre os grupos de validação (novilhas jovens e touros jovens genotipados). As acurácias do GEBV do ssGBLUP (ponderado ou não) superaram as do BLUP, com um aumento médio na acurácia de 27% para novilhas jovens, 34% para novilhas jovens genotipadas e 53% para touros jovens genotipados entre todas as características. A inclusão de VS no ssGBLUP regular aumentou a acurácia de predição apenas marginalmente, adicionando no máximo 0,02 de acurácia no ssGBLUP ponderado com método não linear A (HD+VS). Para todas as características e grupo de validação, os valores de viés foram próximos de zero. O GEBV teve viés negativo para IPP, REC e STAY para grupo de validação de novilhas jovens. Além dessas características, NC53 teve tendências negativas para touros jovens genotipados, indicando que as médias de (G)EBV para animais de validação do conjunto de dados reduzido foram menores do que as do conjunto de dados completo. A correlação entre GEBVs com o conjunto de dados completo e outro com um conjunto de dados reduzido foi usada como medida de consistência entre as avaliações subsequentes. Essa consistência pode ser entendida como a capacidade do conjunto de dados reduzido de prever o conjunto de dados completo. No geral, o uso de modelos ssGBLUP ajudou a

aumentar as correlações entre GEBVs dos dados reduzidos e completos para todas as características e grupos de validação. Para todas as características reprodutivas as análises já foram finalizadas. O projeto está na fase de preparação do manuscrito.

4. Estudo de associação genômica ampla via modelos de norma de reação para características de eficiência reprodutiva em novilhas Nelore (DOC 9 – página 90, Resumo premiado –página x)

Resumo publicado em anais de evento nacional. Recebeu o prêmio de 2º melhor trabalho publicado no evento.

O estudo objetiva realizar a análise de meta-análise multi-característica para os resultados do estudo de associação genômica (GWAS) via norma de reação (NR) realizado para identificar regiões genômicas candidatas que afetam características reprodutivas em novilhas Nelore criadas em diferentes condições ambientais (GA) para prenhez precoce (PP) e reconcepção de novilhas (Rec). Para avaliar a interação genótipo x ambiente (GxE) foi utilizado um modelo de norma de reação via BLUP genômico de passo único para estimar os parâmetros genéticos, seguido pela análise de GWAS para o efeito do intercepto e inclinação. Os resultados do GWAS foram combinados utilizando o teste estatístico de meta-análise multicaracterística. Como evidência da ocorrência da interação GxE, foram observadas correlações genéticas entre ambientes menores que 0,80 para as características reprodutivas (PP e Rec), com um maior efeito da interação GxE para a reconcepção de novilhas. As regiões compartilhadas entre HP e HR para a interceptação e inclinação de RN abrigavam genes candidatos relacionados ao porteiro significativo para o início da puberdade precoce e vias de energia controlando aspectos metabólicos relacionados à homeostase, reprodução e crescimento com efeito direto na precocidade sexual e taxa de reconcepção. Os resultados destacaram diferenças nos processos fisiológicos que suportam interações complexas entre os eixos gonadotrópicos, aspectos de crescimento e precocidade sexual em novilhas Nelore, fornecendo informações úteis para o melhoramento genético e estratégias de manejo.

5. Identificação de eventos de recombinação para machos da raça Nelore (DOC 9 – página 102)

Resumo publicado em anais de evento nacional

Os objetivos do presente estudo foram calcular a taxa de recombinação, identificar regiões hotspots e construir um mapa de recombinação para machos Nelore. Informações de pedigree eram compostas por 2.688.124 animais. Um total de 4.447 animais foram genotipados com um painel de alta densidade (777.962 marcadores SNP) e 4.041 com um painel contendo 74.677 marcadores. As taxas de recombinação foram medidas por um método indireto usando pedigree. Extraímos pares progênie-pai do pedigree, ambos genotipados e faseados para inferir sobre eventos de recombinação paterna durante a meiose. As regiões de hotspots foram definidas como intervalos SNP com taxa de recombinação $> 2,5$ desvios padrão acima da média. Para construir mapas de recombinação, estimamos a taxa de recombinação entre SNPs consecutivos. Extraímos 21.391 eventos de crossovers e 659 meioses paterna com um número médio de crossovers por meiose de 32,4 para machos Nelore. Observamos um total de 520 regiões hotspots, especialmente nos cromossomos 1, 6 e 11, com as maiores taxas de recombinação. Esses resultados fornecem informações úteis sobre o mecanismo genético e a evolução da recombinação dentro de uma importante raça pecuária criada no Brasil.

Análises transcriptômicas

1. Predição de módulos cis-regulatórios em splicing de genes associados à carcaça e características da carne de bovinos Nelore

Artigo publicado no periódico Animal Gene

Os módulos cis regulatórios são regiões não codificantes do DNA responsáveis por controlar a transcrição gênica e estarem envolvidas no desenvolvimento anatômico e embrionário de espécies animais. Este estudo teve como objetivo realizar uma análise de predição de módulos regulatórios cis em genes spliced associados, comumente, à área de olho de lombo (AOL) e à gordura intramuscular (FI) de bovinos Nelore. Para isso, foi utilizado o software JuncBASE v.0.9 (Junction-Based Analysis of Splicing Events) para identificar e classificar eventos de splicing alternativo centrados em exon no grupo de animais selecionados para REA e IF. A predição de fatores de transcrição e módulos reguladores cis foi realizada para os genes encontrados utilizando iRegulon v.1.3. A análise de predição exibiu 45 módulos reguladores cis, dos quais o módulo 11 teve o maior número ($N = 9$) de sítios de ligação compartilhados comumente por 11 genes emendados e cinco fatores de transcrição da família MEF2. Esses módulos poderiam

potencialmente regular éxons emendados e, assim, contribuir para a produção de isoformas, que podem estar envolvidas em vias e processos biológicos essenciais envolvidos no desenvolvimento muscular e no metabolismo lipídico dos animais avaliados.

2. Mudanças no metabolismo lipídico do músculo *Longissimus thoracis* em touros ao usar diferentes estratégias de alimentação durante as fases de crescimento e terminação

Artigo publicado no periódico

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da estratégia de suplementação em bovinos de corte durante a fase de crescimento e dois sistemas durante a fase de terminação. Cento e vinte touros foram divididos aleatoriamente em esquema fatorial 2x2 para receber mineral (ad libitum) ou proteína + energia (3 g/kg de peso corporal (PC)/dia) durante a fase de crescimento e suplementação com pasto mais concentrado (20 g/kg PC/dia) ou confinamento (25:75% silagem de milho:concentrado) durante a fase de terminação. Touros alimentados em confinamento apresentaram carne (*Longissimus thoracis* - LT) com maior teor de lipídios e ácidos graxos saturados e monoinsaturados e maior regulação positiva da esteroil-CoA dessaturase e proteína-1c de ligação ao elemento regulador de esterol do que animais alimentados a pasto ($p < 0,05$). Por outro lado, touros alimentados a pasto apresentaram carne com maior teor de ácido -linoleico, ácido linolênico e n6 e maior relação n6:n3 em comparação ao grupo alimentado em confinamento ($p < 0,05$). Além disso, a carne de touros alimentados a pasto durante a fase de terminação apresentou 17,6% mais concentração da enzima isocitrato desidrogenase do que o grupo confinado ($p = 0,02$). Touros alimentados com minerais e terminados a pasto apresentaram regulação negativa do receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma ($p < 0,05$), enquanto os touros alimentados com proteína + energia e terminados em confinamento apresentaram maior expressão de carnitina palmitoiltransferase 2 ($p = 0,013$). Concluindo, a suplementação mineral ou proteica + energia no crescimento não afeta a composição de ácidos graxos da gordura intramuscular do músculo LT. Na fase de terminação, alimentar touros em confinamento regula positivamente os genes lipogênicos e consequentemente melhora o teor de gordura intramuscular na carne.

3. Identificação de *splicing* alternativo e RNA longo não codificante de genes diferencialmente expressos associado a ácidos graxos em bovinos de corte (Doc 7)

Artigos em fase de preparação - Parte de tese em andamento

Nas últimas décadas, considerável atenção tem sido dada ao aumento de ácidos graxos (AG) benéficos presentes em alimentos de origem animal. Uma vez que o perfil de AG na carne é uma característica poligênica, muitos genes e mecanismos que influenciam na deposição, bem como a composição de AG na gordura intramuscular, ainda são desconhecidos. O sequenciamento do RNA (RNA-Seq) é uma das abordagens utilizadas para identificar transcritos correspondentes a genes candidatos que provocam variações em vias metabólicas, resultando em diferentes fenótipos. Portanto, o objetivo foi estudar o transcriptoma do músculo de bovinos da raça Nelore, com o propósito de identificar RNAs longos não codificantes (lncRNAs) e isoformas de mRNAs diferencialmente expressas associados à AG, por meio do RNA-Seq. Para tanto, 48 animais foram sequenciados e fenotipados para sete individuais: mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linoleico conjugado, alfa-linolênico; e sete grupos: soma de AG saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, n3, n6, razão PUFA/SFA e razão n6/n3). A análise K-Means foi usada para agrupar os 48 animais em três clusters com base em seus padrões de AG. O cluster C1 apresentou proporções significativamente ($p \leq 0,05$) mais altas de AG poliinsaturado, incluindo n3, n6, linoleico e α -linolênico. A proporção de AG monoinsaturados, linoleico conjugado e oleico no C2 e C3 foi significativamente ($p \leq 0,05$) maior em relação ao C1, enquanto o C3 teve proporções significativamente ($p \leq 0,05$) maiores para AG saturado, mirístico, palmítico e esteárico em relação aos demais clusters. Para a análise do transcriptoma o experimento de comparação de dois grupos (C1vsC2, C1vsC3 e C2vsC3) foi usada. Os resultados foram apresentados nos capítulos 2 e 3. No capítulo 2, um total de 265 transcritos de lncRNAs foram diferencialmente expressos ($p\text{-value} < 0,01$), dos quais 75, 113 e 78 identificados entre as comparações C1vsC2, C1vsC3 e C2vsC3, respectivamente. Os lncRNAs foram associados a genes pertencentes a família de interferon, interleucina, G protein-coupled receptors, calponina e apoptóticas Bcl-2. A análise de enriquecimento funcional mostrou que muitos dos Gene Ontology terms (GO) estavam associados com o sistema imune para perfil genético com maior conteúdo de SFA. No capítulo 3, foram identificados 65, 26 e 30 isoformas de mRNA ($p\text{-value} < 0,01$) diferencialmente expressas entre as comparações C1vsC2, C1vsC3 e C2vsC3, respectivamente. Além disso, foram identificados sendo

diferencialmente expressos as isoformas GSK3A-201 e ADD1-204 relacionadas a genes que afetam o conteúdo de AG poliinsaturado, e entre outras isoformas de mRNA importantes para conteúdo de AG saturado como, por exemplo, EGR1-201, FOSB, e SERPINE1 indicados na comparação C1vsC2. Além disso, a análise do enriquecimento funcional aponta diversos termos associados ao metabolismo de ácidos graxos, além de termos relacionados a oxirredutase, transporte lipídico e resposta imune. O presente estudo permitiu o conhecimento de possíveis lncRNAs e isoformas de mRNA candidatos, além de fornecer uma melhor compreensão teórica dos processos biológicos associados ao perfil de AG na carne bovina. Esta informação pode ser útil em futuras pesquisas com o objetivo de elucidar potenciais marcadores genéticos.

4. Identificação de microRNAs diferencialmente expressos associados com características de carne de bovinos da raça nelore (Doc 8 e Doc 9 – página 135)

Artigo em fase final de preparação e resumo publicado em anais de evento nacional

O objetivo deste trabalho foi sequenciar o RNA do músculo (Longissimus thoracis) de bovinos Nelore, para identificar miRNAs diferencialmente expressos (DE) associados à maciez da carne, e prever seus genes alvo. Para isso, foram coletadas amostras de carne de 189 bovinos Nelore pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético Cia de Melhoramento. Os animais, com idade média de 24 meses, foram abatidos em frigorífico comercial e, imediatamente após o abate, foram coletadas amostras para extração e sequenciamento do RNA. Após 24 horas em câmara fria, foram coletadas amostras para análise da maciez da carne. Após a quantificação do fenótipo, foram separadas 24 amostras extremas para maciez da carne e submetidas ao sequenciamento de microRNA (single-ended no NextSeq500 Illumina® - 1x75pb). As sequências foram analisadas afim de obter os miRNAs DE e os genes alvo preditos foram submetidos à análise de enriquecimento. Foram identificados 14 miRNAs DE e 9.944 genes alvo foram preditos. Os genes foram agrupados em 173 clusters, sendo 63 significativos, como transcriptional activator activity, protein kinase activity, GTPase activator activity e ubiquitin protein ligase activity. Sendo assim, foram encontrados miRNAs relacionados à maciez da carne em bovinos da raça Nelore. Seus genes alvo foram preditos, sendo possível observar genes já descritos na literatura como ativos no processo de amaciamento da carne, o que confirma a importância desses genes para essa característica.

Análises Proteômicas

1. Análise proteômica do músculo *Longissimus dorsi* revela proteínas e vias biológicas e proteínas associadas a características de qualidade de carne e carcaça em bovinos nelore (Doc 6)

Artigo em fase de preparação

Este estudo objetivou a utilização de uma abordagem proteômica por espectrometria de massas avançada, do tipo LC/MS-MS, para identificar proteínas diferencialmente expressas no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos Nelore fenotipicamente divergentes para maciez da carne, área de olho de lombo (AOL), marmoreio e espessura de gordura subcutânea (ECG). Para isso foram selecionados 24 animais do mesmo grupo de manejo, extremos para cada característica, e amostras do tecido muscular de cada animal foram submetidas à análise proteômica. As contagens espectrais brutas geradas foram analisadas por meio do pacote MS/MS data, implementado no software R, para a geração do arquivo de proteína diferencialmente expressas. A análise funcional revelou que muitos dos termos de ontologia gênica significativamente enriquecidos estavam intimamente associados a *cellular component biogenesis* (GO:0044085), *regulation of localization* (GO: GO:0032879), *cytoskeleton organization* (GO:0007010 e *proteolysis* (GO:0006508) para maciez da carne, *regulation of catalytic activity* (GO:0050790), *regulation of cellular protein metabolic process* (GO:0032268) e *regulation of catalytic activity* (GO:0050790) para área de olho de lombo, *cellular metabolic process* (GO:0044237) para marmoreio e *cytoskeleton organization* (GO:0007010), *cellular component organization or biogenesis* (GO:0071840), *cell development* (GO:0048468) para espessura de gordura subcutânea (EGS) . Nossos resultados podem fornecer uma base teórica para melhor compreensão dos mecanismos moleculares e proteínas envolvidos em características de carne e carcaça de bovinos Nelore.

Integração DNA, RNA e proteínas

1. Integração biológica multi-ômicas para predição de marcadores moleculares em bovinos da raça nelore (Doc 6 e Doc 9 – página 126).)

A compreensão biológica de características de carcaça e qualidade da carne de bovinos Nelore, requer a interpretação da complexidade molecular e suas variações em diversos níveis, incluindo além do fenótipo, os genótipos, transcritos e proteínas expressas. Com o advento da tecnologia de sequenciamento, a busca por animais que se adequem às características exigidas pelo mercado consumidor, tornou-se cada vez mais dependente dos dados gerados a nível molecular, que permitem estudar e identificar os processos biológicos que influenciam nas características de interesse de forma mais holística. A anotação funcional é uma técnica comumente aplicada a diferentes tipos de big data (por exemplo, conjuntos de genes, transcritos ou proteínas) para inferir funções biológicas associadas. Nesse contexto o presente estudo teve como objetivo utilizar uma abordagem biológica integrativa combinando os dados genômicos de GWAS (Associação genômica ampla), transcriptômicos (RNA-Seq) e proteômicos (LC-MS/MS), por meio de análise funcional, a fim de para identificar biomarcadores os principais loci e vias biológicas associados às características de carcaça e qualidade da carne de bovinos Nelore economicamente relevantes na pecuária de corte. Para os estudos de associação genômica ampla (GWAS), os efeitos dos SNPs foram estimados com base no passo único ponderado por meio da abordagem GBLUP (WssGLUP), onde foram realizadas duas iterações. Os resultados das análises GWAS foram apresentadas com base na proporção de variância aditiva explicado por janelas de 1 Mb. Para as análises de RNA-Seq, os animais foram divididos em grupos extremos, alto e baixo, contendo 12 animais cada, baseados nos valores corrigidos dos fenótipos. Estes conjuntos de 24 animais foram submetidos à análise de expressão diferencial. afim de encontrar genes diferencialmente expressos entre os grupos por meio do software DESeq2. A análise proteômica foi realizada utilizando as contagens espectrais brutas dos mesmos grupos extremos, por meio do pacote em R msmsTest. A análise de enriquecimento funcional foi realizada utilizando o programa DAVID e o plugin ClueGo do Cytoscape. No geral, a anotação funcional identificou genes e vias relacionados à regulation of growth (GO:0045926), response to heat (GO:0009408) e cellular component organization or biogenesis (GO:0071840) para a característica de maciez da carne; cytoskeleton organization (GO:0007010), apoptotic process (GO:0006915) e regulation of proteolysis (GO:0030162) para área de olho de lombo; cytoskeleton organization (GO:0007010), negative

regulation of catalytic activity (GO:0043086) para marmoreio; e neuron development (GO:0048666) e cytoskeleton organization (GO: 0007010) para espessura de gordura subcutânea. Embora os resultados tenham demonstrado poucos genes em comum considerando as análises, o enriquecimento funcional demonstrou que os processos biológicos e as vias metabólicas foram compartilhados entre as técnicas. Esses achados fornecem uma compreensão mais profunda dos mecanismos regulatórios altamente complexos envolvidos em características de carcaça e qualidade da carne em bovinos Nelore.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L. G.; FERNANDES JÚNIOR, G. A.; CARVALHEIRO, R. **Beef cattle genomic selection in tropical environments**. Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet. **Anais...**2017

ALVES, A. A. C. et al. Genome-enabled prediction of reproductive traits in Nelore cattle using parametric models and machine learning methods. **Animal Genetics**, v. 52, n. 1, p. 32–46, 2021.

BOLORMAA, S. et al. Accuracy of prediction of genomic breeding values for residual feed intake and carcass and meat quality traits in *Bos taurus*, *Bos indicus*, and composite beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3088–3104, 2013.

BRUNES, L. C. et al. Genomic prediction ability for feed efficiency traits using different models and pseudo-phenotypes under several validation strategies in Nelore cattle. **Animal**, v. 15, n. 2, p. 100085, 2021.

BUZANSKAS, M. E. et al. Candidate genes for male and female reproductive traits in Canchim beef cattle. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2017.

CAPPER, J. L. The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 12, p. 4249–4261, 1 dez. 2011.

CARDOSO, F. F. et al. Genomic prediction for tick resistance in Braford and Hereford cattle. **J. Anim. Sci**, v. 93, p. 2693–2705, 2015.

CARDOSO, F. F. et al. Multiple Country and Breed Genomic Prediction of Tick

Resistance in Beef Cattle. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021.

CHIAIA, H. L. J. et al. Genomic prediction for beef fatty acid profile in Nellore cattle. **Meat Science**, v. 128, p. 60–67, 2017.

CHOMCZYNSKI P, SACCHI N. Método de etapa única de isolamento de RNA por extração ácida de tiocianato de guanidínio-fenol-clorofórmio. **Bioquímica Anal.** 162(1):156–9, 1987.

DAY, M. L.; NOGUEIRA, G. P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. **Animal Frontiers**, v. 3, n. 4, p. 6–11, 2013.

ELER, J. P. et al. Additive genetic relationships between heifer pregnancy and scrotal circumference in Nellore cattle1. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 9, p. 2519–2527, 1 set. 2004.

ELER, J. P. et al. Genetic correlation between heifer pregnancy and scrotal circumference measured at 15 and 18 months of age in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 5, n. 4, p. 569–580, 2006.

ELZO, M. A. et al. Genomic-polygenic evaluation of angus-brahman multibreed cattle for feed efficiency and postweaning growth using the illumina 3K chip. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 8, p. 2488–2497, 2012.

ESPIGOLAN, R. et al. Study of whole genome linkage disequilibrium in Nellore cattle. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 305, 5 dez. 2013.

FARAH, M. M. et al. Accuracy of genomic selection for age at puberty in a multi-breed population of tropically adapted beef cattle. **Animal Genetics**, v. 47, n. 1, p. 3–11, fev. 2016.

FERNANDES JÚNIOR, G. A. et al. Genomic prediction of breeding values for carcass traits in Nellore cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 48, n. 1, 2016.

FERNANDES JÚNIOR, G. A. et al. Imputation accuracy to whole-genome sequence in Nellore cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 53, n. 1, p. 1–10, 2021.

FONSECA, L. F. S., GIMENEZ, D. F. J., DOS SANTOS SILVA, D. B., BARTHELSON, R., BALDI, F., FERRO, J. A., & ALBUQUERQUE, L. G. Differences in global gene expression in muscle tissue of Nellore cattle with divergent meat tenderness. **BMC genomics**, 18(1), 1-12, 2017.

FORTES, M. R. S. et al. Gene network analyses of first service conception in Brangus

heifers: Use of genome and trait associations, hypothalamic-transcriptome information, and transcription factors¹. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 9, p. 2894–2906, 2012.

FORTES, M. R. S. et al. Evidence for pleiotropism and recent selection in the PLAG1 region in Australian Beef cattle. **Animal Genetics**, v. 44, n. 6, p. 636–647, 2013.

FORTES, M. R. S. et al. Candidate mutations used to aid the prediction of genetic merit for female reproductive traits in tropical beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.

FRIEDLÄNDER MR, MACKOWIAK SD, LI N, CHEN W, RAJEWSKY N. miRDeep2 accurately identifies known and hundreds of novel microRNA genes in seven animal clades. **Nucleic Acids Res** 40(1):37–52, 2012.

HAWKEN, R. J. et al. Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 5, p. 1398–1410, 2012.

HILL, W. G.; ROBERTSON, A. Linkage Disequilibrium in Finite Populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 38, p. 226–231, 1968.

IRANO, N. et al. Genome-wide association study for indicator traits of sexual precocity in Nelore cattle. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, p. 1–14, 2016.

JOHNSTON, D. J.; TIER, B.; GRASER, H.-U. Beef cattle breeding in Australia with genomics: opportunities and needs. **Animal Production Science**, v. 52, n. 3, p. 100, 2012.

MAGALHÃES, A. F. B. et al. Genomic selection for meat quality traits in Nelore cattle. **Meat Science**, v. 148, 2019.

MAGNABOSCO, C. U. et al. Accuracy of genomic breeding values for meat tenderness in Polled ellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 7, p. 2752–2760, 2016.

MELO, T. P. et al. Multitrait meta-analysis identified genomic regions associated with sexual precocity in tropical beef cattle¹. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 10, p. 4087–4099, 29 set. 2018.

MELO, T. P. et al. RAPID COMMUNICATION: Multi-breed validation study unraveled genomic regions associated with puberty traits segregating across tropically adapted

breeds. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 7, 2019.

MOTA, L. F. M. et al. Genome-wide scan highlights the role of candidate genes on phenotypic plasticity for age at first calving in Nellore heifers. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–13, dez. 2020.

NASCIMENTO, A. V. et al. Genome wide association study on early puberty in *Bos indicus*. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, 2016.

NEVES, H. H. R. et al. Accuracy of genomic predictions in *Bos indicus* (Nellore) cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 46, n. 1, p. 1–13, 2014.

OLIVEIRA JÚNIOR, G. A. et al. Genomic study and medical subject headings enrichment analysis of early pregnancy rate and antral follicle numbers in Nelore heifers. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 11, p. 4796–4812, 2017.

OLIVEIRA JÚNIOR, G. A. et al. Fine mapping of genomic regions associated with female fertility in Nellore beef cattle based on sequence variants from segregating sires. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 1–13, 2019.

PAUSCH, H. et al. Evaluation of the accuracy of imputed sequence variant genotypes and their utility for causal variant detection in cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 49, n. 24, 2017.

PETERS, S. O. et al. Heritability and bayesian genome-wide association study of first service conception and pregnancy in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 605–612, 2013.

SARGOLZAEI, M.; CHESNAIS, J. P.; SCHENKEL, F. S. A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **BMC Genomics**, v. 15, n. 478, 2014.

SHIOTSUKI, L. et al. Genetic associations of sexual precocity with growth traits and visual scores of conformation, finishing, and muscling in Nelore cattle¹. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 5, p. 1591–1597, 1 maio 2009.

SILVA, R. M. O. et al. Accuracies of genomic prediction of feed efficiency traits using different prediction and validation methods in an experimental Nelore cattle population. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 9, p. 3613–3623, set. 2016.

ST-PIERRE, N. R. et al. Genome-wide association study and annotating candidate gene networks affecting age at first calving in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2017.

TERAKADO, A. P. N. et al. Evaluation of productivity of sexually precocious Nelore heifers. **Animal**, v. 9, n. 6, p. 938–943, 2014.

TERAKADO, A. P. N. et al. Comparison of methods for predicting genomic breeding values for growth traits in Nellore cattle. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 3, p. 1–7, 2021.

WARBURTON, C. L. et al. Use of whole-genome sequence data and novel genomic selection strategies to improve selection for age at puberty in tropically-adapted beef heifers. **Genetics Selection Evolution**, v. 52, n. 28, 2020.

ZHANG, C. et al. PopLDdecay: A fast and effective tool for linkage disequilibrium decay analysis based on variant call format files. **Bioinformatics**, v. 35, n. 10, p. 1786–1788, 2019.

ZHANG, Y. D. et al. Genomic selection for female reproduction in Australian tropically adapted beef cattle. **Animal Production Science**, v. 54, p. 16–24, 2014.