

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus de Botucatu

**IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS E VIAS METABÓLICAS
ASSOCIADAS COM SUSCEPTIBILIDADE À ACIDOSE RUMINAL EM
BOVINOS NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO**

DANIELA DUTRA ESTEVAM

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de Doutor.

Botucatu/SP

Agosto/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus de Botucatu

**IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS E VIAS METABÓLICAS
ASSOCIADAS COM SUSCEPTIBILIDADE À ACIDOSE RUMINAL EM
BOVINOS NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO**

DANIELA DUTRA ESTEVAM
ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni
Coorientador: Prof. Dr. Danilo Domingues Millen

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de Doutor.

Botucatu/SP

Agosto/2019

E79i Estevam, Daniela Dutra
Identificação de regiões genômicas e vias metabólicas associadas
com susceptibilidade à acidose ruminal em bovinos Nelore terminados
em confinamento / Daniela Dutra Estevam. -- Botucatu, 2019
72 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Mário De Beni Arrigoni
Coorientador: Danilo Domingues Millen

1. Bovinos. 2. Melhoramento genético. 3. Acidose. 4.
Confinamento (Animais). I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Daniela Dutra Estevam, nascida em 22 de agosto de 1988, na cidade de Osvaldo Cruz/SP. Coursou o ensino fundamental no Colégio Anglo e médio no Colégio Cooperativo, ambos em Osvaldo Cruz. Em agosto de 2008, ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT/UNESP), Campus de Dracena, onde obteve o grau de Zootecnista em junho de 2013. Em agosto de 2013, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), Campus de Botucatu, onde obteve o grau de Mestra em Zootecnia em janeiro de 2016. Em março de 2016, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), Campus de Botucatu, obtendo título de Doutora em Zootecnia em agosto de 2019.

À minha querida avó Enedina (*in memoriam*),
que sempre será meu exemplo de força, fé e
amor. Por me amparar em todas as horas e
acreditar nos meus sonhos.

DEDICO.

Aos meus pais, Antonio Carlos e
Aparecida, e à minha irmã Sílvia por
iluminarem meus passos com carinho e por
serem meus esteios.

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela minha saúde, paciência e resiliência nos desafios que tive em minha jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni, por toda confiança, conselhos, dedicação e amparo durante todos esses anos. Agradeço imensamente por nunca me deixar esmorecer e por ser meu grande exemplo de profissional.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Danilo Domingues Millen, pela motivação, ensinamentos e principalmente pela confiança no desenvolvimento deste estudo.

A prof. Dra. Cyntia Ludovico Martins, pela amizade, confiança, preocupação e por sempre ter uma palavra amiga.

Ao Prof. Dr. Fernando Baldi pela parceria, disponibilidade e auxílio nas análises genômicas. Agradeço principalmente pela enorme paciência e bom humor com minhas dúvidas e questionamentos.

A todos os profissionais e pesquisadores que conduziram os experimentos com dedicação e que não mediram esforços para que as coletas de dados fossem realizadas com excelência: André Rigueiro, Carolina Floret, Gabriel de Melo, Leonardo Müller, Ludmila Monteiro, Murillo Pereira e Ramon Rizzieri. Bem como às equipes de pesquisa dos professores Danilo Domingues Millen, Flávio Augusto dos Santos Portela e Mário De Beni Arrigoni.

Ao Tiago Acedo, Victor Carvalho, Guilherme Vasconcelos e Alexandre Perdigão, por acreditarem na parceria e na qualidade de nosso trabalho juntamente com a Fazenda Caçadinha, da DSM Nutritional Products S.A..

Ao Rafael Espigolan pelo enorme auxílio e dedicação nas análises de associação genômica.

À Nedenia Bonvino Stafuzza, disponibilidade, paciência, preocupação e auxílio totalmente minucioso nas análises de prospecção de genes.

Ao prof. Dr. Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo por sempre disponibilizar seu laboratório e equipamentos para as análises histológicas.

Aos moradores das repúblicas Vaca-H e Boi Gordo, minha segunda e terceira casa em Dracena, pela amizade e por sempre me receberem de braços abertos.

Ao Bruno, pelo companheirismo, auxílio nas dificuldades e por me ensinar a levar a vida com mais leveza.

Aos amigos de longa data, André, Daniel, Kamila, Larissa, Mayara e Natália, pelo apoio e torcida, apesar da distância.

Aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Luiz Carlos (*in memorian*) e Andressa, pelo auxílio e dedicação.

Aos funcionários da Pós-Graduação Carlos, Ellen, Seila e Cláudia, pela disponibilidade de ajuda e serviços prestados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de estudos concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio regular à pesquisa concedido (Processo 2017/21792-3).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que não foram citados e que de alguma forma contribuíram para a conclusão desse projeto.

MUITO OBRIGADA!

EPÍGRAFE

“Não somos nosso sotaque, nem nossa posição social. Não somos nossos bens materiais, a religião que professamos, o cargo que exercemos e nem a cor de pele que temos.

Antes, somos o amor que cultivamos, o bem que praticamos, o conhecimento que adquirimos, as lições que aprendemos, a verdade que buscamos.

Do universo de possibilidades de que somos constituídos, nós somos as escolhas que fazemos.”

Mário Sérgio Cortella

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para ganho de peso diário.	36
Figura 2. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para peso vivo final.	37
Figura 3. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para tempo de refeição.	38
Figura 4. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para tempo ruminando.	39
Figura 5. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para rumenite.	40
Figura 6. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para área de superfície absorptiva por cm ² do epitélio ruminal.	41
Figura 7. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para espessura da camada de queratina do epitélio ruminal.	42
Figura 8. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para peso de carcaça quente.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros estimados de variância genética aditiva, variância residual e herdabilidade para as características analisadas.	34
--	----

ANEXOS

Tabela A. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica ganho de peso diário.	53
Tabela B. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica peso vivo final.	54
Tabela C. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica tempo de refeição.	55
Tabela D. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica tempo ruminando.	57
Tabela E. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica rumenite.	58
Tabela F. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica área de superfície absorviva..	59
Tabela G. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica espessura da camada de queratina.	60
Tabela H. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica peso de carcaça quente.	61
Tabela I. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em ganho de peso diário ($P < 0.05$).	62
Tabela J. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em peso vivo final ($P < 0.05$).	63

Tabela K. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em tempo de refeição ($P < 0.05$).	64
Tabela L. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em tempo de ruminação ($P < 0.05$).	65
Tabela M. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em rumenite ($P < 0.05$).	66
Tabela N. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em área de superfície absorptiva por cm^2 do epitélio ruminal ($P < 0.05$).	67
Tabela O. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias KEGG com base em espessura da camada de queratina do epitélio ruminal ($P < 0.05$).	68
Tabela P. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em peso de carcaça quente ($P < 0.05$).	70

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	13
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
REVISÃO DE LITERATURA	15
Acidose ruminal.....	15
Estudos de associação ampla do genoma - GWAS	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
 CAPÍTULO 2	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO.....	28
MATERIAL E MÉTODOS.....	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	53
 CAPÍTULO 3	71
IMPLICAÇÕES	72

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A utilização de dietas com altas proporções de ingredientes concentrados tem aumentado a cada ano nos confinamentos de bovinos de corte no Brasil, o que pode acarretar em maiores problemas de ordem metabólica nos animais, como a acidose, indicada por 27,6% dos nutricionistas como o segundo principal problema de saúde nos confinamentos nacionais, ficando atrás de apenas de problemas respiratórios (PINTO e MILLEN, 2018).

O desenvolvimento da acidose tanto subaguda como aguda em bovinos confinados envolve uma complexa interação entre o consumo, composição da dieta, microrganismos ruminais e o próprio animal. O estabelecimento de uma microbiota estável durante a transição de dieta à base de forragem para uma dieta com concentrado não é imediata (SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003) e a introdução de amido altamente fermentável na dieta aumenta a disponibilidade de glicose livre, estimulando o crescimento de bactérias ruminais, aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e consequentemente, a diminuição do pH ruminal (OWENS et al., 1998).

Bovinos do genótipo *Bos taurus indicus* quando comparados aos *Bos taurus taurus*, demonstram maior sensibilidade a desordens metabólicas como a acidose, o que é evidenciado quando são observadas lesões no rúmen desses animais. Em estudos realizados no Brasil (PACHECO et al., 2012; MILLEN et al., 2015 e WATANABE, 2016), bovinos da raça Nelore apresentaram maiores lesões ruminais que animais *Bos taurus taurus* ou com algum grau de consanguinidade com esse genótipo.

Essa variação de susceptibilidade entre os animais em relação à acidose ruminal vem sendo observada pelos pesquisadores e nutricionistas há alguns anos e tornou-se um desafio, pois o aumento de ingredientes concentrados nas dietas promove um

aumento na fermentação ruminal, tornando o risco de acidose ruminal iminente. No entanto, essa susceptibilidade também apresenta uma oportunidade para que haja uma seleção em relação à resistência à acidose ruminal em bovinos de corte.

REVISÃO DE LITERATURA

ACIDOSE RUMINAL

A acidose ruminal ocorre quando a taxa de produção de ácido é maior que a taxa de remoção deste no conteúdo ruminal (PENNER e BEAUCHEMIN, 2010), causando aumento da disponibilidade de glicose livre, crescimento de bactérias como a *Streptococcus bovis*, aumento da produção de AGCC e do ácido láctico, juntamente com a redução do pH do rúmen, que provocam consequências negativas na motilidade do rúmen, fermentação da fibra e consumo de alimentos (KRAJCARSKI-HUNT et al., 2002). Além disso, o acúmulo excessivo de AGCC no líquido ruminal aumenta sua osmolaridade, que por sua vez inibe a ingestão de alimentos, salivação e o início da ruminação após as refeições (CARTER e GROVUM, 1990).

De acordo com a gravidade, a acidose ruminal pode ser caracterizada como clínica, no qual o pH é menor que 5,2 ou subclínica, em que o a faixa de pH está entre 5,2 e 5,6. A acidose ruminal clínica é causada pela ingestão abrupta de carboidratos altamente fermentescíveis, que aumenta a produção de AGCC, produção e acúmulo de ácido láctico e diminuição o pH ruminal, resultando em sinais clínicos evidentes, como diarreia, anorexia e morte (OWENS et al., 1998).

Em contrapartida, a diminuição do pH associado à acidose ruminal subclínica, em que os animais geralmente não apresentam sinais clínicos (NOCEK, 1997), é devido ao

acúmulo de AGCC sem aumento acentuado na concentração de ácido láctico (KRAUSE e OETZEL, 2006) pois as bactérias consumidoras de lactato permanecem ativas (GOAD et al., 1998) e rapidamente metabolizam os AGCC. Porém, a acidose subclínica tem o potencial de se tornar acidose clínica se o pH próximo a 5,0 for mantido durante um tempo, o que inibe o crescimento das bactérias consumidoras de lactato. No entanto, o período de tempo necessário para que isso aconteça ainda não foi determinado (NAGARAJA e TITGEMEYER, 2007).

Para evitar o acúmulo dos AGCC que podem causar distúrbios metabólicos, o ruminante utiliza alguns mecanismos, como a saliva, que contém bicarbonato e neutraliza os ácidos pela reação da anidrase carbônica que converte bicarbonato e H^+ em CO_2 e água, além de possibilitar a entrada de hidrogênio fosfato no rúmen. De acordo com Allen (1997), cerca de 30% da produção total de H^+ é neutralizada por dia.

Além da saliva, há a absorção dos AGCC pela parede do rúmen por difusão passiva, em que os ácidos estão ligados ao H^+ , ou seja, não dissociados. Porém, em condições de pH ruminal normal, a grande maioria dos AGCC encontram-se no estado dissociado. Esse mecanismo é considerado ineficaz em relação à regulação do pH ruminal à medida que o H^+ é removido juntamente com os AGCC (PENNER e BEAUCHEMIN, 2010).

Outro modo de absorção dos ácidos é por meio de uma proteína de transporte que facilita a troca de bicarbonato pelo AGCC dissociado (ASCHENBACH et al., 2009), em que a cada AGCC absorvido, aproximadamente 0,53 de bicarbonato é secretado. Neste processo, os AGCC são removidos enquanto o epitélio ruminal fornece bicarbonato, que reage com os prótons através da reação da anidrase carbônica, produzindo água e CO_2 , que pode ser removido por meio de eructação. Além disso, há a passagem do ácido para fora do rúmen via parede ruminal (GÄBEL et al., 1991).

A transição para dietas com ingredientes de alto teor de concentrado induz mudanças na população microbiana e na fermentação no rúmen. O estabelecimento de uma microflora estável durante a transição de dieta à base de forragem para uma dieta com concentrado não é imediata (SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003) e o crescimento microbiano e a produção de AGCC aumentam devido à presença de grandes quantidades de carboidratos facilmente fermentáveis. O número de bactérias fibrolíticas diminui, enquanto as bactérias amilolíticas e gram positivas aumentam, além da morte de protozoários. Hungate et al. (1952) ao estudar as mudanças ocorridas no ambiente ruminal nessas condições, observaram que bactérias *Streptococcus bovis* é a principal causa da acidez ruminal.

Cada animal pode variar acentuadamente em sua capacidade de lidar com os fatores dietéticos que os predispõem à acidose (DOUGHERTY et al., 1975; BROWN et al., 2000), e em confinamentos comerciais podem ocorrer variações de pH ruminal entre os animais que receberam a mesma dieta, já que a capacidade ou incapacidade de manter o pH ruminal elevado pode também estar relacionado com a sua preferência alimentar, seletividade, a velocidade com que estes consomem a ração (SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003), questões fisiológicas e imunológicas (YANEZ-RUIZ et al., 2015). Assim, torna-se improvável que estratégias atuais de controle gerenciem a acidose ruminal em todo o rebanho devido a essa variação considerável (GOLDER et al., 2014).

Reduções acentuadas do pH do rúmen podem causar alterações negativas no epitélio ruminal (PENNER et al., 2009), causando anormalidades nas papilas ruminais e rumenites (MCMANUS et al., 1977), tornando a absorção dos AGCC via parede ruminal menor. Ao estudar a ação de alguns ácidos em predispor lesão ruminal e, conseqüentemente, quadros de rumenites, Costa et al. (2008), relataram que o

propionato foi o AGCC que mais contribuiu para o crescimento das papilas metabolicamente ativas e que tanto o butirato quanto o lactato podem causar lesões às papilas quando encontrados em altas concentrações.

Firkins e Yu (2015) observaram que as diferenças na estrutura da microbiota ruminal entre os animais que recebem a mesma dieta frequentemente excedem as diferenças entre os animais que recebem dietas distintas, o que é explicado devido às raças e interações do hospedeiro com a microbiota ruminal (KING et al., 2011; HERNANDEZ-SANABRIA et al., 2013), mas ainda não foi estabelecido se esta microbiota é o resultado da genética, ambiente ou sua interação, ou como isso pode influenciar a suscetibilidade à acidose ruminal ou outros distúrbios (GOLDER et al., 2018). Porém, segundo Penner e Beauchemin (2010), a susceptibilidade da acidose é devido às diferenças na capacidade absorptiva da parede ruminal de cada animal.

Estudos de associação ampla do genoma – GWAS

Estudos de associação genômica ampla (GWAS) permitem a identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) associados a genes de grande efeito que influenciam as características analisadas, proporcionando um melhor entendimento biológico desta e uma lista de genes candidatos para o mapeamento fino (MAGALHÃES et al., 2016).

Goddard & Hayes (2009) definiram GWAS como uma estratégia que envolve o uso de painéis de marcadores moleculares distribuídos por todo o genoma, selecionados para a identificação de regiões dos cromossomos associadas com um fenótipo de interesse. Em geral, os GWAS podem ser realizados de duas formas distintas: estudos em famílias e estudos na população. Nos GWAS em famílias, informações dos

indivíduos amostrados e seus pais são coletados com o objetivo de identificar alelos transmitidos de pais para filhos com uma frequência maior, quando comparados ao acaso (SANTANA, 2013).

Segundo Mckinney et al. (2009), os GWAS são comumente constituídos por cinco etapas: 1) Planejamento e levantamento de informações para o estudo e fundamentação para a seleção dos grupos caso e controle; 2) Coleta das amostras biológicas e genotipagem do material genético dos indivíduos selecionados; 3) Realização do controle de qualidade sobre os dados gerados pela genotipagem, 4) Realização da análise de associação propriamente dita para os SNPs que passarem pelo controle de qualidade; e 5) Validação dos SNPs que se apresentam associados no estudo.

Ao avaliar associações entre SNPs e características de carcaça como área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e peso de carcaça quente (PCQ) em bovinos machos da raça Nelore com estudos de associação genômica, Espigolan et al. (2015) observaram a presença de vários SNPs significativos que afetam as características de carcaça nesses animais nos cromossomos 2 e 6 para AOL e nos cromossomos 7, 1 e 2 para EGS. Para PCQ, associações com SNPs foram encontradas nos cromossomos 13, 14 e 28, além de regiões do genoma que estavam diretamente relacionadas a essa característica, como desenvolvimento ósseo, metabolismo basal e sistema imune.

Utsunomiya et al. (2013) identificaram SNPs significativos para peso ao nascer no cromossomo 14 de bovinos Nelore em regiões distantes do SNP encontrado no estudo anteriormente citado. Isso demonstra que os genes que afetam o peso ao nascer não são os mesmos que afetam o peso da carcaça nesta raça. Portanto, seria possível usar diferentes SNPs para aumentar o peso da carcaça sem aumentar o peso ao nascer.

Nishimura et al. (2012) identificaram SNPs significativos para PCQ nos cromossomos 6, 8 e 14 de Wagyu. Da mesma forma, Lee et al. (2012) detectaram SNPs significativos para os PCQ no cromossomo 4 de bovinos Hanwoo. Em ambos os estudos, os SNPs estavam em regiões distantes das observadas nos estudos realizados com bovinos Nelore, o que sugere que as regiões que mais afetam esta característica diferem entre raças e/ou subespécies (ESPIGOLAN et al., 2015).

Keele et al. (2016) realizaram um estudo relacionado à abscessos hepáticos com bovinos taurinos e encontraram evidências de que há uma variação genética na incidência abscessos hepáticos, que inclui uma variação de genes que regulam o pH gastrointestinal, reparação do fígado após algum tipo de lesão e função das células imunitárias. Os autores também concluíram que incidências de acidose ruminal aguda e subaguda provavelmente diminuiriam em resposta à seleção de animais utilizando avaliações genéticas com base no SNP associado à incidência de abscessos hepáticos.

Ghebrewold e Spangler (2016) analisaram mudanças no consumo de matéria seca de bovinos de corte taurinos devido à variação de temperatura e encontraram resultados que sugerem que as estimativas de herdabilidade genômica na ingestão de matéria seca devido a mudanças na temperatura ambiente estão sob controle genético. Os autores também observaram que apesar da população utilizada no estudo ser pequena (n=207) e utilizarem mais de uma raça (cruzamentos de Angus, Simental e Piemontês), há maneiras de identificar animais mais sensíveis a temperaturas baixas.

Diante do exposto, o Capítulo 2, intitulado **“Identificação de regiões genômicas e vias metabólicas associadas com susceptibilidade à acidose ruminal em bovinos Nelore terminados em confinamento”** apresenta-se de acordo com as normas para publicação no periódico *PlosOne*, exceto idioma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, M.S. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**. 80: 1447-1462.
- ASCHENBACH, J.R., S. BILK, G. TADESSE, F. STUMPPF, and GÄBEL, G. 2009. Bicarbonate-dependent and bicarbonate-independent mechanisms contribute to nondiffusive apical uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. **American of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, 296:G1098-1107.
- BROWN, M. S., KREHBIEL, C. R., GALYEAN, M. L., REMENGA, M. D., et al. 2000. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**, 78:3155-3168.
- CARTER, R. R., and GROVUM, W. L. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. **Journal of Animal Science**, 68:2811–2832.
- COSTA, S. F., PEREIRA, M. N., MELO, L. Q., RESENDE JÚNIOR, J. C., E CHAVES, M. L. 2008. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros – I Aspectos histológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 60(1):1-9.
- DOUGHERTY, R. W., RILEY, J. L., BAETZ, A. L., ET AL. 1975. Physiologic studies of experimentally grain-engorged cattle and sheep. **American Journal of Veterinary Research**, 36:833-835.
- ESPIGOLAN, R., BALDI, F., BOLIGON, A. A., et al. 2015. Associations between single nucleotide polymorphisms and carcass traits in Nellore cattle using high-density panels. **Genetics and Molecular Research**, 14 (3): 11133-11144.
- FIRKINS, J., and YU, Z. 2015. Ruminant Nutrition Symposium: How to use data on the rumen microbiome to improve our understanding of ruminant nutrition. **Journal of Animal Science**, 93:1450–1470. doi: 10.2527/jas.2014-8754

- GÄBEL, G., M. BESTMANN, and H. MARTENS. 1991. Influences of diet, short-chain fatty acids, lactate and chloride on bicarbonate movement across the reticulo-rumen wall of sheep. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, 38: 523-529.
- GHEBREWOLD, R. and SPANGLER, M. L. 2016. A genome-wide association study for changes in dry matter intake due to temperature variation in an admixed beef cattle population. **Journal of Animal Science**, 94(5): 149.
- GOAD, D. W., GOAD, C. L., and NAGARAJA, T. G. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal Animal Science** 76:234–241.
- GOLDER, H.M., CELI, P., RABIEE, A. R., and LEAN, I. J. 2014. Effects of feed additives on rumen and blood profiles during a starch and fructose challenge. **Journal of Dairy Science**, 97:985–1004. doi: 10.3168/jds.2013-7166.
- GOLDER, H. M., THOMSON, J. M., DENMAN, S. E., McSWEENEY, C. S., and LEAN, I. J. 2018. Genetic markers are associated with the ruminal microbiome and metabolome in grain and sugar challenged dairy heifers. **Frontiers in Genetics**, 9:62. doi: 10.3389/fgene.2018.00062
- HERNANDEZ-SANABRIA, E., GOONEWARDENE, L. A., WANG, Z., ZHOU, M., and MOORE, S. S. 2013. Influence of sire breed on the interplay among rumen microbial populations inhabiting the rumen liquid of the progeny in beef cattle. **PLoS ONE** 8:e58461. doi: 10.1371/journal.pone.0058461.
- HUNGATE, R. E., DOUGHERTY, R. W., BRYANT, M. P., and CELLO, R. M. 1952. Microbiological and physiological changes associated with acute indigestion in sheep. **Cornell Veterinary** 42:423–447
- KEELE, J. W., KUEHN, L. A., MCDANELD, T. G., et al. 2016. Genome-wide association study of liver abscess in beef cattle. **Journal of Animal Science**, 94:490–499, doi:10.2527/jas2015-9887.
- KING, E. E., SMITH, R. P., St-PIERRE, B., and WRIGHT, A.D.G. 2011. Differences in the rumen methanogen populations of lactating Jersey and Holstein dairy cows under the same diet regimen. **Applied and Environmental Microbiology**, 77: 5682–5687. doi: 10.1128/AEM.05130-11.
- KRAJCARSKI-HUNT, H., PLAIZIER, J. C., WALTON, J. P., et al. 2002. Short communication: effect of subacute ruminal acidosis on *in situ* fiber digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 85:570-573.

- KRAUSE, K.M., and OETZEL, G.R. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, 126: 215-236.
- LEE, S.H., VAN der WERF, J., LEE, et al. 2012. Genome wide QTL mapping to identify candidate genes for carcass traits in Hanwoo (Korean Cattle). **Genes Genomic**, 34: 43-49.
- MAGALHÃES A. F. B., de CAMARGO G. M. F., FERNANDES, G. A., et al. 2016. Genome-wide association study of meat quality traits in Nellore cattle. **PLoS ONE** 11(6): e0157845. doi:10.1371/journal.pone.0157845
- MCMANUS, W. R., LEE, G. J. and ROBINSON, V. N. E. 1977. Microlesions on rumen papillae of sheep fed diets of wheat grain. **Research in Veterinary Science**, 22:135-137.
- MILLEN, D. D., PACHECO, R. D. L., DILORENZO, N., MARTINS, C. L., et al. 2015. Effects of feeding a spray-dried multivalent polyclonal antibody preparation on feedlot performance, feeding behavior, carcass characteristics, rumenitis, and blood gas profile of Brangus and Nellore yearling bull. **Journal of Animal Science**, 93(9): 4387-4400.
- NAGARAJA, T. G., and TITGEMEYER, E. C. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science** 90:17-38.
- NISHIMURA, S., WATANABE, T., MIZOSHITA, K., TATSUDA, K. et al. 2012. Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. **BMC Genetics**, 13:40.
- NOCEK, J. E. 1997. Bovine acidosis: Implications on laminitis. **Journal of Dairy Science** 80:1005–1028.
- OWENS, F. N., SECRIST, D. S., HILL, W. J., AND GILL, D. R. 1998. Acidosis in cattle: A review. **Journal of Animal Science**, 76(1):275-286.
- PACHECO, R. D. L., MILLEN, D. D., DILORENZO, N., et al. 2012. Effects of feeding a multivalent polyclonal antibody preparation on feedlot performance, carcass characteristics, rumenitis, and blood gas profile in *Bos indicus* biotype yearling bulls. **Journal of Animal Science**, 90:1898–1909.
- PENNER, G. B., TANIGUCHI, M., GUAN, L. L., BEAUCHEMIN, K. A., and OBA, M. 2009. Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid

- absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue. **Journal Dairy Science**, 92:2767–2781.
- PENNER, G. B., and BEAUCHEMIN, K. A. 2010. Variation in the Susceptibility to Ruminal Acidosis: Challenge or Opportunity? **WCDS Advances in Dairy Technology**, 22: 173-187.
- PINTO, A.C.J., MILLEN, D. D. 2018. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: The 2016 Brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**, 1: CJAS-2018-0031.
- SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S., BEAUCHEMIN, K. A., GIBB, D. J., et al. 2003. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: a review. **Journal of Animal Science** 81:149-158.
- STONE, W.C. 2004. Nutritional Approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. **Journal of Dairy Science** 87(E Suppl.): 13-26.
- UTSUNOMIYA, Y.T., CARMO, A.S., CARVALHEIRO, R., NEVES, H.H.R., et al. 2013. Genome-wide association study for birth weight in Nelore cattle points to previously described orthologous genes affecting human and bovine height. **BMC Genetics** 14: 52.
- WATANABE, D. H. M. **Desempenho de bovinos nelore e ½ Angus/Nelore adaptados em confinamento por 9 ou 14 dias**. 2016. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista, Dracena.
- YANEZ-RUIZ, D. R., ABECIA, L., NEWBOLD, C. 2015. Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. **Frontiers in Microbiology**, 5:1-12.

CAPÍTULO 2

RESUMO

Identificação de regiões genômicas e vias metabólicas associadas com susceptibilidade à acidose ruminal em bovinos Nelore terminados em confinamento

Quando bovinos de corte são alimentados com dietas de alto teor de concentrado em confinamentos, há um alto risco de estes terem distúrbios metabólicos, principalmente se forem do genótipo *Bos taurus indicus*, que em alguns estudos demonstraram ser mais sensíveis. Além disso, há uma grande variação entre os animais para lidarem com este distúrbio, principalmente pela preferência alimentar individual. Este estudo teve como objetivo identificar as regiões genômicas relacionadas à acidose ruminal de bovinos confinados da raça Nelore (n=642). Utilizou-se o painel GGP Indicus 35k, com a metodologia ssGWAS em que os efeitos dos marcadores foram obtidos a partir dos valores genômicos estimados pelo modelo *GBLUP*. Regiões genômicas que representaram mais de 1,0% da variância genética aditiva foram utilizadas. Os genes candidatos identificados estão envolvidos principalmente na regulação negativa ou não do processo apoptótico, secreção salivar e transporte de transmembrana. A identificação dessas regiões e seus respectivos genes candidatos pode contribuir para a formação de uma base genética para a susceptibilidade à acidose ruminal em bovinos Nelore.

Palavras chave: confinamento, distúrbio metabólico, parâmetros genéticos, zebu.

ABSTRACT

Identification of genomic regions and physiological pathways associated with susceptibility to ruminal acidosis in feedlot Nellore cattle.

When beef cattle are fed high-concentrate diets, there may be a high risk of metabolic disorders, such as acidosis, especially in cattle from *Bos taurus indicus* genotypes, which have shown to be more sensitive to this disease in some studies. In addition, it is well documented in the literature that there's great variation among animals, and each animal responds differently in order to cope with this disorder, especially when related to feed preferences, that is, the same diet may lead some animals to acidosis and others may not present any clinical signs. Therefore, this study will aim to identify genomic regions responsible for the ruminal acidosis in Nellore cattle (n=642). The GGP Indicus 35k panel was used with the ssGWAS methodology in which the effects of the markers were obtained from the genomic values estimated by the GBLUP model. Genomic regions that represented more than 1.0% of additive genetic variance were used. The identified candidate genes are mainly involved in the negative or non-regulation of apoptotic process, salivary secretion and transmembrane transport. The identification of these regions and their respective candidate genes may contribute to the formation of a genetic basis for susceptibility to rumen acidosis in Nellore cattle.

Key words: feedlot, metabolic disorder, genetic parameter, zebu.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, sendo um grande produtor e exportador de carne bovina, apresentou no período entre 2008 e 2017 um aumento de 38,1% no número de bovinos confinados (ANUALPEC, 2017). Essas transformações na pecuária nacional aumentam a necessidade de maiores informações nutricionais a fim de promover o aumento da produtividade, juntamente com o desempenho e a eficiência animal.

A utilização de dietas com altas proporções de ingredientes concentrados também tem aumentado a cada ano nos confinamentos para a terminação de bovinos de corte. Oliveira e Millen (2014) relataram que nos confinamentos brasileiros, o nível de inclusão de ingredientes concentrados nas dietas é em média de 79%. Esse aumento de ingredientes concentrados nas dietas pode acarretar em maiores problemas de ordem metabólica nos animais, como a acidose, indicada por 27,6% dos nutricionistas como o segundo principal problema de saúde nos confinamentos nacionais, ficando atrás apenas de problemas respiratórios (Pinto e Millen, 2018).

O desenvolvimento da acidose tanto subaguda como aguda em bovinos confinados envolve uma complexa interação entre o consumo, composição da dieta, microrganismos ruminais e o próprio animal. O estabelecimento de uma microbiota estável durante a transição de dieta à base de forragem para uma dieta com concentrado não é imediata (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003) e a introdução de amido altamente fermentável na dieta aumenta a disponibilidade de glicose livre, estimulando o crescimento de bactérias ruminais, aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e consequentemente, a diminuição do pH ruminal (Owens et al., 1998).

Essa variação de susceptibilidade entre os animais em relação à acidose ruminal vem sendo observada pelos pesquisadores e nutricionistas há alguns anos e tornou-se um desafio, pois o aumento de ingredientes concentrados nas dietas promove um

aumento na fermentação ruminal, tornando o risco de acidose ruminal iminente. No entanto, essa susceptibilidade também apresenta uma oportunidade para que haja uma seleção em relação à resistência à acidose ruminal em bovinos de corte.

O objetivo deste estudo foi identificar os genes responsáveis pela acidose ruminal em bovinos da raça Nelore confinados e alimentados com dietas de alto teor de concentrado a fim de possibilitar a seleção destes quanto ao melhor sistema de terminação de acordo com a susceptibilidade ou não a este distúrbio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e Locais dos Experimentos

Foram coletados dados de sete experimentos realizados simultaneamente entre os anos de 2016 e 2018; sendo dois no Confinamento Experimental de Bovinos Superprecoce da Unesp, Campus de Botucatu; três no Confinamento de Bovinos de Corte da Unesp, Campus de Dracena; um na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da USP, em Piracicaba e outro no Centro de Inovação e Ciência Aplicada de Ruminantes da DSM, Fazenda Caçadinha em Rio Brilhante/MS. Foram utilizados no total, 642 animais machos não castrados da raça Nelore, com peso vivo médio inicial de 385 kg.

No programa de recebimento, os animais foram vacinados, receberam tratamento antiparasitário e passaram por um período de pré-adaptação com o objetivo de adaptar os mesmos às instalações e manejos, bem como uniformizar a população dos micro-organismos ruminais.

Os animais foram alimentados de duas a três vezes ao dia, com ajustes de quantidade de ração oferecida diariamente, de acordo com a sobra no cocho antes da

primeira refeição diária e as dietas continham de 80 a 85% de concentrado.

2.2 Desempenho produtivo e comportamento ingestivo dos animais

Os animais foram pesados a cada 28 dias e com essas mensurações, calculou-se o ganho de peso diário (Baker e Guilbert, 1942; Stock et al., 1983). Foram realizadas observações do comportamento ingestivo dos animais durante 24 horas, a cada cinco minutos, para determinação do tempo dispendido em alimentação, ócio e ruminação, expressos em minutos (Johnson e Combs, 1991) e números de refeições.

2.3 Incidência de Rumenites, morfologia e histologia ruminal

Após o abate, os rúmens de todos os animais foram lavados, avaliados e classificados conforme a incidência de lesões e quaisquer outras anormalidades seguindo a Bigham e McManus (1975), baseada numa escala de 0 a 10 pontos.

As variáveis morfológicas macroscópicas, realizadas em fragmentos do recesso do saco cranial do rúmen, foram: número médio de papilas por cm^2 de parede, área média das papilas, área total de superfície absorptiva por cm^2 de parede e representatividade da participação das papilas ruminais na área total de superfície absorptiva, de acordo com as metodologias de Resende Júnior et al. (2006) e Daniel et al. (2006).

Para avaliação histológica das papilas, foram coletados fragmentos do recesso do saco ventral do rúmen e realizado o processo histológico padrão. As mensurações de altura, largura, área das papilas ruminais, determinação do índice mitótico dos núcleos da camada basal do epitélio ruminal e espessura da camada de queratina no epitélio ruminal, de acordo com Costa et al. (2008), foram realizadas por meio do Analisador de Imagens Leica Qwin, contido no microscópio eletrônico de luz Leica.

2.4 Características de Carcaça

Foram analisadas por meio de ultrassom, a área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e marmoreio, mensuradas entre a região da 12° e 13° costelas, transversalmente ao músculo *longissimus dorsi*. Para espessura de gordura subcutânea na picanha, na intersecção dos músculos *gluteus medius* e *biceps femoris*. O rendimento de carcaça foi calculado a partir do peso da carcaça quente dividido pelo peso vivo final do animal.

2.5 Genotipagem dos animais

Foram coletados pelos da cauda de todos os animais e para a genotipagem destes, foi utilizado o painel GGP Indicus 35k que possui 30.090 SNPs. Foi realizada a limpeza e o controle de qualidade dos marcadores SNPs, excluindo àqueles com posição genômica desconhecida, marcadores monomórficos além dos que apresentaram MAF (frequência de alelos menos comuns) menor que 0,05. Também foram excluídos das análises os SNPs que apresentaram taxa de atribuição dos genótipos (*Call Rate*) menor que 90%. Após o controle de qualidade permaneceram 642 amostras e 30.947 SNPs.

2.6 Análise genética quantitativa

Os grupos contemporâneos (GC) foram definidos como animais do mesmo experimento, tratamento, bloco e baia. Os GC com três desvios padrão acima ou abaixo do valor médio de cada GC foram excluídos e o modelo utilizado para a estimativa de variância e parâmetros genéticos incluiu o efeito aleatório genético aditivo direto e o efeito fixo GC.

Os componentes variâncias e parâmetros genéticos foram estimados utilizando o método de máxima verossimilhança restrita, considerando o modelo animal linear BLUP genomic (GBLUP) e o programa computacional REMLF90 (MISZTAL et al., 2002; AGUILAR et al., 2010). O modelo GBLUP é uma modificação do BLUP com numerador da matriz de parentesco A^{-1} substituído por G^{-1} (AGUILAR et al., 2010). A matriz genômica pode ser criada (VAN RADEN et al., 2009) como segue:

$$G = ZDZ'q$$

onde, Z é a matriz de gene que contém ajuste para frequências alélicas; D , matriz com o peso do SNP (inicialmente $D=I$); e q , um fator de ponderação / normalização.

De acordo com Vitezica et al. (2011), tais fatores podem ser obtidos assegurando que a diagonal média em G é próxima de A_{22} . Para as características, o modelo pode ser representado pela seguinte equação matricial:

$$y = X\beta + Za + e,$$

onde: y é o vetor de observações; β é o vetor de efeitos fixos; a é o vetor de efeitos genéticos aditivos diretos; X é conhecida como matriz de incidência; Z é a matriz de incidência dos efeitos aleatórios genéticos aditivos diretos (associa o vetor β com vetor y); e é o vetor do efeito residual.

2.7 Análises de associação genômica

Os efeitos e variâncias dos SNPs foram estimados pela metodologia ssGWAS (*Single step of genome-wide association study*) proposta por Wang et al. (2012), em que os efeitos dos marcadores são obtidos a partir dos valores genômicos estimados pelo modelo *GBLUP*. Nestes modelos o efeito genético dos animais genotipados é função dos efeitos dos SNPs (Stranden e Garrick, 2009; Van Raden et al., 2009).

As estimativas de efeitos de SNP podem ser utilizadas para estimar a variância individual de cada efeito de SNP (ZHANG et al., 2010) e os efeitos dos SNPs e suas respectivas ponderações para GWAS foram derivados segundo Wang et al. (2012).

2.8 Prospecção de genes

O conteúdo gênico das regiões genômicas que apresentaram mais de 1% da variação genética aditiva para cada característica foi identificado usando a ferramenta Ensembl Biomart (banco de dados Genes 94) na versão UMD 3.1 (Haider et al., 2009).

A busca por termos relevantes ($P < 0,05$) de Genes Ontólogos (GO) e KEGG (Kyoto Enciclopédia de Genes e Genomas) foi realizada com a ferramenta Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) v. 6.8 (HUANG et al., 2009a; 2009b), também utilizando o UMD 3.1 como referência genômica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estimativas de parâmetros genéticos

Os componentes de variância e estimativas de herdabilidade para ganho de peso diário (GPD), peso vivo final (PVF), tempo de refeição (TREF), tempo de ruminação (TRUM), rumenite (RUM), área de superfície absorptiva por cm^2 do epitélio ruminal (ASA), espessura da camada de queratina do epitélio ruminal (QUER) e peso de carcaça quente (PCQ) estão contidos na Tabela 1.

Observou-se para GPD (Tabela 1) estimativa de herdabilidade moderada (0,34), semelhantes às encontradas por Silva et al. (2016), Grigoletto et al. (2017) e Polizel et al. (2018), que, ao realizarem estudos com bovinos Nelore, encontraram valores de 0,39, 0,37 e 0,35, respectivamente.

Tabela 1. Parâmetros estimados de variância genética aditiva, variância residual e herdabilidade para as características analisadas.

CARACTERÍSTICA	σ_a^2	σ_e^2	h^2	SD
Ganho de peso diário	0,034	0,065	0,34	0,083230
Peso vivo final	735,20	501,90	0,60	0,036000
Tempo de refeição	2,42	38,64	0,06	0,000300
Tempo de ruminação	219,30	2975,00	0,07	0,000046
Rumenite	0,03	0,59	0,05	0,001090
Área de superfície absorviva por cm ² do epitélio ruminal	118,10	182,90	0,39	0,121650
Espessura da camada de queratina do epitélio ruminal	0,21	8,50	0,02	0,000330
Peso de carcaça quente	138,60	230,60	0,38	0,079100

σ_a^2 : variância genética aditiva; σ_e^2 : variância residual; h^2 : estimativa de herdabilidade; SD = desvio padrão.

Para PVF, a estimativa de herdabilidade encontrada (Tabela 1) é considerada alta (0,60), o que indica que esta característica pode ser incluída como critério de seleção em programas de melhoramento genético animal pela alta resposta à seleção. A mesma estimativa de herdabilidade foi observada em estudo com bovinos Nelore confinados (MARQUES, 2011), diferentemente do encontrado na literatura, em que as estimativas são moderadas (0,26 a 0,48), o que pode ser explicado por serem utilizados métodos, idades e pesos diferentes deste estudo (ROSA et al., 2001; YOKOO et al., 2007; BOLIGON, ALBUQUERQUE e RORATO, 2008).

As estimativas de herdabilidades para TREF e TRUM observadas (Tabela 1) foram baixas (0,06 e 0,07, respectivamente) e menores que as encontradas na literatura. Estudos realizados com bovinos confinados de raças taurinas e cruzamentos indicam

estimativas de herdabilidades para TREF de entre 0,14 e 0,28 (NKRUMAH et al., 2007; DURUNNA et al., 2011). Para TRUM, Byskov, Fogh e Løvendahl (2016) encontraram estimativas de herdabilidades de 0,30 e 0,33 em novilhas primíparas da raça Holandesa em rebanhos comerciais e de pesquisas, respectivamente.

Observou-se (Tabela 1) estimativas de herdabilidade baixas para RUM e QUER (0,05 e 0,02, respectivamente). Nenhum estudo, até o momento, foi encontrado na literatura em relação a estimativas de parâmetros genéticos para características relacionadas à saúde ruminal. Penner e Beauchemin (2010) sugeriram que a suscetibilidade à acidose pode ser explicada pelas diferenças na capacidade absorviva da parede ruminal. O mesmo foi observado neste estudo, em que a estimativa de herdabilidade para ASA foi moderada (0,39), indicando que essa característica pode responder à seleção individual com certa eficiência.

Para PCQ, observou-se (Tabela 1) herdabilidade estimada moderada (0,38), similar às encontradas Rezende et al. (2009) e Tonussi et al. (2015) em estudos com bovinos da raça Nelore (0,38 e 0,39, respectivamente), indicando que parte da variação dessa característica é atribuída a genes com efeitos aditivos (GORDO et al., 2018).

3.2. Análises de associações genômicas

Foram identificadas 153 regiões genômicas que explicaram mais de 1,0% da variância genética aditiva para as oito características estudadas. Os resultados estão contidos nos Anexos (Tabelas A, B, C, D, F, G, H e I).

3.2.1. Ganho de peso diário

Para GPD, foram identificados 95 genes dentro das 16 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva (Tabela A; Figura 1). Alguns genes

foram identificados no BTA (*Bos taurus* autosome) com funções que poderiam elucidar melhor essa característica. Os genes T2R10C e TAS2R10, localizados em BTA5 (99231170-100200837 bp), pertencentes à família TAS2R (ou T2R) codificam os receptores acoplados à proteína G (GPCRs), que são receptores do sabor amargo, presentes na superfície das células receptoras do paladar, nas papilas gustativas (FERREIRA et al., 2013). Ao serem analisados em diferentes espécies de ruminantes, Ferreira et al. (2015) observaram que os genes T2R possuem maior proximidade em relação às espécies o que à estratégia de alimentação.

As regiões identificadas nos cromossomos BTA3 (61585623-62578574 bp), BTA13 (8656759-9647465 bp) e BTA27 (43844579-44808959 bp) com variâncias genéticas aditivas de 1,12, 1,71 e 1,36 %, não apresentaram genes candidatos próximo às regiões associadas à característica de GPD (Tabela A).

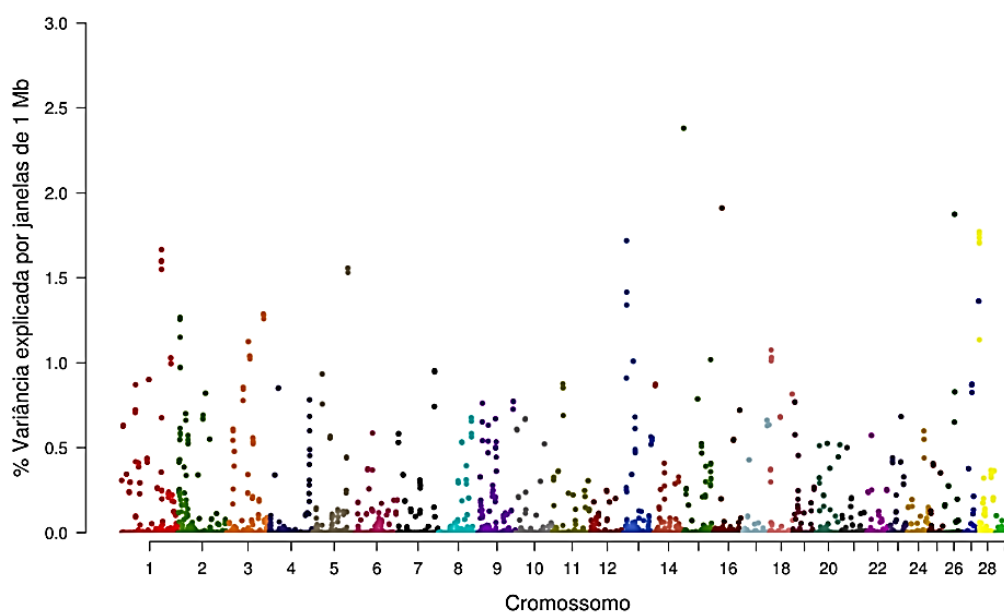


Figura 1. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para ganho de peso diário.

3.2.2. Peso vivo final

Para PVF foram identificados 84 genes dentro das 20 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva (Tabela B; Figura 2). O gene CLDN18 localizado no BTA1 (132112092-133084506 bp) codificam proteínas de membranas e componentes e cadeias e junções celulares responsáveis pela manutenção da polaridade celular e das transduções de sinal. O gene CLDN19, localizado no BTA3 (103340310-104319481 bp), desempenha um papel importante na atividade de adesão celular independente de cálcio. No BTA5 (27280629-28118531 bp) foram localizados os genes ACVR1B e ACVR1L, que codificam receptores relacionados à sinalização do TGF β . Esses genes estão envolvidos em diferentes processos biológicos durante o desenvolvimento embrionário e que exerce diversas funções na homeostase tecidual do organismo adulto (KIMURA, MATSUO e RICARTE-FILHO, 2007).

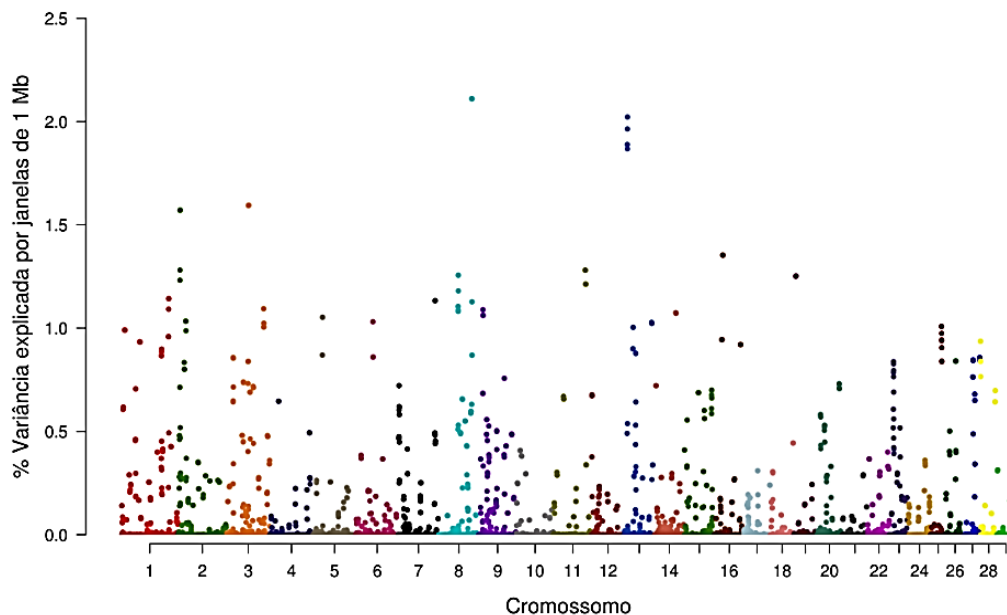


Figura 2. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para peso vivo final.

3.2.3. Tempo de refeição

Foram identificados 231 genes dentro das 24 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva para TREF (Tabela C; Figura 3). Os genes KCNA10, KCNC2, KCNC3 e KCNC4, localizados no BTA3 (32788575-33743441 bp), estão relacionados ao metabolismo do potássio, secreção de insulina e estão envolvidos em uma ampla gama de funções estruturais (LANG et al., 2000).

No cromossomo BTA3 (104290587-105266627 bp), explicando 1,13% da variância genética aditiva, foi localizado o gene GUCA2B, que codifica um hormônio endócrino, o ativador da uroguanilina, expresso no intestino que inibe a absorção do íon sódio e estimula a excreção eletrolítica no rim (SINĐIĆ e SCHATTER, 2006). A uroguanilina está envolvida na saciedade em camundongos (VALENTINO et al., 2011) e o GUCA2B pode estar envolvido na eficiência alimentar de bovinos em relação à inflamação gastrointestinal e na saciedade (BRAUD, 2017).

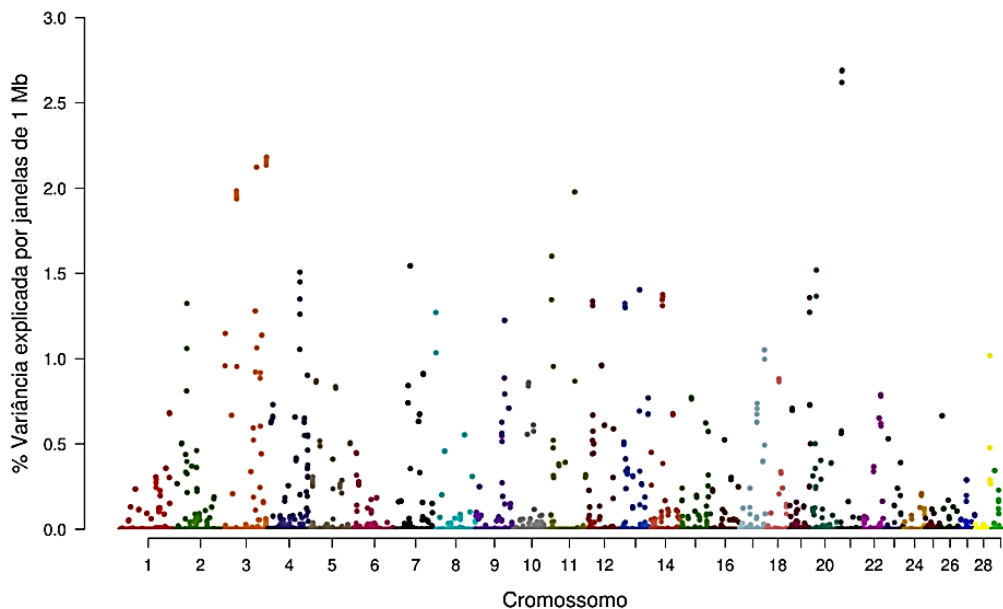


Figura 3. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para tempo de refeição.

3.2.4. Tempo de ruminação

Para TRUM, foram identificados 109 genes dentro das 24 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva (Tabela D, Figura 4). O gene CD38, localizado no BTA6 (115287358-116127355 bp), que faz parte de antígenos CD, codificam a ativação do sistema imune em resposta ao estresse ambiental (CHAN, NAGARAJ e REVERTER, 2010). Os genes candidatos encontrados não apresentaram funções associadas à característica tempo ruminando, à via citada e não há na literatura estudos de associação genômica relacionados ao comportamento ingestivo de bovinos, o que torna necessário estudos mais aprofundados, já que a via encontrada é totalmente relacionada à característica.

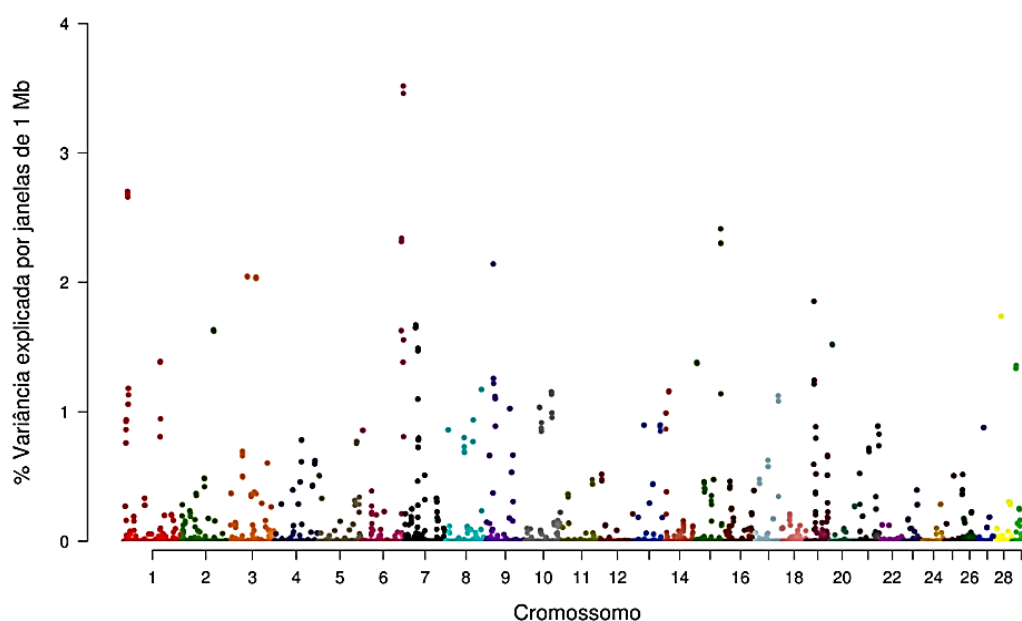


Figura 4. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para tempo ruminando.

3.2.5. Rumenite

Foram identificados 95 genes dentro das 17 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva para RUM (Tabela E; Figura 5). O gene BLK, identificado no cromossomo BTA8 (7481166-8432016 bp) está relacionado à

proliferação e diferenciação celular, além estimular a síntese e a secreção de insulina. No cromossomo BTA16 (55651501-56568724 bp), foi identificado o gene PRDX6, pertencente à família PRDX, que desempenha um papel importante na proliferação celular, diferenciação, resposta imune e controle da apoptose (FUJII e IKEDA, 2002). Leyens, Donnay e Knoops (2003) observaram que o PRDX6 tem função de proteger o estresse oxidativo exógeno em tecidos de bovinos.

No BTA 28 (14805287-15739975 bp) foi identificado o gene SLC16A9, que pertence a uma família de genes transportadores de soluto (SLC), mais especificamente transportadores de monocarboxilatos. Esse gene também foi encontrado por Sun et al. (2018), ao estudarem o genoma de tecidos de bovinos relacionados à eficiência alimentar.

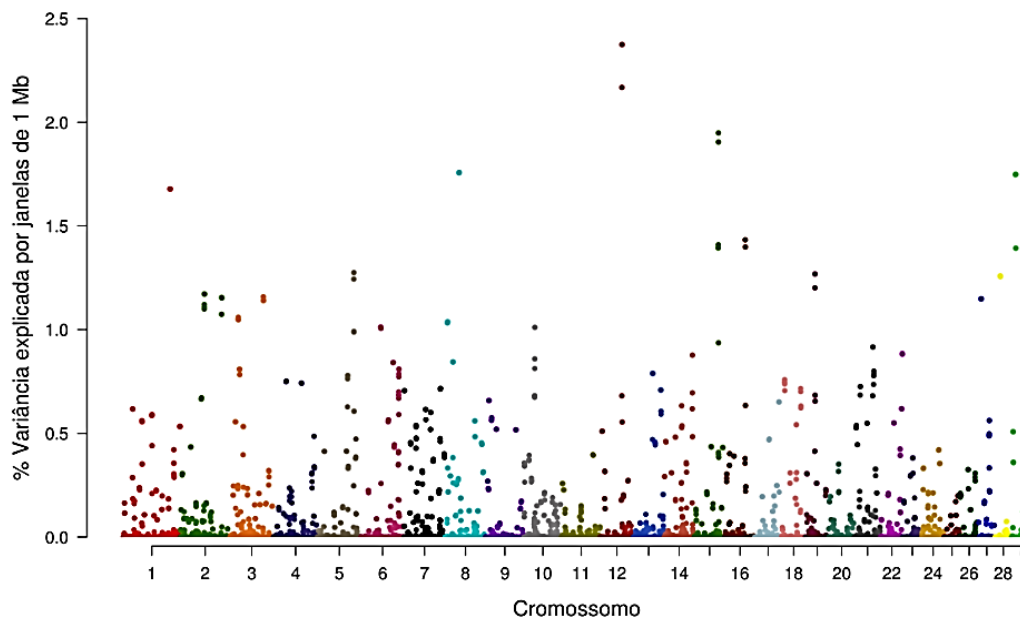


Figura 5. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para rumenite.

3.2.6. Área de superfície absorviva por cm^2

Para ASA, foram identificados 92 genes dentro das 17 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva (Tabela F, Figura 6). O gene VWF, encontrado no BTA5 (104484438-105435508 bp), em que a variância genética aditiva é 1,03%, codifica uma glicoproteína envolvida na homeostase, agindo na adesão de plaquetas em lesões vasculares e no transporte de várias proteínas no sangue.

Já o gene BNIP3L, encontrado no BTA8 (74360389-75334899 bp), codifica uma proteína pertencente à subfamília pró-apoptótica da família de proteínas Bcl-2, que atinge diretamente as mitocôndrias e causa alterações apoptóticas.

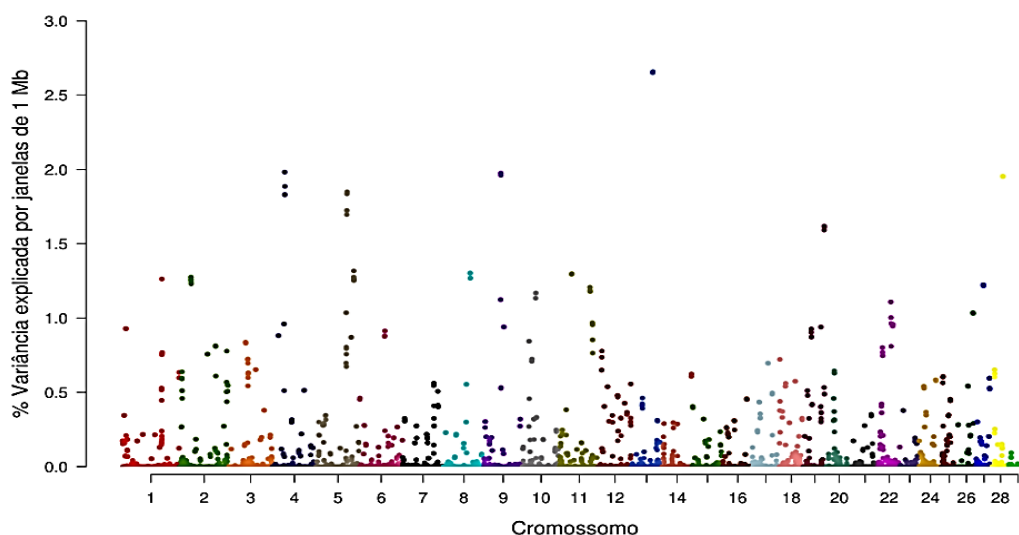


Figura 6. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para área de superfície absorptiva por cm^2 do epitélio ruminal.

O gene ANXA7, encontrado no BTA28 (29484389-30398178 bp), é um dos membros da família anexina, que é regulado em respostas inflamatórias. Bondzio et al. (2011) observaram aumento da expressão de ANXA7 no epitélio ruminal de ovinos em resposta às dietas de alto grão. Guo et al. (2019), ao alimentarem cabras com dietas de alto teor de concentrado, encontraram respostas ao processo do sistema imune

relacionadas ao mesmo gene e concluíram que a regulação de ANXA7 pode desencadear uma resposta inflamatória no epitélio do rúmen.

3.2.7. Espessura da camada de queratina do epitélio ruminal

Para QUER, foram encontrados 130 genes em 21 regiões genômicas (Tabela G, Figura 7). Não foram encontrados genes candidatos nas regiões do BTA4 e do BTA29. A maioria dos genes encontrados é relacionada com síntese de lipídios, não tendo relação com essa característica.

Foram encontrados no BTA28 (35490739-36422865 bp), explicando 1,54% da variância genética aditiva, os genes CL43 e CL46, que pertencem a coletinas - família de proteínas oligoméricas ligadas a domínios de lectina tipo-C e estão envolvidas na defesa imunológica inata (DEC e WERNICKI, 2006). O órgão de expressão dominante do CL46 é o timo, mas Hansen et al. (2002) observaram em tecidos ao longo do sistema digestivo de bovinos.

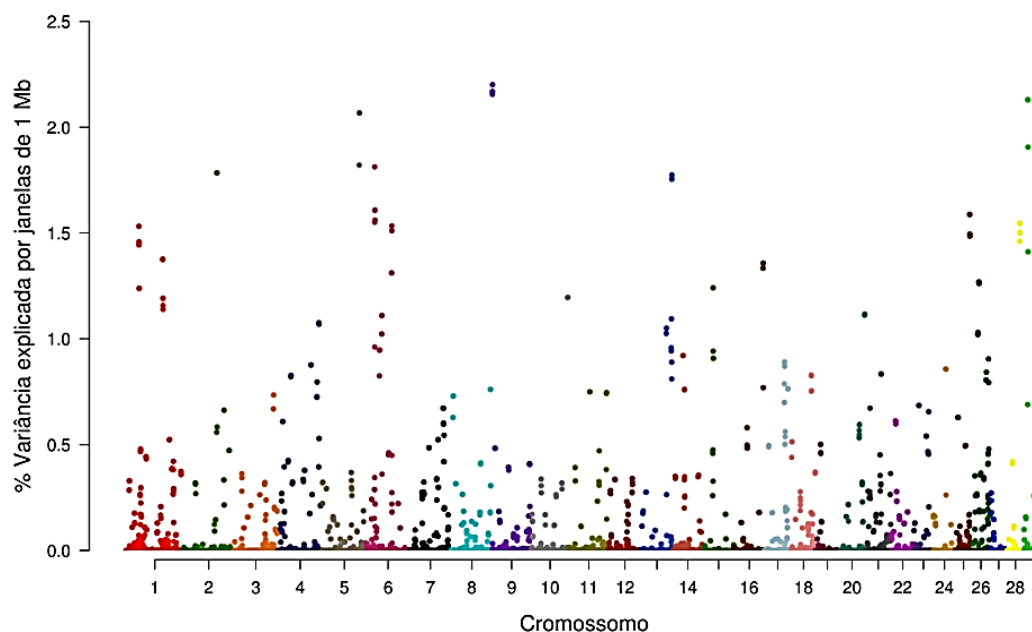


Figura 7. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para espessura da camada de queratina do epitélio ruminal.

3.2.8. Peso de carcaça quente

Foram identificados 82 genes dentro das 14 regiões genômicas que explicam mais de 1,0% da variância genética aditiva para PCQ (Tabela H; Figura 8). Os genes MYH6 e MYH7, localizados no BTA10 (21292445-22275173 bp), codificam as isoformas da miosina no músculo esquelético de bovinos adultos (SCHIAFFINO e REGGIANI, 2011). No mesmo cromossomo, foi localizado o gene BCL2L2, que codifica proteínas da família BCL-2, que atuam como reguladores anti e pró-apoptóticos.

O gene TNFRSF11B, localizado no BTA14 (21292445-22275173 bp), codificada uma proteína por osteoblastos que funciona como um regulador negativo da reabsorção óssea e do desenvolvimento de osteoclastos. Esse gene também está relacionado ao rendimento de carcaça e cortes de carne de bovinos da raça Wagyu (ZHANG et al., 2019).

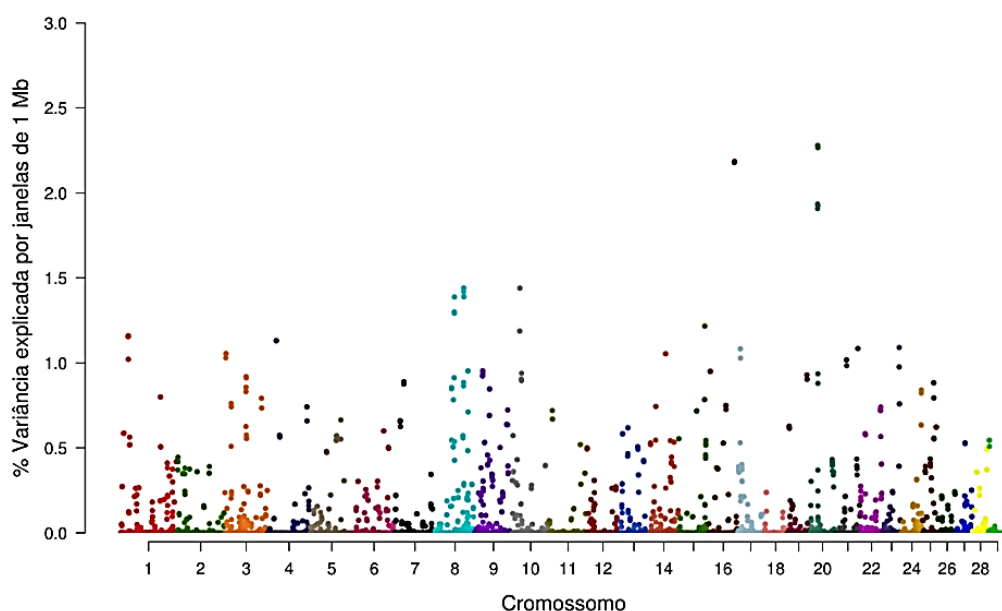


Figura 8. Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 1 Mb adjacentes para peso de carcaça quente.

3.3. Análises de enriquecimento funcional

Os termos da ontologia genética (componentes celulares, funções moleculares e processos biológicos) e as análises de enriquecimento via KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes e Genomes) foram realizados pela ferramenta DAVID (HUANG et al. 2009a, b) a partir do conjunto de genes previamente identificados dentro das janelas significativas (Anexos: Tabelas I, J, K, L, M, N, O e P).

Entre os resultados obtidos, destacam-se a secreção salivar (bta04970), regulação do processo apoptótico (GO:0042981), regulação negativa do processo apoptótico (GO:0043066) transporte de transmembrana (GO:0055085).

A secreção salivar ocorre em resposta à estimulação por neurotransmissores liberados das terminações nervosas autonômicas. Em bovinos, a produção de ácidos no ambiente ruminal é constante e um dos principais processos de remoção desses é a neutralização. A produção de saliva, que aumenta quando o pH ruminal está abaixo de 5,8 (PENNER e BEAUCHEMIN, 2010), tem papel importante pelo seu efeito tampão, capaz de estabilizar o pH ruminal, pois contém os tampões bicarbonato e fosfato de hidrogênio, podendo neutralizar aproximadamente 30% da produção total de H^+ por dia (ALLEN, 1997).

A regulação do processo de apoptose (GO:0042981), ou morte celular programada, é um mecanismo altamente programado e geneticamente determinado que resulta na morte da célula sem resposta inflamatória (ARANTES-GONÇALVES e COELHO, 2004). Trata-se de um processo que pode ocorrer em todas as células nucleadas como resposta a estímulos oxidativos, fisiológicos e patológicos como: destruição celular programada durante a embriogênese e morfogênese; eliminação de

células anormais, desnecessárias ou abundantes, permitindo o controle do número de células e do tamanho dos tecidos (YUAN e HORVITZ, 2004).

A apoptose é o primeiro passo na conversão do músculo em carne, sendo importante para o desenvolvimento e homeostase dos tecidos (OUALI et al., 2006). Neste estudo, foi localizado o gene BCL2L2, que codifica proteínas da família BCL-2, relacionado ao PCQ dos animais. Kappeler et al. (2019), ao estudarem características de carcaça de bovinos Nelore, observaram que genes que codificam a proteína BCL-2 promovem a apoptose e contribuem para a proteólise e maciez muscular.

A regulação negativa dos processos apoptóticos (GO:0043066) trata-se de qualquer processo que interrompa, previna ou reduza a frequência, taxa ou extensão da morte celular. Neste estudo, foi identificado o gene BLK, que desempenha um papel importante proliferação e diferenciação celular (PETERSEN et al., 2017). As dietas oferecidas a bovinos confinados são associadas à maior prevalência de paraqueratose ruminal (TAMATE e KIKUCHI, 1978), resultante da indução da alta taxa de proliferação e migração celular sem tempo suficiente para completa diferenciação (GOODLAD, 1981). Com a exigência de uma elevada capacidade de absorção de AGCC no epitélio ruminal, ocorre a hiperplasia das células e o aumento na espessura da camada córnea (queratinização), tornando-a menos permeável.

O transporte de transmembrana (GO:0055085) é o processo no qual um soluto é transportado através de uma bicamada lipídica, de um lado de uma membrana para o outro. Nos ruminantes, os AGCC são responsáveis por até 80% dos requisitos de energia de manutenção (BERGMAN, 1990) e são os ânions mais predominantes encontrados no trato gastrointestinal. No entanto, as membranas plasmáticas são relativamente impermeáveis a esses ânions (RECHKEMMER et al., 1995), o que seria facilitado por um mecanismo de transporte. Kirat e Kato (2006) observaram que genes

da família de transportadores de monocarboxilatos desempenham um papel direto no efluxo de AGCCA através das células das camadas espinhosa e basal do rúmen, acelerando esse processo. Neste estudo, o gene SLC16A9, que pertence a uma família de transportadores de monocarboxilatos, foi identificado.

Neste estudo, encontrou-se um grande número de regiões genômicas, porém com difícil identificação de genes relevantes ou grande efeito, que podem estar associadas à acidose ruminal de bovinos Nelore confinados, o que auxiliaria a compreender os mecanismos genéticos e metabólicos deste distúrbio. Estratégias como a seleção genômica utilizando a variabilidade entre todos os marcadores ao mesmo tempo talvez seriam mais apropriadas para melhorar as características da acidose ruminal.

4. CONCLUSÃO

Foram identificadas regiões genômicas associadas às características relacionadas à acidose ruminal em bovinos Nelore confinados. Os genes candidatos identificados estão envolvidos principalmente na regulação negativa ou não do processo apoptótico, secreção salivar e transporte de transmembrana. A identificação dessas regiões e seus respectivos genes candidatos pode contribuir para a formação de uma base genética para a susceptibilidade à acidose ruminal em bovinos Nelore.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. 2010. A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, 93: 743–752.
- ALLEN, M.S. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, 80: 1447-1462.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP, 2017.
- ARANTES-GONÇALVES, F., COELHO, R. 2006. Depressão e Tratamento: Apoptose, Neuroplasticidade e Antidepressivos. **Acta Médica Portuguesa**, 19: 9-20.
- ASCHENBACH, J. R., BILK, S., TADESSE, G., STUMPPF, F., GÄBEL, G. 2009. Bicarbonate-dependent and bicarbonateindependent mechanisms contribute to nondiffusive uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. **American Journal Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology**, 296(5): G1098-G1107.
- BAKER, G. A., GUILBERT, H. R. 1942. Non-randomness of variations in daily weights of cattle. **Journal of Animal Science**, 1: 293-299.
- BERGMAN, E. N., 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, 70: 567–590.
- BIGHAM, M. L.; MCMANUS, W. R. 1975. Whole wheat grain feeding of lambs. Effects of roughage and wheat grain mixtures. **Australian Journal of Agricultural Research**, 26: 1053-1062.
- BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G.; RORATO, P. R. N. 2008. Associações genéticas entre pesos e características reprodutivas em rebanhos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37(4): 596-601. doi:10.1590/S1516-35982009001200005
- BONDZIO, A., GABLER, C., BADEWIEN-RENTZSCH, B., SCHULZE, P., MARTENS, H., and EINSPANIER, R. 2011. Identification of differentially expressed proteins in ruminal epithelium in response to a concentrate-supplemented diet. **American Journal Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology**, 301: G260–G268. doi: 10.1152/ajpgi.00304.2010

- BRAUD, M. **Identification and analysis of polymorphisms in miRNA genes and associated targets in *Bos taurus* and *Bos primigenius* for genomic selection in cattle**. 2017. 189 f. Thesis (Doctor in Philosophy). National University of Ireland, Galway.
- CARVALHO, S., RODRIGUES, M. T., BRANCO, R. H., RODRIGUES, C. A. F. 2006. Comportamento ingestivo de cabras Alpinas em lactação alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro proveniente da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(2): 562-568.
- CHAN, E.K., NAGARAJ, S.H., and REVERTER, A. 2010. The evolution of tropical adaptation: comparing taurine and zebu cattle. **Animal Genetics**, 41(5): 467-77. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02053.x.
- COSTA, S. F., PEREIRA, M. N., MELO, L. Q., RESENDE JÚNIOR, J. C., CHAVES, M. L. 2008. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros – I Aspectos histológicos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 60 (1): 1-9.
- DANIEL, J. L. P., RESENDE JÚNIOR, J. C., CRUZ, F. J. 2006. Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absorptiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, 43(5): 688-694.
- DAVID - The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery; v. 6.7” em <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>. (acesso: 18/06/2019).
- DEC, M., and WERNICKI, A. 2006. Conglutinin, CL-43 and CL-46 - three bovine collectins. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, 9(4): 265-275.
- DURUNNA, O. N., WANG, Z., BASARAB, J. A., OKINE, E. K., and MOORE, S. S. 2011. Phenotypic and genetic relationships among feeding behavior traits, feed intake, and residual feed intake in steers fed grower and finisher diets. **Journal of Animal Science**, 89:3401–3409. doi:10.2527/jas.2011-3867
- ENSEMBL GENOME BROWSER em <http://www.ensembl.org/index.html>. (acesso 18/07/2019).
- FERREIRA, A.M., ARAÚJO, S.S., SALES-BAPTISTA, E., ALMEIDA A. M. 2013. Identification of novel genes for bitter taste receptors in sheep (*Ovis aries*). **Animal**, 7: 547–54. pmid: 23171479
- FERREIRA, A. M., MARQUES, A. T., BHIDE, M., CUBRIC-CURIK, V., HOLLUNG, K., KNIGHT, C.H., et al. 2015. Sequence Analysis of Bitter Taste

- Receptor Gene Repertoires in Different Ruminant Species. **PLoS ONE** 10(6): e0124933. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124933>
- FUJII, J., and IKEDA, Y. 2002. Advances in our understanding of peroxiredoxin, a multifunctional, mammalian redox protein. **Redox Report**, 7(3): 123–130.
- GOODLAD, R. 1981. A some effects of diet on the mitotic index and the cell cycle of the ruminal epithelium of sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, 66(4):487-499.
- GORDO, D. G. M., ESPIGOLAN, R., BRESOLIN, T., FERNANDES JÚNIOR, G. A., MAGALHÃES, A. F. B., et al. 2018. Genetic analysis of carcass and meat quality traits in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, 96(9): 3558–3564, doi:10.1093/jas/sky228
- GRIGOLETTO, L., PEREZA, B.C., SANTANA, M.H.A., BALDI, F., FERRAZA, J.B.S. 2017. Genetic contribution of cytoplasmic lineage effect on feed efficiency in Nellore cattle. **Livestock Science**, 198: 52–57. doi:10.1016/j.livsci.2017.02.009
- GUO, C., SUN, D., WANG, X. and MAO, S. 2019. A combined metabolomic and proteomic study revealed the difference in metabolite and protein expression profiles in ruminal tissue from goats fed hay or high-grain diets. **Frontiers in Physiology**, 10:66. doi: 10.3389/fphys.2019.00066
- HANSEN, S., HOLM, D., MOELLER, V., VITVED, L., BENDIXEN, C., REID, K.B., SKJOEDT, K., HOLMSKOV, U. 2002. CL-46, a novel collectin highly expressed in bovine thymus and liver. **The Journal of Immunology**, 169: 5726-34.
- HUANG, D.W., SHERMAN, B.T., LEMPICKI R.A. 2009a. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. **Nature Protocols**, 4(1): 44-57.
- HUANG, D.W., SHERMAN, B.T., LEMPICKI, R.A. 2009b. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. **Nucleic Acids Research**, 37(1): 1-13.
- JOHNSON, T. R., and COMBS, D. K. 1991. Effects of prepartum diet, inert rumen bulk, and dietary polyethylene glycol on dry matter intake of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 74(3): 933-944.
- KAPPELER, B. I. G., REGITANO, L. C. A., POLETI, M. D., et al. 2019. MiRNAs differentially expressed in skeletal muscle of animals with divergent estimated breeding values for beef tenderness. **BMC Molecular Biology**, 20:1 <https://doi.org/10.1186/s12867-018-0118-3>

- KIMURA, E.T., MATSUO, S. E. e RICARTE-FILHO, J. C. 2007. TGF β , Activina e sinalização SMAD em câncer de tireoide. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, 51(5): 683-689.
- KIRAT, D., MATSUDA, Y., YAMASHIKI, N., HAYASHI, H., KATO, S. 2007. Expression, cellular localization, and functional role of monocarboxylate transporter 4 (MCT4) in the gastrointestinal tract of ruminants. **Gene**, 391(1-2), 140–149. doi:10.1016/j.gene.2006.12.020
- LANG, R., LEE, G., LIU, W., TIAN, S., RAFI, H., ORIAS, M., SEGAL, A.S., DESIR, G.V. 2000. KCNA10: A novel ion channel functionally related to both voltagegated potassium and CNG cation channels. **American Journal of Physiology, Renal Physiology**, 278(6):1013-1021.
- LEYENS, G., DONNAY, I., KNOOPS, B. 2003. Cloning of bovine peroxiredoxins-gene expression in bovine tissues and amino acid sequence comparison with rat, mouse and primate peroxiredoxins. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, 136: 943–955.
- MARQUES, E. G. **Análise os índices e classificação e bovinos avaliados em provas de ganho de peso em confinamento**. 2011. 61 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, Goiânia.
- MCMANUS, W. R., LEE, G. J. and ROBINSON, V. N. E. 1977. Microlesions on rumen papillae of sheep fed diets of wheat grain. **Research in Veterinary Science**, 22:135-137.
- MENTSCHER, J., LEISER, R., MÜLLING, C., PFARRER, C., CLAUS, R. 2001. Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. **Archives of Animal Nutrition**, 55(2):85–102.
- MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; STRABEL, T.; AUVRAY, B.; DRUET, T.; LEE, D. H. BLUPF90 and related programs (BGF90). 2002. **In The 7th World Congress Genetics Application Livestock Production**, Montpellier, France, p. 28.
- NKRUMAH, J.D., CREWS, D.H. Jr., BASARAB, J.A., PRICE, M.A., et al. 2007. Genetic and phenotypic relationships of feeding behavior and temperament with performance, feed efficiency, ultrasound, and carcass merit of beef cattle. **Journal of Animal Science**, 85(10):2382-90. doi: 10.2527/jas.2006-657
- OLIVIERI, B.F., MERCADANTE, M.E.Z., CYRILLO, J.N.D.S.G., BRANCO, R.H., BONILHA, S.F.M., DE ALBUQUERQUE L.G., et al. 2016. Genomic regions

- associated with feed efficiency indicator traits in an experimental Nellore cattle population. **PLoS ONE** 11(10): e0164390. doi:10.1371/journal.pone.0164390
- OUALI, A., HERRERA-MENDEZ, C.H., COULIS, G., et al. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, 74(1):44–58.
- PENNER, G. B., and BEAUCHEMIN, K. A. 2010. Variation in the Susceptibility to Ruminal Acidosis: Challenge or Opportunity? **WCDS Advances in Dairy Technology**, 22: 173-187.
- PETERSEN, D.L., BERTHELSEN, J., WILLERSLEV-OLSEN, A., et al. 2017. A novel BLK-induced tumor model. **Tumour Biology** 39(7):1-8. doi: 10.1177/1010428317714196.
- POLIZEL, G. H. G., GRIGOLETTO, L., CARVALHO, M. E., et al. 2018. Genetic correlations and heritability estimates for dry matter intake, weight gain and feed efficiency of Nellore cattle in feedlot. **Livestock Science**, 214: 209–210. doi:10.1016/j.livsci.2018.06.013
- RESENDE JÚNIOR, J. C., ALONSO, L. S., PEREIRA, M. N., et al. 2006. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, 43(4): 526-536.
- ROSA, A.N., LÔBO, R.B., OLIVEIRA, H.N. et al. 2001. Peso adulto de matrizes em rebanhos de seleção da raça Nelore no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30 (3): 1027-1036.
- SCHIAFFINO, S., and REGGIANI, C. 2011. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiological Reviews**, 91(4): 1447–1531.
- SILVA, R.M.O., FRAGOMENI, B.O., LOURENCO, D.A.L, MAGALHÃES, A.F.B., IRANO, N., CARVALHEIRO, R., et al. 2016. Accuracies of genomic prediction of feed efficiency traits using different prediction and validation methods in an experimental Nellore cattle population. **Journal of Animal Science**, 94:1. doi: 10.2527/jas.2016-0401
- SINĐIĆ, A. and SCHLATTER, E. 2006. Cellular effects of guanylin and uroguanylin. **Journal of the American Society of Nephrology**, 17(3):607–616.
- SUN, H.-Z., ZHAO, K., ZHOU, M., CHEN, Y., LUO GUAN, L. 2018. Landscape of multi-tissue global gene expression reveals the regulatory signatures of feed efficiency in beef cattle. **Bioinformatics**.doi:10.1093/bioinformatics/bty883

- TAMATE, H., and KIKUCHI, T. 1978. Electron microscopy study on parakeratotic ruminal epithelium in beef cattle. **The Japanese Journal of Veterinary Science**, 40(1): 21-25.
- TONUSSI, R.L., ESPIGOLAN, R., GORDO, D.G.M., MAGALHÃES, A.F.B., et al. 2015. Genetic association of growth traits with carcass and meat traits in Nelore cattle. **Genetics and Molecular Research**, 14(4): 18713-18719.
- VALENTINO, M. A., LIN, J. E., SNOOK, A. E., LI, P., KIM, G. W., MARSZALOWICZ, G., MAGEE, M. S., HYSLOP, T., SCHULZ, S. and WALDMAN, S. A. 2011. A uroguanylin-GUCY2C endocrine axis regulates feeding in mice. **The Journal of clinical investigation**, 121(9): 3578.
- VAN RADEN, P. M.; VAN TASSELL, C. P.; WIGGANS, G. R.; SONSTEGARD, T. S.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F. & SCHENKEL, F. S. Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 16–24, 2009.
- VITEZICA, Z. G.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; LEGARRA, A. 2011. Bias in genomic predict for populations under selection. **Genetic Research**, p. 1- 10,
- WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; MUIR, W. 2012. Genome-wide association mapping including phenotypes from relative without genotypes. **Genetic Research**, 94: 73–83.
- YOKOO, M. J. I., ALBUQUERQUE, L. G., LOBO, R. B., et al. 2007. Estimativas de parâmetros genéticos para altura do posterior, peso e circunferência escrotal em bovinos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36(6): 1791-1768.
- YUAN, Y. H., and HORVITZ, H. R. 2004. A first insight into the Molecular Mechanisms of Apoptosis. **Cell Press**, 116:53-56.
- ZHANG, Z.; LIU, J.; DING, X.; BIJMA, P.; DE KONING, D. J., ZHANG, Q. 2010. Best linear unbiased prediction of genomic breeding values using a trait-specific marker derived relationship matrix. **PLoS One**, 5(9):e12648, doi:10.1371/journal.pone.0012648
- ZHANG, R., MIAO, J., SONG, Y., ZHANG, W., et al. 2019. Genome-wide association study identifies the PLAG1-OXR1 region on BTA14 for carcass meat yield in cattle. **Physiological Genomics**. doi:10.1152/physiolgenomics.00112.2018

ANEXOS

Tabela B. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica ganho de peso diário.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
1	112072426-113003827 bp	<i>KCNAB1, GMPS, SLC33A1, C1H3orf33, PLCH1</i>	1,66584
1	137718422-138678517 bp	<i>NPHP3, UBA5, ACAD11, ACKR4, DNAJC13, ACPP, KCNH8</i>	1,02828
2	5757355-6611760 bp	<i>MFSD6, INPP1, HIBCH, C2H2orf88, MSTN, PMS1, ORMDL1, OSGEPL1, ANKAR, ASNSD1</i>	1,26743
3	61585623-62578574 bp	-	1,12462
3	65112467-65957992 bp	<i>ADGRL4</i>	1,04063
3	103367873-104319481 bp	<i>CFAP57, EBNA1BP2, FAM183A, SLC2A1, ZNF691, SVBP, TMEM269, C3H1orf50, P3H1, CLDN19, YBX1, PPIH, CCDC30, PPCS, ZMYND12</i>	1,28841
5	99231170-100200837 bp	<i>TAS2R10, T2R10C, YBX3, STYK1, MAGOHB, KLRA1, KLRC1, KLRJ1, NKG2A, NKG2C, KLRK1, KLRD1</i>	1,55788
13	8656759-9647465 bp	-	1,7188
13	27602992-28220678 bp	<i>OPTN, MCM10</i>	1,00998
15	409135-1355671 bp	<i>OR9G1</i>	2,38097
15	76294401-77213149 bp	<i>CHST1, SLC35C1, CRY2, MAPK8IP1, C15H11orf94, PEX16, LARGE2, PHF21A, CREB3L1</i>	1,01858
16	22942419-23935934 bp	<i>LYPLAL1</i>	1,91049
18	4252255-5228477 bp	<i>MON1B, SYCE1L, ADAMTS18, NUDT7, VAT1L</i>	1,07537
26	27840203-28784693 bp	<i>SORCS1</i>	1,87386
27	43844579-44808959 bp	-	1,36255
28	5302-916650 bp	<i>RAB4A, CCSAP, ACTA1, NUP133, ABCB10, URB2</i>	1,77176

Tabela C. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica peso vivo final.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
1	132112092-133084506 bp	<i>DZIP1L, CLDN18</i>	1,14272
2	5757355-6611760 bp	<i>MFSD6, INPP1, HIBCH, C2H2orf88, MSTN, PMS1, ORMDL1, OSGEPL1, ANKAR, ASNSD1</i>	1,57155
2	21144212-22045335 bp	<i>ATP5MC3, ATF2, CHN1</i>	1,03379
3	61585623-62578574 bp	-	1,59452
3	103340310-104319481 bp	<i>CFAP57, EBNA1BP2, FAM183A, SLC2A1, ZNF691, SVBP, TMEM269, C3H1orf50, P3H1, CLDN19, YBX1, PPIH, CCDC30, PPCS, ZMYND12</i>	1,09415
5	27280629-28118531 bp	<i>KRT79, KRT4, KRT3, KRT77, KRT1, KRT2, KRT73, KRT72, KRT74, KRT71, KRT5, KRT6A, KRT6B, KRT75, KRT82, KRT84, KRT85, KRT89, KRT83, KRT86, KRT81, KRT7, KRT80, ATG101, NR4A1, GRASP, ACVR1B, ACVRL1</i>	1,05248
6	47353079-48287998 bp	<i>RBPJ, CCKAR, TBC1D19, STIM2</i>	1,03070
7	102875457-103798841 bp	<i>SLCO4C1</i>	1,13282
8	55552569-56522563 bp	<i>TLE4</i>	1,25609
8	93415242-94216346 bp	<i>CYLC2</i>	2,11065
9	11340044-12325095 bp	<i>RIMS1</i>	1,08892
11	88435505-89364184 bp	<i>MBOAT2, KIDINS220, ID2</i>	1,28053
11	89504613-90490752 bp	<i>RNF144A, RSAD2, CMPK2</i>	1,21299
13	8965984-9893670 bp	<i>MACROD2</i>	2,02182
13	25060552-26022222 bp	<i>KIAA1217, ARHGAP21</i>	1,00360
13	76945282-77870788 bp	<i>SULF2, PREX1, ARFGEF2</i>	1,02790
14	60666045-61634644 bp	<i>ZFPM2</i>	1,07459
16	22942419-23935934 bp	<i>LYPLAL1</i>	1,35350
19	5261106-6176656 bp	<i>TOM1L1, COX11, HLF, MMD</i>	1,25254
25	30413249-31408989 bp	-	1,00777

Tabela D. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica tempo de refeição.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
2	29811783-30773585 bp	<i>SCN7A, SCN9A, SCN1A, TTC21B, GALNT3, CSRNP3</i>	1,32358
3	1230267-2203067 bp	<i>CD247, POU2F1, DUSP27, GPA33, MAEL, ILDR2, TADA1, POGK</i>	1,14782
3	32788575-33743441 bp	<i>KCNA3, KCNA2, KCNA10, CYM, PROK1, LAMTOR5, SLC16A4, RBM15, KCNC4, SLC6A17, UBL4B, ALX3, STRIP1, AHCYL1, CSF1</i>	1,98431
3	86274268-87253086 bp	<i>C3H1orf87, HOOK1, FGGY</i>	1,27991
3	89079875-90014948 bp	<i>DAB1, C8B, C8A, FYB2</i>	2,12292
3	104290587-105266627 bp	<i>PPCS, ZMYND12, RIMKLA, FOXJ3, GUCA2A, GUCA2B, HIVEP3</i>	1,13878
3	117580949-118470387 bp	<i>MLPH, PRLH, RAB17, LRRFIP1, RBM44, RAMP1, UBE2F, SCLY, ESPNL, ERFE, ILKAP, HES6, PER2, TRAF3IP1, ASB1</i>	2,18229
4	90598007-91552491 bp	-	1,50728
7	40874649-41827942 bp	<i>CLK4, ZNF354A, PROP1, OR2Y1, MGAT1, ZFP62, BTNL9, TRIM7, TRIM41, RACK1, TRIM52, IFI47</i>	1,54479
8	574461-1554706 bp	<i>PALLD, CBR4, SH3RF1, NEK1, CLCN3, HPF1</i>	1,27042
9	80836509-81784315 bp	<i>ADGRG6, HIVEP2, AIG1</i>	1,22569
11	4232502-5153019 bp	<i>TSGA10, C2orf15, LIPT1, MITD1, MRPL30, TYG2, TXNDC9, EIF5B, REV1</i>	1,6015
11	69259630-70254482 bp	<i>LCLAT1, LBH, YPEL5</i>	1,97848
12	12197489-13140896 bp	<i>DGKH, AKAP11, TNFSF11, FAM216B, EPSTI1</i>	1,33674
13	53769361-54725589 bp	<i>SIRPB1, GINS1, PCMTD2, MYT1, NPBWR2, OPRL1, LKAAEAR1, RGS19, TCEA2, SOX18, PRPF6, SAMD10, ZNF512B, UCKL1, DNAJC5, TPD52L2, ABHD16B, ZBTB46, SLC2A4RG, ZGPAT, ARFRP1, TNFRSF6B, RTEL1, STMN3, GMEB2, FNDC11, SRMS, PTK6, PDPF, EE1A2, KCNQ2, CHRNA4</i>	1,40572
13	12247592-13223508 bp	<i>NUDT5, SEC61A2, DHTKD1, UPF2, PROSER2, ECHDC3, USP6NL, CELF2,</i>	1,32388
14	34800588-35786521 bp	<i>SULF1, SLC05A1</i>	1,37647
14	33177774-34153333 bp	<i>PPP1R42, COPS5, CSPP1, ARFGEF1, CPA6, PREX2, C14H8orf34</i>	1,34654
17	69595789-70571120 bp	<i>TTC28, CHEK2, HSCB, CCDC117, XBP1, ZNRF3, C17H22orf31, KREMEN1</i>	1,05119

19	56165607-57145149 bp	RNF157,FOXJ1, EXOC7, ZACN, GALR2, SRP68, EVPL, CDK3, TEN1, ACOX1, FBF1, MRPL38, TRIM65, TRIM47, WBP2, UNC13D, UNK, H3F3B, GALK1, ITGB4, SAP30BP, RECQL5, SMIM6, SMIM5, LLGL2, TSEN54, CASKIN2, TMEM94, GRB2, SLC25A19, MIF4GD, MRPS7, GGA3, NUP85, SUMO2, JPT1, NT5C, ARMC7, SLC16A5, KCTD2, ATP5PD, MRPL58, CDR2L, HID1, OTOP3, OTOP2, USH1G, FADS6	1,35778
20	11603778-12513307 bp	CD180, MAST4	1,5194
21	12264661-13260593 bp	MCTP2	2,69197
28	40909989-41889675 bp	GRID1, WAPL, OPN4, LDB3, BMPR1A, MMRN2	1,01787
29	42567601-43462910 bp	PLA2G16, ATL3, RTN3, C29H11orf95, SPINDOC, MARK2, RCOR2, OTUB1, MACROD1, NAA40, FLRT1, STIP1,FERMT3,DNAJC4,NUDT22,TRPT1, VEGFB,,FKBP2, PLCB3, BAD, GPR137, KCNK4, ESRRA, TRMT112, PRDX5, CCDC88B, RPS6KA4, SLC22A11	1,03058

Tabela E. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica tempo ruminando.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
1	9854224-10850584 bp	<i>APP, GABPA, ATP5PF, JAM2, MRPL39</i>	2,70202
1	11933925-12918964 bp	-	1,18041
1	100476124-101473950 bp	<i>SERPINI1, PDCD10, WDR49, SERPINI2, ZBBX</i>	1,3888
2	89711655-90638335 bp	<i>AOX4, BZW1, CLK1, PPIL3, NIF3L1, ORC2, FAM126B, NDUFB3, CFLAR, CASP8, ALS2CR12, TRAK2, STRADB, C2CD6, TMEM237</i>	1,63515
3	46231056-47223089 bp	<i>DPYD, PTBP2</i>	2,04734
3	70238678-71095209 bp	<i>TYW3, CRYZ, TNNT3K, FPGT, LRR1Q3</i>	2,04181
6	110572789-111421770 bp	<i>CLNK, HS3ST1</i>	2,34056
6	115287358-116127355 bp	<i>C1QTNF7, CC2D2A, FBXL5, BST1, CD38, FGFBP1, PROM1</i>	3,51641
7	29982981-30978883 bp	<i>ZNF608</i>	1,67079
7	36575942-37560546 bp	-	1,48955
8	100127704-101090668 bp	<i>ACTL7B, ACTL7A, ELP1, FAM206A, CTNNAL1, TMEM245, FRRS1L, EPB41L4B, PTPN3, PALM2</i>	1,17195
9	18697313-19672896 bp	<i>IRAK1BP1, PHIP, HMGN3, LCA5, SH3BGRL2</i>	2,14188
9	23822863-24808881 bp	<i>SNAP91, C9H6orf58, KIAA0408, ECHDC1, RNF146, RSPO3</i>	1,11884
9	65219971-66217784 bp	<i>TBX18, CEP162</i>	1,02603
10	41149529-42085604 bp	-	1,03544
10	74276088-75270704 bp	<i>SYT16, KCNH5</i>	1,15439
14	12928801-13822970 bp	<i>MYC</i>	1,15967
15	5193473-6193379 bp	<i>DCUN1D5, MMP13, MMP1, MMP8</i>	1,38199
15	71076198-72017207 bp	<i>LRRC4C</i>	2,4137
17	63633873-64476860 bp	<i>OAS2, OAS1Y, OAS1X, RPH3A, PTPN11, RPL6, TRAFD1, NAA25, ERP29, TMEM116</i>	1,12309
19	21751702-22709090 bp	<i>EFCAB5, NSRP1, SLC6A4, BLMH, TMIGD1, CPD, GOSR1, TRARG1, BHLHA9, ABR, TIMM22, NXN, MRM3, GLOD4, DBIL5, GEMIN4, FAM57A, VPS53</i>	1,85338
20	7861294-8852379 bp	<i>UTP15, ANKRA2, BTF3, CALM, TMEM174, TMEM171, FCHO2, TNPO1</i>	1,52193
28	15463409-16427076 bp	<i>SLC16A9, CCDC6, ANK3</i>	1,7378
29	11097718-12039484 bp	-	1,35777

Tabela F. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica rumenite.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
1	129356364-130023434 bp	<i>CLSTN2</i>	1,67836
2	65564250-66538317 bp	<i>SLC35F5, ACTR3</i>	1,17234
2	113756445-114689946 bp	<i>DOCK10, NYAP2</i>	1,15504
3	23112143-24076573 bp	<i>SEC22B, NOTCH2, REG4, HMGCS2, PHGDH, ZNF697, HSD3B1, HAO2</i>	1,05947
3	92327315-93299848 bp	<i>SSBP3, MRPL37, CYB5RL, CDCP2, TCEANC2, TMEM59, LDLRAD1, LRRC42, HSPB11, NDC1, GLIS1</i>	1,15789
5	101162000-102106729 bp	<i>OVOS2, A2M, KLRG1, M6PR, PHC1, A2ML1, RIMKLB, MFAP5, AICDA, APOBEC1, DPPA3, NANOG, SLC2A3, FOXJ2, C3AR1, NECAP1, CLEC4A, CLEC6A</i>	1,27505
6	54293681-55242759 bp	-	1,01242
8	7481166-8432016 bp	<i>GATA4, BLK, FAM167A, TDH, MTMR9, XKR6, PINX1</i>	1,03732
8	39686168-40580358 bp	<i>JAK2, RCL1, AK3, CDC37L1, SPATA6L, PLPP6, SLC1A1</i>	1,75846
10	29810325-30764887 bp	<i>GREM1, SCG5, GJD2, ACTC1, AQR, ZNF770</i>	1,01072
12	60040871-60905445 bp	-	2,37427
15	66691409-67680881 bp	<i>PAMR1, FJX1, TRIM44, LDLRAD3, COMMD9, PRR5L</i>	1,94812
16	55651501-56568724 bp	<i>C16H1orf158, AADACL3, PRDX6, SLC9C2, ANKRD45, TEX50, KLHL20</i>	1,4327
19	25625696-26573127 bp	<i>SPNS2, MYBBP1A, GGT6, TEK1, SMTNL2, FBXO39, XAF1, SLC13A5, MED31, TXNDC17, KIAA0753, PITPNM3, PIMREG, AIPL1, WSCD1</i>	1,26839
27	7343080-8234965 bp	<i>NEIL3, AGA</i>	1,14893
28	14805287-15739975 bp	<i>PHYHIPL, FAM13C, SLC16A9, CCDC6</i>	1,25868
29	10765977-11708950 bp	-	1,74901

Tabela G. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica área de superfície absorptiva.

BTA	Região (UMD_3. 1)	Genes	% var
1	109012713-110006450 bp	<i>IQCJ, MFSD1, RARRES1, GFM1, LXN, MLF1, SRC1t</i>	1,26278
2	31723014-32644730 bp	<i>GRB14</i>	1,27484
4	33518284-34474653 bp	<i>KIAA1324L, GRM3</i>	1,98225
5	83044149-84041910 bp	<i>STK38L, MED21, TM7SF3, FGFR1OP2, INTS13, ITPR2</i>	1,84918
5	86045614-87032954 bp	<i>SOX5</i>	1,31764
5	104484438-105435508 bp	<i>CD9, VWF, ANO2, NTF3</i>	1,03587
8	74360389-75334899 bp	<i>PPP2R2A, BNIP3L, PNMA2, DPYSL2, ADRA1A</i>	1,30321
9	46167320-47131787 bp	-	1,97455
10	37743260-38716095 bp	<i>TMEM87A, GANC, CAPN3, ZNF106, SNAP23, LRRC57, HAUS2, CDAN1, TTBK2, UBR1, TMEM62, CCNDBP1, EPB42</i>	1,16830
11	33035623-33974043 bp	-	1,29789
11	83425007-84392163 bp	<i>FAM84A</i>	1,20631
13	59875669-60867004 bp	<i>TFAP2C, FAM209A, RTF2, GCNT7, CASS4, CSTF1, AURKA, FAM210B, MC3R, SIRPD, NSFL1C, FKBP1A, SDCBP2, SNPH, RAD21L1, TMEM74B, PSMF1, RSPO4, ANGPT4, FAM110A, SLC52A3</i>	2,65836
19	57952762-58949983 bp	<i>SDK2, CDC42EP4, C19H17orf80, FAM104A, COG1, SSTR2, SLC39A11</i>	1,61843
22	35004055-35999583 bp	<i>LRIG1, SLC25A26</i>	1,10823
26	44119191-45090597 bp	<i>OAT, NKX1-2, LHPP, FAM53B, ABRAXAS2, ZRANB1, CTBP2</i>	1,03529
27	21215732-22015426 bp	-	1,22441
28	29484389-30398178 bp	<i>ANXA7, MSS51, PPP3CB, USP54, MYOZ1, SYNPO2L, SEC24C, FUT11, CHCHD1, ZSWIM8, NDST2, CAMK2G, PLAU, VCL, AP3M1, ADK</i>	1,95426

Tabela H. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica espessura da camada de queratina do epitélio ruminal.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
1	35029435-36022281 bp	<i>HTR1F, CGGBP1, ZNF654, C1H3orf38</i>	1,53135
1	100721207-101588215 bp	<i>WDR49, SERPINI2, ZBBX</i>	1,37663
2	90145466-91103357 bp	<i>CFLAR, CASP8, ALS2CR12, TRAK2, STRADB, C2CD6, TMEM237, ALS2, FZD7, KIAA2012</i>	1,78432
4	111528794-112474006 bp	-	1,07581
5	101795741-102759224 bp	<i>DPPA3, NANOG, SLC2A3, FOXJ2, C3AR1, NECAP1, CLEC4A, CLEC6A, CLEC4D, CLEC4E, CD163</i>	2,06693
6	23059096-23966398 bp	<i>BDH2, SLC9B2, SLC9B1, CISD2, MANBA, NFKB1, SLC39A8</i>	1,81249
6	43019304-43997662 bp	<i>KCNIP4, ADGRA3, GBA3</i>	1,11015
6	69747171-70706591 bp	<i>USP46, RASL11B, SCFD2, FIP1L1, LNX1</i>	1,53352
9	454446-1359110 bp	<i>PTP4A1, PHF3</i>	2,20057
10	101153618-102119714 bp	<i>SPATA7, PTPN21, ZC3H14, EML5, TTC8, FOXN3</i>	1,19603
13	68123306-69101438 bp	<i>ADIG, SLC32A1, ACTR5, PPP1R16B, FAM83D, DHX35</i>	1,05001
13	81959314-82899965 bp	<i>BCAS1, CYP24A1, PFDN4, DOK5</i>	1,09457
13	83054367-84042383 bp	<i>CBLN4</i>	1,77449
15	27168653-28091396 bp	<i>BUD13, ZPR1, APOA5, APOA4, APOC3, APOA1, SIK3</i>	1,24098
16	79100806-80065244 bp	<i>NEK7, ATP6V1G3, PTPRC</i>	1,35728
20	70214044-71203098 bp	<i>IRX4, NDUFS6, LPCAT1, SLC6A3</i>	1,11657
25	37557915-38512824 bp	<i>ARPC1B, ARPC1A, KPNA7, SMURF1, TRRAP, TMEM130, NPTX2, BAIAP2L1, BRI3, BHLHA15, LMTK2, CCZ1</i>	1,58725
26	17603636-18595137 bp	<i>TLL2, TM9SF3, PIK3AP1, LCOR, SLIT1, FRAT1, FRAT2, RRP12, PGAM1, EXOSC1, ZDHHC16, MMS19, UBTD1</i>	1,02972
26	20359246-21338653 bp	<i>NKX2-3, SLC25A28, ENTPD7, COX15, CUTC, ABCC2, DNMBP, CPN1, ERLIN1, CHUK, CWF19L1, BLOC1S2, PKD2L1, SCD, NT8B, SEC31B, NDUFB8, HIF1AN</i>	1,26863
28	35490739-36422865 bp	<i>CGN1, CL46, CL43, SFTPD, MBL1, MAT1A, DYDC1, DYDC2, PRXL2A, TSPAN14, SH2D4B</i>	1,54674
29	10765977-11708950 bp	-	2,12986

Tabela I. Genes codificantes de proteínas identificados nas janelas que explicam acima de 1% da variância genética aditiva para a característica peso de carcaça quente.

BTA	Região (UMD_3.1)	Genes	% var
1	21261132-22236505 bp	<i>NRIP1, SAMSNI</i>	1,15984
3	3017659-4016175 bp	<i>UCK2, TMCO1, ALDH9A1, MGST3, LRRC52, RXRG, LMX1A</i>	1,05419
4	23626953-24601869 bp	<i>AGMO, MEOX2, ISPD</i>	1,13122
8	55552569-56522563 bp	<i>TLE4</i>	1,38744
8	81401001-82312551 bp	<i>GAS1, DAPK1</i>	1,44033
10	21292445-22275173 bp	<i>NGDN, MYH7, MYH6, CMTM5, IL25, EFS, SLC22A17, PABPN1, BCL2L2, PPP1R3E, HOMEZ, RNF212B, SLC7A8, CEBPE, C10H14orf119, ACIN1, CDH24, PSMB11, PSMB5, C10H14orf93, AJUBA, HAUS4, PRMT5, RBM23, REM2, LRP10, MMP14, MRPL52, SLC7A7, OXA1L, OR6J1, ABHD4, DAD1, TRDC</i>	1,44010
14	47295293-48276123 bp	<i>TNFRSF11B, SAMD12</i>	1,05344
15	73734685-74689251 bp	<i>API5, TTC17, HSD17B12</i>	1,21632
16	72931875-73906941 bp	<i>NENF, TMEM206, PPP2R5A, DTL, INTS7, LPGAT1, NEK2, SLC30A1, RD3, TRAF5</i>	2,18463
17	7772998-8600885 bp	-	1,08261
20	21692111-22535954 bp	<i>GPBP1, MIER3, SETD9, MAP3K1</i>	2,27898
21	31996305-32847928 bp	<i>ETFA, ISL2, SCAPER, RCN2, PSTPIP1, TSPAN3, PEAK1</i>	1,01830
21	63122440-64085350 bp	<i>VRK1</i>	1,08435
23	47766928-48735049 bp	<i>RIOK1, CAGE1, SSR1, RREB1, LY86, F13A1</i>	1,09013

Tabela J. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em ganho de peso diário ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
<i>Processo Biológico</i>			
GO:0008380~ ligamento de RNA	3	0.026628	<i>PPIH, MAGOHB, YBX1</i>
GO:0098792~xenofagia	3	0.042588	<i>SLC35C1, MSTN, OPTN</i>
GO:0006397~ processamento de mRNA	3	0.046310	<i>PPIH, MAGOHB, YBX1</i>
<i>Componente Celular</i>			
GO:0000795~ complexo sinaptonemal	2	0.045981	<i>SYCE1L, PMS1</i>
<i>Função Molecular</i>			
GO:0003697~ligação de DNA de cadeia simples	4	0.001223	<i>YBX3, MCM10, YBX1, PMS1</i>
GO:0033038~ atividade do receptor de sabor amargo	2	0.042247	<i>T2R10C, TAS2R10</i>

Tabela K. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em peso vivo final ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Processo Biológico			
GO:0001701~desenvolvimento embrionário no útero	5	0.003644	ACVR1B, ACVRL1, ZFPM2, KIDINS220, YBX1
Componente Celular			
GO:0045095~filamento de queratina	2 2	2.78E-36	KRT6A, KRT6B, KRT73, KRT81, KRT82, KRT72, KRT75, KRT80, KRT74, KRT77, KRT5, KRT79, KRT7, KRT1, KRT2, KRT4, KRT85, KRT86, KRT83, KRT71, KRT84
GO:0070062~ exosomo extracelular	2 1	0.001930	SLCO4C1, PPCS, YBX1, KRT73, ACVR1B, KRT72, P3H1, KRT75, KRT74, KRT77, TOM1L1, KRT5, KRT79, KRT7, SLC2A1, KRT1, KRT2, LYPLAL1, HIBCH, KRT71, KRT84
GO:0005882~ filamento intermediário	3	0.026865	KRT6B, KRT5, KRT3
Função Molecular			
GO:0005198~ atividade da molécula estrutural	2 4	2.58E-29	CLDN18, KRT6A, CLDN19, KRT6B, KRT73, KRT81, KRT72, KRT82, KRT75, KRT80, KRT74, KRT77, KRT5, KRT79, KRT7, KRT1, KRT2, KRT3, KRT4, KRT85, KRT86, KRT83, KRT71
GO:0001077~ atividade ativadora da transcrição, promotor central da região proximal na sequência específica de ligação do RNA polimerase II	5	0.013857	HLF, NR4A1, RBPJ, YBX1, ATF2
GO:0016361~receptor da atividade da activina, tipo I	2	0.019709	ACVR1B, ACVRL1
KEGG pathway			
bta04911: secreção de insulina	3	0.023385	CCKAR, SLC2A1, ATF2

Tabela L. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em tempo de refeição ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Processo Biológico			
GO:0051260~ homooligomerização de proteínas	7	0.007451	KCNA10, KCNC4, TNFSF11, KCNA2, ATL3, KCNA3, KCTD2
GO:0019233~percepção sensorial de dor	4	0.008410	OPRL1, SCN9A, CHRNA4, KCNK4
GO:0030154~diferenciação celular	8	0.031363	GRB2, PTK6, MAEL, RGS19, ILDR2, HES6, PDPF, SRMS
GO:0019228~potencial de ação neuronal	3	0.033508	SCN1A, SCN9A, SCN7A
GO:0042384~conjunto ciliar	5	0.036698	TRAF3IP1, FOXJ1, NEK1, RAB17, FBF1
GO:0002158~proliferação de osteoclastos	2	0.038981	TNFSF11, CSF1
Componente Celular			
GO:0008076~complexo de canal de potássio dependente de voltagem	5	0.010646	KCNA10, KCNC4, KCNA2, KCNA3, KCNQ2
GO:0001518~ complexo de canal de sódio dependente de voltagem	3	0.012279	SCN1A, SCN9A, SCN7A
GO:0008021~vesícula sináptica	4	0.032737	CLCN3, COPS5, DNAJC5, SLC6A17
GO:0005622~intracelular	15	0.047423	ZMYND12, ZNF354A, MLPH, EEF1A2, PREX2, EIF5B, TRIM52, USP6NL, VEGFB, MAST4, TRIM65, TNFSF11, POGK, ASB1, RAMP1
Função Molecular			
GO:0005251~retardo na atividade do canal de potássio retificador	5	6,28E-04	KCNA10, KCNC4, KCNA2, KCNA3, KCNQ2
GO:0005248~ complexo de canal de sódio dependente de voltagem	3	0.015395	SCN1A, SCN9A, SCN7A
GO:0030250~atividade do ativador da guanilato ciclase	2	0.025495	GUCA2A, GUCA2B
Vias KEGG			
bta05020:doenças priônicas	3	0.030667	C8A, C8B, STIP1
bta03013: transporte de RNA	5	0.047627	SUMO2, UPF2, EEF1A2, EIF5B, NUP85

Tabela M. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em tempo de ruminação ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Processo Biológico			
GO:0006906~fusão vesicular	3	0.031973	SYT16, GOSR1, RPH3A
GO:0010628~regulação positiva de expressão de gene	4	0.043335	PDCD10, SLC6A4, ERP29, EPB41L4B
GO:0048268~conjunto de revestimento da clatrina	2	0.048418	SNAP91, FCHO2
Componente Celular			
GO:0005829~citossol	15	0.002569	CTNNAL1, ABR, PDCD10, ANKRA2, SLC6A4, ECHDC1, VPS53, CRYZ, NXN, CALM, AOX4, DPYD, GOSR1, GEMIN4, RNF146
GO:0005856~citossqueleto	5	0.014722	ANKRA2, ACTL7A, PTPN3, ACTL7B, EPB41L4B
GO:0030136~vesícula de revestimento clatrina	3	0.017973	APP, SNAP91, FCHO2
GO:0097342~riposomo	2	0.034804	CFLAR, CASP8
GO:0016020~membrana	11	0.039011	BZW1, ABR, ANKRA2, ERP29, PALM2, VPS53, CPD, OAS2, RPH3A, GEMIN4, ORC2
GO:0009986~superfície celular	6	0.046182	PROM1, CD38, APP, ERP29, FGFBP1, KCNH5
Função Molecular			
GO:0003953~atividade da nucleosidase NAD+	2	0.010511	CD38, BST1
GO:0016849~atividade da fósforo-oxigenase	2	0.015725	CD38, BST1
GO:0003725~ligação de RNA de cadeia dupla	3	0.027443	OAS1Y, OAS1X, OAS2
Via KEGG			
bta05168: infecção simples por Herpes	5	0.007184	OAS1Y, OAS1X, CASP8, OAS2, PTPN11
bta04970: secreção salivar	3	0.045197	CD38, CALM, BST1

Tabela N. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em rumenite ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Processo Biológico			
GO:0090310~regulação negativa do silenciamento da cromatina dependente da metilação	2	0.014040	<i>APOBEC1, AICDA</i>
GO:0043066~regulação negativa do processo apoptótico	5	0.028449	<i>AIPL1, ACTC1, BLK, GREM1, KLHL20</i>
GO:0080111~desmetilação do DNA	2	0.037011	<i>APOBEC1, AICDA</i>
GO:0033209~via de sinalização mediada por fator de necrose tumoral	2	0.090014	<i>TXNDC17, JAK2</i>
GO:0055085~transporte de transmembrana	3	0.094513	<i>SPNS2, SLC13A5, SLC16A9</i>
Função Molecular			
GO:0004866~atividade inibidora da endopeptidase	3	0.002255	<i>A2M, OVOS2, A2ML1</i>
GO:0016787~atividade da hidrolase	4	0.018282	<i>AGA, AADACL3, PLPP6, PRDX6</i>
GO:0004601~ atividade da peroxidase	2	0.040216	<i>TXNDC17, PRDX6</i>
GO:0005102~ligação ao receptor	3	0.088116	<i>A2M, BLK, HAO2</i>
Vias KEGG			
bta01130: Biosíntese de antibióticos	4	0.036186	<i>HMGCS2, HAO2, PHGDH, AK3</i>

Tabela O. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em área de superfície absorviva por cm² do epitélio ruminal ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Processo Biológico			
GO:0008360~ regulação da forma celular	4	0.013785	ANXA7, TTBK2, EPB42, CDC42EP4
GO:0007599~hemostase	2	0.014255	VWF, ANXA7
GO:0030239~conjunto de miofibrilas	2	0.046745	MYOZ1, CAPN3
Componente Celular			
GO:0015629~ citoesqueleto de actina	5	0.003258	MYOZ1, CDC42EP4, STK38L, SYNPO2L, VCL
GO:0030018~ disco Z	4	0.004947	FKBP1A, MYOZ1, CAPN3, SYNPO2L
GO:0005829~citossol	1 0	0.044232	PSMF1, ANXA7, TTBK2, NSFL1C, FKBP1A, ZNF106, DPYSL2, LHPP, CAPN3, PPP2R2A
Função Molecular			
GO:0042803~ atividade de homodimerização de proteínas	5	0.016478	VWF, CTBP2, BNIP3L, FKBP1A, LHPP
Vias KEGG			
bta04114: meiose do oócito	4	0.009206	CAMK2G, PPP3CB, AURKA, ITPR2
bta04728: sinapse dopaminérgica	4	0.012608	CAMK2G, PPP3CB, PPP2R2A, ITPR2
bta04720: potencialização a longo prazo	3	0.025519	CAMK2G, PPP3CB, ITPR2
bta04971: secreção de ácido gástrico	3	0.030846	SSTR2, CAMK2G, ITPR2
bta04020: via de sinalização de cálcio	4	0.035000	CAMK2G, PPP3CB, ADRA1A, ITPR2

Tabela P. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias KEGG com base em espessura da camada de queratina do epitélio ruminal ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Biological Process			
GO:0033700~efluxo fosfolipídico	4	6.01E-05	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0042157~processo metabólico das lipoproteínas	4	1.22E-04	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0070328~homeostase dos triglicerídeos	4	1.50E-04	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0019433~processo catabólico dos triglicerídeos	4	1.50E-04	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0030300~regulação da absorção do colesterol intestinal	3	4.32E-04	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0033344~efluxo de colesterol	4	5.22E-04	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0031102~projeção de regeneração neuronal	3	6.46E-04	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0010873~da esterificação do colesterol	3	9.00E-04	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0010898~regulação positiva do processo catabólico de triglicerídeos	3	9.00E-04	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0034372~remodelamento de partículas de proteínas de densidade muito baixas	3	9.00E-04	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0051006~regulação positiva da atividade da lipoproteína lipase	3	9.00E-04	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0034380~montagem de partículas de lipoproteínas de alta densidade	3	0.001195	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0046470~processo metabólico da fosfatidilcolina	3	0.001529	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0045723~regulação positiva do processo biossintético de ácidos graxos	3	0.002317	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0043691~transporte reverse do colesterol	3	0.002317	APOA4, APOA1, APOA5
GO:0042632~homeostase do colesterol	4	0.003742	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
Componente Celular			
GO:0042627~quilomícron	4	1.76E-05	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0034361~partícula de lipoproteína de densidade muito baixa	4	8.76E-05	APOA4, APOA1, APOA5, APOC3
GO:0005581~trímeros de colágeno	5	6.46E-04	MBL1, CGN1, CL46, CL43, SFTPD

GO:0034364~ partícula de lipoproteína de alta densidade	3	0.004697	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
<i>Função Molecular</i>			
GO:0060228~ atividade ativadora da fosfatidilcolina-esterol O-aciltransferase	3	4.82E-04	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GO:0015485~ligação de colesterol	4	0.001074	<i>APOA4, APOA1, APOA5, ERLIN1</i>
GO:0017127~ atividade transportadora de colesterol	3	0.003078	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GO:0031210~ ligação de fosfatidilcolina	3	0.004830	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
<i>Vias KEGG</i>			
bta04145: fagossoma	6	0.003418	<i>MBL1, CGN1, CL46, CL43, SFTPD, ATP6V1G3</i>

Tabela Q. Análise de enriquecimento de dados de termos da GO e das vias da KEGG com base em peso de carcaça quente ($P < 0,05$).

TERMOS	N	VALOR DE P	GENES
Processo Biológico			
GO:0042981~regulação do processo apoptótico	5	0.002649	<i>TNFRSF11B</i> , <i>BCL2L2</i> , <i>ACIN1</i> , <i>TRAF5</i> , <i>DAPK1</i>
GO:0046777~ autofosforilação de proteínas	4	0.018373	<i>VRK1</i> , <i>NEK2</i> , <i>PEAK1</i> , <i>DAPK1</i>
GO:0030049~ filamento muscular deslizando	2	0.018962	<i>MYH7</i> , <i>MYH6</i>
Componente Celular			
GO:0005730~nucléolo	8	0.014347	<i>VRK1</i> , <i>DTL</i> , <i>RREB1</i> , <i>HOMER</i> , <i>NGDN</i> , <i>ACIN1</i> , <i>RCN2</i> , <i>NRIP1</i>
GO:0030018~ disco Z	3	0.040795	<i>PPP2R5A</i> , <i>MYH7</i> , <i>MYH6</i>
Função Molecular			
GO:0003714~ atividade do corepressor de transcrição	5	0.001537	<i>AJUBA</i> , <i>PRMT5</i> , <i>HOMER</i> , <i>TLE4</i> , <i>NRIP1</i>
GO:0050518~ atividade da 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato citidililtransferase	2	0.009295	<i>ISPD</i>
GO:0030898~atividade da ATPase actina-dependente	2	0.045633	<i>MYH7</i> , <i>MYH6</i>
GO:0015179~ Atividade do transportador transmembranar L-aminoácido	2	0.045633	<i>SLC7A8</i> , <i>SLC7A7</i>

CAPITULO 3

IMPLICAÇÕES

Regiões genômicas e genes relacionados à acidose em bovinos Nelore confinados foram encontrados com estudos de associação ampla do genoma. A utilização de animais provenientes de diferentes locais, alimentações (em relação aos ingredientes e inclusões) e a quantidade de características coletadas podem dificultar o entendimento dos resultados finais.

O número necessário de animais para a realização de estudos como este, envolvendo o melhoramento genético com a nutrição animal, é um fator a ser levado em conta, já que os dados das características são individuais e a maioria dos estudos de nutrição de bovinos confinados no Brasil é realizada com dados coletivos.

Além disso, pesquisas no âmbito deste estudo devem ser realizadas com equipes multidisciplinares, envolvendo pesquisadores de várias áreas da nutrição e do melhoramento genético animal.