

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**UTILIZAÇÃO DE INFORMAÇÕES GENÔMICAS PARA O
MELHORAMENTO GENÉTICO DE CARACTERÍSTICAS
DA CARNE EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Ana Fabrícia Braga Magalhães
Zootecnista

2015

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**UTILIZAÇÃO DE INFORMAÇÕES GENÔMICAS PARA O
MELHORAMENTO GENÉTICO DE CARACTERÍSTICAS
DA CARNE EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Ana Fabrícia Braga Magalhães

Orientadora: Prof. Dra. Lucia Galvão de Albuquerque

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Sebastian B. Rey

Coorientadora: Prof. Dra. Arione Augusti Boligon

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia

2015

M188u Magalhães, Ana Fabrícia Braga
Utilização de informações genômicas para o melhoramento genético de características da carne em bovinos da raça Nelore / Ana Fabrícia Braga Magalhães. – – Jaboticabal, 2015
xii, 59 p. ; 28 cm

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

Orientador: Lucia Galvão de Albuquerque

Coorientador: Fernando Sebastian Baldi Rey

Coorientadora: Arione Augusti Boligon

Banca examinadora: Danísio Prado Munari, Luciana Correia de Almeida Regitano, Ricardo Ventura, Roberto Carvalheiro

Bibliografia

1. Associação. 2. Métodos. 3. Seleção. 4. Efeito dos SNPs I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: UTILIZAÇÃO DE INFORMAÇÕES GENÔMICAS PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO DE CARACTERÍSTICAS DA CARNE EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

AUTORA: ANA FABRÍCIA BRAGA MAGALHÃES

ORIENTADORA: Profa. Dra. LUCIA GALVAO DE ALBUQUERQUE

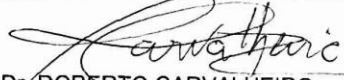
CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. ARIONE AUGUSTI BOLIGON

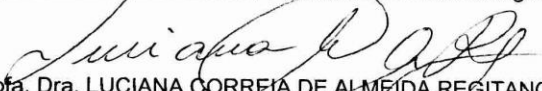
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIÁN BALDI REY

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:


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


Prof. Dr. DANÍSIO PRADO MUNARI
Departamento de Ciências Exatas / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


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


Profa. Dra. LUCIANA CORREIA DE ALMEIDA REGITANO
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / São Carlos/SP


Prof. Dr. RICARDO VIEIRA VENTURA
Beef Improvement Opportunities (BIO) / Pirassununga/SP

Data da realização: 23 de fevereiro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ana Fabrícia Braga Magalhães nasceu na cidade de Itapipoca – CE, em 29 de Outubro de 1987, filha de Francisco Ramos Magalhães e Maria Luiza Braga Magalhães. Em Agosto de 2004, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA e em outubro de 2005 ingressou no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC – CNPq) orientada pelo Prof. Dr. Gabrimar Araújo Martins. Graduou-se em janeiro de 2009 e, em março de 2009, ingressou no programa de pós-graduação em Zootecnia (área de concentração: produção e melhoramento animal) da Universidade Federal do Ceará, orientada pelo Prof. Dr. Raimundo Nonato Braga Lobo, obteve o título de Mestre em dezembro de 2010. Em março de 2011, iniciou como aluna de doutorado do programa de pós-graduação em Zootecnia (área de concentração: genética e melhoramento dos animais domésticos) da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” campus de Jaboticabal (UNESP – FCAV) tendo como orientadora a Prof. Dra Lucia Galvão de Albuquerque. Em Julho de 2013, iniciou o estágio sanduíche no exterior, permanecendo onze meses na University of Guelph – CA, orientada pelo Prof. Dr. Flavio Schramm Schenkel.

No dia em que sai de casa minha mãe me disse filho sem cá
Passou a mão em meus cabelos, olhou em meus olhos começou falar
Por onde você for eu sigo com meu pensamento sempre onde estiver
Em minhas orações eu vou pedir a Deus
Que ilumine os passos seus

Eu sei que ela nunca compreendeu
Os meus motivos de sair de lá
Mas ela sabe que depois que cresce
O filho vira passarinho e quer voar
Eu bem queria continuar ali
Mas o destino quis me contrariar
E o olhar de minha mãe na porta
Eu deixei chorando a me abençoar

A minha mãe naquele dia me falou do mundo como ele é
Parece que ela conhecia cada pedra que eu iria pôr o pé
E sempre ao lado do meu pai da pequena cidade ela jamais saiu
Ela me disse assim meu filho vá com Deus
Que este mundo inteiro é seu

Eu sei que ela nunca compreendeu
Os meus motivos de sair de lá
Mas ela sabe que depois que cresce
O filho vira passarinho e quer voar
Eu bem queria continuar ali
Mas o destino quis me contrariar
E o olhar de minha mãe na porta
Eu deixei chorando a me abençoar

Joel Marques

Aos meus pais, Maria Luiza e Francisco, que sempre me deram apoio e nunca
mediram esforços para que eu chegasse até aqui.

DEDIÇÃO

As minhas irmãs e melhores amigas, Patrícia e Karla, vocês são anjos que Deus
me deu de presente.

AGRAÇOS

AGRADECIMENTOS

À Deus por me iluminar.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Lucia Galvão de Albuquerque, por me aceitar e me receber tão bem durante esse período, e principalmente pela oportunidade de fazer o doutorado sob sua orientação. Obrigada por transferir-me o seu enorme conhecimento e obrigada, principalmente, por me incentivar, apoiar e por sempre me entender.

Aos meus co-orientadores, Prof. Dr. Fernando Baldi e Prof^a Dr^a Arione Boligon, pela amizade, incentivos e pela contribuição nesse trabalho.

Aos membros da banca, Danísio, Roberto, Ricardo e Luciana, pelas valiosas sugestões.

Ao Rafael Tonussi, que é o meu “tudo”, meu namorado, amigo e companheiro de trabalho. Você esteve e sempre está presente em todos os momentos da minha vida. Obrigada por me ensinar que a vida é maravilhosa, e que no final o que importa mesmo é ser feliz.

Aos meus filhos caninos, Catita e Sushi, que me fazem tão feliz, como é bom chegar em casa e ver vocês.

Aos meus amigos da salinha e companheiros de trabalho, Rafael Medeiros, Rafael Espigolan, Rafael Tonussi, Natalia, Daniel, Ana Paula, Raphael Costa, Diogo, Gerardo, Daniela, Larissa, Mari, Marcos, Willian, Luciana, Daniele, Camila, Tiago, Gregório, vocês tornaram essa caminhada prazerosa e divertida. Além das diversões partilhadas, eu gostaria de agradecer-los por contribuírem com esse trabalho, com ideias, ajudas com análise de dados e discussões de trabalhos e, principalmente aqueles que não mediram esforços para ajudar nos abates e análises da carne. Muito Obrigada!

À minha enorme família, que souberam entender as minhas escolhas e compreenderam a minha ausência.

Aos amigos “VPA” (voluntários da proteção animal), que são pessoas de tão grande coração e que me ensinaram que sempre existe um “tempinho na agenda” para ajudar os que precisam.

A família “Tonussi” e aos amigos de Laranjal Paulista, que tornaram meus finais de semana e feriados mais divertidos.

Ao Prof. Dr. Flavio Schenkel, que me recebeu tão bem no Canadá. Obrigada pelos valiosos ensinamentos!

A Capes e ao CNPq pela concessão da bolsa (Processo nº: 161974/2011.2).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado no Brasil (Processo nº: 2012/21969-7), no exterior (Processo: 2013/08006-8), e pelo apoio financeiro do projeto temático (Processo nº: 2009/16118-5).

A Gensys e aos programas de melhoramento (DeltaGen, Paint e Qualitas), por ceder os dados. Assim como os frigoríficos que permitiram a coleta da carne.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	13
1. Introdução.....	13
2. Objetivo Geral.....	15
2.1 Objetivos Específicos	15
3. Seleção Genômica.....	15
4. Associação Genômica	18
5. Referências Bibliográficas	20
CAPÍTULO 2 - Acurácia da predição genômica usando diferentes modelos para características de qualidade da carne na raça Nelore	24
1. Introdução.....	28
2. Material e Métodos	29
2.1 Descrição dos dados.....	29
2.2 Análise quantitativa dos dados.....	30
2.3 Controle de qualidade dos dados genômicos	31
2.4 Estimativa do efeito dos SNPs e Predições dos valores genômicos.....	32
2.5 Comparação dos métodos	34
3. Resultados e Discussão	35
3.1 Habilidade da predição genômica	35
3.2 Inflação da predição genômica	38
4. Conclusões	40
5. Referências Bibliográficas	41
CAPÍTULO 3 – Estudo de Associação genômica ampla para características de qualidade de carne em bovinos Nelore	44
1. Introdução.....	46
2. Material e Métodos	47
2.1 Dados Fenotípicos	47
2.2 Edição dos dados genômicos	48

2.3	Análise de GWAS.....	49
3.	Resultados e Discussão.....	50
4.	Conclusões	54
5.	Referências Bibliográficas.....	56

UTILIZAÇÃO DE INFORMAÇÕES GENÔMICAS PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO DE CARACTERÍSTICAS DA CARNE EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

Resumo - O consumidor tem se tornado mais exigente com relação a qualidade da carne, fatores como maciez, cor e sabor são as características mais requeridas. Pouco tem sido feito em relação à qualidade da mesma, pois essas características não são consideradas nos programas de avaliação genética para gado de corte no Brasil, por serem de mensuração difícil, alto custo, e por exigir o abate dos animais. Uma alternativa para inclusão destas medidas em programas de melhoramento pode ser o uso dos SNPs em estudos de associação e seleção genômica. Foram utilizados 1.875 animais machos da raça Nelore foram terminados em confinamento e abatidos em planta frigorífica comercial, com idade média de 731 ± 81 dias. As amostras coletadas foram analisadas para maciez, lipídeos, marmoreio, coloração L^* (luminosidade), a^* (vermelha) e b^* (amarela). Os animais foram genotipados com um painel de 777.962 SNPs (Illumina BovineHD Beadchip) e após o controle de qualidade restaram 1.634 animais com genótipos e 369.722 SNPs. No capítulo 2, três métodos de seleção genômica foram avaliados: GBLUP (assume distribuição normal com variância única para todos os efeitos de SNPs), BayesC π (apresenta uma distribuição mista para os efeitos dos SNPs) e Bayesian Lasso (assume distribuição dupla exponencial para os efeitos dos SNPs). O fenótipo corrigido para os efeitos fixos (Y_c) e o valor genético predito (EBV) foram utilizados como pseudo-fenótipos. Para a validação cruzada, a população foi dividida aleatoriamente em cinco grupos de tamanhos similares. Para comparar a habilidade de predição dos métodos foram calculadas: a correlação entre os valores genômicos (GEBV) e os fenótipos corrigidos e o valor da correlação dividido pela raiz quadrada da herdabilidade; a correlação entre GEBV e EBV; o coeficiente de regressão do GEBV sobre o fenótipo corrigido e do GEBV sobre o EBV. O EBV como pseudo-fenótipo foi mais acurado que o fenótipo corrigido. O GBLUP apresentou melhor habilidade de predição para as colorações e, para as demais características, as metodologias bayesianas foram superiores. Entre as metodologias bayesianas, o BayesC π apresentou maior acurácia que o Lasso para todas as características. No Capítulo 3 aplicou-se a metodologia do ssBLUP (método GBLUP feito em uma única etapa) para estimar o efeito dos SNPs e associá-los às características de maciez e marmoreio. Esse método utiliza GEBVs com base em informações de pedigree, fenótipos e genótipos em uma única etapa. Os resultados das análises de associação genômica (GWAS) foram apresentados com base na proporção de variância explicada por janelas de 50 SNPs adjacentes. Somente as janelas de SNPs que explicavam acima de 1,5% de variância genética aditiva, foram discutidos. Para a característica marmoreio, os genes que se destacam são FGF12, GPD2, NR4A2, ZNF461, LIPT1 e MRPL30, que apresentam relações com o metabolismo de lipídeos. Para a característica maciez, destaca-se o gene PLCL2, uma fosfolipase cuja alta expressão é conhecida no músculo esquelético.

Palavras-chave: associação, métodos, seleção, efeitos dos SNPs

USE OF GENOMIC INFORMATION FOR GENETIC IMPROVEMENT OF MEAT TRAITS IN NELLORE CATTLE

Abstract - Consumers have become stricter for higher quality meat and are seeking for traits such as tenderness, color and flavor. Few has been done for improving meat quality traits, due to the difficultness and high cost to measure, as well as to the necessity of culling animals. An alternative to inclusion of these measures in breeding programs may be the use of SNPs in association studies and genomic selection. Animals Nellore (1,875) were feedlot finished and slaughtered at commercial slaughterhouses were used, with an average age of 731 ± 81 days. The samples were analyzed for tenderness, lipid content, marbling, lightness (L^*), redness (a^*) and yellowness (b^*). The animals were genotyped with a panel of 777,962 SNPs (IlluminaBovineHDBeadchip) and after quality control remained 1,634 animals with genotypes and 369,722 SNPs. In chapter 2, three genomic selection methods were evaluated: GBLUP (assumes normal distribution with variance only for all SNPs effects), BayesC π (mixed distribution to the SNPs effects) and Bayesian Lasso (assumes double exponential distribution for SNPs effects). The adjusted phenotype for the fixed effects (Y_c) and the estimated breeding value (EBV) were used as pseudo-phenotypes. For cross-validation, the population was randomly divided into five groups of similar sizes. To compare the predictive ability of the methods, the following procedures were used: correlation between the genomic values (GEBV) and the adjusted phenotypes and the correlation value divided by the square root of the heritability; correlation between EBV and GEBV; regression coefficient of the GEBV on adjusted phenotype and GEBV on EBV. The EBV as pseudo-phenotype was more accurate than the adjusted phenotype. The GBLUP showed better predictive ability for meat color. For the other traits, the Bayesian methodologies had higher predictive ability. Among the Bayesian methodologies, BayesC π was more accurate than Lasso for all traits. In Chapter 3 was applied the methodology of ssBLUP (GBLUP method done in one step) to estimate the effect of SNPs and associate them to the traits of tenderness and marbling. The single-step method combined genomic- and pedigree-based relationship matrices. The results of the genome association analysis (GWAS) have been presented based on the proportion of variance explained by windows of 50 adjacent SNPs. Only SNPs that explained above 1.5% of additive genetic variance, based on two iterations processes, were discussed. The genes associated with marbling were FGF12, GPD2, NR4A2, ZNF461, LIPT1 and MRPL30, which have relations with the lipid metabolism. For tenderness, the analysis drawn attention to the PLCL2 gene, a phospholipase which high expression in skeletal muscle is known.

Keywords: association, methods, selection, SNPs effects

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

A produção de carne bovina no Brasil cresceu 2,9 % ao ano, nos últimos 10 anos, tanto devido ao aumento no número de animais, como à melhor eficiência de produção (FAO, 2014). Com isso, o país é o segundo maior produtor mundial de carne bovina e também o maior exportador (USDA, 2014).

Além do aumento na quantidade de carne produzida e exportada no Brasil, é essencial a melhoria na qualidade da carne, uma vez que os consumidores têm exigido carne saudável e de qualidade. Em resposta a essa tendência do mercado, a indústria alimentar, apoiada pela comunidade de pesquisa, tem buscado diferenciar a qualidade da carne bovina, de forma que atenda às necessidades dos consumidores (SCOLLAN et al., 2006). Nesse sentido, ganham importância as características associadas à qualidade da carne, como maciez, gordura e coloração. Em relação aos atributos de qualidade da carne, a maciez destaca-se como um dos aspectos mais valorizados pelos consumidores (ISHIHARA et al., 2013), sendo uma característica decisiva para a aquisição da carne bovina (BOLEMAN et al., 1997).

O marmoreio é uma característica indicadora de gordura, definido como o acúmulo de gordura intramuscular (entremeada às fibras musculares) na carne bovina, que é considerada um tipo de gordura desejável (WILLIAMS, 2008), por estar associada às características sensoriais da carne, que podem ser percebidas pelo consumidor, como a suculência e o sabor. Além do marmoreio, a carne também pode ser avaliada pelo percentual de lipídeos contido na amostra. Contudo, alta quantidade de gordura não é encontrada na carne da raça Nelore. Aliás, a raça é conhecida pelo baixo teor de gordura, quando comparada com *Bos taurus* (CUNDIFF, 2004).

A coloração da carne é outro fator de forte influência sobre sua qualidade, por contribuir para a aparência geral do produto. É um atrativo visual para o consumidor e indicadora do frescor da carne (MANCINI e HUNT, 2005). Um padrão internacional é utilizado para medir a coloração, adotado pela Commission

Internationale d'Eclairage (CIE) em 1976, em que são tomadas as medidas, L^* , componente de luminosidade, a^* o componente de verde a vermelho e b^* de cor azul a amarela (YAM e PAPADAKIS, 2004). Portanto, essas três medidas proporcionam uma visão geral da cor da carne bovina.

Embora o Brasil produza e exporte grandes quantidades de carne, pouco tem sido feito em relação ao melhoramento genético de características relacionadas à qualidade da carne, já que as mesmas não têm sido consideradas nos programas de avaliação genética para gado de corte no Brasil, por serem de mensuração difícil e alto custo, exigindo o abate dos animais. Levando em consideração as dificuldades mencionadas, uma alternativa para inclusão destas características em programas de melhoramento pode ser o uso dos marcadores de polimorfismos de base única (SNPs) em estudos de associação e seleção genômica. Essa informação molecular pode ser útil para identificar animais com alto valor genético para características de qualidade da carne e o processo de seleção pode ser conduzido em animais jovens (PINTO et al., 2010).

A seleção genômica considera informações de um grande número de SNPs distribuídos por todo o genoma, assumindo que todos os QTLs (*Quantitative trait loci*) estejam em desequilíbrio de ligação com pelo menos um marcador (MEUWISSEN et al., 2001). Desta forma, potencialmente, a variância genética da característica pode ser rastreada pelos marcadores, se a densidade de marcadores for alta o suficiente (ZHANG et al., 2011). Para a implementação da seleção genômica, uma população com dados de fenótipos e genótipos conhecidos é utilizada para estimar a equação de predição dos efeitos dos marcadores. Posteriormente, as estimativas dos efeitos dos marcadores são utilizadas para prever os valores genômicos de animais de outra população (por exemplo, candidatos à seleção) com informação genotípica, mas que não possuam dados fenotípicos (MEUWISSEN et al., 2001).

Para avaliação de dados genômicos, vários métodos têm sido propostos, entretanto não existe consenso sobre o melhor a ser utilizado. Resultados na literatura apresentam divergências, com a maioria dos trabalhos utilizando dados simulados apontando melhor habilidade de predição para metodologias bayesianas (LUND et al., 2009; HABIER et al., 2007; CLARCK et al., 2011) enquanto estudos com dados reais apresentaram pouca diferença entre os métodos (HABIER et al., 2011; HAYES et al., 2009). Portanto, para que a seleção

genômica seja aplicada para características de qualidade da carne na raça Nelore, ainda é necessário estudar e comparar metodologias de predição genômica e assim, verificar aquela que melhor se aplica aos dados.

Além da seleção genômica, estudos de associação genômica (GWAS) são necessários para conhecer e identificar os genes que estão associados com características de interesse econômico. A descoberta desses genes e como estes atuam nas características de interesse são importantes ferramentas que podem auxiliar na aplicação da seleção genômica (CHEONG et al., 2008). Estudos de associação utilizando painéis de marcadores com características ligadas à qualidade da carne em *Bos taurus* foram realizadas por Akanno et al., 2014; Miller et al., 2014; Bolormaa et al., 2013, e em *Bos indicus* foram publicados por Tizioto et al. (2013) e Cesar et al. (2014).

2. Objetivo Geral

Objetivou-se com este trabalho comparar diferentes métodos para predição do valor genômico de características de qualidade da carne na raça Nelore, bem como detectar SNPs associados à maciez e marmoreio.

2.1 Objetivos Específicos

- Comparar a habilidade preditiva dos métodos GBLUP, Bayesian Lasso e BayesC π para características de qualidade da carne.
- Estudar a associação genômica dos SNPs com as características: maciez e marmoreio.

3. Seleção Genômica

A seleção genômica é uma técnica que utiliza marcadores moleculares, do tipo SNP, para predição do valor genético de animais candidatos a seleção (MEUWISSEN et al., 2001). Diversos métodos para predição genômica estão sendo propostos. Os primeiros métodos estatísticos foram propostos por Meuwissen et al. (2001) em um estudo de simulação. Quadrados mínimos,

GBLUP, BayesA e BayesB foram os métodos abordados pelos autores e, dentre estes, apenas o método dos quadrados mínimos apresentou limitações, como a baixa habilidade preditiva e a impossibilidade de estimar todos os efeitos simultaneamente. Os demais métodos foram mais acurados e similares entre si. Diante disso, GBLUP, BayesA e BayesB se tornaram amplamente utilizados.

No método GBLUP assume-se que a *priori* dos efeitos dos SNPs segue distribuição normal, com média zero e variância igual para todos os marcadores. Esse método é atrativo para populações sem informações suficientes de pedigree, pois a matriz de relação genômica captura essa informação entre indivíduos genotipados (HAYES e DAETWYLER, 2013), além de ser de fácil implementação.

No método BayesA assume-se que as variâncias diferem para cada SNP. No método BayesB é permitido que muitos marcadores possam ter efeito exatamente igual a zero. Isso caracteriza uma mistura de distribuições a *priori* para efeito dos SNPs com uma fração π dos SNPs com efeito igual a zero e os demais com variância específica para cada SNP com probabilidade $(1-\pi)$ (HAYES e DAETWYLER, 2013). A distribuição marginal a *priori* para efeito dos SNPs é t-student no BayesA e BayesB. Esse tipo de distribuição permite uma calda mais longa na densidade da curva, portanto, a identificação de genes com moderado a grande efeito são mais prováveis nos métodos BayesA e BayesB que na distribuição normal apresentada no GBLUP.

Outro método comumente estudado é o Lasso, que foi proposto por Tibshirani (1996) e modificado por Legarra et al. (2011). Assume-se distribuição dupla exponencial para o efeito dos SNPs, com efeito do SNP próximo de zero e com variâncias individuais. Esse método produz um “shrinkage” específico de acordo com o efeito e variância do marcador. Habier et al. (2011) apresentaram o método BayesC π , que trata a probabilidade π do SNP ter efeito como parâmetro desconhecido, que pode ser estimada a partir dos dados. Nesse método uma variância comum é especificada para todos os *loci*. Em contraste ao GBLUP, em que se assume que a variância é conhecida, no BayesC π essa variância pode ser estimada a partir dos dados, no entanto, alguns autores consideram isso uma desvantagem quando o número de animais é baixo, comparado aos milhares de efeito a serem estimados. Para Legarra (2014), os valores das variâncias, em BayesC π , são menos dependentes da *priori* que no BayesB. Essa “dependência” foi explicada por Gianola et al. (2009), em que segundo os autores, o método

BayesB assume variância específica para cada marcador, com uma distribuição qui-quadrada escalonada invertida, com graus de liberdade e parâmetros de escala. No entanto, a distribuição *a posteriori* para estas variâncias apresentaram apenas um grau de liberdade a mais, quando comparada com *a priori*, independentemente do número de animais fenotipados e genotipado.

Vários estudos comparando habilidade de predição de diversos métodos, com dados simulados, foram publicados. Lund et al. (2009); Habier et al. (2007); Clarck et al. (2011) apresentaram resultados com melhor habilidade preditiva para metodologias bayesianas. Habier et al. (2011) e Hayes et al. (2009) trabalharam com dados reais e não encontraram diferenças significativas entre os métodos. No entanto, Neves et al. (2014), em *Bos indicus*, estudaram três metodologias (GBLUP, BayesC e Lasso) para características de crescimento em 685 animais da raça Nelore e 320.238 SNPs, e concluíram que as metodologias bayesianas foram mais acuradas que GBLUP. Portanto, não há consenso sobre o melhor método a ser abordado. Dessa forma, torna-se fundamental estudar a metodologia mais apropriada para determinado conjunto de dados.

Trabalhos com características de carne e carcaça foram realizados por Bolormaa et al. (2013) com 10.181 animais, incluindo *Bos taurus*, Brahman e cruzamentos usando SNPs de alta densidade. Os autores obtiveram correlação entre GEBV e fenótipo corrigido variando de 0,17 a 0,33 para as características de carcaça e qualidade da carne. Ainda em *Bos taurus* foram relatados na literatura resultados para maciez e marmoreio (Akanno et al., 2014; Miller et al., 2014). No trabalho de Akanno et al. (2014) foram testadas diferentes densidades de SNPs para 2.900 bovinos de raças mestiças, e os autores encontraram acurácia moderada para as características de qualidade da carne, variando de 0,30 a 0,38. Enquanto Miller et al. (2014), também trabalhou com rebanhos de animais mestiços, (Angus, Simental, Piemontês, Gelbvieh, Limousin e Charolês eram as raças dominantes) e encontraram correlação entre GEBV e fenótipo ajustado para maciez variando de 0,10 a 0,50.

A acurácia do valor genômico é de fundamental importância para a aplicação da seleção genômica no melhoramento animal (BODDHIREDDY et al., 2014). No entanto, existem diversos fatores que influenciam essa acurácia, como a arquitetura genética da característica, tamanho da população (DAETWYLER et al., 2010), a variável resposta usada para estimar o efeito dos SNPs (GARRICK

et al., 2009), o desequilíbrio de ligação entre QTL e marcador, tamanho da população, herdabilidade da característica, densidade de marcadores e o método utilizado para predição genômica (DE LOS CAMPOS et al., 2013).

4. Associação Genômica

Os estudos de associação genômica (GWAS) objetivam detectar variantes em loci genômicos que estão associados com características complexas da população, em particular, o GWAS visa detectar associações entre SNPs e características de interesse (VISSCHER et al., 2012). A identificação e localização de regiões no genoma associadas com características de qualidade da carne são passos importantes que objetivam incorporar essas informações em programas de avaliação genética, de forma que a descoberta desses SNPs auxilie o processo de seleção, visando à predição dos valores genéticos.

Estudos na área de genética possibilitaram a identificação de diversas regiões do cromossomo associadas a características de qualidade da carne. Para marmoreio, estas regiões foram localizadas nos cromossomos 2, 3, 7, 8, 10, 17, 22, 27 e, para maciez, nos cromossomos 7, 8, 9, 10, 29 (CASAS et al., 1998; CASAS et al., 2000; CASAS et al., 2001; DAVIS et al., 2007). Genes de grande importância, como a calpaína (CAPN1) e calpastatina (CAST), localizadas nos cromossomos 29 e 7 (SMITH et al., 2000; CHEONG et al., 2008) respectivamente, estão associados à maciez e marmoreio (SMITH et al., 2000; SCHENKEL et al., 2006; CHEONG et al., 2008; PINTO et al., 2010). A calpaína é um bom gene candidato para maciez (PINTO et al., 2010) e tem a função de degradar proteínas miofibrilares em condições postmortem. A calpastatina é um inibidor específico da μ - calpaína, com importante papel no processo de maciez da carne (LAGE et al., 2009).

Inicialmente, nas análises de GWAS eram usados métodos que se baseiam em um teste de um único marcador por vez (HIRSCHHORN e DALY, 2005). No entanto, em razão da dificuldade em realizar teste de significância em cada marcador, considerando que existem milhares de SNPs (WANG et al., 2012), outros métodos em que os SNPs são considerados simultaneamente foram propostos. Esses métodos são conhecidos por requererem múltiplos passos.

Primeiramente, uma avaliação genética tradicional com um modelo animal é requerida, depois os pseudo-fenótipos são formados e, somente depois, o valor genômico dos animais genotipados são estimados (AGUILAR et al., 2010).

Outro método mais recente foi apresentado por Miszta et al. (2009), chamado *single-step*. Esse método é uma maneira mais simples de incorporar informações genômicas em um único passo. Ele difere dos demais métodos citados anteriormente porque o fenótipo pode ser diretamente usado na análise de predição genômica. É vantajoso usar o *single-step* pois toda informação disponível pode ser incorporada na análise (pedigree, fenótipos e genótipos) de predição genômica, sendo possível ter predições para todos os animais, genotipados ou não genotipados. Para isso, a matriz A é aumentada por contribuição da matriz G, seguindo pressuposições semelhantes ao GBLUP. Aguilar et al. (2010) mostraram que esse método foi mais acurado que as abordagens utilizando múltiplos passos.

No estudo de GWAS realizado por Bolormaa et al. (2011) com 940 bovinos *Bos taurus*, os genes da calpaína e calpastatina foram associados a maciez, usando 53.798 SNPs, e estes genes explicaram mais de 1% da variância. Entretanto, para *Bos indicus*, não está claro se esses genes contribuem para a variação das mesmas características (TIZIOTO et al., 2013). Estes autores abordaram várias mensurações de qualidade da carne com, aproximadamente, 500 animais da raça Nelore, e encontraram para a maioria das características, genes de pequeno efeito explicando menos de 0,20% da variância genética aditiva para maciez. Segundo os autores, esse resultado foi divergente dos encontrados para *Bos taurus*, em que a variância genética aditiva explicada foi bastante superior.

Para a característica marmoreio na raça Nelore, Cesar et al. (2014) utilizaram o método BayesB para estudar GWAS usando SNPs de alta densidade em 386 animais da raça Nelore. Os autores não encontraram nenhum gene de efeito maior associado a essa característica, pois nenhuma região explicou mais que 1% da variância genética para marmoreio.

5. Referências Bibliográficas

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

AKANNO, E. C. ; PLASTOW, G.; WOODWARD, B. W.; BAUCK, S.; OKUT, H. ; WU, X-L.; SUN, C. AALHUS, J. L.; MOORE, S. S.; MILLER, S. P.; WANG, Z. BASARAB, J. A. Reliability of molecular breeding values for Warner-Bratzler shear force and carcass traits of beef cattle - An independent validation study. *J. Anim. Sci.* n. 92, v. 2896-2904. 2014.

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

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

BOLORMAA, S., PRYCE, J. E., KEMPER, K. SAVIN, K.; HAYES, B. J. BARENDSE, W. ZHANG, Y.; REICH, C. M.; MASON, B. A.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; REVERTER, A.; HERD, R. M.; TIER, B.; GRASER, H.-U.; GODDARD, M. E. Accuracy of prediction of genomic breeding values for residual feed intake and carcass and meat quality traits in *Bos taurus*, *Bos indicus*, and composite beef cattle. *J. Anim. Sci.* 91:3088-3104. 2013.

BOLEMAN, S. J.; BOLEMANL, S. L.; MILLER, R. K.; TAYLOR, J. F.; CROSS, H. R.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAI, M.; SHACKELFORD, S. D.; MILLER, M. F.; WEST, R.L.; JOHNSON, D. D.; SAVELL, J. W. Consumer evaluation of beef of known Categories of tenderness. *J. Anim. Sci*, v. 75, n. 6, p. 1521 1524, 1997.

CASAS, E.; KEELE, J.W.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAI, M.; SONSTEGARD, T.S.; SMITH, T.P.; KAPPES, S.M.; STONE, R.T. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. *J Anim Sci*. v. 76, p. 468–473, 1998.

CASAS, E.; SHACKELFORD, S.D.; KEELE, J.W.; STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; KOOHMARAI, M. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *J Anim Sci*. v.78, p. 560–569, 2000.

CASAS, E.; STONE, R.T; KEELE, J.W.; SHACKELFORD, S.D.; KAPPES, S.M.; KOOHMARAI, M.A. Comprehensive search for quantitative trait loci affecting growth, and carcass composition of cattle segregating alternative forms of the myostatin gene. *J Anim Sci*. v.79, n. 854–860, 2001.

CESAR, A. S.M; REGITANO, L. C. A; MOURÃO, G. B; TULLIO, R. R; LANNA, D. P.D; NASSU, RENATA T; MUDADO, M. A; OLIVEIRA, P. S.N; NASCIMENTO, M. L; CHAVES, A. S; ALENCAR, M. M; SONSTEGARD, T. S; GARRICK, D. J; REECY, J. M. COUTINHO, L. L. Genome-wide association study for intramuscular fat deposition and composition in Nellore cattle **BMC Genetics**, p. 15:39, 2014.

CHEONG, H.S.; YOON, D.H.; PARK, B.L.; KIM, L.H.; BAE, J. S.; NAMGOONG, S.; LEE, H. W.; HAN, C. S.; KIM, J. O.; CHEONG, I.; SHIN, H. D. A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. **BMC Genet.** n. 9, v.33, 2008.

CLARK, S. A.; HICKEY, J. M.; WERF, JULIUS H. J. Different models of genetic variation and their effect on genomic evaluation. **Genetics Selection Evolution**, v. 43, n.18, 2011.

CUNDIFF, L. V. Breeds and Genetics. In: POND, W. G.; BELL, A. W. (Ed.) **Encyclopedia of Animal Science**. Ithaca: Cornell, 2004. 800 p.

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

DAVIS GP, MOORE SS, DRINKWATER RD, SHORTHOSE WR, LOXTON ID, BARENDSE W, HETZEL DJ. QTL for meat tenderness in the M. longissimus lumborum of cattle. **Anim Genet.** n. 39, p. 40–45, 2007.

DE LOS CAMPOS, G. HICKEY, J. M. PONG-WONG, R. DAETWYLER, H. D. CALUS, M. P. L. Whole-Genome Regression and Prediction Methods Applied to Plant and Animal Breeding. **Genetics**, v. 193, p. 327–345. 2013.

FAO STATISTICAL YEARBOOK. Latin America and the Caribbean Food and Agriculture. 2014.

GARRICK, D. J., J. F. TAYLOR, R. L. FERNANDO. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. **Genet. Sel. Evol.** p. 41-55. 2009.

GIANOLA, D., G. DE LOS CAMPOS, W. G. HILL, E. MANFREDI, R. FERNANDO. Additive genetic variability and the bayesian alphabet. **Genetics** 183: 347–363. 2009.

HABIER D, FERNANDO RL, DEKKERS JCM: The impact of genetic relationship information on genome-assisted breeding values. **Genetics**. v. 177 p. 2389–2397. 2007.

HABIER D, FERNANDO RL, KIZILKAYA K, GARRICK DJ. Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics**, v. 12, n. 186. 2011.

HAYES BJ, BOWMAN PJ, CHAMBERLAIN AJ, GODDARD ME. Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *J Dairy Sci*, v. 92, n. 433–443. 2009.

HAYES, B. DAETWYLER, H. **Genomic Selection in the Era of Genome Sequencing**. September 2013. 126p.

HIRSCHHORN, J. N. DALY, M. J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. v.6. *Nature reviews/genetics*. 2005.

ISHIHARA, Y. M. MADRUGA, M. S. Indicadores de maciez em carnes salgadas e dessecadas: uma revisão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3721-3738, 2013.

LAGE, J. F.; OLIVEIRA, I. PAULINO, P. V. R.; RIBEIRO, F. Papel do sistema calpaína-calpastatina sobre a proteólise muscular e sua relação com a maciez da carne em bovinos de corte (Calpain-calpastatin role on muscle proteolysis and its relationship with beef tenderness). *Redvet*. v 10, n 12. 2009.

LEGARRA, A. GRANIE, C. R. CROISEAU, P. Improved Lasso for genomic selection. *Genet. Res., Camb.* 93, pp. 77–87. 2011.

LEGARRA, A. **Bases for Genomic Prediction**. v.0.7.1. 77p. 2014.

LUND, M. S.; SAHANA, G.; KONING, D.; SU, G.; CARLBORG, O.; Comparison of analyses of the QTLMAS XII common dataset. I: Genomic selection. *BMC Proceedings*, v.3(Suppl 1):S1, 2009.

MANCINI, R. A; HUNT, M. C. Current research in meat color. *Meat Science*, v. 71, n. 1, p. 100–21, 2005.

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

MILLER, S. LU, D. VANDER VOORT, G. MANDELL, I. Genomic Prediction of Beef Tenderness in Canadian Beef Cattle. *Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*, 2014. Disponível em: https://asas.org/docs/defaultsource/wcgalp-proceedings-oral/249_paper_10281_manuscript_1643_0.pdf?sfvrsn=2 Acesso em: Outubro/2014.

MISZTAL I., LEGARRA A., AGUILAR I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. *J. Dairy Sci.*, v.92, p. 4648–4655. 2009.

NEVES, H.H.R. CARVALHEIRO R. O'BRIEN, A. M. P. UTSUNOMIYA, Y. T.; CARMO, A. S.; SCHENKEL, F. S.; SÖLKNER, J.; MCEWAN, J. C.; VAN TASSELL, C. P.; COLE, J. B.; SILVA, MARCOS, V.G.B.; QUEIROZ, S. A.;

SONSTEGARD, T. S.; GARCIA, J. F. Accuracy of genomic predictions in *Bos indicus* (Nellore) cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 46, n.17. 2014.

PINTO, L.F.B. ; FERRAZ, J.B.S.; MEIRELLES, F.V.; ELER, J.P.; REZENDE, F.M.; CARVALHO, M.E. ALMEIDA, H.B.; SILVA, R.C.G. Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**. V. 9, n 3, p. 1431-1442. 2010.

SCHENKEL FS, MILLER SP, JIANG Z, MANDELL IB, YE X, LI H, WILTON JW. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **J Anim Sci** v. 84, p. 291–299, 2006.

SCOLLAN, N. HOCQUETTE, J. NUERNBERG, K. DANNENBERGER, D. IAN, R. MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v. 74 p. 17–33. 2006.

SMITH, T.P.L.; CASAS E.; REXROAD, C.E. III.; KAPPES, S.M.; KEELE, J. W. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. **J. Anim. Sci.** 78:2589 2594. 2000.

TIBSHIRANI. R. Regression shrinkage and selection via the lasso. **Journal of the Royal Statistical Society**. Series B (Methodological), v. 58, n.1, p. 267- 288. 1996.

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

WANG, H., MISZTAL, I., AGUILAR, I. et al. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genet. Res. Camb.** 94:73–83. 2012.

WILLIAMS, J. L. Genetic Control of Meat Quality Traits. **Meat Biotechnology**. 2008. 41p.

UNITED STATES. Departament of Agriculture - USDA. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service. April 2014. 27p.

VISSCHER, P. M, BROWN, M. A, MCCARTHY, I, YANG, J. Five Years of GWAS Discovery. **The American Journal of Human Genetics** v.90, p. 7–24, January 13, 2012.

YAM, K.L.; PAPADAKIS, S. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces **J. Food. Eng.** 61: 137-142. 2004.

ZHANG, Z.; ZHANG, Q.; DING, X. Advances in genomic selection in domestic animals. **Chinese Sci Bull**, v. 56, p. 2655-2663, 2011.

CAPÍTULO 2 - Acurácia da predição genômica usando diferentes modelos para características de qualidade da carne na raça Nelore

Resumo - As características de qualidade da carne não são consideradas nos programas de melhoramento no Brasil, por serem de difícil mensuração e por exigirem o abate dos animais. Assim, a utilização de informações genômicas pode ser uma alternativa de seleção para essas características. Métodos de avaliação incluindo informações genômicas ainda estão sendo estudados. Portanto, objetivou-se com este trabalho comparar diferentes metodologias para prever o valor genômico de características associadas à qualidade da carne na raça Nelore. Para isso, 1.875 animais machos da raça Nelore, terminados em confinamento e abatidos em plantas frigoríficas comerciais, com idade média de 731 ± 81 dias, foram utilizados. As amostras de carne, retiradas do músculo *Longissimus dorsi*, foram avaliadas para maciez, lipídeos, marmoreio e coloração da carne: L^* (luminosidade), a^* (vermelha), e b^* (amarela). Os animais foram genotipados com um painel de 777.962 SNPs (Illumina BovineHD Beadchip). Após o controle de qualidade restaram 1.634 animais e 369.722 SNPs. Um modelo animal foi usado para estimar os EBVs (valor genético) e fenótipos corrigidos, considerando como efeito fixo o grupo de contemporâneos (safra, fazenda e grupo de manejo ao sobreano) e, como covariáveis, a idade do animal ao abate e dias entre a data do abate e a data da análise físico-química da amostra. Para a validação cruzada, a população foi dividida aleatoriamente em cinco grupos de tamanhos similares, sendo quatro grupos representando o treinamento e um a validação, de forma que esse processo fosse repetido cinco vezes e cada grupo fosse uma vez o grupo de validação. Para as estimativas dos valores genômicos (GEBV) foram utilizados os métodos: GBLUP, no qual assume-se distribuição normal com variância única para todos os efeitos de SNPs; BayesC π que apresenta distribuição mista para efeito dos SNPs e Bayesian Lasso em que assume-se distribuição dupla exponencial para efeito dos SNPs. Para comparar a habilidade de predição dos métodos foi calculada a correlação entre GEBV e os pseudo-fenótipos. No caso que o pseudo-fenótipo foi o fenótipo corrigido para os efeitos fixos, a correlação foi dividida pela raiz quadrada da herdabilidade. As acurácias de predição, usando o fenótipo corrigido, variaram, entre as características, de 0,06 – 0,23 para GBLUP, de 0,04 – 0,16 para Lasso e 0,12 – 0,22 para BayesC π . O uso do EBV como pseudo-fenótipo levou a estimativas mais acuradas dos efeitos dos SNPs que o fenótipo corrigido, com acurácias de predição variando de 0,19 – 0,33 para GBLUP, de 0,18 – 0,37 para Lasso e 0,22 – 0,30 para BayesC π . GBLUP apresentou melhor habilidade de predição para as colorações e, para as demais características, as metodologias bayesianas foram mais acuradas. Entre as metodologias bayesianas, o BayesC π apresentou maior acurácia que o Lasso para todas as características. A inflação da predição foi medida pela inclinação da regressão dos fenótipos corrigidos e EBVs preditos sobre o GEBVs. As estimativas de regressão usando o fenótipo corrigido foram próximas de 1 para as características maciez, lipídeos e marmoreio, mas para as características de coloração, as estimativas foram baixas, mostrando que o preditor está inflacionado. Entre os métodos, o BayesC π foi o que apresentou valores mais próximos de 1. As estimativas de regressão usando o EBV foram maiores que 1 para a maioria das características, com maior tendência de valores

deflacionados para as metodologias bayesianas. Apenas marmoreio apresentou valor mais próximo de 1. Com isso, concluiu-se que para a população e características em estudo, o EBV dos animais deve ser usado como pseudo-fenótipo para a predição dos efeitos dos SNPs e o método GBLUP deve ser usado para prever os efeitos dos SNPs para as características de coloração da carne, enquanto que o método bayesiano BayesC π , pode ser utilizado para a demais características de qualidade de carne.

Palavras - Chave: cor da carne, habilidade preditiva, gordura, maciez, seleção genômica

Accuracy of genomic prediction using different models for meat quality traits in Nellore

Abstract - Meat quality traits have not been considered in breeding programs in Brazil, because they are difficult to measure and require the slaughter of animals. Thus, use of genomic information may be an alternative selection for these traits. Evaluation methods including genomic information are still being studied. Therefore, the aim of this study was to compare different methodologies to predict the genomic value of traits associated with meat quality in Nellore. For this, 1,875 male animals of Nellore Breed finished in feedlot and slaughtered in commercial slaughterhouses, with an average age of 731 ± 81 days, were used. Meat samples removed from the *LongissimusDorsis* muscle were evaluated for tenderness, lipids, marbling and beef color: L * (lightness), a * (redness) and b * (yellowness). The animals were genotyped with a panel of 777,962 SNPs (IlluminaBovineHDBeadchip). After quality control remained 1,634 animals and 369,722 SNPs. Animal model was used to estimate EBV and adjusted phenotypes, considering as fixed effect, contemporary group (year of birth, farm and management group at yearling) and as covariates, the age of the animal at slaughter and days between the date of slaughter and the date of physical-chemical analysis of the sample. For cross validation, the population was randomly divided into five groups of similar size, four groups representing the training and one group the validation. This process was repeated five times, and each group was one time the validation group. The following methods were used to estimate the genomic values (GEBV): GBLUP, in which it is assumed normal distribution with variance unique for all SNPs effects; BayesC π , with a mixed distribution of SNPs effects and Bayesian Lasso, is assumed that double exponential distribution for the SNPs effects. To compare the ability of prediction methods, it was calculated the correlation between GEBV and pseudo-phenotypes. When the pseudo-phenotype was adjusted phenotype for the fixed effects, the correlation was divided by the square root of the heritability. The accuracies of prediction using the adjusted phenotype varied between the traits, from 0.06 to 0.23 for GBLUP, 0.04 to 0.16 for Lasso and 0.12 to 0.22 for BayesC π . The estimates were more accurate using EBV as pseudo-phenotype than the adjusted phenotype, with accuracies varying from 0.19 to 0.33 for GBLUP, 0.18 to 0.37 for Lasso and 0.22 - 0.30 for BayesC π . GBLUP showed better predictive ability for meat color. For the others traits, the Bayesian methodologies were more accurate. Among the Bayesian methodologies, BayesC π is more accurate than Lasso for all the traits. The prediction inflation was measured by the slope of regression of adjusted phenotype and EBV predicted over GEBVs. Regression estimates using the adjusted phenotype were close to 1 for tenderness, lipids and marbling, but for meat color traits, estimates were smaller, showing that the predictor is inflated. Among the methods, BayesC π showed values closer to 1. Estimates of regression using EBVs were higher than 1 for most of traits, with deflated values for the Bayesian methodologies. Only marbling showed value closer to 1. Thus, it was concluded that for the population and traits of the study, animal EBV must be used as pseudo-phenotype for prediction of SNPs effect and GBLUP method must be used to predict the SNPs effects for trait of meat color, while BayesC π Bayesian method may be used for other meat quality traits.

Key - Words: fat, genomic selection, tenderness, meat color, predictive ability

1. Introdução

As características de qualidade da carne estão diretamente relacionadas com a decisão de compra dos consumidores, que estão se tornando mais exigentes e buscando produtos de alta qualidade (SCOLLAN et al., 2006). Atributos como maciez e gordura são os mais exigidos (WILLIAMS, 2008), por estarem relacionados com o sabor.

A maciez destaca-se como um dos aspectos mais importantes e mais procurados pelos consumidores (ISHIHARA e MADRUGA, 2013), sendo uma característica determinante da qualidade da carne (DEVITT et al., 2002). A gordura está associada às características sensoriais da carne, como suculência e aroma (SCOLLAN et al., 2006). Segundo Ferraz e Felício (2010), o marmoreio depositado no músculo *Longissimus* é importante preditor da palatabilidade, além de ser determinante no valor da carcaça. A coloração é outro atributo que afeta a decisão do consumidor, por ser um atrativo visual na hora da compra, pois consumidores usam a coloração como indicativo de frescor da carne (MANCINI e HUNT, 2005).

As características relacionadas à qualidade da carne são difíceis de melhorar pelo método de seleção tradicional, pois exigem o abate dos animais e a sua mensuração é de alto custo. Além disto, para selecionar touros para tais medidas, os mesmos têm que ser submetidos a um teste de progênie. No entanto, esses testes são de alto custo e demandam muito tempo, levando ao aumento no intervalo de geração e diminuição do progresso genético anual.

Levando em consideração as dificuldades para selecionar essas características pelo método tradicional, uma possível solução para o melhoramento genético de características de qualidade da carne é a seleção genômica. Esta foi proposta por Meuwissen et al. (2001), e baseia-se na utilização de informações de um conjunto de marcadores genéticos moleculares, do tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism), distribuídos por todo o genoma, assumindo que os QTLs (*Quantitative trait loci*) estejam em desequilíbrio de ligação com os marcadores.

Schaeffer (2006), em um estudo de simulação com bovinos leiteiros, observou vantagens da seleção genômica sobre o teste de progênie. Segundo este autor, comparado ao teste de progênie, a seleção genômica levou a uma diminuição do

intervalo de gerações e, em consequência, a uma mudança genética cerca de duas vezes maior que o teste de progênie, podendo levar a uma redução de 92% dos custos atuais de touros em teste.

O sucesso da seleção genômica depende da acurácia de predição do valor genético dos animais. Esta acurácia é influenciada por diversos fatores, como o desequilíbrio de ligação entre QTL e marcador, tamanho da população, herdabilidade da característica, densidade de marcadores e o método utilizado para predição genômica (DE LOS CAMPOS et al., 2013). Diversos métodos usados para prever o valor genético do animal, usando dados genômicos, têm sido estudados e alguns autores relatam a arquitetura da característica como uma das principais razões para a diferença entre os métodos (DAETWYLER et al., 2010; DE LOS CAMPOS et al., 2013).

Apesar dos consideráveis avanços na seleção genômica, a metodologia mais adequada para obtenção de equações de predição genômica para maciez, gordura e coloração da carne em bovinos da raça Nelore ainda não está determinada. Com isso, objetivou-se com este trabalho comparar diferentes metodologias para predição do valor genômico de características de qualidade da carne na raça Nelore.

2. Material e Métodos

2.1 Descrição dos dados

Foram utilizados dados de animais da raça Nelore provenientes de três programas de melhoramento (DeltaGen, Paint e Qualitas) com rebanhos distribuídos em várias regiões do país. Os dados são de machos inteiros nascidos entre 2008 e 2010, terminados em confinamento por, aproximadamente, 90 dias e abatidos em frigoríficos comerciais com idade média de 731 ± 81 dias.

As carcaças dos animais foram mantidas em câmaras frias de 24hs a 48hs *post-mortem* e retiradas amostras de espessura do músculo *Longissimus dorsi* (contra-filé) na região da 12^a - 13^a costelas das meias-carcaças esquerdas. É importante ressaltar que essas carcaças não passaram por processo de maturação.

As análises laboratoriais da carne foram feitas para as características: maciez, lipídeos, marmoreio e coloração a^* , b^* e L^* . Para a análise da maciez foram utilizadas amostras de 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi* com osso e para a realização do ensaio foi adotado o procedimento padronizado e proposto por Wheeler et al. (1995). O equipamento Salter *Warner-Bratzler Shear Force* mecânico foi utilizado para a determinação da maciez da carne. Para a quantificação de lipídeos totais foi utilizada a metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959), que determina a quantidade percentual de lipídeos nas amostras.

Para a determinação do índice de marmorização na amostra, foi utilizada a escala de graduação visual baseada no USDA – Quality and Yield Grade (2000), com escore de 1 a 10, em que: 1 = praticamente ausente; 2 = traços; 3 = leve; 4 = pouco; 5 = modesto; 6 = moderado; 7 = levemente abundante; 8 = moderadamente abundante; 9 = abundante; e 10 = muito abundante.

As medidas de coloração da carne foram feitas utilizando um colorímetro KONICA MINOLTA - CR 400 (*Minolta Co. Ltd.*), segundo metodologia proposta por Renerre (1982), em que o equipamento foi calibrado para padrão branco no sistema *CIE L* a* b** e tomadas as medidas absolutas das coordenadas de luminosidade (L^*), coloração vermelha (a^*) e coloração amarela (b^*).

2.2 Análise quantitativa dos dados

Foram disponibilizados dados de 1.875 animais com medidas de maciez, lipídeos, marmoreio e coloração: L^* (luminosidade), a^* (vermelha) e b^* (amarela). A característica lipídeos, por ser mensurada em percentual e não apresentar distribuição normal foi submetido à transformação pela função do arcosseno da raiz quadrada da porcentagem.

Para edição das características estudadas, não foram consideradas nas análises as medidas três e meio desvios-padrão abaixo ou acima da média do grupo de contemporâneos (safra, fazenda e grupo de manejo ao sobreano). Também foram excluídos grupos de contemporâneos com menos de três animais.

Inicialmente, um modelo animal uni-característica foi utilizado para estimar a herdabilidade (Tabela 1), fenótipos corrigidos e predizer os valores genéticos (EBVs). Para todas as características, o modelo incluiu os efeitos fixos de grupo

de contemporâneos, e as covariáveis (efeito linear), idade ao abate e o tempo entre abate e análise físico-química das amostras, e os efeitos aleatórios de animal e resíduo.

Tabela 1: Estatística descritiva e estimativa de herdabilidade das características de qualidade da carne

Característica	N	Média	DP	Mín	Máx	CV	Med	h ²	DP
Maciez (kg)	1822	5,17	1,37	1,56	11,2	0,26	5,04	0,12	0,07
Cor A	1873	15,13	3,87	6,39	32,73	0,26	14,35	0,07	0,06
Cor B	1873	7,35	3,03	0,96	22,32	0,41	6,30	0,09	0,08
Cor L	1875	31,06	4,72	18,13	43,99	0,15	30,61	0,19	0,11
Lipídeos	1808	0,82	0,42	0,12	3,61	0,51	0,72	0,06	0,05
Marmoreio	1873	-	-	2,00	4,2	0,16	2,80	0,10	0,07

N: número de observações; DP: Desvio-padrão; Mín: Mínimo; Máx: Máximo; CV: Coeficiente de variação; Med: Mediana; h²: herdabilidade.

2.3 Controle de qualidade dos dados genômicos

Os animais foram genotipados utilizando um painel de alta densidade, contendo 777.962 SNPs (High-Density Illumina Bovine BeadChip). Os critérios de exclusão dos SNPs foram:

- SNPs não autossômicos
- SNPs com a mesma posição
- MAF (Minor allele frequency) $\leq 0,02$
- p valor para HWE (Hardy-Weinberg equilibrium) $\leq 10^{-5}$
- GC score $\leq 0,70$
- Call rate $\leq 0,98$
- r^2 (correlação entre SNPs) $> 0,995$, em janelas de 100 SNPs consecutivos

Os critérios de exclusão das amostras foram:

- Amostras com Call rate $\leq 0,92$

Após o controle de qualidade restaram 1.634 animais e 369.722 SNPs.

2.4 Estimativa do efeito dos SNPs e Predições dos valores genômicos

Os efeitos dos SNPs foram estimados em uma população com fenótipos e genótipos conhecidos, chamada de população de treinamento. Outra população, de menor tamanho foi usada para prever o valor genômico (GEBV) para cada animal com base no efeito dos SNPs estimados na população de treinamento. Foi utilizada a metodologia de validação cruzada (*cross-validation*). O conjunto de dados foi dividido aleatoriamente em cinco grupos de tamanhos similares, com quatro grupos representando o grupo de treinamento (80% da população total) e um o grupo de validação (20% da população total). Esse processo foi repetido cinco vezes, de forma que cada grupo fosse uma vez o grupo de validação. Foram utilizados como pseudo-fenótipos o EBV e o fenótipo ajustado para os efeitos fixos. Os modelos podem ser representados como:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{1} \mu + \mathbf{Xg} + \mathbf{e},$$

em que: $\mathbf{Y}$ é o vetor dos valores genéticos estimados (EBVs), $\mathbf{1}$ é o vetor de 1s, μ é a média geral, $\mathbf{X}$ é a matriz ($n \times p$) que consiste de p SNPs para n animais; $\mathbf{g}$ é o vetor aleatório dos efeitos dos SNPs, $\mathbf{e}$ é o vetor residual aleatório, que foi normalmente distribuído com média zero e variância igual a $\mathbf{I}\sigma_e^2$, em que $\mathbf{I}$ é uma matriz identidade e σ_e^2 é a variância residual. Os genótipos foram codificados como 0, 1, 2 e 5 para genótipos AA, Aa (or aA), aa e genótipos perdidos.

$$\mathbf{Yc} = \mathbf{1} \mu + \mathbf{Zu} + \mathbf{Xg} + \mathbf{e},$$

em que: $\mathbf{Yc}$ é o vetor de fenótipos ajustados para os efeitos fixos, $\mathbf{Z}$ é a matriz de incidência dos efeitos poligênicos e $\mathbf{u}$ o vetor de efeitos poligênicos relacionados a todos os animais no pedigree. Assume-se que $\mathbf{u}$ apresenta distribuição normal,

com média zero e variância igual a $\mathbf{A}\sigma^2_u$, sendo $\mathbf{A}$, a matriz de relações genético-aditivas e σ^2_u a variância genética aditiva não explicada pelos marcadores.

Foi utilizada uma ponderação para o fenótipo corrigido de cada indivíduo. Essa prática consiste em usar a raiz quadrada dos elementos da diagonal da matriz de variância - covariância, conforme descrito por De Los Campos et al. (2013), com o objetivo de diminuir a heterogeneidade da variância residual.

O software GS3, desenvolvido por Legarra et al. (2011; <http://snp.toulouse.inra.fr/~alegarra/>). A amostragem de Gibbs foi utilizada usando uma cadeia de 1.000.000 iterações, com burn-in de 50.000 e todas as amostras armazenadas.

Para os efeitos dos SNPs foram consideradas diferentes distribuições a priori, conforme descrito abaixo:

GBLUP: Assumiu-se distribuição normal para os marcadores (SNPs), com mesma variância a *priori* para todos os marcadores. $\text{Var}(g) = \mathbf{G}\sigma^2_g$, em que a σ^2_g é a variância devido aos marcadores e $\mathbf{G}$ é a matriz de relação genômica criada de acordo com VanRaden (2008):

$$\mathbf{G} = \frac{\mathbf{X}'\mathbf{X}}{2 \sum_{j=1}^p q^j (1-q^j)}$$

Em que p é o número de *loci* considerados, q^j é a frequência de um alelo no marcador j , e $\mathbf{X}$ é a matriz dos SNPs.

Bayesian Lasso: Esse método foi proposto por Tibshirani (1996) e modificado por Legarra et al. (2011). A *priori* para os efeitos dos SNPs (g_i) pode ser representada por:

$$\Pr(g_i | \tau_i^2) \sim N(0, \tau_i^2) \text{ e } \Pr(\tau_i^2) = \frac{\lambda^2}{2} \exp(-\lambda^2 |\tau_i^2|)$$

A distribuição a *priori* do efeito do marcador é uma exponencial. λ é o parâmetro "sharpness", ou seja, esse parâmetro determina a forma da distribuição do efeito do SNP. A *priori* de λ é uma distribuição gama, delimitada entre 0 e 10^7 . A parametrização consiste da estimativa da

variância individual dos SNPs (τ_i^2), condicional à regularização do parâmetro λ .

BayesC π : Para esse método, uma variável adicional é incluída (δ_i), a qual informa se o marcador tem (1) ou não (0) efeito. A distribuição *a priori* de δ é binomial com probabilidade π de a variável ser zero (sem efeito), e quando a probabilidade é $1-\pi$, assume-se que essa parte dos marcadores, com efeito, segue distribuição normal. Nesse método, assume-se que todos os SNPs têm variância comum, seguindo distribuição chi-quadrado invertida escalonada *a priori* com v_a graus de liberdade e parâmetros de escala S_a^2 .

Os valores genômicos (GEBV) foram preditos a partir dos efeitos dos SNPs estimados utilizando a seguinte formula:

$$\text{GEBV} = \sum_i^n X_i \hat{g}_i$$

em que n é o número de SNPs, X_i é a matriz de SNPs para todos os indivíduos, e $\hat{g}_i$ é o vetor dos efeitos dos SNPs para cada marcador.

2.5 Comparação dos métodos

Os critérios utilizados para comparar os métodos, considerando os animais na validação, foram:

- Correlação de Pearson entre o GEBV e o fenótipo ajustado (Y_c). O resultado da correlação foi dividido pela raiz da herdabilidade ($r(\text{GEBV}, Y_c)$), conforme descrito por Legarra et al. (2008).
- Correlação de Pearson entre o GEBV e o EBV ($r(\text{GEBV}, \text{EBV})$).
- O viés de predição do GEBV foi obtido pelo coeficiente de regressão dos fenótipos ajustados (Y_c) sobre o GEBVs preditos ($b(Y_c, \text{GEBV})$) e do EBV sobre os GEBVs ($b(\text{EBV}, \text{GEBV})$). Este critério mede o grau de inflação ou

deflação da predição genômica, se o valor da regressão for maior que 1 o modelo está subestimando os GEBVs, e se esse valor for abaixo de 1 indica superestimação dos GEBVs. Estimativas de regressões próximas de 1 indicam que o preditor é não viesado.

3. Resultados e Discussão

3.1 Habilidade da predição genômica

Entre os três métodos estudados, quando o Yc foi usado como pseudo-fenótipo, o BayesC π apresentou melhor habilidade de predição que os demais métodos para a maioria das características estudadas, com exceção da CorL e Lipídeos (Tabela 2).

Tabela 2: Habilidade de predição genômica (acurácia média das 5 repetições) de diferentes modelos para características de qualidade da carne na raça Nelore

Car	GBULP		Lasso		BayesC π	
	r(GEBV,Yc) ±DP	r(GEBV,EBV) ±DP	r(GEBV,Yc) ±DP	r(GEBV,EBV) ±DP	r(GEBV,Yc) ±DP	r(GEBV,EBV) ±DP
Mac	0,13±0,05	0,32±0,02	0,12±0,04	0,37±0,03	0,17±0,04	0,39±0,02
Lip	0,23±0,06	0,20±0,05	0,11±0,07	0,26±0,04	0,14±0,05	0,31±0,03
Mar	0,16±0,05	0,19±0,02	0,16±0,03	0,25±0,04	0,22±0,04	0,26±0,03
CA	0,06±0,02	0,29±0,05	0,04±0,02	0,26±0,03	0,07±0,03	0,32±0,04
CB	0,08±0,03	0,24±0,07	0,09±0,02	0,18±0,05	0,12±0,02	0,22±0,05
CL	0,21±0,04	0,33±0,06	0,11±0,05	0,20±0,04	0,13±0,03	0,27±0,06

Car: característica; Mac: maciez; Lip: lipídeos; Mar: marmoreio; CA: Coloração A; CB: Coloração B; CL: Coloração L; r(GEBV,Yc): Correlação de Pearson entre o Yc e GEBV dividido pela raiz da herdabilidade; r(GEBV-EBV): Correlação de Pearson entre o EBV e GEBV; DP: Desvio-padrão.

No entanto, quando o EBV foi considerado como pseudo-fenótipo, os resultados não seguiram o mesmo padrão do Yc. Para as características de maciez, lipídeos e marmoreio, métodos bayesianos foram superiores, mas para

as colorações (corA, corB e corL) o GBLUP proporcionou melhores resultados (Tabela 2).

Com exceção das colorações, os resultados do presente trabalho concordam com os de Neves et al. (2014) que trabalharam com características de crescimento de 685 animais da raça Nelore. Os autores relataram que Lasso e BayesC π foram superiores ao GBLUP sugerindo a segregação de genes de grande efeito para as características estudadas como a razão para a superioridade dos métodos bayesianos. No entanto, no trabalho de Colombani et al. (2013), que compararam as acurácias de predição considerando as mesmas metodologias do presente estudo em bovinos de leite, não foram relatadas diferenças significativas entre os métodos.

Essa divergência encontrada entre os demais estudos sugere à arquitetura genética da característica como uma das principais razões para a diferença entre os modelos encontrados nesse trabalho, ou seja, a acurácia foi superior para o modelo que melhor se ajustou à arquitetura genética da característica (LUND et al., 2009). Além dessa razão citada, outros questionamentos para a diferença entre os modelos são relatados por diversos autores, dentre elas, Hayes (2009) cita que a proporção da variância genética explicada pelos marcadores pode variar em função da característica. No entanto, uma das principais razões está na distribuição *a priori* do efeito dos marcadores, já que para cada modelo foi atribuída uma distribuição diferente, portanto, para aquelas características em que maiores acurácias foram alcançadas utilizando métodos bayesianos, são prováveis de serem afetadas por genes de efeitos moderados a grande (NEVES et al., 2014), enquanto para as demais que o GBLUP apresentou melhor habilidade preditiva, foram controladas por muitos genes de pequeno efeito (CLARCK et al., 2011).

Outra questão discutida por Daetwyler et al. (2010), em estudo de simulação, é que a vantagem das metodologias bayesianas sobre o GBLUP varia com número de QTL afetando a característica. Segundo os autores, a acurácia do GBLUP é independente do número de QTL (N_{QTL}) que afetam a característica, enquanto a acurácia de métodos bayesianos será maior que a do GBLUP quando o N_{QTL} for menor do que o número de segmentos cromossômicos.

Uma vantagem do GBLUP em relação aos métodos bayesianos é o tempo computacional das análises, em que o método GBLUP obteve tempo

computacional de 20 - 30 minutos entre as características, seguido do Lasso com tempo de 124 – 125 horas, e por último o BayesC π com tempo computacional de 140 – 144 horas, considerando 1.000.000 iterações. Neves et al. (2014) e Colombani et al. (2013) também relataram que os métodos bayesianos foram menos eficientes que o GBLUP com relação ao tempo computacional.

Entre as metodologias bayesianas, o BayesC π apresentou melhores resultados que o Lasso, sendo, a *priori* assumida para efeito dos SNPS em BayesC π mais informativa para todas as características. Para De Los Campos et al. (2013), métodos em que os hiperparâmetros são estimados dos dados, como o BayesC π , são, teoricamente, mais flexíveis para modelar qualquer tipo de arquitetura genética.

As habilidades de predição obtidas utilizando os EBVs como pseudo-fenótipos foram superiores às observadas com os Yc, ou apresentaram diferenças mínimas, como ocorreu para lipídeos (acurácia de 0,23 usando o Yc e 0,20 usando o EBV como pseudo-fenótipo) (Tabela 2). No entanto, para o presente estudo, o uso do EBV como pseudo-fenótipo é indicado, pois o preditor do mérito genético dos indivíduos foi mais acurado, quando comparado com o uso de medidas fenotípicas ajustadas. Vantagens do EBV como variável-resposta foram confirmadas por Guo et al. (2010) em estudo simulado, em que foi comparado o uso de diferentes pseudo-fenótipos e os autores observaram que o EBV foi mais acurado que o PYD (desvio de produção da progênie). Contudo, Garrick et al. (2009) relataram alguns problemas do uso de EBVs como pseudo-fenótipos, entre eles a heterogeneidade das variâncias resultantes de EBVs preditos por diferentes quantidades de informação, como é o caso de bovinos de leite, onde os touros possuem números diferentes de progênie, e propuseram usar o EBV desregredido (dEBV) para estimar os efeitos de marcadores. Neves et al. (2014) trabalhando com dados simulados observaram melhor habilidade de predição do EBV desregredido sobre o EBV e o PYD. Entretanto, Boddhireddy et al. (2014), trabalharam com características de crescimento em Angus e relataram que o EBV como variável resposta resultou em maiores acurácias que o obtido com o dEBV. Os autores citam que a baixa acurácia de predição do dEBV (obtido com um EBV de baixa acurácia) era esperado, por ter menor contribuição genômica devido a amostragem mendeliana e conter “ruídos” adicionados durante o processo de desregressão, em que a contribuição dos pais é removida. Contudo, resultados de

estudos simulados diferem de dados reais, em que o valor genético verdadeiro do animal não é conhecido, o que sugere que a habilidade preditiva do pseudo-fenótipo pode ser influenciada pelo banco de dados utilizado.

De uma forma geral, a acurácia ainda é baixa para as características estudadas, alguns fatores podem estar afetando isso, dentre eles o reduzido número de animais na população de treinamento e o parentesco entre os animais da população de treinamento e validação, que nesse estudo foi em média 0,17, considerando TOP10 (média dos dez maiores valores de parentesco entre cada animal da população de validação e todos os animais da população de treinamento).

No entanto, considerando os custos de mensuração e a dificuldade de selecionar animais para características de qualidade da carne, a implementação da seleção genômica em bovinos Nelore é uma alternativa viável. Bolormaa et al. (2013) relataram que, embora a acurácia de predição ainda seja baixa em bovinos de corte, quando comparada com bovinos de leite, isso não deve ser um limitante, pois a seleção genômica permitirá o melhoramento de características que são de difícil mensuração, como é o caso das características de qualidade da carne.

3.2 Inflação da predição genômica

No presente estudo, as estimativas dos coeficientes de regressão ($b(\text{GEBV}-Y_c)$) foram próximas de 1 para as características maciez, lipídeos e marmoreio. Já para as características de coloração, as estimativas de $b(\text{GEBV}-Y_c)$ foram baixas, mostrando que o preditor está inflacionado. Entre os métodos, o BayesC π foi o que apresentou valores mais próximos de 1 (Tabela 3).

As estimativas de $b(\text{GEBV}-\text{EBV})$ foram maiores que 1 para a maioria das características, com maior tendência de valores deflacionados para as metodologias bayesianas. Apenas marmoreio apresentou valor próximo de 1. Os resultados apresentados usando o EBV como pseudo-fenótipo foram mais acurados em termos de predição genômica, entretanto, produziram predições deflacionadas. Os resultados do presente estudo concordam com os de Guo et al. (2010) em que o uso do EBV, apesar de ser mais acurado, também produziu predições deflacionadas, quando o EBV e o PYD foram avaliados como pseudo-

fenótipos. Os valores de $b(\text{GEBV-EBV})$ mais distantes de 1 observados nas metodologias bayesianas, concordam com os resultados apresentados por Neves et al. (2014), em que os autores estudaram os mesmos métodos desse estudo, usando o dEBV como pseudo-fenótipo, e observaram que o BayesC e Lasso apresentaram predições deflacionadas, quando comparado ao GBLUP. No entanto, em outros trabalhos (ERBE et al. 2012 COLOMBANI et al. 2013) não foram observadas essas diferenças entre GBLUP e metodologias bayesianas. Neves et al. (2014) relataram que essa variação entre os estudos deve-se aos diferentes bancos de dados analisados e também diferenças na implementação dos métodos.

Tabela 3: Inflação da predição genômica de diferentes modelos para características de qualidade da carne na raça Nelore

Car	GBLUP		Lasso		BayesC π	
	$b(\text{GEBV}, Y_c)$	$b(\text{GEBV}, \text{EBV})$	$b(\text{GEBV}, Y_c)$	$b(\text{GEBV}, \text{EBV})$	$b(\text{GEBV}, Y_c)$	$b(\text{GEBV}, \text{EBV})$
Mac	0,91	1,40	0,89	1,50	0,93	1,60
CA	0,30	1,30	0,30	1,20	0,35	1,40
CB	0,35	1,50	0,38	1,60	0,50	1,45
CL	0,40	1,20	0,47	1,26	0,60	1,30
Lip	1,05	1,35	0,95	1,55	0,98	1,40
Mar	0,73	0,80	0,77	0,90	0,80	0,95

Car: característica; Mac: maciez; Lip: lipídeos; Mar: marmoreio; CA: Coloração A; CB: Coloração B; CL: Coloração L; $b(\text{GEBV}, Y_c)$: coeficiente de regressão do GEBV sobre o fenótipo corrigido; $b(\text{GEBV}, \text{EBV})$: coeficiente de regressão do GEBV sobre o EBV.

A inflação e deflação são consideradas mais graves quando existe comparação entre animais genotipados e não genotipados. Quando o preditor está inflacionado, a seleção de animais genotipados será favorecida, da mesma maneira, quando está deflacionado, os animais não genotipados serão beneficiados. No presente estudo, todos os candidatos à seleção foram genotipados, portanto animais com e sem genótipos não foram comparados. E, atualmente, no Brasil, não existem animais com fenótipos para estas características, portanto, na prática, somente animais genotipados serão utilizados.

Quando as predições estão deflacionadas, como foi o caso do EBV como pseudo-fenótipo, na prática, as diferenças entre as progênes dos animais selecionados serão maiores que as preditas pelo GEBV, e o contrário ocorre quando o preditor está inflacionado.

4. Conclusões

Para a população e características em estudo, o EBV dos animais deve ser usado como pseudo-fenótipo para a predição dos efeitos dos SNPs.

O método GBLUP deve ser usado para prever os efeitos dos SNPs para as características de coloração da carne, enquanto que o método bayesiano BayesC π , pode ser utilizado para maciez, lipídeos e marmoreio.

Maiores acurácias são esperadas com o aumento da população de treinamento.

5. Referências Bibliográficas

BOLORMAA, S., PRYCE, J. E., KEMPER, K. SAVIN, K.; HAYES, B. J. BARENDSE, W. ZHANG, Y.; REICH, C. M.; MASON, B. A.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; REVERTER, A.; HERD, R. M.; TIER, B.; GRASER, H.-U.; GODDARD, M. E. Accuracy of prediction of genomic breeding values for residual feed intake and carcass and meat quality traits in *Bos taurus*, *Bos indicus*, and composite beef cattle. **J. Anim. Sci.** 91:3088-3104. 2013.

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

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification, **Canadian Journal. Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911–917, 1959.

CLARK, S.A. HICKEY, J.M. VAN DER WERF, J.H.J. Different models of genetic variation and their effect on genomic evaluation. **Genet Sel Evol**, v. 43, n. 18. 2011.

COLOMBANI, C. LEGARRA, A. FRITZ, S. ET AL. Application of Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (Lasso) and BayesC π methods for genomic selection in French Holstein and Montbéliarde breeds. **J. Dairy Sci.** v. 96, p. 575–591, 2013.

DAETWYLER HD, PONG-WONG R, VILLANUEVA B, WOOLLIAMS JA: The impact of genetic architecture on genome-wide evaluation methods. **Genetics**, v. 185, p. 1021-1031. 2010.

DE LOS CAMPOS, HICKEY, J. M. PONG-WONG, R. DAETWYLER, H. D. CALUS, M. P. L. Whole-Genome Regression and Prediction Methods Applied to Plant and Animal Breeding. **Genetics**, v. 193, p. 327–345. 2013.

DEVITT, C.J.B, WILTON, J.W, MANDELL, I.B, FERNANDES, T.L, MILLER, S.P. Genetic evaluation of tenderness of the longissimus in multi-breed populations of beef cattle and the implications of selection. In: **7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, August 19-23, 2002, Montpellier, France.

ERBE M, HAYES BJ, MATUKUMALLI LK, GOSWAMI S, BOWMAN PJ, REICH CM, MASON BA, GODDARD ME: Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. **J Dairy Sci**, v. 95, p. 4114–4129. 2012.

FERRAZ, J.B.S., FELÍCIO, P.E. Production systems – An example from Brazil. *Meat Science*, 84:238–243, 2010.

GARRICK, D. J., J. F. TAYLOR, R. L. FERNANDO. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. **Genet. Sel. Evol.** p. 41-55. 2009.

GUO, G., M. S. LUND, Y. ZHANG, AND G. SU. Comparison between genomic predictions using daughter yield deviation and conventional estimated breeding value as response variables. **J. Anim. Breed. Genet.** v. 127, n.6, p.423–432. 2010.

HAYES BJ, BOWMAN PJ, CHAMBERLAIN AJ, GODDARD ME. Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **J Dairy Sci**, v. 92, p.433–443, 2009.

ISHIHARA, Y. M. MADRUGA, M. S. Indicadores de maciez em carnes salgadas e dessecadas: uma revisão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3721-3738, 2013.

LEGARRA, A; ROBERT-GRANIE, C. MANFREDI, E.; ELSSEN, J. Performance of Genomic Selection in Mice. **Genetics** 180: 611–618. 2008.

LEGARRA, A. GRANIE, C. R. CROISEAU, P. Improved Lasso for genomic selection. **Genet. Res., Camb.** 93, pp. 77–87. 2011.

LUND, M. S.; SAHANA, G.; KONING, D.; SU, G.; CARLBORG, O.; Comparison of analyses of the QTLMAS XII common dataset. I: Genomic selection. **BMC Proceedings**, v.3(Suppl 1):S1, 2009.

MANCINI, R. A; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, n. 1, p. 100–21, 2005.

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

NEVES, H.H.R. CARVALHEIRO R. O'BRIEN, A. M. P. UTSUNOMIYA, Y. T.; CARMO, A. S.; SCHENKEL, F. S.; SÖLKNER, J.; MCEWAN, J. C.; VAN TASSELL, C. P.; COLE, J. B.; SILVA, MARCOS, V.G.B.; QUEIROZ, S. A.; SONSTEGARD, T. S.; GARCIA, J. F. Accuracy of genomic predictions in Bos indicus (Nellore) cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 46, n.17. 2014.

RENERRE, M. La couleur de la viande et sa mesure. **Bulletin Technique Centre de Recherches Zootechniques et Veterinaires de Theix**, v. 47, p. 47–54, 1982.

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

SCOLLAN, N. HOCQUETTE, J. NUERNBERG, K. DANNENBERGER, D. IAN, R. MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v. 74 p. 17–33. 2006.

TIBSHIRANI, R. Regression shrinkage and selection via the lasso. , 1996. ***Journal of the Royal Statistical Society***. Series B (Methodological), 58(1):267:288.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. U.S. **Standards for Grades of Feeder Cattle**. Washington: USDA, 2000. 4p.

VANRADEN,P.M. Efficient methods to compute genomic predictions. ***J. DairySci.*** 91, 4414–4423. 2008.

WHEELER, T. L.; KOOMARAIE, M.; SHACKELFORD, S. D. **Standardized warner-bratzler shear force procedures for meat tenderness measurement**. Clay Center: Roman L. Hruska U. S. MARC. USDA, 1995. 7p.

WILLIAMS, J. L. Genetic Control of Meat Quality Traits. ***Meat Biotechnology***. 2008. 41p.

CAPÍTULO 3 – Estudo de Associação genômica ampla para características de qualidade de carne em bovinos Nelore

Resumo – A maciez e o marmoreio são considerados os atributos da carne mais exigidos pelos consumidores. Entretanto, com os processos de melhoramento tradicional essas características são difíceis de serem selecionadas, em razão da dificuldade e custo de obtenção das medidas. Estudos de associação genômica ampla (GWAS) permitem a descoberta de polimorfismos de base única (SNPs) associados a genes de efeito maior que influenciam estas características, possibilitando a construção de bibliotecas de genes que auxiliarão no processo de seleção. Diversos métodos para análises de associação genômica (GWAS) têm sido utilizados, sendo um deles o método GBLUP aplicado em um único passo (ssBLUP). Esse método é de fácil aplicação e consiste em usar as informações de pedigree, fenótipo e genótipo em um único passo, sendo possível usar mais animais com fenótipos que genótipos. Objetivou-se com esse trabalho usar a metodologia do single-step para associar os SNPs à maciez e marmoreio. Para isso, 1.875 animais machos inteiros da raça Nelore foram terminados em confinamento e abatidos em planta frigorífica comercial com idade média de 731 ± 81 dias. Os animais foram genotipados com um painel de 777.962 SNPs (Illumina BovineHD Beadchip) e após o controle de qualidade restaram 1.630 animais com medidas de maciez, 1.633 com medidas de marmoreio e 369.722 SNPs. Para a análise de associação genômica foi utilizada a metodologia do single-step e as análises foram processadas com os programas da família BLUPF90. Um fator de ponderação, baseado nas frequências dos SNPs, foi usado com o objetivo de aumentar o peso de SNPs com grandes efeitos e diminuir aqueles com pequenos efeitos. Para isso, o processo foi repetido, de forma que o efeito dos SNPs e o efeito do animal foram recalculados, efetuando duas iterações no processo. Os resultados das análises de GWAS foram apresentados com base na proporção de variância explicada por janelas de 50 SNPs adjacentes. Com base em duas iterações, somente as janelas de SNPs com variância genética aditiva acima de 1,5% foram considerados. Para a característica de marmoreio, os genes identificados foram: FGF12, GPD2, NR4A2, ZNF461, LIPT1 e MRPL30, todos apresentam relações com o metabolismo de lipídeos. Para a característica maciez, destacou-se o gene PLCL2, uma fosfolipase cuja alta expressão é conhecida no músculo esquelético. Não há relatos na literatura sobre as funções desses genes em bovinos, ficando difícil derivar a ação nas características estudadas. No entanto, a identificação desses genes para bovinos usando ferramentas genômicas é o primeiro passo para a busca de mutações causais que exerçam influência em características de interesse econômico, que possam contribuir no futuro para a avaliação genética.

Palavras-chave: qualidade da carne, genes, variância genética.

Genome wide association study for tenderness and marbling using single-step methodology

Abstract - Tenderness and marbling have been the most demanded attributes by consumers. However, these traits are difficult to select by conventional breeding schemes, because of the difficulty and cost of obtaining measurements. Genome-wide association study (GWAS) allow the discovery of single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with major genes affecting these traits, allowing the construction of gene libraries to assist the selection process. Several methods for GWAS analysis have been used; including single step genomic BLUP (ssBLUP). This method is easy to apply and combines all information of pedigree, phenotype and genotype in a single step. The aim of this study was to use the single-step methodology to associate SNPs with tenderness and marbling. For this, 1875 uncastrated animals of Nellore breed were feedlot finished and slaughtered at commercial slaughterhouses with an average age of 731 ± 81 days. The animals were genotyped with a panel of 777,962 SNPs (IlluminaBovineHDBeadchip) and after quality control, 369,722 SNPs remained for 1630 and 1633 animals for tenderness and marbling, respectively. For genome association analysis (GWAS), was used the single-step methodology using BLUPF90 family programs. A weighting factor, based on the frequency of the SNPs, was considered in the analysis, in order to increase the weight of SNPs with large effects and decrease those with small effects. For this, the process was repeated, in a way that the SNPS and animal effects have been recalculated, effecting two iterations in the process. The results of GWAS analysis were presented based on the proportion of the variance explained by windows of 50 adjacent SNPs. Only SNPs with additive genetic variance above 1.5% were identified. For marbling, the identified genes were FGF12, GPD2, NR4A2, ZNF461, LIPT1 and MRPL30, all have relationships with lipid metabolism. For the tenderness, the highlighted gene was PLCL2, a phospholipase which is known a high expression in skeletal muscle. There are no reports in the literature about the functions of these genes in cattle, being difficult to derive the action in the traits studied. However, the identification of these genes for cattle using genomic tools is the first step in the search for causal mutations, exercising influence on traits of economic interest that can contribute in the future for genetic evaluation.

Keywords: genes, genetic variance, meat quality

1. Introdução

De todas as características de qualidade da carne, a maciez é considerada o atributo que mais afeta o sabor (WILLIAMS, 2008), por isso é a característica de maior exigência do consumidor (ISHIHARA e MADRUGA, 2013). O segundo atributo mais importante envolvido na apreciação da qualidade da carne, definida por testes de painel sensorial, é a gordura intramuscular (WILLIAMS, 2008), que afeta tanto o sabor, como a suculência e a mastigação. Tendo em vista a importância dessas características para o consumidor, Scollan et al. (2006) relataram que a indústria alimentar de carne bovina, na Europa, tem buscado melhorar a qualidade do produto, com o objetivo de ganhar competitividade em relação a outros alimentos.

A aplicação do método de seleção tradicional para essas características é difícil, uma vez que as mesmas não são mensuradas facilmente e são de alto custo, pois exigem o abate dos animais. Estudos de associação genômica ampla (GWAS) permitem a descoberta de polimorfismos de base única (SNPs) associados a genes de efeito maior que influenciam estas características, possibilitando a construção de bibliotecas que auxiliarão no processo de seleção.

Em estudos de GWAS procuram-se detectar variações no genoma (SNP) que estejam associadas com características de interesse. Inicialmente, para análise de GWAS, era usado um método clássico, que se baseia no teste de um único marcador por vez (HIRSCHHORN e DALY, 2005). No entanto, esse método possui como desvantagem, a dificuldade de realizar teste de significância em cada marcador, considerando que existem milhares de SNPs (WANG et al., 2012). Atualmente, diversos métodos que usam os SNPs simultaneamente no modelo têm sido utilizados. Na maioria desses métodos, as análises são realizadas em múltiplos passos, em que primeiramente, uma avaliação genética tradicional com um modelo animal é requerida, em seguida os pseudo-fenótipos são formados e, somente depois, o valor genômico dos animais genotipados são estimados (AGUILAR et al., 2010). Neste caso, para a análise de GWAS todos os animais devem ter informações de fenótipo e genótipo. Mais recentemente, outro método considerado de fácil implementação tem sido empregado, um método GBLUP realizado em uma única etapa (ssBLUP). Esse método consiste em usar o

pedigree, fenótipo e genótipo em um único passo (MISZTAL et al., 2009), além de ser possível incluir na análise mais animais com fenótipos que genótipos.

Em bovinos de origem europeia, nos estudos de associação de SNPs com características de qualidade da carne, foram identificadas diversas regiões localizadas nos cromossomos 2, 3, 7, 8, 10, 17, 22, 27 associadas com marmoreio e 7, 8, 9, 10, 29 com maciez (CASAS et al., 1998; CASAS et al., 2000; CASAS et al., 2001; DAVIS et al., 2007). Genes que afetam a maciez, como a calpaína (CAPN1) e calpastatina (CAST) estão localizados nos cromossomos 29 e 7 (SMITH et al. 2000; CHEONG et al. 2008). Pinto et al. (2010) observaram que os SNPs CAPN4751, CAPN4753, UOGCAST, WSUCAST, que estão associados com maciez em *Bos taurus*, também são polimórficos para a raça Nelore. Entretanto, Tizioto et al. (2013), na mesma raça, em um estudo de associação genômica ampla, verificaram que os genes da calpaína contribuíram com pequena percentagem da variância genética aditiva desta característica, ao contrário do descrito por Bolormaa et al. (2011) em *Bos taurus*. Cesar et al. (2014), trabalharam com a raça Nelore, e não encontraram nenhuma região que explicasse mais que 1% da variância genética para a marmoreio.

Poucos trabalhos foram publicados para características de qualidade da carne na raça Nelore, portanto, o objetivo do presente trabalho é realizar um estudo de associação genômica ampla, com o intuito de identificar regiões do genoma associadas às características de qualidade da carne na raça Nelore, utilizando a metodologia do single-step.

2. Material e Métodos

2.1 Dados Fenotípicos

Maciez e marmoreio foram as características de qualidade da carne utilizadas no presente estudo. Dados de animais machos da raça Nelore, nascidos entre 2008 e 2010, foram colhidos em rebanhos distribuídos em várias regiões do país, provenientes de três programas de melhoramento (DeltaGen, Paint e Nelore Qualitas). Os animais foram terminados em confinamento por aproximadamente

90 dias e abatidos em frigoríficos comerciais com idade média de 731 ± 81 dias. As carcaças dos animais foram mantidas em câmaras frias de 24hs a 48hs *post-mortem* e retiradas amostras de espessura do músculo *Longissimus dorsi* (contrafilé) com osso na região da 12^a - 13^a costelas das meias-carcaças esquerdas.

Para análise de maciez, foram utilizadas amostras de 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi* e adotado o procedimento padronizado e proposto por Wheeler et al. (1995), que consiste em medir a força do cisalhamento, utilizando o equipamento *Salter Warner-Bratzler Shear Force* mecânico. As mensurações do marmoreio foram feitas de acordo com a metodologia descrita pelo *USDA Quality Grade* (2000), com escore de 1 a 10, em que: 1 = praticamente ausente; 2 = traços; 3 = leve; 4 = pouco; 5 = modesto; 6 = moderado; 7 = levemente abundante; 8 = moderadamente abundante; 9 = abundante; e 10 = muito abundante.

Dados de 1.875 animais com medidas de maciez e marmoreio foram disponibilizados. Medidas três e meio desvios-padrão abaixo ou acima da média do grupo de contemporâneos (safra, fazenda e grupo de manejo ao sobreano) não foram consideradas nas análises. Além disto, foram excluídos grupos de contemporâneos com menos de três animais. Assim, restaram registros de 1.822 animais com medidas de maciez e 1.873 animais com medidas de marmoreio.

2.2 Edição dos dados genômicos

Os animais foram genotipados utilizando um painel de alta densidade, contendo 777.962 SNPs (High-Density Illumina Bovine BeadChip). Os critérios de exclusão dos SNPs foram: SNPs não autossômicos, SNPs com a mesma posição, MAF (Minor allele frequency) $\leq 0,02$, p valor para HWE (Hardy-Weinberg equilibrium) $\leq 10^{-5}$, GC score $\leq 0,70$, Call rate $\leq 0,98$, r^2 (correlação entre SNPs) $> 0,995$ com SNPs adjacentes em uma janela de 100 SNPs, resultando em apenas um marcador de cada par de SNPs altamente correlacionados. Amostras com Call rate $\leq 0,92$ também foram excluídas.

Após o controle de qualidade restaram 1.630 animais genotipados com medidas de maciez e 1.633 com medidas de marmoreio e 369.722 SNPs.

2.3 Análise de GWAS

Para análise de GWAS foi utilizado a metodologia do single-step (ssGBLUP), proposto por Wang et al. (2012). Um modelo uni-característica foi considerado para as características estudadas:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Za} + \mathbf{e}$$

em que: $\mathbf{Y}$ é o vetor de observações fenotípicas; $\mathbf{X}$ é a matriz de incidência relacionando os fenótipos aos efeitos fixos, $\mathbf{b}$ é o vetor de efeitos fixos, incluindo grupo de contemporâneo (safra, fazenda e grupo de manejo ao sobreano) e, como covariáveis (efeito linear), foram consideradas a idade ao abate e dias entre o abate e análise físico-química da carne; $\mathbf{Z}$ é a matriz de incidência que relaciona o animal ao fenótipo; $\mathbf{a}$ é o vetor de efeitos dos animais; $\mathbf{e}$ é o vetor de efeitos residuais.

As variâncias de $\mathbf{a}$ e $\mathbf{e}$ são representados por:

$$\text{Var} \begin{bmatrix} \mathbf{a} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{H}\sigma_a^2 & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{I}\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

em que: σ_a^2 é a variância genética aditiva direta e σ_e^2 é a variância residual. $\mathbf{H}$ é a matriz que combina a matriz de pedigree e a matriz de informação genômica, conforme apresentado por Aguilar et al. (2010). $\mathbf{I}$ é uma matriz identidade. A inversa da matriz $\mathbf{H}$ é:

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

em que: $\mathbf{A}$ é matriz de pedigree para todos os animais; $\mathbf{A}_{22}$ é a matriz de parentesco para animais genotipados e $\mathbf{G}$ é a matriz de parentesco genômico, que foi calculada conforme apresentado por VanRaden (2009).

O efeito de animal foi obtido apenas uma vez e os efeitos dos SNPs foram estimados em duas iterações, utilizando os ponderadores calculados na primeira, ou seja, esses pesos são utilizados em uma abordagem iterativa para as novas soluções. Esses pesos são derivados como uma função do quadrado do efeito

dos SNPs e incorporado às variâncias como peso em GBLUB (ZHANG et al., 2010).

Os efeitos dos SNPs ($\hat{u}$) foram obtidos segundo a equação, descrita por Wang et al. (2012):

$$\hat{u} = \lambda DZ'G^{-1}\hat{a}_g = DZ'[ZDZ']^{-1}\hat{a}_g$$

em que, $\hat{a}_g$ é o efeito animal dos animais genotipados, que é representada por uma função dos efeitos dos SNPs ($\hat{a}_g = Zu$);

Z é a matriz que relaciona os genótipos de cada locus;

$\hat{u}$ é o vetor de efeitos dos SNPs;

λ é uma razão de variâncias, calculada conforme VanRaden et al. (2009);

D é uma matriz diagonal de pesos das variâncias dos SNPs;

G é a matriz genômica;

As análises foram processadas nos programas da família BLUPF90 (MISZTAL et al., 2012). Os resultados das análises de GWAS foram apresentados com base na proporção de variância explicada por janela de 50 SNPs adjacentes, e para a identificação dos genes foi utilizada a ferramenta Map Viewer do genoma bovino disponível no NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9913&build=103.0).

3. Resultados e Discussão

As Figuras 1 e 2 mostram o Manhattan plot com as percentagens da variância genética aditiva explicada por janelas de 50 SNPs adjacentes. As janelas que explicam mais que 1,0% da variância genética aditiva, estão localizadas nos cromossomos 1, 2, 5 e 11 para marmoreio e 1 para maciez.

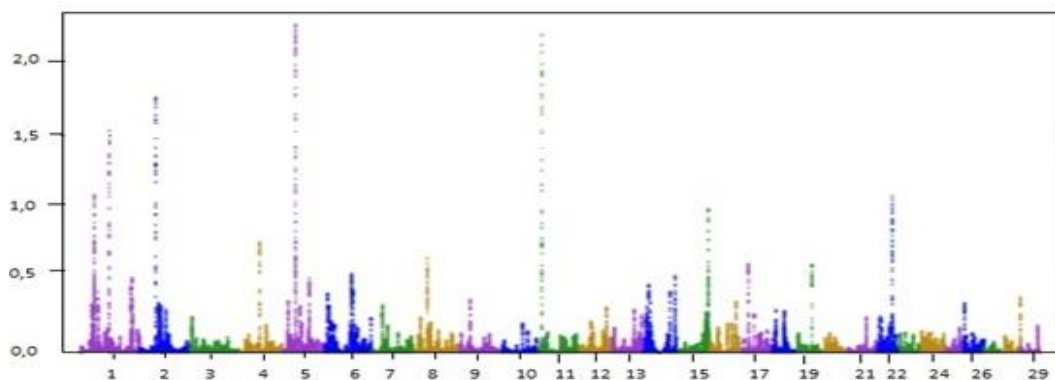


Figura 1: Manhattan plot para Marmoreio. Proporção de variância genética explicada por janelas de 50 SNPs adjacentes (eixo y) por cromossomo (eixo x).

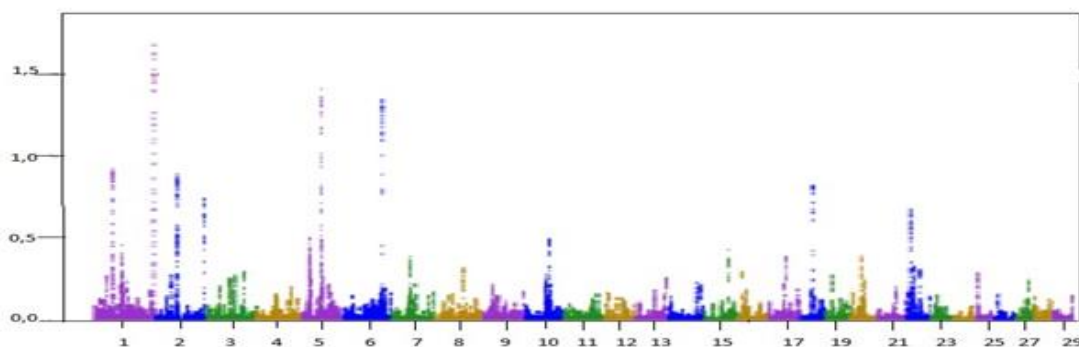


Figura 2: Manhattan plot para Maciez. Proporção de variância genética explicada por janelas de 50 SNPs adjacentes (eixo y) por cromossomo (eixo x).

Os genes conhecidos, encontrados em uma janela de 50 SNPs que explicou mais que 1,0% da variância genética aditiva estão apresentados na Tabela 1. Para marmoreio foram encontrados oito genes, potencialmente candidatos (Tabela1). A maioria dos genes estão relacionados com o metabolismo de lipídeos. Até o momento, os mesmos não haviam sido associados com essa característica em bovinos, no entanto, suas atuações sobre o metabolismo de lipídeos já foram relatadas em outras espécies. O gene GPD2 atua no metabolismo mitocondrial e está associado à obesidade em ratos. A ação desse gene impede a obesidade em ratos e é considerado um gene altamente conservado entre diferentes espécies (de humanos até peixe-zebra), diminuindo

a gordura, peso corporal e os níveis séricos de glucose e triglicerídeo. (MOLLAH e ISHIKAWA, 2010). A associação desse gene com marmoreio na raça Nelore é interessante de ser observada, por a raça ter um baixo teor de gordura. Os genes NR4A2 e MRPL30 estão associados à obesidade em humanos (VEUM et al., 2012, CHEN et al., 2013), além de o NR4A2 ser altamente expresso em pacientes que sofreram cirurgia para retirada do omento (camada de gordura que recobre a cavidade abdominal) (TAMBOLI et al., 2011), mostrando seu papel na formação do tecido adiposo. O LIPT1 está associado à hiperlipidemia (acúmulo de lipídeos no sangue) em humanos (MORELLO et al., 2004 e SOREZE et al., 2013). O FGF12 é expresso no tecido conjuntivo que recobre os feixes de células dos músculos esqueléticos (HARTUNG et al., 1997). Em bovinos, este tecido, entre outras funções, participa da deposição de gordura intramuscular (LEE et al., 2010). O gene ZNF641 é um fator de transcrição cujos níveis de expressão são elevados nos músculos esqueléticos (QI et al., 2006). Fatores de transcrição (FT) são genes que sinalizam o sítio de início de ação da RNA-polimerase, influenciando a transcrição de outros genes. Eles têm papel nas vias metabólicas com genes de efeitos pleiotrópicos e são alvos de estudos em trabalhos de network de genes (FORTES et al., 2010, RAMAYO-CALDAS et al., 2014). A associação desses genes com marmoreio na raça Nelore é importante para conduzir à identificação de novos caminhos biológicos associados à deposição de gordura. O gene HTR1F é receptor da serotonina e está presente no tecido nervoso humano e possui a função de mediar o efeito terapêutico de doenças neurológicas (VANDENBRINK et al. 1998), enquanto o CGGBP1 participa na resposta ao estresse por choque térmico em humanos (SINGH et al. 2009).

Para a característica maciez, destaca-se o gene PLCL2 (Tabela 1), uma fosfolipase, cuja alta expressão é conhecida no músculo esquelético (OTSUKI et al., 1999). Não há maiores relatos sobre funções conhecidas desse gene, ficando difícil derivar sua ação na maciez da carne, apesar de a evidência de sua expressão no tecido alvo já ser informativa. Assim, justificam-se estudos dos papéis biológicos dos genes para melhor compreensão de estudos de associação ampla.

Tabela 1: Identificação dos genes, com base na variância genética explicada por janelas de 50 SNPs*

Característica	Cr	Posição (pb)	Genes*	Va (%)
Marmoreio	1	75717871-76110765	FGF12	1,54
	1	35346805-35829322	HTR1F	1,09
			CGGBP1	
	2	39874323-40321516	GPD2	1,76
			NR4A2	
	5	31782592-32125888	ZNF641	2,27
	11	4164802-4644783	LIPT1	2,20
			MRPL30	
Maciez	1	155815417-156199503	PLCL2	1,68

*NCBI Symbol (Assembly UMD3.0, annotation release 103). Cr: Cromossomo; Va: Variância genética aditiva.

Alguns estudos de associação ampla do genoma, com bovinos, foram conduzidos para as características de marmoreio em *Bos taurus*. Saatchi et al. (2014) e Barendse et al. (2011) em estudos de GWAS e Ramayo-Caldas et al. (2014) em estudos de GWAS/network de genes, trabalhando com raças puras e cruzadas, encontraram genes diferentes dos aqui supracitados.

Cesar et al. (2014) trabalhando com 386 indivíduos da raça Nelore, também encontraram genes diferentes dos observados no presente trabalho para o marmoreio. As três principais regiões reportadas pelos autores como sendo as que mais influenciaram a característica também não são coincidentes.

Tizioto et al (2013), também em estudos com, aproximadamente, 500 animais da raça Nelore, encontraram que as regiões que mais exerceram influência sobre a maciez 24h, 7 dias e 14 dias após abate foram distintas das aqui reportadas. Os autores identificaram um total de 56 genes para as diferentes medidas de maciez, no entanto, esses genes explicaram uma pequena percentagem da variância genética aditiva, menos de 0,20%.

Os genes encontrados por outros autores na raça Nelore explicaram uma pequena proporção da variância genética, enquanto no presente estudo, foram considerados apenas aqueles genes que estavam dentro de janelas que explicavam acima de 1,5% da variância. A identificação de genes de efeito maior para características de interesse econômico justifica-se para estudos posteriores, a fim de investigar mutações causais. Pode ser interessante a incorporação das

principais mutações causais (que mais explicam da variância genética aditiva) em chips para *Bos Indicus*, que serão usadas para avaliação genética dos animais, pois melhora a acurácia das predições e elimina a dependência do desequilíbrio de ligação entre SNPs que sinalizam as mutações causais (TAYLOR et al., 2014).

Os genes encontrados nesse estudo divergem dos demais trabalhos publicados em taurinos, isso pode ser explicado pelo fato de a influência genética se dar por genes diferentes e em proporções diferentes nas diversas raças. Variações na frequência alélica, desequilíbrio de ligação e cobertura de SNPs do chip na raça podem afetar de sobremaneira os resultados. Além disso, as diferenças em estudos da mesma raça indicam que pode haver diferença genética entre as populações analisadas dentro de raças. Alguns fatores como, metodologia e número de animais utilizados podem ser responsáveis por essas diferenças, já que os estudos com raça Nelore, citados anteriormente, usaram poucos animais comparado ao presente estudo, e foi considerado abordagens bayesianas para identificar regiões genômicas. Além disso, nesse estudo foram usadas janelas de 50 SNPs adjacentes, enquanto, nos demais estudos citados, os SNPs estavam em janelas de 1Mb.

A identificação desses genes para bovinos usando ferramentas genômicas é o primeiro passo para a busca de mutações causais que exerçam grande influência em características de interesse econômico, que possam contribuir no futuro para a avaliação genética. Além do que, os resultados mostram diferenças entre e intra raças consideráveis, sendo a extrapolação e transferabilidade de dados algo a ser feito de forma cautelosa e objetivo de estudos futuros.

4. Conclusões

Foram encontradas regiões genômicas associadas às características de qualidade da carne, que estavam em janelas de 50 SNPs que explicaram 1,5% da variância genética aditiva.

A identificação das regiões, localizadas nos cromossomos 1, 2, 5 e 11 para marmoreio e 1 para maciez, possibilita a investigação de mutações causais em estudos posteriores, mutações essas que poderão ser incorporadas em chips que serão usados para avaliação genética dos animais.

As regiões e genes apontados diferem de estudos anteriores, sugerindo a necessidade de se estudar diferentes populações.

5. Referências Bibliográficas

- AGUILAR I., MISZTAL I., JOHNSON D.L., LEGARRA A., TSURUTA S., LAWLOR T.J. Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **J. Dairy Sci.**, 93, 743–752. 2010.
- BARENDSE, W. Haplotype Analysis Improved Evidence for Candidate Genes for Intramuscular Fat Percentage from a Genome Wide Association Study of Cattle. **PLoS ONE**. V. 6. 2011.
- BOLORMAA, S.; PORTO NETO, L. R.; ZHANG, Y. D.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; GODDARD, M. E.; BARENDSE, W. A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. **J Anim Sci**, v. 89, p. 2297–2309. 2011.
- CASAS, E.; KEELE, J.W.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; SONSTEGARD, T.S.; SMITH, T.P.; KAPPES, S.M.; STONE, R.T. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. **J Anim Sci**. v. 76, p. 468–473, 1998.
- CASAS, E.; SHACKELFORD, S.D.; KEELE, J.W.; STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; KOOHMARAIE, M. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. **J Anim Sci** v.78, p. 560–569, 2000.
- CASAS, E.; STONE, R.T.; KEELE, J.W.; SHACKELFORD, S.D.; KAPPES, S.M.; KOOHMARAIE, M.A. Comprehensive search for quantitative trait loci affecting growth, and carcass composition of cattle segregating alternative forms of the myostatin gene. **J Anim Sci**. v.79, n. 854–860, 2001.
- CESAR, A. S.M; REGITANO, L. C. A; MOURÃO, G. B; TULLIO, R. R; LANNA, D. P.D; NASSU, RENATA T; MUDADO, M. A; OLIVEIRA, P. S.N; NASCIMENTO, M. L; CHAVES, A. S; ALENCAR, M. M; SONSTEGARD, T. S; GARRICK, D. J; REECY, J. M. COUTINHO, L. L. Genome-wide association study for intramuscular fat deposition and composition in Nellore cattle **BMC Genetics**, p. 15:39, 2014.
- CHEN, J.; MENG, Y.; ZHOU, J.; ZHUO, M.; LING, F.; ZHANG, Y.; DU, H. WANG, X. Identifying Candidate Genes for Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity through Gene Expression Profiling in Multiple Tissues or Cells. **Journal of Diabetes Research**. 2013.
- DAVIS GP, MOORE SS, DRINKWATER RD, SHORTHOSE WR, LOXTON ID, BARENDSE W, HETZEL DJ. QTL for meat tenderness in the M. longissimus lumborum of cattle. **Anim Genet**. n. 39, p. 40–45, 2007.
- FORTES, M. R. S., A. REVERTER, Y. ZHANG, E. COLLIS, S. H. NAGARAJ, N. N. JONSSON, K. C. PRAYAGA, W. BARRIS, AND R. J. HAWKEN. Association weight matrix for the genetic dissection of puberty in beef cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci.** USA 107:13642–13647. 2010.

HARTUNG H, FELDMAN B, LOVEC H, COULIER F, BIRNBAUM D, GOLDFARB M. Murine FGF-12 and FGF-13: expression in embryonic nervous system, connective tissue and heart. **Elsevier Science Ireland**. V. 64. 1997.

HIRSCHHORN, JOEL N. DALY, MARK J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. **Nature**. v. 6. 2005.

ISHIHARA, Y. M. MADRUGA, M. S. Indicadores de maciez em carnes salgadas e dessecadas: uma revisão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3721-3738, 2013.

LEE, S.; GONDRO, C.; WERF, J.; KIM, N.; LIM, D.; PARK, E.; OH, S.; GIBSON, J. P.; THOMPSON, J. M.; Use of a bovine genome array to identify new biological pathways for beef marbling in Hanwoo (Korean Cattle). **BMC Genomics** 2010, 11:623.

MISZTAL I., LEGARRA A., AGUILAR I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **J. Dairy Sci.**, v.92, p. 4648–4655. 2009.

MISZTAL, I. (2012). <http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90.pdf>. Acesso em Dez. 2014.

MOLLAH, M. B. R.; ISHIKAWA, A. A wild derived quantitative trait locus on mouse chromosome 2 prevents obesity. **BMC Genetics**. 2010. 11:84.

MORELLO, F.; BRUIN, T. W. A.; ROTTER, J. I.; PRATT, R. E.; KALLEN, CARLA J.H. HLADIK, G. A.; DZAU, V. J.; LIEW, C. CHEN, Y. I. Differential Gene Expression of Blood-Derived Cell Lines in Familial Combined Hyperlipidemia. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2004; v.24. p 2149-2154.

OTSUKI, M.; FUKAMI, K.; KOHNO, T. YOKOTA, J.; TAKENAWA, T. IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A NEW PHOSPHOLIPASE C-LIKE PROTEIN, PLC-L2. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, n. 266, p. 97–103.1999.

PINTO, L.F.B. ; FERRAZ, J.B.S.; MEIRELLES, F.V.; ELER, J.P.; REZENDE, F.M.; CARVALHO, M.E. ALMEIDA, H.B.; SILVA, R.C.G. Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**. V. 9, n 3, p. 1431-1442. 2010.

QI, X.; LI, Y.; XIAO, J.; YUAN, W.; YAN Y.; WANG, Y.; LIANG, S.; ZHU, C.; CHEN, YINGDUAN.; LIU, M.; WU, X.; Activation of transcriptional activities of AP-1 and SRE by a new zinc-finger protein ZNF641. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. n. 339, p. 1155–1164. 2006.

RAMAYO-CALDAS, Y. .; FORTES, M. R. S.; HUDSON, N. J. ; PORTO-NETO, L. R.; BOLORMAA, S.; BARENDSE, W.; KELLY, M.; MOORE, S. S.; GODDARD, M.

E.; LEHNERT, S. A.; REVERTER, A. A marker-derived gene network reveals the regulatory role of PPARGC1A, HNF4G, and FOXP3 in intramuscular fat deposition of beef cattle **J ANIM SCI.** 2014, 92:2832-2845.

SAATCHI, M.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; GARRICK, D. J. Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate within and across ten US cattle breeds. **BMC Genomics.**, 15:442, 2014.

SCOLLAN, N. HOCQUETTE, J. NUERNBERG, K. DANNENBERGER, D. IAN, R. MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v. 74 p. 17–33. 2006.

SINGH U, BONGCAM-RUDLOFF E, WESTERMARK B. A DNA sequence directed mutual transcription regulation of HSF1 and NFIX involves novel heat sensitive protein interactions. **PLoS One**, v.4. 2009.

SOREZE, Y.; BOUTRON, A.; HABAROU, F.; BARNERIAS, C. NONNENMACHER, L.; DELPECH, H.; MAMOUNE, A.; CHRÉTIEN, D.; HUBERT, L.; BOLE-FEYSOT, C.; NITSCHKE, P.; CORREIA, I.; SARDET, C.; BODDAERT, N.; HAMEL, Y.; DELAHODDE, A.; OTTOLENGHI, C.; LONLAY, P. Mutations in human lipoyltransferase gene LIPT1 cause a Leigh disease with secondary deficiency for pyruvate and alpha-ketoglutarate dehydrogenase. **Orphanet Journal of Rare Diseases.** 2013, 8:192.

TAMBOLI, R. A.; HAJRI, T.; JIANG, A.; MARKS-SHULMAN, P. A.; WILLIAMS, D. B.; CLEMENTS, R. H.; MELVIN, W.; BOWEN, B. P.; SHYR, Y.; ABUMRAD, N. N.; FLYNN, C. R. Reduction in Inflammatory Gene Expression in Skeletal Muscle from Roux-en-Y Gastric Bypass Patients Randomized to Omentectomy. **PLoS ONE.** 2011. V. 6.

TAYLOR, J.F.; DECKER, J.E.; SCHNABEL, R.D. Animal Breeding in the Next-Generation Sequencing Era. **Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production**, 2014. Disponível em: https://asas.org/docs/defaultsource/wcgalp-proceedings-oral/249_paper_10281_manuscript_1643_0.pdf?sfvrsn=2 Acesso em: Janeiro/2015.

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

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. U.S. **Standards for Grades of Feeder Cattle.** Washington: USDA, 2000. 4p.

VANDENBRINK, A. M.; VERGOUWE, M. N.; OPHOFF, R. A.; NAYLOR, S. L.; DAUWERSE, HANS G.; SAXENA, P. R.; FERRARI, M. D. FRANTS, R. R. Chromosomal Localization of the 5-HT_{1F} Receptor Gene: No Evidence for Involvement in Response to Sumatriptan in Migraine Patients. ***American Journal of Medical Genetics***. v. 77, p. 415–420. 1998.

VANRADEN, 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.

VEUM, V.L.; DANKEL, S.N.; GJERDE, J. NIELSEN, H.J.; SOLSVIK, M.H.; HAUGEN, C. CHRISTENSEN, B.J.; HOANG, T.; FADNES, D.J.; BUSCH, C.; SAGEN, J.V.; MELLGREN, G. ***International Journal of Obesity***. 2012. V 36, 1195 -1202. The nuclear receptors NUR77, NURR1 and NOR1 in obesity and during fat loss.

WANG, H., MISZTAL, I., AGUILAR, I. et al. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. ***Genet. Res. Camb.*** 94:73–83. 2012.

WHEELER, T. L.; KOOMARAIE, M.; SHACKELFORD, S. D. **Standardized warner-bratzler shear force procedures for meat tenderness measurement**. Clay Center: Roman L. Hruska U. S. MARC. USDA, 1995. 7p.

WILLIAMS, J. L. Genetic Control of Meat Quality Traits. ***Meat Biotechnology***. 2008. 41p.

ZHANG, Z., LIU, J., DING, X., BIJMA, P., DE KONING, D. J. & ZHANG, Q. Best linear unbiased prediction of genomic breeding values using a trait-specific marker derived relationship matrix. ***PLoS One*** 5, 2010.