

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DE
BASE ÚNICA COM CARACTERÍSTICAS DE EFICIÊNCIA DE
CONVERSÃO, CONSUMO E DESEMPENHO EM BOVINOS
DA RAÇA NELORE**

**Bianca Ferreira Olivieri
Bióloga**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DE
BASE ÚNICA COM CARACTERÍSTICAS DE EFICIÊNCIA DE
CONVERSÃO, CONSUMO E DESEMPENHO EM BOVINOS
DA RAÇA NELORE**

Bianca Ferreira Olivieri

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante

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

2015

O49e Olivieri, Bianca Ferreira
Estudo de associação entre polimorfismos de base única com características de eficiência de conversão, consumo e desempenho em bovinos da raça Nelore / Bianca Ferreira Olivieri. -- Jaboticabal, 2015
v, 63 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Fernando Sebastián Baldi Rey

Coorientadores: Maria Eugênia Zerlotti Mercadante

Banca examinadora: Nedenia Bonvino Stafuzza, Joslaine Noely dos Santos Gonçalves Cyrillo

Bibliografia

1. Bovinos de corte. 2. Consumo alimentar residual. 3. Prospecção de genes. 4. QTL. 5. SNPs. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.2:636.082

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DE BASE ÚNICA COM CARACTERÍSTICAS DE EFICIÊNCIA DE CONVERSÃO, CONSUMO E DESEMPENHO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

AUTORA: BIANCA FERREIRA OLIVIERI

ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIÁN BALDI REY

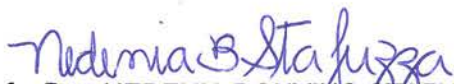
CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. MARIA EUGENIA ZERLOTTI MERCADANTE

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



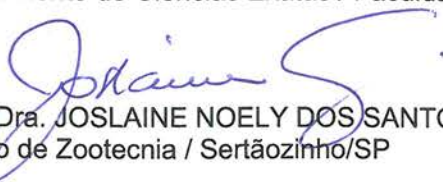
Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIÁN BALDI REY

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Profa. Dra. NEDENIA BONVINO STAFUZZA

Departamento de Ciências Exatas / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Profa. Dra. JOSLAINE NOELY DOS SANTOS GONÇALVES CYRILLO

Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

Data da realização: 31 de julho de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Bianca Ferreira Olivieri, nascida em Guararapes – SP em 22 de janeiro de 1989, filha de Ailton Aparecido Olivieri e Célia Luiz Ferreira. Iniciou o curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS – Três Lagoas, em fevereiro de 2007, obtendo o grau de Bióloga em janeiro de 2012. Em março de 2014 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey, como bolsista CAPES.

Dedico

Aos meus pais, Ailton Aparecido Olivieri e Célia Luiz Ferreira, pelo exemplo de vida,
pela educação, amor, incentivo, compreensão e por sempre apoiarem minhas
decisões.

Ofereço

A minha grande família pelo amor e por sempre apoiarem
minhas decisões.

Ao meu namorado Vinícius, pelo apoio, amor, ajuda
e toda paciência.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey, pela confiança, oportunidade, paciência, apoio, amizade, dedicação e ensinamentos, sem os quais não teria sido possível a realização desse trabalho e o meu amadurecimento intelectual.

À minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, pelo apoio, amizade, paciência, dedicação e disposição em me ajudar e auxiliar no desenvolvimento desse trabalho, academicamente e pessoalmente.

Aos membros das bancas examinadoras de qualificação e defesa, Prof. Dr. Maurício Mello de Alencar, Prof.^a Dr.^a Joslaine Noely dos Santos Gonçalves Cyrillo, Prof.^a Dr.^a Nedenia Bonvino Stafuzza pelas sugestões valiosas que contribuíram para a melhor qualidade da dissertação final.

À todos os docentes do Programa de Genética e Melhoramento Animal pelos ensinamentos.

Às minhas irmãs de coração Gabriela Guena, Beatriz, Layla, Letícia, Marina Fujii, Fernanda Bueno, Carolina Coutinho e Cleisy pelo apoio, companheirismo, paciência, desabafos e incentivos mesmo à quilômetros de distância.

Aos meus queridos amigos biólogos de Três Lagoas, que mesmo à quilômetros de distância fazem meus dias mais felizes e completos.

Às minhas amigas (jaboticabeiras) Fabieli, Sophia, Elise, Mariana (Tica), Ana Paula, Daniela Barreto, Laiza e Lívia (Novilha), pelo apoio, força, momentos maravilhosos, compreensão, amor e companheirismo.

Ao meu padrinhos Geraldo e Elza por todo amor dedicado a mim, pelo apoio e atenção.

À minha grande família Ferreira pelos momentos de amor e apoio, pelos domingos inesquecíveis na casa da Vó Nita.

Aos meus hermanitos, Marcos, Mariana, Carol, Rafael, Elisa e Hermenegildo que sempre estiveram à disposição para ajudar, me auxiliando quando precisei e me incentivando sempre.

À toda equipe de funcionários e alunos do Instituto de Zootecnia pelo apoio e todo auxílio. Às minhas queridas Thaís, Marcela, Érika Maranhão, Juliana Portes e Elaine pela atenção, amizade, carinho e paciência.

À equipe da carne, que sempre estiveram dispostos a ajudar com muita animação e dedicação.

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal por oferecer os melhores professores, funcionários e conhecimentos necessários para minha evolução profissional e também pessoal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de mestrado e apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que passaram pela minha vida, pois, diretamente ou indiretamente, me ajudaram a ser uma pessoa melhor, levaram um pouquinho de mim e deixaram um pouquinho de si.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO.....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1 Eficiência alimentar em Bovinos de Corte	5
3.2 Parâmetros genéticos para medidas de eficiência alimentar	6
3.3 Ferramentas genômicas aplicadas à características associadas à eficiência alimentar	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
4.1 Informações gerais sobre os dados utilizados.....	10
4.2 Características avaliadas	11
4.2.1 Eficiência alimentar	11
4.2.2 Ganho de peso.....	11
4.2.3 Consumo de matéria seca	12
4.2.4 Consumo alimentar residual (CAR).....	12
4.3 Genotipagem dos animais.....	13

4.4	Análise genética quantitativa	13
4.5	Análise de associação genômica	15
4.6	Prospecção de genes.....	17
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1	Estimativas de parâmetros genéticos.....	19
5.2	Análises de seleção genômica	21
5.2.1	Eficiência alimentar	21
5.2.2	Ganho de peso.....	27
5.2.3	Consumo de matéria seca	32
5.2.4	Consumo alimentar residual.....	36
6.	CONCLUSÃO.....	42
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
8.	APÊNDICES	52

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DE BASE ÚNICA COM CARACTERÍSTICAS DE EFICIÊNCIA DE CONVERSÃO, CONSUMO E DESEMPENHO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

RESUMO - Com a necessidade de tornar a bovinocultura de corte mais rentável e ao mesmo tempo sustentável, as características associadas à eficiência alimentar ganham importância. O consumo alimentar residual (CAR), sugerido como parâmetro de eficiência tornou-se uma ferramenta para a seleção de animais mais eficientes. Atualmente ferramentas genômicas tornaram-se disponíveis devido ao avanço da tecnologia no uso de marcadores moleculares, como os SNPs. Diante disso, associar regiões genômicas com o CAR, ganho de peso e demais características relacionadas eficiência alimentar pode ter um futuro promissor. O objetivo do estudo foi associar dados genômicos a partir do uso de chips de alta densidade de SNPs para identificação de regiões QTL ligadas à características como eficiência alimentar, ganho de peso, consumo alimentar e CAR de 896 animais da raça Nelore. O modelo utilizado na predição dos valores genéticos para as características em estudo foi o ssGBLUP. Os efeitos e variâncias dos marcadores SNPs foram estimados pela metodologia ssGWAS, onde os efeitos dos SNPs são obtidos a partir dos valores genômicos estimados pelo modelo ssGBLUP. Os componentes variâncias e parâmetros genéticos foram estimados utilizando a inferência Bayesiana. Com os resultados obtidos dos estudos de associação genômica foi realizada a prospecção de genes para identificar os SNPs que apresentaram associação com os indicadores de eficiência alimentar e buscar genes que possam influenciar a expressão das características. Para determinar as possíveis regiões de QTL, foram selecionados os segmentos que explicassem valores iguais ou superiores a 1% da variância genética aditiva. No total foram encontradas 51 regiões genômicas distribuídas pelas características em análise. Para identificação e posicionamento dos SNPs no genoma bovino foi realizado um levantamento no banco de dados disponíveis no NCBI e Ensembl. A classificação dos genes quanto a função biológica foi realizada pelo website DAVID. A estimativa de herdabilidade para eficiência alimentar foi de baixa magnitude (0,13), moderada para consumo alimentar residual (0,18), e moderada a alta magnitude para ganho de peso (0,43) e consumo alimentar (0,47). Um total de 14, 18, 8 e 12 janelas ou regiões genômicas que tenha explicado mais que 1% da variância genética aditiva foram identificadas para eficiência alimentar, ganho de peso, consumo alimentar e consumo alimentar residual, respectivamente. Neste estudo foram encontradas várias regiões próximas de QTL importantes associados às características estudadas. Estas regiões abrigam possíveis genes candidatos, os quais estão envolvidos no metabolismo de energético e de proteínas, transporte iônico, transporte transmembranar, sistema olfativo, sistema imune, secreção e mitose. Os resultados do presente estudo indicam que as características de eficiência alimentar, consumo e ganho de peso devem responder à seleção. Espera-se que a resposta à seleção seja maior quando o CAR é utilizado como critério de seleção para animais mais eficientes em relação a utilizar EA como critério. Foram identificadas várias regiões genômicas associadas as características de eficiência de conversão, consumo alimentar e ganho de peso. A identificação de tais regiões e seus respectivos genes candidatos devem contribuir para a formação de uma base

genética de bovinos Nelore, auxiliando na seleção de características de eficiência de conversão e consumo.

Palavras-chave: bovinos de corte, consumo alimentar residual, prospecção de genes, QTL, SNPs

GENOME ASSOCIATION STUDY BETWEEN SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS WITH TRAITS OF CONVERSION EFFICIENCY, CONSUMPTION AND PERFORMANCE ON BREED CATTLE NELLORE

Abstract - The need to turn the beef production more profitable and at the same time sustainable, the traits associated with feed efficiency are gaining importance. The residual feed intake (RFI), suggested as a parameter for feed efficiency and it has become a tool for the selection of more efficient animals. In recent years, a large number of genomic tools become available due to advancement of the technology of molecular markers, such as SNPs. Therefore, genomic regions associated with the SNP markers for residual feed intake (RFI), weight gain and other traits related to feed efficiency have a promising future, with selection of more efficient animals. This study aimed to associate genomic data from the use of high-density chips to identify QTL regions linked to traits such as feed efficiency, weight gain, feed intake and CAR 896 Nelore cattle, from the Animal Science Institute, located in Sertãozinho. The model used for the prediction of breeding values of the traits was the ssGBLUP. This ssGBLUP model, besides using phenotypic and genotypic data, also use pedigree information. With the results of genomic association studies, it was performed the search for genes to identify SNPs that were associated with the feed efficiency indicators and seek genetic regions and genes that may, in fact, influence the expression of the traits. To determine the possible QTL regions, the segments that explain values greater than or equal to 1% of the additive genetic variance were selected. A total of 51 genomic regions for the studied traits were found. For identification and positioning of the SNPs in the bovine genome was conducted a survey on the database available in the NCBI and Ensembl. The classification of genes as biological function was performed by the website DAVID. The heritability estimate for feed efficiency was low (0.13), moderate for residual feed intake (0.18), and moderate to high magnitude for weight gain (0.43) and feed intake (0.47). A total of 14, 18, 8 and 12 windows or genomic regions that have explained more than 1% of the additive genetic variation were identified for feed efficiency, weight gain, food consumption, food consumption and waste, respectively. This study found several nearby areas of major QTL associated with the studied traits. These regions harboring possible candidate genes which are involved in energy metabolism and protein, ion transport, transmembrane transport, olfactory system, immune system, secretion and mitosis. The results of this study indicate that the traits of feed efficiency, consumption and weight gain should respond to selection. It is expected that the response to selection would be higher for RFI compared to FE. Several genomic regions associated with conversion efficiency traits, food intake and weight gain have been identified. The identification of these regions and their respective candidate genes must contribute to the formation of a genetic basis of Nelore, in order to assist the selection for growth traits, feed conversion and related traits.

Keywords: beef cattle, residual feed intake, genetic markers, QTLs, gene prospecting

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos os custos na produção pecuária aumentaram expressivamente, principalmente os associados com fertilizantes e alimentos, e as margens da atividade pecuária de corte estão diminuindo para o produtor. Em um sistema de produção, os valores gastos com alimentação podem chegar até 70% dos gastos totais (ANDERSON et al., 2005). Assim, existe uma preocupação crescente em adotar estratégias de produção que permitam diminuir os custos de produção, sobretudo os gastos com a alimentação. Neste sentido, melhorar a eficiência alimentar animal é de grande interesse para o aumento da rentabilidade na indústria agro-alimentar (SAVIETTO et al., 2014). A seleção de animais mais eficientes na conversão dos alimentos, reduz os gastos com a alimentação, diminui o uso de recursos naturais, os impactos sobre o meio ambiente e otimiza o lucro na produção (ARTHUR, HERD, 2008).

A pecuária brasileira tem sido apontada como uma das atividades mais nocivas para o meio ambiente, contribuindo negativamente com emissões de gás metano através da fermentação entérica e produção de dejetos (COTA et al., 2014). Em dietas de alta digestibilidade, existe uma associação positiva entre o consumo de energia e a produção de metano, como resultado de maiores quantidades de substrato para fermentação ruminal e maior necessidade de hidrogênio para os microrganismos presente no rúmen produtor de metano (HEGARTY et al., 2007). Portanto, a composição e principalmente a quantidade de alimento consumido pelos animais são fatores importantes na determinação da produção e emissão do gás metano pelos ruminantes (BENCHAAAR et al., 1998). Além do impacto ambiental, a produção de metano possui uma correlação com o consumo de matéria seca, pois o gás de fermentação entérica produzido pelos bovinos representa perda de energia, o que resulta uma produção ineficiente.

A eficiência alimentar, definida como conversão alimentar (kg consumo/kg ganho) é uma medida com várias limitações, uma vez que apresenta alta correlação com o ganho de peso e peso à idade adulta (ARTHUR et al., 2001). Por outro lado, o consumo alimentar residual (CAR), sugerido por Koch et al. (1963) como um indicador de eficiência alimentar, é uma medida da diferença entre o consumo

observado e o consumo necessário para atender às exigências de manutenção e crescimento dos animais e apresenta a vantagem de não estar correlacionado ao peso adulto ou ao ganho de peso, indicando variação genética da utilização de nutrientes (ARCHER et al., 1999; HERD; BISHOP, 2000; ARTHUR; RENAND; KRAUSS, 2001; ARTHUR; HERD, 2008; CASTILHOS et al., 2011).

Nas últimas duas décadas, vários programas de avaliação genética para bovinos de corte têm sido estabelecidos para o melhoramento de características de importância econômica, como as de crescimento, reprodutivas e morfológicas. Contudo, pouca atenção é voltada para as características associadas aos custos de produção, como o consumo de alimento, principalmente pela laboriosidade de mensuração do mesmo. Na seleção de bovinos de corte são necessárias estratégias para aumentar a eficiência alimentar, mas sem prejudicar características de desempenho ou aquelas associadas à qualidade do produto. A seleção para características associadas com a eficiência alimentar é relevante não apenas pelo impacto econômico direto na redução do consumo de alimentos, como também pelos efeitos sobre o impacto ambiental da produção de carne e pela redução da produção do metano proveniente da fermentação entérica dos ruminantes.

Informação disponível para bovinos de corte mostra que a eficiência de conversão alimentar, avaliada através do CAR após desmama, apresenta estimativa de herdabilidade moderada à alta e que a seleção para menor CAR resulta em animais com menor consumo de alimento para um mesmo nível de produção, em relação à animais selecionados para maior consumo alimentar residual (ARTHUR et al., 2001; BERRY, CROWLEY, 2011; BOLORMAA et al., 2013; GRION et al., 2014; SANTANA et al., 2014a). Apesar de o CAR apresentar estimativas de herdabilidade que indicam que esta característica pode ser melhorada através da seleção, o CAR é uma característica de difícil mensuração e onerosa, o que muitas vezes limita sua implementação como critério de seleção em programas de melhoramento genético de gado de corte. Para este tipo de característica, a seleção por meio marcadores genéticos espalhados por todo o genoma, tem sido recomendada.

Recentemente os estudos de associação ampla, utilizando arranjos de alta densidade de marcadores do tipo SNP, com características indicadoras de eficiência alimentar em bovinos tem ganhado espaço (ROLF et al., 2012; SERÃO et al., 2011;

BOLORMAA et al., 2013; SANTANA et al., 2014b). Um ponto importante a destacar é que a maioria dos trabalhos que avalia associações genômicas utilizando marcadores com característica indicadoras de eficiência alimentar, são com bovinos de raças taurinas (*Bos taurus*), e ainda existem poucos com raças zebuínas (*Bos indicus*) em condições tropicais. Portanto, a fim de identificar variações estruturais nos genes ou regiões genômicas, que estejam associadas ao CAR e as demais características relacionadas com o consumo e eficiência de conversão alimentar, assim como elucidar a base genética destas características, é importante incentivar a realização de estudos com animais zebuínos, principalmente animais da raça Nelore, uma vez que esta raça é predominante nos rebanhos brasileiros.

2. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo associar dados genômicos a partir do uso de arranjos de alta densidade de marcadores genéticos (SNPs) para identificação de regiões QTL ligadas a características como eficiência alimentar, ganho de peso, consumo alimentar e CAR em animais da raça Nelore.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Eficiência alimentar em Bovinos de Corte

O consumo alimentar possui papel importante no desenvolvimento econômico em bovinos de corte (SANTANA et al., 2014a). Uma vez que o valor gasto com alimentação é estimado em até 70% do custo nos sistemas de produção (ANDERSON et al., 2005). Considerando o impacto financeiro que a alimentação tem diante da produção, a eficiência energética dos animais é uma característica economicamente importante, e muitos índices têm sido propostos e utilizados para determinar a eficiência em gado de corte (NKRUMAH et al., 2004). A eficiência alimentar, definida como conversão alimentar (kg consumo/kg ganho) é uma medida com várias limitações, uma vez que apresenta alta correlação com o ganho de peso e peso à idade adulta (ARTHUR et al., 2001). A forte e positiva relação fenotípica entre a taxa de crescimento e a eficiência alimentar, fez com que durante pelo menos os últimos 30 anos, essas características fossem exploradas através da seleção, com intenção de aumentar a taxa de crescimento, especialmente o aumento do peso ao sobreano (ROLF et al., 2012). No entanto, melhorar a eficiência alimentar, pode também trazer consequências negativas, como aumento do tamanho da vaca adulta, com um concomitante aumento nos custos para manutenção do rebanho (ARCHER et al., 1999;. OKINE et al., 2003)

Atualmente, os empenhos para aumentar a eficiência alimentar têm se concentrado na seleção, com intuito de diminuir o consumo alimentar. Uma abordagem é a estimativa do consumo alimentar residual (CAR), sugerido por Koch et al. (1963), que é a diferença entre o consumo observado e esperado de alimentação, que é normalmente previsto a partir da regressão do consumo médio diário de ração (CMD) sobre o ganho médio diário (GMD) e peso metabólico na metade do teste (ROLF et al., 2012). Estudos apontam que há variabilidade genética suficiente em animais jovens para obter resposta à seleção para a eficiência de utilização de alimentos. Entretanto, o maior empecilho na obtenção de medidas de eficiência alimentar, avaliada através do consumo alimentar residual, está no alto

custo para mensuração da característica, limitando sua inclusão nos programas de melhoramento de gado de corte.

3.2 Parâmetros genéticos para medidas de eficiência alimentar

controlam a expressividade do fenótipo, a fim de se obter estima

Existe uma forte pressão na necessidade da melhora de características associadas à eficiência alimentar, em função da crescente preocupação em diminuir o uso intensivo dos recursos naturais e o impacto ambiental da pecuária. Também, a competição da carne bovina com outros tipos de carnes, como suínos e aves, têm forçado os produtores e a indústria de carne bovina a buscar novas metodologias e alternativas de incrementar a eficiência e valorização dos produtos cárneos.

Na literatura são escassos os estudos que tenham estimados parâmetros genéticos, sobretudo em raças zebuínas, para características associadas à eficiência alimentar em bovinos. Neste sentido, para consumo alimentar, estimativas de herdabilidade variam de moderada (0,40) como observou Santana et al. (2014a) em estudo com 1038 machos da raça Nelore, à alta (0,60) como foi estimado por Grion et al. (2014), também avaliando animais da raça Nelore. Berry e Crowley (2011) em avaliação de quatro raças taurinas encontraram estimativa de herdabilidade para consumo alimentar também alta (0,49).

A eficiência alimentar apresentou estimativas de herdabilidades moderadas, em torno de 0,30, como relataram Santana et al. (2014a), Crowley et al. (2010) e Berry e Crowley (2011). Para o CAR as estimativas de herdabilidade variaram de 0,33 como relatado por Grion et al. (2014) para de 785 animais Nelore, até 0,45 por Crowley et al. (2010) para raças Angus, Charolês, Hereford, Limousin e Simental. Em estudo com 468 novilhas da raça Brangus nos Estados Unidos, Lancaster et al. (2009) concluíram que a escolha de CAR como critério de seleção para eficiência alimentar em bovinos de corte se deve ao fato desta característica ser menos correlacionada com as de crescimento, ao contrário do que acontece com a eficiência alimentar.

Com base nas estimativas de herdabilidade para as características associadas à eficiência alimentar obtidas em diferentes populações de diversas raças bovinas é possível inferir que estas características devem responder à seleção.

I

, s tipos ,

3.3 Ferramentas genômicas aplicadas à características associadas à eficiência alimentar

O sequenciamento do genoma bovino permitiu a identificação de milhares de marcadores genéticos do tipo polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), além do desenvolvimento de subconjuntos de SNPs que podem caracterizar o genoma bovino com uma maior abrangência e menor custo (MATUKUMALLI et al., 2009). Os SNPs que são a forma de variação mais abundante de polimorfismos de DNA em todo o genoma e têm se tornado preferencial sobre outros tipos de marcadores moleculares uma vez que apresentam menores taxas relativas de mutação e são de fácil genotipagem (YOUNGERMAN et al., 2004).

Com um grande número de marcadores espalhados por todo o genoma e a utilização de chips de alta densidade, como o comercializado pela Illumina Infinium®, bovineHD BeadChip, que contém mais de 777.000 marcadores SNP, aumentam as chances de identificar marcadores genéticos em desequilíbrio de ligação com QTL para características produtivas. A partir dos estudos de associação genômica ampla (GWAS), utilizando milhares de marcadores do tipo SNP, é possível localizar genes ou regiões gênicas que esteja influenciando direta ou indiretamente as características, como CAR, ganho de peso entre outras características.

Nos últimos anos o número de estudos de associação ampla, utilizando chips de alta densidade, com características indicadoras de eficiência alimentar em bovinos tem aumentado, principalmente utilizando raças taurinas. Rolf et al. (2012) trabalhando com bovinos da raça Angus aplicaram o modelo GBLUP e identificaram 53, 66 e 68 SNPs associados significativamente com consumo médio diário, consumo alimentar residual e ganho médio diário, respectivamente. Segundo Bolormaa e colaboradores (2013) em outro estudo de associação genômica com animais taurinos, zebuínos e suas cruzas, identificaram SNPs associados com o consumo alimentar e consumo alimentar residual. Serão et al. (2011) utilizando Angus, Simmental puros e seus cruzamentos, encontraram 69 e 131 SNPs associados com CAR ($p < 0,01$), considerando modelos que inclui e exclui os efeitos poligênicos, respectivamente. Recentemente, Santana e colaboradores (2014b), em estudo de associação

genômica com consumo alimentar e consumo alimentar residual em animais da raça Nelore, encontraram três SNPs para consumo alimentar e dois SNPs para CAR, sendo que estes marcadores estavam próximos de genes controladores de apetite.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Informações gerais sobre os dados utilizados

Os dados utilizados neste estudo foram provenientes de animais Nelore, dos rebanhos do Centro APTA Bovinos de Corte - Instituto de Zootecnia, Sertãozinho-SP, nascidos nos anos de 2004 a 2013. O instituto dispõe de um grande rebanho Nelore, que é dividido em três linhas de seleção, denominadas Nelore Seleção (NeS), Nelore Tradicional (NeT) e Nelore Controle (NeC) . Essas linhas de seleção foram selecionadas com base no desempenho individual considerando o peso ao sobreano, desde 1980, e a mudança genética estimada nos rebanhos selecionados é de 0,73% da média da característica/ano. Pioneiro no Brasil na utilização de testes de desempenho (provas de ganho de peso) para a seleção de bovinos de corte, desde 2005 o Instituto de Zootecnia de Sertãozinho realiza, também, testes de desempenho para eficiência alimentar.

Das provas realizadas entre 2005 e 2013, há informação fenotípica disponível e material genético coletado (sangue) de machos e fêmeas. As provas realizadas nesse intervalo de anos, foram realizadas com cochos individuais onde é controlada a oferta diária, assim como as sobras da ração. Além dos cochos individuais, a partir de 2012, o teste de desempenho passou a ser realizado também com piquetes equipados com cochos de consumo do GrowSafe System, que permitem a mensuração de cada evento de alimentação individual e do consumo alimentar, mesmo com os animais permanecendo em grupos. Os cochos de consumo GrowSafe y

“Ferramentas genômicas no melhoramento genético de características de importância econômica direta em bovinos da raça Nelore” (Processo FAPESP 2009/16118-5). Com o total de animais das provas entre 2005 e 2013 , há informações fenotípicas e genotípicas de 896 animais.

4.2 Características avaliadas

4.2.1 Eficiência alimentar

A eficiência alimentar (EA) foi calculada como a razão entre ganho médio diário de peso (GMD) e consumo diário de matéria seca (CMS). O teste de eficiência consistiu no desempenho individual, no qual foram avaliados consumo alimentar, peso e ganho em peso dos animais em um período inicial de adaptação de pelo menos 28 dias e mais 70 dias, no mínimo, de teste. Os grupos contemporâneos para o teste foram formados a partir do sexo, média de idade de sete meses (variação máxima de 90 dias) e instalação em que foram dispostos no período do teste. Os animais foram pesados a cada 14 dias após jejum de 12 horas (2005 a 2006), a cada 28 dias com jejum para os machos (2007 e 2008) e fêmeas (2009 a 2011). De 2009 a 2012 os machos foram pesados semanalmente sem jejum, sendo três pesagens por semana em dias consecutivos em 2009 e 2010, duas pesagens por semana em dias consecutivos em 2011, e uma pesagem por semana em 2012. Em 2013 e 2014 esses foram pesados sem jejum a cada 15 dias. Em 2012, as fêmeas foram pesadas dois dias consecutivos a cada 15 dias (CEACERO, 2015). A dieta oferecida sofreu alterações ao longo dos anos quanto à inclusão de alimentos, mas foram formuladas com aproximadamente 67% de nutrientes digestíveis totais (NDT) e 13% de proteína bruta (PB), permitindo ganho médio diário de aproximadamente 1,0 kg/dia (GRION et al., 2014).

4.2.2 Ganho de peso

O ganho médio diário (GMD) foi estimado como o coeficiente de regressão linear dos pesos em função dos dias em teste (DET):

$$y_i = \alpha + \beta * x_i + \varepsilon_i$$

em que y_i é o peso do animal na i -ésima pesagem; α é o intercepto da regressão linear; β é o coeficiente de regressão linear que representa o ganho médio diário;

GMD; DET_i representa os dias em teste na i -ésima repetição; ε_i é o erro aleatório associado a cada observação. O peso metabólico no meio do teste ($PV^{0,75}$) foi dado por: $[\text{peso inicial} + \text{GMD} \times (\text{duração do teste}/2)]^{0,75}$.

4.2.3 Consumo de matéria seca

Afim de assegurar que o consumo foi *ad libitum*, foi realizado um controle em relação ao alimento ofertado. O permitido foram sobras entre 5 e 10%; diante disso, o ajuste da quantidade de dieta fornecida foi feito diariamente. Nas baias individuais, as sobras foram removidas e pesadas uma vez ao dia, aproximadamente 24 horas após a primeira parte da dieta ofertada do dia anterior. A partir dessas sobras, 3 vezes por semana coletou uma amostragem, o que compôs uma amostra a cada 28 dias. O consumo de matéria seca (CMS) diário foi definido pela matéria seca do alimento ofertado menos a matéria seca das sobras (baias individuais) ou a matéria seca do alimento consumido (GrowSafe®). Nos cochos equipados com o GrowSafe System, a frequência que o animal permaneceu no cocho e a quantidade de alimento ingerido foram controladas. Todo esse processo foi automatizado. Cada animal possui um chip no brinco, que é identificado a partir do momento que o animal se habilita no cocho e contabiliza a quantidade de alimentação ingerida pela diferença do peso da ração que permaneceu no cocho. Mesmo com os animais dispostos em grupos, o sistema permite a mensuração individual.

4.2.4 Consumo alimentar residual (CAR)

Foram excluídos do teste os dias em que havia evidências que não houve consumo *ad libitum*, como algum dia de manejo fora da rotina dos animais durante várias horas, falha no equipamento (no caso do GrowSafe) e ausência de sobras (no caso das baias individuais) etc.

O cálculo do consumo alimentar residual foi realizado com base no resíduo da equação de regressão do CMS em função do GMD e $PV^{0,75}$.

$$M = \beta_0 + \beta_1 * PV^{0,75} + \beta_G * GM +$$

β_0 , β_1 , β_G são coeficientes de regressão linear do peso metabólico e do ganho de peso médio diário, respectivamente.

4.3 Genotipagem dos animais

Para a genotipagem dos animais foi utilizado o painel BovineSNP BeadChip (High-Density Bovine BeadChip) com cerca de 777.962 SNPs. Foi realizada a limpeza e o controle de qualidade dos marcadores SNPs, excluindo àqueles com posição genômica desconhecida, marcadores monomórficos além dos que apresentaram MAF (frequência de alelos menos comuns) menor que 0,05. Também foram excluídos das análises os SNPs que apresentaram taxa de atribuição dos genótipos (*Call Freq*) menor que 93%, e os com excesso de genótipos heterozigotos (*Het Excess*). Após o controle de qualidade, restaram 438.874 SNPs para o estudo de associação e 689 animais (machos e fêmeas).

Os custos associados à genotipagem dos animais foram financiados pelo

“F

”

(Processo FAPESP 2009/16118-5).

4.4 Análise genética quantitativa

Os grupos contemporâneos (GC) com três desvios padrão acima ou abaixo do valor médio de cada GC foram excluídos. O modelo utilizado para a estimativa de (co) variância e parâmetros genéticos incluiu o efeito aleatório genético aditivo direto e o efeito fixo GC.

Os componentes variâncias e parâmetros genéticos foram estimados utilizando a inferência Bayesiana (GIANOLA, FERNANDO, 1986), considerando o

modelo animal linear (ssBLUP), e o programa computacional GIBBS2F90 (MISZTAL et al., 2002; AGUILAR et al., 2010). O modelo ssBLUP (*single step* BLUP) é uma modificação do BLUP com numerador da matriz de parentesco A^{-1} substituído por H^{-1} (AGUILAR et al., 2010):

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

Onde A_{22} é uma matriz de parentesco numerador para animais genotipados e G , uma matriz de parentesco genômica. A matriz genômica pode ser criada (VAN RADEN et al., 2009) como segue:

$$G = ZDZ'q$$

onde, Z é a matriz de gene que contém ajuste para frequências alélicas; D , matriz com o peso do SNP (inicialmente $D=I$); e q , um fator de ponderação / normalização. De acordo com Vitezica et al. (2011), tais fatores podem ser obtidos assegurando que a diagonal média em G é próxima de A_{22} . Para as características, o modelo pode ser representado pela seguinte equação matricial:

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

onde: y é o vetor de observações; β é o vetor de efeitos fixos; a é o vetor de efeitos genéticos aditivos diretos; X é conhecida como matriz de incidência; Z é a matriz de incidência dos efeitos aleatórios genéticos aditivos diretos (associa o vetor β com vetor y); e é o vetor do efeito residual. A *priori* distribuições dos vetores y , a e e foram consideradas por:

$$y \sim MVN(X\beta + Za)$$

$$a|G \sim MVN(0, H \otimes G)$$

$$e|R \sim MVN(0, I \otimes R)$$

onde: H é a matriz de coeficientes de parentesco entre os animais obtidos a partir das análises de passo único (*single-step*); R é a matriz de variância residual; I é a matriz Identidade; G matriz de variância genética aditiva e $\otimes$ é o produto de

Kronecke. A distribuição *a priori* para os componentes de variância dos efeitos genéticos e residuais foi um Wishart invertido. Para os efeitos fixos foi definida uma distribuição *a priori* uniforme. O arquivo de pedigree continha um total de 3.342 animais.

Nas análises foram originadas cadeias com comprimentos de 100.000 interações, em que as primeiras 20.000 interações foram descartadas. Para estimação dos parâmetros, as amostras foram armazenadas a cada 100 ciclos, construindo amostras com 80.000 informações. A convergência dos dados foi verificada com a avaliação gráfica dos valores amostrados versus interações e utilizando os critérios propostos por GEWEKE (1992), HEIDELBERGER, WELCH (1983) e RAFTERY, LEWIS (1992) por meio do pacote de análises Bayesian Output Analysis (BOA) do software R 2.9.0 (The R Development Core Team, 2009).

4.5 Análises de associação genômica

Os efeitos e variâncias dos SNPs foram estimados pela metodologia ssGWAS (*Single step of genome-wide association study*) proposta por Wang et al. (2012). Nesta metodologia os efeitos dos marcadores são obtidos a partir dos valores genômicos estimados pelo modelo ssGBLUP. Nestes modelos o efeito genético dos animais genotipados é função dos efeitos dos SNPs:

$$a_g = Zu,$$

onde Z representa a matriz de parentesco dos genótipos de cada *loci*, u é um vetor dos efeitos dos SNPs. Assim a variância dos efeitos genéticos é representada da seguinte maneira:

$$\text{var}(a_g) = \text{var}(Zu) = ZDZ'\sigma_u^2 = G * \sigma_a^2,$$

onde D representa a matriz diagonal dos ponderadores para as variâncias dos SNPs ($D=I$ para GBLUP), σ_u^2 é a variância do efeito genético aditivo obtido de cada SNP quando é assumida a mesma variância para todos os marcadores, e G^* é da matriz genômica de parentesco.

A relação da (co) variância dos efeitos genéticos (a_g) e de SNPs (u) é:

$$\text{var} \begin{bmatrix} a_g \\ u \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} ZDZ' & ZD' \\ DZ' & D \end{bmatrix} \sigma_u^2,$$

sequencialmente:

$$G^* = \frac{\text{var}(a_g)}{\sigma_a^2} = \frac{\text{var}(Zu)}{\sigma_a^2} = ZDZ'\lambda,$$

onde λ é uma relação de variâncias ou constante de normalização. De acordo com Van Raden et al. (2009),

$$\lambda = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_a^2} = \frac{1}{\sum_{i=1}^M 2p_i(1-p_i)},$$

onde M é o número de SNPs e p_i é a frequência alélica do segundo alelo do i -ésimo marcador. De acordo com Stranden e Garrick (2009), o efeito dos marcadores pode ser obtido da seguinte forma:

$$\hat{u} = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_a^2} DZ'G^*{}^{-1} \hat{a}_g = DZ'[ZDZ']^{-1} \hat{a}_g,$$

As estimativas de efeitos de SNP podem ser utilizadas para estimar a variância individual de cada efeito de SNP (ZHANG et al., 2010) e aplicar uma ponderação diferente para cada marcador conforme:

$$\hat{\sigma}_{\hat{u},i}^2 = \hat{u}_i^2 2p_i(1-p_i)$$

Os efeitos dos SNPs e suas respectivas ponderações para GWAS foram derivados a partir do seguinte processo iterativo (WANG et al., 2012):

1. Considerar $D=I$ no primeiro passo;
2. Calcular matriz $G = ZDZ'$;
3. Calcular GEBVs para todo o conjunto de dados usando ssGBLUP;
4. Converter GEBVs para os efeitos dos SNPs

$$\hat{u} = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_a^2} DZ'G^*{}^{-1} \hat{a}_g = DZ'[ZDZ']^{-1} \hat{a}_g,$$

onde $\hat{a}_g$ é a GEBV do animal qual também foi genotipado.

5. Calcular o efeito para cada SNP: $d_i = \hat{u}_i^2 2p_i(1-p_i)$, onde i é o i -th SNP
6. Normalizar os valores dos SNPs para que a variância genética aditiva total permaneça constante.
7. Volta para o item 2.

As estimativas dos efeitos e ponderadores dos SNPs foram calculados através do processo iterativo nos passos 4-6. As interações aumentam os valores dos SNPs que possuem grandes efeitos e diminui os valores dos SNPs que possuem pequenos efeitos.

A porcentagem da variância genética aditiva explicada pela i -th região foi calculada como abaixo:

$$\frac{Var(a_i)}{\sigma_a^2} \times 100 = \frac{Var(\sum_{j=1}^{10} Z_j \hat{u}_j)}{\sigma_a^2} \times 100$$

onde a_i é o valor genético da i -th região que consiste de 10 SNPs contínuos, σ_a^2 é o total da variância genética aditiva, Z_j é o vetor do gene presente no j -th SNP para todo os indivíduos, e $\hat{u}_j$ é o efeito do marcador no i -th SNP dentro da i -th região.

4.6 Prospecção de genes

Para determinar as possíveis regiões de QTL, foram selecionados os segmentos que explicassem valores iguais ou superiores a 1% da variância genética aditiva. Para identificação e posicionamento dos segmentos selecionados no genoma bovino foi realizado um levantamento no banco de dados disponíveis no “www.ncbi.nlm.nih.gov” - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) na versão UMD3.1 do genoma bovino e Ensembl Genome Browser (<http://www.ensembl.org/index.html>). Nestes bancos de informações foi possível identificar os segmentos contendo genes ou próximos à genes que pudessem

explicar a variabilidade na expressão de tais características. A classificação dos genes quanto à função biológica foi realizada no website DAVID (David Bioinformatics Resource Project, <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>). A identificação das vias metabólicas e o enriquecimento de genes (Gene Ontology e KEEG pathways) também foi realizado no website DAVID, a partir das anotações dos genes no banco de dados Ensembl.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estimativas de parâmetros genéticos

As estatísticas descritivas para as características de conversão, consumo e ganho de peso são apresentadas na Tabela 1. Os valores médios para as características de conversão e consumo encontrados neste estudo são semelhantes aos relatados por Nkrumah et al. (2004), Grion et al. (2014) e Nascimento et al. (2015). Os estudos realizados por Grion et al. (2014) e Nascimento et al. (2015) utilizaram animais da raça Nelore, em locais com o mesmo clima do estudo em análise.

Tabela 1 – Média, desvio padrão (DP) e estimativas de variância genética aditiva (σ_a^2) e residual (σ_e^2) para as características eficiência de conversão alimentar (kg MS /kg) consumo alimentar residual (kg MS/ dia), consumo de matéria seca (kg MS) e ganho de peso (kg/dia) obtidas para 896 animais.

Característica ¹	N	Média (DP)	σ_a^2	σ_e^2
EA	896	0,15 (0,03)	$6,01 \times 10^{-5}$ ($4,2 \times 10^{-5}$)	0,0004 ($3,0 \times 10^{-5}$)
GP	896	1,00 (0,26)	0,01 (0,002)	0,014 (0,001)
CMS	896	6,70 (1,24)	0,01 (0,002)	0,014 (0,001)
CAR	896	0,0015 (0,60)	0,06 (0,02)	0,28 (0,02)

¹EA: eficiência alimentar; GP: ganho de peso; CA: consumo alimentar; CAR: consumo alimentar residual.

A convergência para todas as estimativas de parâmetros foi verificada por inspeção gráfica e os testes de convergência de Geweke e Porter-Whitley (GEWEKE, PORTER-WHITLEY, 1999), Heidelberger e Welch (HEIDELBERGER, WELCH, 1983). Portanto, o período de burn-in considerado foi suficiente para atingir a convergência de todos os parâmetros estimados. As distribuições marginais posteriores das estimativas herdabilidade para as características de conversão, consumo e ganho de peso apresentaram

valores acurados, com distribuição normal (Tabela 2). As distribuições simétricas das medidas de tendência central são indicativas de que as análises apresentam elevada acurácia de precisão. Em geral, as amostras obtidas não apresentaram grandes variações, ou seja, as oscilações de cada componente de (co)variância permaneceram estáveis, e o comprimento da cadeia utilizado foi adequado e permitiu a convergência da cadeia.

Tabela 2 - Estatística descritiva e intervalo de alta densidade (HPD) da distribuição *a posteriori* das estimativas de herdabilidade para as características de conversão, consumo e ganho de peso.

Característica²	Média	Mediana	SD	¹HPDi	HPDs
EA	0,13	0,13	0,06	0,03	0,23
GP	0,43	0,43	0,05	0,33	0,53
CMS	0,47	0,47	0,05	0,37	0,57
CAR	0,18	0,18	0,05	0,07	0,27

¹HPDi: limite inferior de 95% HPD; HPDs: limite superior de 95% HPD; ²EA: eficiência alimentar; GP: ganho de peso; CA: consumo alimentar; CAR: consumo alimentar residual.

A estimativa de herdabilidade obtida no presente estudo para eficiência alimentar (EA) foi de baixa magnitude. Santana et al. (2014a) e Berry e Crowley (2011) encontraram estimativas de herdabilidade moderada para eficiência alimentar (0,30). Para ganho de peso, a herdabilidade estimada foi moderada a alta. Baldi et al. (2011) em estudo com animais da raça Nelore e de idade próxima a dos animais em análise, encontraram estimativa de herdabilidade menor para ganho de peso durante o teste de desempenho (0,21). A estimativa de herdabilidade para o consumo alimentar foi de magnitude moderada a alta. Estimativa de herdabilidade semelhante (0,47) para consumo alimentar foi relatado por Bolormaa et. al (2013) com animais taurinos e zebuínos. A estimativa de herdabilidade para CAR foi de moderada magnitude (0,18). No entanto, há variações nas estimativas de herdabilidade reladas na literatura para CAR, em virtude de diversos fatores como: a

metodologia empregada, a diferença na quantidade de informações utilizadas, fator ambiental, bagagem genética da população estudada, composição da dieta ofertada aos animais, raça. Neste sentido, Grion et. al (2014), para animais Nelore mantidos em baias individuais para mensuração da característica obtiveram uma estimativa de $0,33(\pm 0,10)$. Bolormaa et. al (2013) obtiveram estimativas de herdabilidade superiores para CAR (0,36), em estudo com 9 rebanhos com animais *Bos taurus* e *Bos indicus*, e cruzamento entre eles, e Savietto et. al (2014) também relataram estimativas superiores (0,41).

As estimativas de herdabilidade para GMD e CMS indicam que estas características devem responder rapidamente à seleção. Os resultados do presente estudo permitem afirmar que existe variabilidade genética para selecionar animais mais eficientes em termos de conversão alimentar, e que a resposta à seleção para CAR será superior em relação a EA.

5.2 Análises de associação genômica

As janelas de regiões de SNPs que explicaram mais de 1% da variância genética aditiva foram utilizadas na busca por genes candidatos. Foram encontradas, no total, 51 janelas que explicaram mais de 1% da variância genética aditiva para as quatro características consideradas.

5.2.1 Eficiência alimentar

Para eficiência alimentar foram encontradas 14 regiões genômicas que explicam mais de 1% da variação genética aditiva em diferentes cromossomos (Tabela 3; Figura 1), sendo uma delas presente no BTA1, na posição 100 MB, a qual apresentou dois genes candidatos: *GOLIM4* e *SERPINI1*. O gene *GOLIM4* codifica uma proteína de membrana integral encontrada no Complexo de Golgi, que é a organela principal na via secretora em células eucarióticas (STARR, WILLIAMS, STORRIE; 2007). No cromossomo BTA4 na posição 26 Mb, os genes candidatos

PRPS1L1 e *HDAC9*. O gene *HDAC9* é codificante de uma enzima histona desacetilase, que está relacionada a fator de transcrição. A região genômica no cromossomo BTA7 na posição 78 Mb, explicando a maior variação genética aditiva para a característica, de 7,74%, não apresentou nenhum gene candidato associado à característica (figura 1). No BTA8 na posição 77 Mb, dois genes candidatos foram identificados *RASEF* e *FRMD3*. O gene *RASEF* codifica proteína de ligação a GTP e ligação de íons de cálcio, envolvidos na regulação de tráfego de membrana. No mesmo cromossomo, na posição 103 Mb, sete genes candidatos foram associados (*SUSD1*, *PTBP3*, *HSDL2*, *KIAA1958*, *INIP*, *SNX30* e *SLC46A2*).

No cromossomo BTA10, na janela posicionada no início do cromossomo, 2 Mb, os genes candidatos associados foram *NREP*, *YTHDC2* e *KCNN2*. O gene *KCNN2* tem relação com a atividade nos canais cálcio/potássio. Canais de Ca/K presente no citosol modulam as concentrações nos tecidos, por meio de regulação de potencial de membrana; e quando presente no fígado, acredita-se desempenhar um papel na resposta ao stress metabólico (SHAKKOTTAI et al., 2001). Na posição 1.7 Mb, no cromossomo BTA11, nove genes foram encontrados (*ACOXL*, *BUB1*, *TPC3*, *NPHP1*, *MALL*, *MRPS5*, *ZNF514*, *ZNF2* e *PROM2*). E na posição 9 Mb do mesmo cromossomo (BTA11), outros sete genes candidatos foram listados: *MRPS9*, *GPR45*, *TGFBRAP1*, *FHL2*, *TACR1*, *POLE4* e *HK2*. O gene *GPR45*, faz parte de uma família receptores presente nas proteínas G, e em estudos com humanos e camundongos, demonstraram genes da família GPR, são predominantemente expressos com funções na região cerebral (KAWASAWA et al., 2000).

Os genes *SF3B3*, *COG4*, *FUK*, *ST3GAL2* e *AARS* foram identificados no cromossomo BTA18, próximos da região 1700 Kb. O gene *COG4* é expresso no Complexo de Golgi, desempenhando funções relacionadas à secreção (STARR, WILLIAMS, STORRIE; 2007). No mesmo cromossomo, na posição 60 Mb, foram identificados dois genes. Sendo eles, *ZNF677* e *ZNF729* codificam proteínas de ligação do tipo *Zinc Fingers*. Esse tipo de proteína é caracterizada por coordenação e estabilização de íons de zinco em diversos processos de troca iônica (SANTANA et. al, 2014b).

No cromossomo BTA20 apenas uma região foi encontrada, na posição 71 Mb, onde sete genes candidatos foram localizados: *CEP72*, *SLC9A3*, *EXOC3*, *PDCD6*, *SDHA*, *CCDC127* e *LRRRC14B*. O gene *SLC9A3* tem função de regular o pH, eliminando os ácidos produzidos pelo próprio metabolismo do organismo. A região identificada no BTA21 (5,6 Mb) apresentou 5 genes candidatos associados (*GABRG3*, *VIMP*, *CHSY1*, *LRRK1* e *ALDH1A3*). No BTA22, apresentou 6 genes associados, *FRMD4B*, *LMOD3*, *ARL6IP5*, *UBA3*, *TMF1* e *EOGT*. Já no BTA27, a região genômica associada, não apresentou nenhum gene, dado que é uma região intergênica.

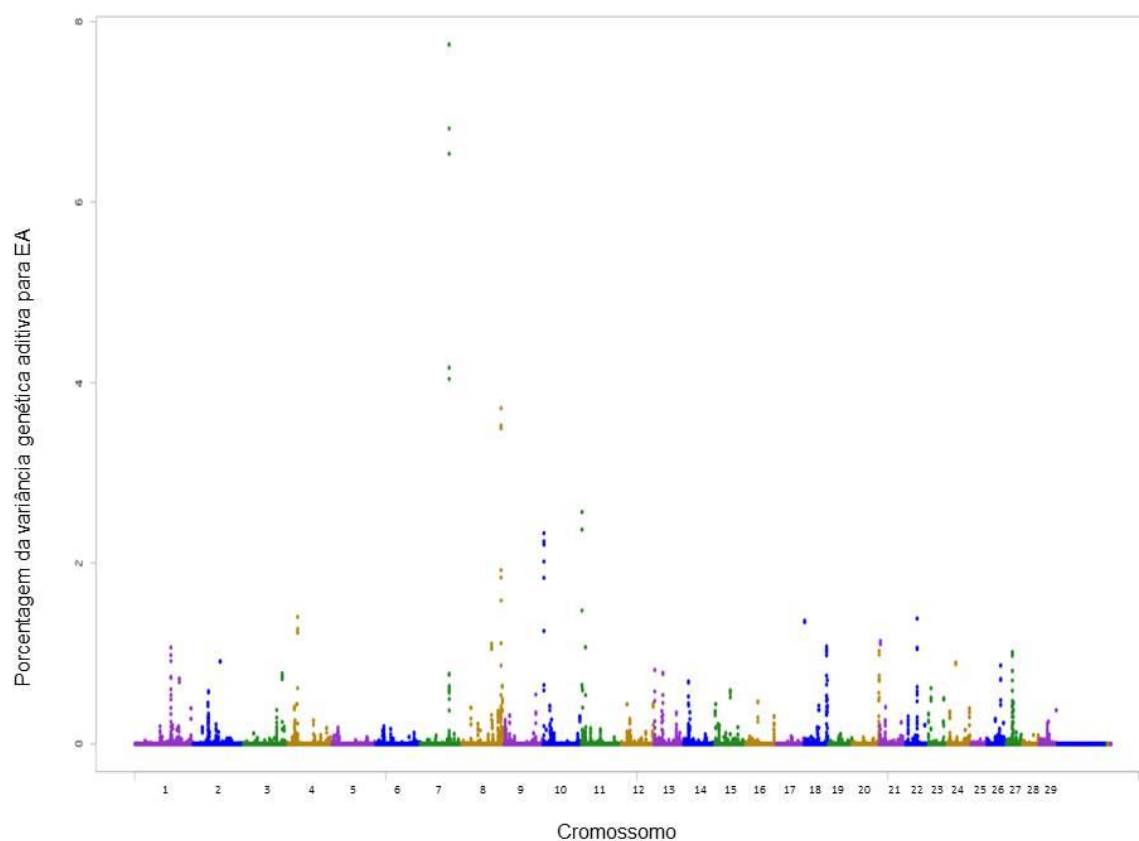


Figura 1 – Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para eficiência alimentar

Tabela 3 - Regiões genômicas associadas à eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore, porcentagem da variância genética aditiva e genes candidatos.

Região genômica	% Variância genética aditiva explicada	Gene candidato
BTA1: 100.014.690 – 100.024.850	1,06	<i>GOLIM4</i> <i>SERPINI1</i>
BTA4: 26.970.205 – 27.013.467	1,40	<i>PRPS1L1</i> <i>HDAC9</i>
BTA7: 78.617.232 – 78.676.806	7,74	-
BTA8: 77.932.482 – 77.966.961	1,10	<i>RASEF, FRMD3</i> <i>UBQLN1, GKAP1</i>
BTA8: 103.636.023 – 103.659.024	3,71	<i>SUSD1, PTBP3, HSDL2</i> <i>KIAA1958, INIP</i> <i>SNX30, SLC46A2</i>
BTA10: 2.532.364 – 2.549.937	2,33	<i>NREP, YTHDC2,</i> <i>KCNN2</i>
BTA11: 1.706.353 – 1.734.496	2,56	<i>ACOXL, BUB1, TPC3,</i> <i>NPHP1, MALL, MRPS5,</i> <i>ZNF514, ZNF2, PROM2</i>
BTA11: 9.544.481 – 9.586.492	1,07	<i>MRPS9, GPR45,</i> <i>TGFBRAP1,</i> <i>FHL2, TACR1, POLE4,</i> <i>HK2</i>
BTA18: 1.701.547 – 1.715.218	1,36	<i>SF3B3, COG4, FUK,</i> <i>ST3GAL2, DDX19A,</i> <i>AARS</i>

Região genômica	% Variância genética aditiva explicada	Gene candidato
BTA18: 60.373.325 – 60.390.691	1,08	<i>ZNF677</i> <i>ZNF729</i>
BTA20: 71.942.837 – 71.992.748	1,03	<i>CEP72, SLC9A3, EXOC3</i> <i>PDCD6, SDHA</i> <i>CCDC127, LRRC14B</i>
BTA21: 5.696.944 – 5.706.720	1,14	<i>GABRG3, VIMP, CHSY1</i> <i>LRRK1, ALDH1A3</i>
BTA22: 32.257.185 – 32.272.017	1,38	<i>FRMD4B, LMOD3</i> <i>ARL6IP5, UBA3</i> <i>TMF1, EOGT</i>
BTA27: 17.329.309 – 17.350.208	1.02	-

Para eficiência alimentar os resultados nas análises de enriquecimento, os clusters funcionais encontrados foram para nucleotídeos de ligação, Complexo de Golgi, transporte de proteínas e acetilação (Apêndice A). As vias metabólicas enriquecidas por esses genes estão vinculadas ao metabolismo de carboidratos. Polissacarídeos de 6 carbonos como a frutose e manose são açúcares intermediários na via glicolítica, processo de degradação da glicose, que é a principal fonte de energia para todos os tipos celulares de mamíferos, nos quais é responsável pelo abastecimento de ATP, em condições aeróbicas e anaeróbicas (MACHADO, 1998) (Tabela 4).

Tabela 4 – Análise de enriquecimento (GO terms e KEGG) via DAVID database para eficiência alimentar

Categoria	Termo	Quantidade genes	%	p-valor	*FDR (%)
INTERPRO	Proteína ribossomal	3	7,0	4,9E-4	0,52
GOTERM_CC_FAT	Parte do Complexo de Golgi	4	9,3	4,1E-3	4,09
SMART	KRAB	3	7,0	1,3E-2	8,26
GOTERM_CC_FAT	Complexo de Golgi	5	11,6	1,3E-2	12,69
GOTERM_MF_FAT	ATP de ligação	8	18,6	1,6E-2	15,60
GOTERM_MF_FAT	Adenina – nucleotídeo de ligação	8	18,6	1,6E-2	16,27
GOTERM_MF_FAT	Purina – nucleotídeo de ligação	9	20,9	1,8E-2	17,76
GOTERM_MF_FAT	Ribonucleotídeo de ligação	9	20,9	1,8E-2	17,76
GOTERM_CC_FAT	Membrana – Complexo de Golgi	3	7,0	2,0E-2	18,68
GOTERM_MF_FAT	Adenina – nucleotídeo de ligação	8	18,6	2,1E-2	20,81
GOTERM_MF_FAT	Purina – nucleotídeo de ligação	8	18,6	2,2E-2	21,69
INTERPRO	Krueppl – caixa associada	3	7,0	2,3E-2	21,83
GOTERM_MF_FAT	Purina – nucleotídeo de ligação	9	20,9	2,3E-2	22,22
GOTERM_MF_FAT	Nucleosídeo de ligação	8	18,6	2,3E-2	22,23
GOTERM_MF_FAT	Soluto: atividade antiporte de hidrogênio	2	4,7	4,0E-2	35,60
GOTERM_CC_FAT	Sistema endomembranar	4	9,3	4,4E-2	36,55
GOTERM_MF_FAT	Soluto: Atividade antiporte de cátion	2	4,7	4,8E-2	41,03
GOTERM_MF_FAT	Nucleotídeo de ligação	9	20,9	5,7E-2	46,75
KEGG_PATHWAY	Metabolismo de frutose e manose	2	4,7	6,5E-2	43,52
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-tipo/integrase, DNA de ligação	3	7,0	6,7E-2	52,09
SMART	ZnF_C2H2	3	7,0	7,1E-2	39,18

Categoria	Termo	Quantidade genes	%	p-valor	*FDR (%)
GOTERM_MF_FAT	Soluto na atividade antiporte	2	4,7	7,8E-2	58,56
GOTERM_MF_FAT	Atividade antiporte	2	4,7	8,6E-2	62,06
KEGG_PATHWAY	Metabolismo de açúcares (Amino açúcar)	2	4,7	9,0E-2	55,11

*FDR (%) = porcentagem de falsos positivos (False Discovery Rate)

5.2.2 Ganho de peso

As dezoito regiões genômicas, distribuídas em 14 diferentes cromossomos, que explicam mais de 1% da variação genotípica para ganho de peso foram utilizadas na busca de genes candidatos (Tabela 5; Figura 2). A primeira janela, localizada no BTA1, na posição 75 Mb, apresentou apenas dois genes candidatos associados (*MB21D2* e *FGF12*). Já a segunda janela, no cromossomo BTA3 (85 Mb), apenas o gene *NFIA* encontrado. No cromossomo BTA5, foram localizadas três regiões genômicas, nas posições 14, 15 e 17 Mb, com 17 genes candidatos. Localizada no cromossomo BTA6, na posição 118 Mb, os genes *CCDC96*, *TADA2B*, *GRPEL1*, *SORCS2* e *PSAPL1*.

Os genes *OR52J3* e *OR51A7*, encontrados no BTA15 codificam receptores olfativos. A região 27 Mb do BTA16 apresentou três genes, *CAPN8*, *CAPN2* e *TP53BP2*; os dois primeiros codificam subunidades da enzima calpaína. A calpaína é uma enzima que está relacionada a maciez da carne bovina no pós-morte (GOLL et al., 1992). No BTA18, na posição 49 Mb, a região genômica identificada é a que explica uma maior proporção da variância genética aditiva para a característica, de 6,07%. Dos dez genes candidatos encontrados nessa janela, três deles (*MAP3K10*, *CNTD2* e *AKT2*) codificam proteínas quinases, as quais pertencem a maior família de proteínas em eucariotos, catalisam a fosforilação de proteínas através da transferência de ATP e são a chave central da comunicação no controle intracelular, regulação e transdução de sinais (SILVA et. al, 2009).

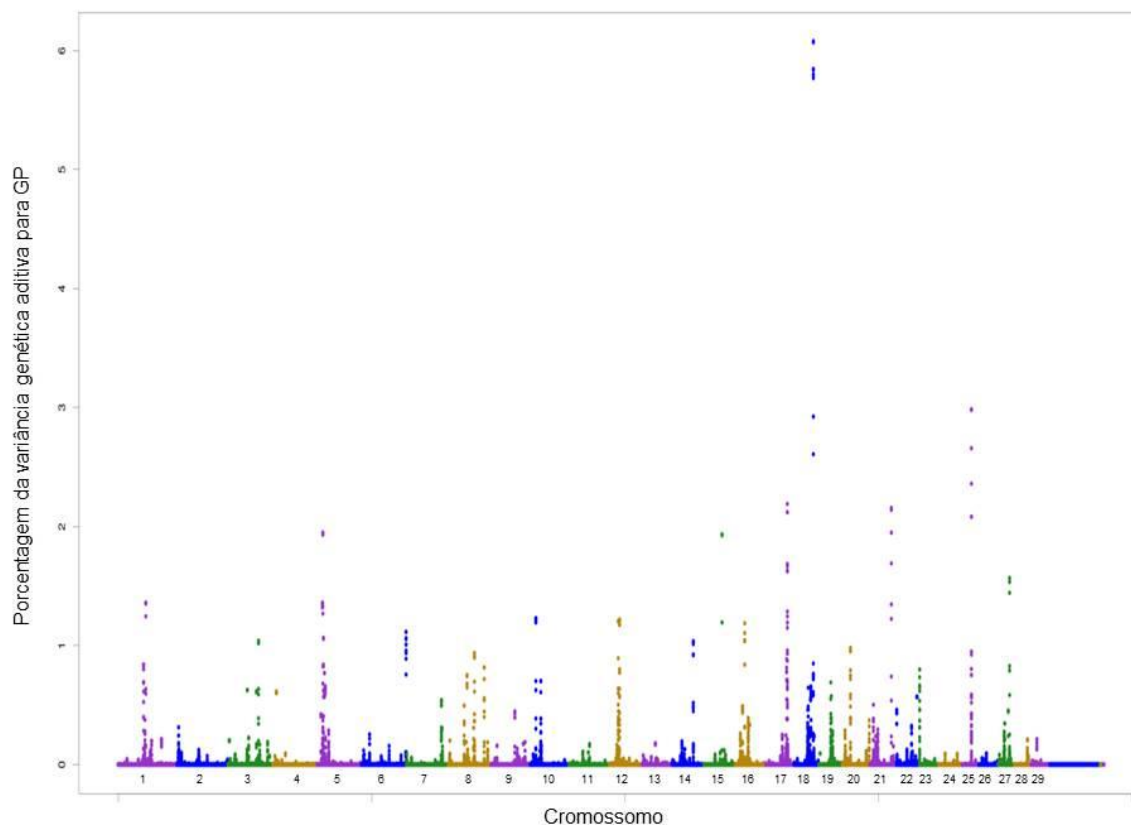


Figura 2 – Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para ganho de peso

Tabela 5 - Regiões genômicas associadas à ganho de peso em bovinos da raça Nelore, porcentagem da variância genética aditiva e genes candidatos

Região genômica	% Variância genotípica explicada	Gene candidato
BTA1: 75.584.269 – 75.618.069	1,35	<i>MB21D2</i> <i>FGF12</i>
BTA3: 85.425.169 – 85.443.413	1,04	<i>NFIA</i>
BTA5: 14.731.575 – 14.763.359	1,35	<i>SLC6A15, TSPAN19,</i> <i>LRRIQ1</i>

Região genômica	% Variância genotípica explicada	Gene candidato
BTA5: 15.830.784 – 15.847.523	1,94	<i>RASSF9, NTS,</i> <i>MGAT4C</i>
BTA5: 17.563.565 – 17.596.734	1,06	<i>CEP290</i> <i>TMTC3</i>
BTA6: 118.707.394 – 118.729.013	1,11	<i>CCDC96, TADA2B,</i> <i>GRPEL1,</i> <i>SORCS2, PSAPL1</i>
BTA10: 12.891.097 – 12.898.777	1,22	<i>SLC24A1, DENND4A,</i> <i>RAB11A</i> <i>MEGF11, DIS3L, TIPIN</i>
BTA12: 22.039.454 – 22.083.431	1,20	<i>SLC25A15, MRPS31,</i> <i>FOXO1</i>
BTA12: 25.358.539 – 25.400.371	1,21	<i>CCNA1, SPG20,</i> <i>CCDC169,</i> <i>SOHLH2, DCLK1</i>
BTA14: 56.996.809 – 57.030.553	1,03	<i>KCNV1, SYBU, EBAG9,</i> <i>PKHD1L1, ENY2,</i> <i>NUDCD1, TRHR</i>
BTA15: 50.448.739 – 50.491.730	1,93	<i>OR52J3</i> <i>OR51A7</i>
BTA16: 27.811.695 – 27.823.039	1,18	<i>CAPN8, CAPN2,</i> <i>TP53BP2</i>
BTA17: 58.907.025 – 58.919.312	2,19	<i>SRRM4, SUDS3,</i> <i>TAOK3</i>

Região genômica	% Variância genotípica explicada	Gene candidato
BTA18: 49.844.762 – 49.864.296	6,07	<i>LEUTX, DYRK1B, FBL, PSMC4, FCGBP, MAP3K10, TTC9B, CNTD2, AKT2, PLD3</i>
BTA21: 58.239.214 – 58.254.496	2,15	<i>LGMM, GOLGA5, CHGA, ITPK1</i>
BTA25: 23.226.474 – 23.258.055	2,98	<i>LCMT1, AQP8, ZKSCAN2</i>
BTA27: 32.802.856 – 32.822.191	1,56	<i>ZNF703, ERLIN2, PROSC, BRF2, RAB11FIP1, GOT1L1, ADRB3, EIF4EBP1</i>

Para as análises de enriquecimento para ganho de peso, os clusters funcionais obtidos pela ferramenta DAVID têm relação com o catabolismo de macromoléculas, transcrição, proteína quinase e nucleotídeos de ligação (Apêndice B). Os genes que participam do enriquecimento das vias metabólicas estão relacionados a endocitose (transporte extracelular) e foram significativos (p-valor < 0,05; colocar valor máximo de FDR) à fusão de mioblastos, que são células precursoras de fibras musculares, e formação de sincícios(células multinucleares) (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise de enriquecimento (GO terms e KEGG) via DAVID database para ganho de peso, quantidade de genes identificados

Categoria	Termo	Quantidade genes	%	p-valor	*FDR (%)
GOTERM_BP_FAT	Fusão de mioblastos	2	3,9	8,9E-2	10,94
GOTERM_BP_FAT	Formação de sincício pela fusão de membrana no plasma	2	3,9	8,9E-2	10,94
GOTERM_BP_FAT	Formação de sincícios	2	3,9	1,2E-2	14,31
SP_PIR_KEYWORDS	Ativador	4	7,8	1,5E-2	15,10
GOTERM_BP_FAT	Diferenciação miotubo	2	3,9	1,8E-2	20,68
SP_PIR_KEYWORDS	Transporte	8	15,7	3,7E-2	29,78
GOTERM_MF_FAT	Ativador de transcrição	3	5,9	3,7E-2	34,71
KEGG_PATHWAY	Endocitose	3	5,9	6,8E-2	47,44
GOTERM_CC_FAT	Cromatina nuclear	2	3,9	7,3E-2	55,69
GOTERM_BP_FAT	Processo vascular em sistema circulatório	2	3,9	8,8E-2	69,84
GOTERM_BP_FAT	Regulação do tamanho dos vasos sanguíneos	2	3,9	8,8E-2	1,0E0

Categoria	Termo	Quantidade genes	%	p-valor	*FDR (%)
GOTERM_BP_FAT	Regulação do tamanho do tubo	2	3,9	8,8E-2	1,0E0
GOTERM_BP_FAT	Desenvolvimento de blastocisto	2	3,9	9,6E-2	9,9E-1
UP_SEQ_FEATURE	domínio topológico: citoplasmático	7	13,7	9,9E-2	1,0E0

*FDR (%) = porcentagem de falsos positivos (False Discovery Rate)

5.2.3 Consumo de matéria seca

Para o consumo de matéria seca, foram encontradas oito janelas que explicaram acima de 1% da variância genética aditiva (Tabela 7; Figura 3). A primeira região genômica foi localizada no cromossomo BTA4, onde apenas um gene candidato foi associado à característica (*NXPH1*). No cromossomo BTA9 na posição 34 Mb, explicando 3,40% da variância genética aditiva, foram identificados os genes *RFX6*, *GPRC6A*, *FAM162B*, *KPNA5* e *ZUFSP*. O gene *RFX6* está relacionado à regulação da transcrição; estudos em camundongos sugeriram que este gene atua na diferenciação de células para a produção de insulina. Na posição 38 MB, do cromossomo BTA11, dois genes associados à característica foram encontrados (*EFEMP1* e *CCDC85A*).

No cromossomo BTA15, na posição 46 Mb, foram localizados genes candidatos que desempenham papéis de receptores olfativos, que acoplados à proteínas G, reconhecem e são mediadores dos sinais olfativos (*OR2D2*, *OR2D3*, *OR10A4*,); os genes *ZNF214* e *ZNF215* estão relacionados ao sistema de transporte de íons e o gene *NLRP14*, codifica uma proteína com atividade relacionada ao sistema imune do animal. No cromossomo BTA18, foram identificadas três regiões genômicas; na posição 30 Mb apenas um gene candidato encontrado (*CDH8*), na

posição 59 Mb os genes candidatos identificados são denominados LOC e estão relacionados com *zinc finger*, e na posição 62 Mb foram 12 genes (*CACNG7*, *CACNG6*, *VSTM1*, *NLRP9*, *EPN1*, *CCDC106*, *ZNF581*, *ZNF580*, *ZNF784*, *ZNF865*, *ZNF524* e *FIZ1*). Dentre os doze, *CACNG7* e *CACNG6* estão relacionados aos canais de cálcio.

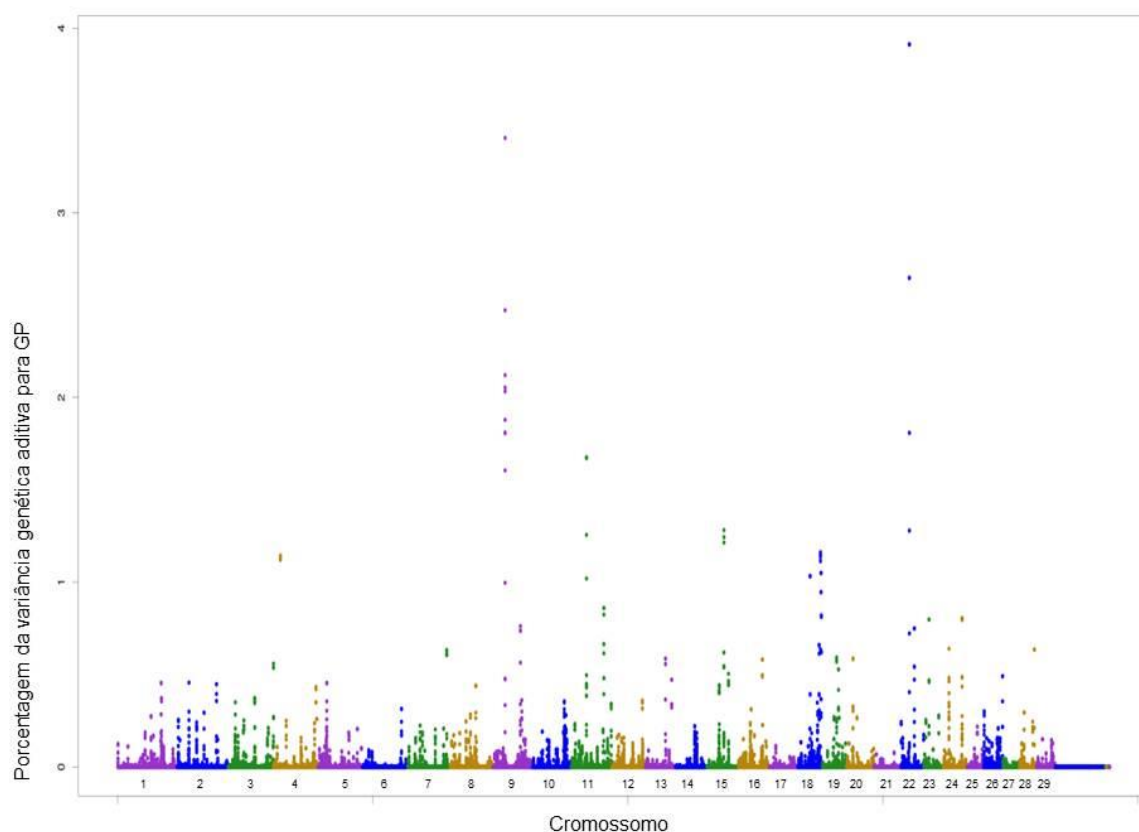


Figura 3 - Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para consumo de matéria seca.

Tabela 7 - Regiões genômicas associadas a consumo de matéria seca em bovinos da raça Nelore, porcentagem da variância genética aditiva e genes candidatos.

Região genômica	% Variância genética aditiva explicada	Gene candidato
BTA4: 18.396.753 – 18.454.503	1,14	<i>NXPH1</i>
BTA9: 34.179.212 – 34.214.753	3,40	<i>RFX6, GPRC6A, FAM162B, KPNA5, ZUFSP</i>
11: 38855270 - 38866761	1,67	<i>EFEMP1 CCDC85A</i>
15: 46004031 - 46020475	1,28	<i>RBMXL2, NLRP14, ZNF214, ZNF215, OR2D3, OR2D2, OR6A2</i>
18: 30155178 - 30173492	1,03	<i>CDH8</i>
18: 59395113 - 59459056	1,16	<i>LOC 100847180 LOC100336734 LOC515089 LOC787858</i>
18: 62231299 - 62270553	1,04	<i>CACNG6, CACNG7, VSTM1, NLRP9, EPN1, CCDC106, ZNF581, ZNF580, ZNF784, ZNF865, ZNF524, FIZ1</i>

Região genômica	% Variância genética aditiva explicada	Gene candidato
22: 22890737 - 22906113	3,91	<i>LRRN1, CRBN,</i> <i>TRNT, IL5RA,</i> <i>CNTN4</i>

Os resultados nas análises de enriquecimento do cluster funcional, mostraram que para consumo de matéria seca existem genes que participam de funções relacionadas à transporte de íons (Apêndice C) e para vias metabólicas (Tabela 8) mostram que os termos significativos (p -valor $< 0,05$) apresentam genes que codificam um domínio proteico conhecido como *zinc finger*, que atua como elemento estrutural nas proteínas. O zinco é fundamental para várias vias de sinalização metabólicas e celulares, participa na síntese de DNA e RNA e na divisão e ativação celular, além de ser indispensável para resposta imune (SANTOS, FONSECA; 2012).

Tabela 8 – Análise de enriquecimento (GO terms e KEGG) via DAVID database para consumo de matéria seca, porcentagem da variância genética aditiva e genes candidatos.

Categoria	Termo	Quantidade genes	%	p-valor	*FDR (%)
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-tipo	3	15,8	1,7E-2	13,64
INTERPRO	Zinc finger, como C2H2	3	15,8	1,8E-2	14,28
SMART	ZnF_C2H2	3	15,8	2,6E-2	14,87

Categoria	Termo	Quantidade genes	%	p- valor	*FDR (%)
UP_SEQ_FEATURE	repeat:LRR 5	2	10,5	3,5E-2	26,74
UP_SEQ_FEATURE	repeat:LRR 4	2	10,5	3,8E-2	29,00
UP_SEQ_FEATURE	repeat:LRR 3	2	10,5	4,4E-2	32,47
UP_SEQ_FEATURE	repeat:LRR 2	2	10,5	4,7E-2	34,14
UP_SEQ_FEATURE	repeat:LRR 1	2	10,5	4,7E-2	34,14
SP_PIR_KEYWORDS	Repetição rica em leucina	2	10,5	8,0E-2	46,33

*FDR (%) = porcentagem de falsos positivos (False Discovery Rate)

5.2.4 Consumo alimentar residual

Um total de 12 janelas de SNPs ou regiões genômicas que tenha explicado mais que 1% da variância genética aditiva foram usadas para procurar genes candidatos (Tabela 9; Figura 4). Estas regiões estão distribuídas nos cromossomos BTA1, BTA4, BTA7, BTA8, BTA10, BTA18, BTA21, e BTA24. Mujibi et al. (2011) em estudo com bovinos mestiços, encontraram 11 janelas de SNPs associadas ao CAR. Santana et al. (2014b), em estudos de associação genômica para consumo alimentar e CAR com bovinos da raça Nelore, utilizando duas densidades diferentes de chips, encontraram apenas duas janelas associadas ao CAR, localizadas nos BTA8 e BTA21.

Em associação com a característica em questão, alguns dos genes candidatos encontrados no presente estudo, são codificadores proteínas envolvidas no sistema de transporte de íons. Esse sistema pode responsável por consumir mais que 10% da energia gasta em ruminantes; portanto, animais com menor gasto de energia para manutenção desse sistema, poderá redirecionar energia para ser gasta em outros processos, o que poderá influenciar a eficiência alimentar (SANTANA et.

al, 2014b). Explica o fato de grande parte dos genes encontrados possuir algum tipo de relação com o transporte de íons, como os *ZIC1* e *ZIC4*, localizados no cromossomo BTA1 na janela de 121 Mb, janela com maior valor que explica a variação genética aditiva (5,67%)(Tabela 5); tais genes codificam subunidades de proteínas que dependem de íons de zinco para obterem estabilidade. Outros genes também estão relacionados ao sistema de transporte de íons como *GPR98*, *KCNV2* (atua nos canais do potássio)e *ZDHHC7*.

No cromossomo BTA4, dos oito genes candidatos que foram encontrados, três estão ligados à percepção dos alimentos: *TAS2R3* e *TAS2R4* que estão relacionados ao paladar, pois codificam receptores gustativos e o gene *OR9A*, que codifica receptores olfativos. Outra região no BTA4 (118 Mb) apresentou seis genes candidatos associados foram encontrados. O gene *LMBR1* presente nesta região, codifica uma proteína de membrana. Além disso, outros genes candidatos codificam proteínas com funções biológicas associadas com diversos processos celulares, como: transcrição (*POLR3G* e *TBPL2*), secreção celular (*KTN1* e *GOLIM4*), e transporte através de membranas (*TMEM178B* e *AGK*). A região identificada no cromossomo BTA21, com porcentagens da variância genética aditiva de 2,18%, não apresentou nenhum gene candidato próximo à região que está associada à característica (Figura 4).

Tabela 9 - Regiões genômicas associadas a consumo alimentar residual (CAR) em bovinos da raça Nelore, porcentagem da variância genética aditiva e genes candidatos.

Região genômica	% Variância genética aditiva explicada	Gene candidato
BTA1: 100.014.690 – 100.024.850	2,07	<i>GOLIM4</i> <i>SERPINI1</i>
BTA1: 121.639.147 – 121.673.712	5,67	<i>ZIC1</i> <i>ZIC4</i>

Região genômica	% Variância genética aditiva explicada	Gene candidato
BTA4: 105.904.240 – 105.916.649	1,03	<i>TMEM178B</i> , <i>AGK</i> , <i>KIAA1147</i> , <i>SSBP1</i> , <i>TAS2R3</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>PRSS37</i> , <i>OR9A4</i>
BTA4: 118.565.156 – 118.604.811	1,70	<i>EN2</i> , <i>CNPY1</i> , <i>RBM33</i> , <i>SHH</i> , <i>RNF32</i> , <i>LMBR1</i>
BTA7: 92.477.585 – 92.509.554	2,81	<i>POLR3G</i> , <i>LYSMD3</i> , <i>GPR98</i>
BTA8: 41.938.966 – 41.956.731	1,75	<i>KIAA0020</i> <i>KCNV2</i>
BTA8: 103.619.063 – 103.646.388	3,07	<i>KIAA1958</i> <i>INIP</i>
BTA8: 103.659.024 – 103.677.483	1,19	<i>HSDL2</i> , <i>KIAA1958</i> , <i>INIP</i>
BTA10: 68.372.903 – 68.395.669	1,05	<i>FBXO34</i> , <i>ATG14</i> , <i>TBPL2</i> , <i>KTN1</i>
BTA18: 11.032.341 – 11.066.819	1,20	<i>CRISPLD2</i> , <i>ZDHHC7</i> , <i>KIAA0513</i> , <i>FAM92B</i>
BTA21: 18.152.308 – 18.161.649	2,18	-
BTA24: 59.463.065 – 59.493.043	3,55	<i>CCBE1</i> , <i>PMAIP1</i> , <i>MC4R</i>

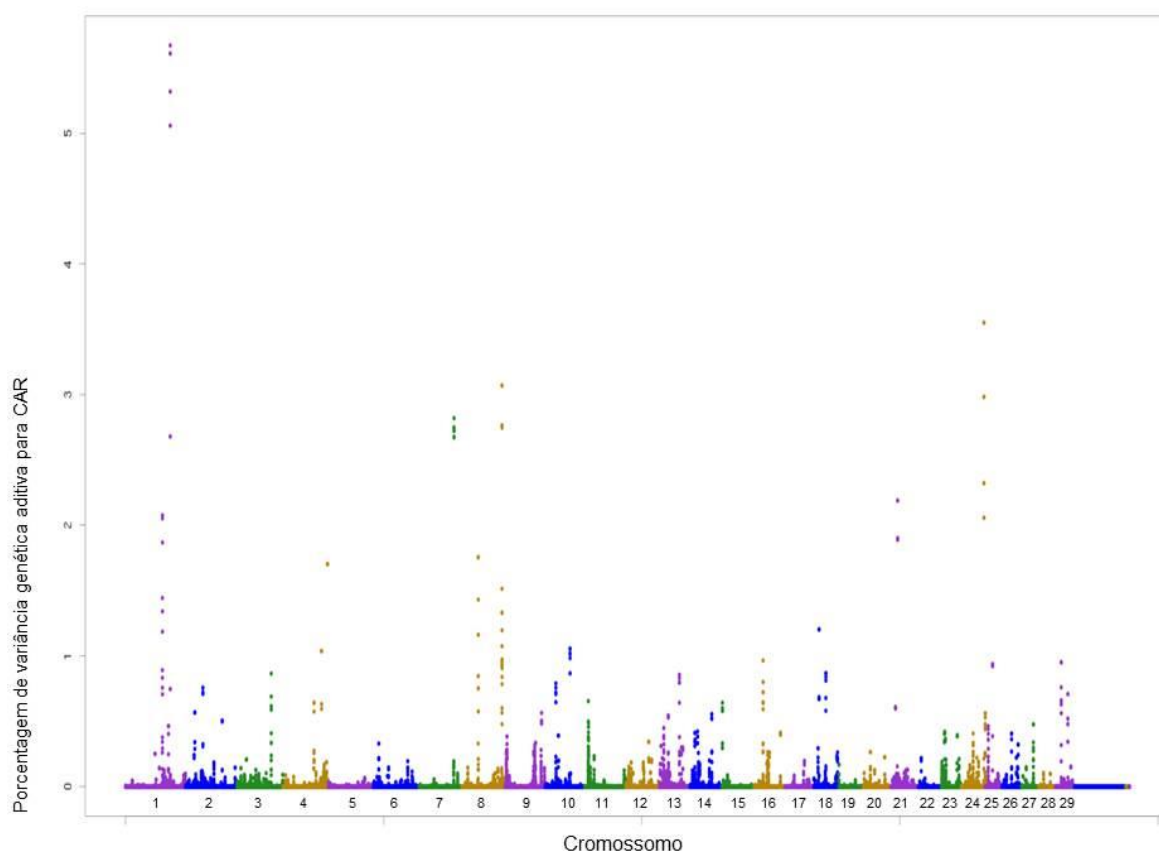


Figura 4 - Manhattan plot da variância genética aditiva explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para consumo alimentar residual.

Os resultados nas análises de enriquecimento das vias metabólicas indicaram que existem vários genes enriquecendo vias metabólicas e categorias funcionais relacionadas com o CAR. Os resultados que apresentaram valores significativos (p -valor $< 0,05$) possuem genes relacionados com receptores sensoriais e receptores acoplados à proteínas G. Esses receptores sensoriais atuam no paladar do animal na percepção do alimento (Tabela 10). O enriquecimento para cluster funcional para consumo alimentar residual, está vinculado com membranas celulares, relacionados ao equilíbrio termodinâmico da célula (Apêndice D). Este é um dos mecanismos mais decorrente de troca iônica, o que mantém a diferença de potencial celular é a bomba de sódio-potássio. Para um bom funcionamento termodinâmico da bomba de forma de manter o equilíbrio, é necessário o gasto de energia (ATP). Este gasto

energético com a bomba consome aproximadamente 25% do gasto energético basal de um indivíduo (LEAL, 2004).

Tabela 10 – Análise de enriquecimento (GO terms e KEGG) via DAVID database para consumo alimentar residual (CAR)

Categoria	Termo	Quantidade	%	p-valor	*FDR (%)
SP_PIR_KEYWORDS	Receptor acoplado à proteína G	3	13,0	8,1E-3	6,40
SP_PIR_KEYWORDS	Paladar	2	8,7	1,1E-2	8,26
SP_PIR_KEYWORDS	Transdutor de sinais	3	13,0	1,1E-2	8,58
INTERPRO	Receptor paladar de mamíferos	2	8,7	1,5E-2	11,27
GOTERM_BP_FAT	Percepção sensorial de paladar	2	8,7	3,0E-2	27,93
GOTERM_BP_FAT	Percepção sensorial do estímulo químico	2	8,7	3,9E-2	35,40
KEGG_PATHWAY	Transdução paladar	2	8,7	3,9E-2	22,81
GOTERM_BP_FAT	Receptor acoplado à proteína G via de sinalização de proteína	5	21,7	4,7E-2	40,53
SP_PIR_KEYWORDS	Transdução sensorial	2	8,7	4,7E-2	32,46

Categoria	Termo	Quantidade	%	p-valor	*FDR (%)
SP_PIR_KEYWORDS	Receptor	3	13,0	5,5E-2	36,81
GOTERM_BP_FAT	Receptor da superfície celular de transdução de sinal	5	21,7	9,3E-2	65,30

*FDR (%) = porcentagem de falso positivos (False Discovery Rate)

Neste estudo foram encontradas várias regiões próximas de QTL importantes associados ao ganho de peso, consumo alimentar, eficiência alimentar e consumo alimentar residual. Estas regiões abrigam possíveis genes candidatos, os quais estão envolvidos no metabolismo de energético e de proteínas, transporte iônico, transporte transmembranar, sistema olfativo, sistema imune, secreção (Complexo de Golgi) e atividade celular (multiplicação celular).

O grande número de regiões genômicas associadas com as características em estudo deverão auxiliar no entendimento dos mecanismo genéticos e fisiológicos que determinam o crescimento, o consumo e a eficiência de conversão alimentar em animais zebuínos. Os resultados obtidos mostram que provavelmente estas características em animais zebuínos estão controladas por muitos QTL de pequeno efeito, e a identificação de genes relevantes ou de grande efeito parece ser difícil, uma vez que para a maioria das características a contribuição de cada região ou janela para a variação genética aditiva foi pequena. Portanto, estratégias como a seleção genômica que utilizam ou consideram a variabilidade entre marcadores ao mesmo tempo seriam mais adequadas para a melhorar destas características.

No presente estudo foi utilizado uma grande base de dados de reprodutores que participam ou possuem progênes em vários programas de melhoramento genético de gado de corte, e que comercializam reprodutores para serem utilizado em várias regiões do país, portanto, a informação obtida deverá contribuir para a seleção de animais com maior eficiência de conversão alimentar e que sejam do ponto de vista ambiental e social mais sustentáveis.

6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que as características de eficiência alimentar, consumo e ganho de peso devem responder à seleção. Espera-se que a resposta à seleção seja maior quando o consumo alimentar residual é utilizado como critério de seleção para selecionar para animais mais eficientes em relação a utilizar eficiência alimentar.

Foram identificadas várias regiões genômicas associadas as características de eficiência de conversão, consumo alimentar e ganho de peso. A identificação de tais regiões e seus respectivos genes candidatos devem contribuir para a formação de uma base genética de bovinos Nelore, auxiliando na seleção de características de eficiência de conversão e consumo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANDERSON R. V., RASBY R. J., KLOPFENSTEIN T. J. e CLARK R. T. An evaluation of production and economic efficiency of two beef systems from calving to slaughter. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 694–704, 2005.

ARCHER, J. A.; RICHARDSON, E. C.; HERD, R. M.; et al. Potential for selection to improve efficiency of feed use in beef cattle: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 147-161, 1999.

ARTHUR, J. P. F.; HERD, R. M. Residual feed intake in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 269-279, 2008.

ARTHUR, P. F.; RENAND, G.; KRAUSS, D. Genetic and phenotypic relationships among different measures of growth and feed efficiency in young Charolais bulls. **Livestock Production Science**, v.68, p.131–139, 2001.

ARTHUR, P. F.; ARCHER, J. A.; JOHNSTON, D. J.; HERD, R. M.; RICHARDSON, E. C.; PARNELL, P. F. Genetic and phenotypic variance and covariance componentes for feed intake, feed efficiency, and other postweaning traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2805-2811, 2001.

BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G.; CYRILLO, J. N. S. G.; BRANCO, R. H.; OLIVEIRA, B. C. J.; MERCADANTE, M. E. Z. Genetic parameter estimates for live

weight and daily live weight gain obtained for Nellore bulls in a test station using diferente models. **Livestock Science**, v. 144, p. 148–156, 2012.

BENCHAAAR, C.; RIVEST, J.; POMAR, C.; CHIQUETTE, J. Prediction of methane production from dairy cows using existing mechanistic models and regression equations. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 617–627, 1998.

BERRY, D. P.; CROWLEY, J. J. Residual intake and body weight gain: A new measure of efficiency in growing cattle. **Journal os Animal Science**, v. 90, p. 109-115, 2011.

BOLORMAA, S.; PRYCE, J. E.; KEMPER, K. E.; HAYES, B. J.; ZHANG, Y.; TIER, B.; BARENDSE, W.; REVERTER, A.; GODDARD, M.E. Detection of quantitative trait loci in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using genome-wide association studies. **Genetics Selection Evolution**, v. 45, p. 43, 2013.

BOURDON, R. M. Understanding animal breeding. New Jersey: Colorado State University, 1997. 523p.

CAPELLE, E. R.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; CECON, P. R. Estimativas do consumo e do ganho de peso de bovinos, em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1857-1865, 2001.

CARDELLINO, R.A.; ROVIRA, J. **Mejoramiento genetico animal**. Montevideo: Editora Agropecuária Hemisfério Sur, 1987. 253p.

CASTILHOS, A. M.; BRANCO, R. H.; RAZOOK, A. G.; BONILHA, S. F. M.; MERCADANTE, M.E.Z.; FIGUEIREDO, L.A. Test post-weaning duration for performance, feed intake and feed efficiency in Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 2, p. 301-307, 2011.

CEACERO, T. M. **Correlação entre características de eficiência alimentar, de crescimento e de carcaça em bovinos Nelore**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, São Paulo, 2015.

COTA, O. L.; FIGUEIREDO, D. M.; BRANCO, R. H.; MAGNANI, E.; NASCIMENTO, C. F.; OLIVEIRA, L. F.; MERCADANTE, M. E. Z. Methane emission by Nellore cattle subjected to different nutritional plans. **Tropical Animal Health Production**, v. 46, p. 1229–1234, 2014.

CROWLEY, J. J.; McGEE, M.; KENNY, D. A.; CREWS JR., D. H.; EVANS, R. D.; BERRY, D. P. Phenotypic and genetic parameters for different measures of feed efficiency in different breeds of Irish performance-tested beef bulls. **Journal of Animal Science**. v. 88, p. 885-894, 2010.

DAVID - T, I y; 6 " em <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>. (acesso: 18/07/2015).

ENSEMBL GENOME BROWSER em <http://www.ensembl.org/index.html>. (acesso 18/07/2015).

GEWEKE, J. Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to calculating posterior moments. (Ed.) Bayesian statistics. New York: Oxford University, 1992. p.625-631

GIANOLA, D.; FERNANDO, R. L. Bayesian methods in animal breeding theory. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 217-244, 1986.

GRION, A. L.; MERCADANTE, M. E. Z.; CYRILLO, J. N. S. G.; BONILHA, S. F. M.; MAGNANI, E.; BRANCO, R. H. Selection for feed efficiency traits and correlated genetic responses in feed intake and weight gain of Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 955–965, 2014.

GOLL, D. E.; THOMPSON, V. F.; TAYLOR, R. G.; CHRISTIANSEN, J. A. Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, v. 74, n. 3, p. 225-237, 1992.

HEGARTY, R. S.; GOOPY, J. P.; HERD, R. M.; McCORKELL, B. Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. **Journal of Animal Science**, v. 85, p.1479-1486, 2007.

HEIDELBERG, P.; WELCH, P. Simulation run lenght control in the presence of an initial transient. **Operations Research**, v.31, n.6, p.1109-1114, 1983.

HERD, R. M.; BISHOP, S. C. Genetic variation in residual feed intake and its association with other production traits in British Hereford cattle. **Livestock Production Science**. v. 63, p. 111-119, 2000.

KAWASAWA, y.; KUME, K.; NAKADE, S.; HAGA, H.; IZUMI T.; SHIMIZU, T. Brain-specific expression of novel G-protein-coupled receptors, with homologies to Xenopus PSP24 and human GPR45. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 276, p. 952-956, 2000.

KOCH, R. M.; SWIGER, L. A.; DOYLE, C.; GREGORY, K. E. Efficiency of feed use in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 22, p. 486-494, 1963.

KOOTS, K. R.; GIBSON, J. P.; SMITH, C.; WILTON, J. W. Analyses of published genetic parameter estimates for beef production traits. 1. Heritability. **Animal Breeding Abstracts**, v. 62, p. 309–338, 1994.

LANCASTER, P. A.; CARSTENS, G. E.; CREWS, D. H. Jr.; WELSH, T. H. Jr.; FORBES, T. D. A.; FORREST, D. W.; TEDESCHI, L. O.; RANDEL, R. D.; ROUQUETTE, F. M. Phenotypic and genetic relationships of residual feed intake with performance and ultrasound carcass traits in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**. v. 87, p. 3887-3896, 2009.

LEAL, D. P. Bioquímica Médica. México: Limusa, 626 p., 2004

MACHADO, U. F. Transportadores de Glicose. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia**, v. 42, n. 6, p. 413-421, 1998.

MATUKUMALLI, L. K.; LAWLEY, C. T.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; ALLAN, M. F.; HART, M. J.; KENNEDY, M. J.; MILLER, M. H.; SONSTEGARD, T. S.; VAN TASSELL, C. P. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. **PLoS ONE**, e. 5350, 2009.

MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; STRABEL, T.; AUVRAY, B.; DRUET, T.; LEE, D. H. BLUPF90 and related programs (BGF90). In **The 7th World Congress Genetics Application Livestock Production**, p. 28, Montpellier, France, 2002.

MUJIBI, F. D. N. J.; NKURUMAH, D.; DURUNNA, O. N.; STOTHARD, P.; MAH, J.; WANG, Z.; BASARAB, J.; PLASTOW, G.; CREWS JR., D. H. and MOORE, S. S. Accuracy of genomic breeding values for residual feed intake in crossbred beef cattle. **Journal of Animal Science**, **FALTA VOLUME E PÁGINA** 2011.

NCBI - National Center for Biotechnology Information em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

NASCIMENTO, C. F.; BRANCO, R. H.; BONILHA, S. F.; CYRILLO, J. N. S. G.; NEGRÃO, J. A. e MERCADANTE, M. E. Z. Residual feed intake and blood variables in young Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 1318-1326, 2015.

NKURUMAH, J. D.; BASARAB, J. A.; PRICE, M. A.; OKINE, E. K.; AMMOURA, A.; GUERCIO, S.; HANSEN, C.; LI, C.; BENKEL, B.; MURDOCH, B.; MOORE, S. S. Different measures of energetic efficiency and their phenotypic relationships with growth, feed intake, and ultrasound and carcass merit in hybrid cattle. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2451–2459, 2004.

OKINE, E. K.; BASARAB, J. A.; GOONEWARDENE, L. A.; MIR, P.; MIR, Z.; PRICE, M. A.; ARTHUR, P. F.; MOORE, S. S. Residual feed intake: what is it and how does it differ from traditional concepts of feed efficiency? **Proceedings of Canadian Society of Animal Science Annual Meeting**, Saskatoon. p. 1-15, 2003.

RAFTERY, A. L.; LEWIS, S. Comment: one long run with diagnostics: implementation strategies for Markov chain Monte Carlo. **Statistical Science**, v.7, n.4, p.493- 497, 1992.

ROLF, M. M.; TAYLOR, J. F.; SCHNABEL, R. D.; McKAY, S. D.; McCLURE, M. C.; NORTHCUTT, S. L.; KERLEY, M. S.; WEABER, R. L. Genome-wide association analysis for feed efficiency in Angus cattle. **Animal Genetics**, v. 43, p. 367–374, 2012.

SANTANA, M. H. A.; OLIVEIRA JUNIOR, G. A; GOMES, R. C. et al. Genetic parameter estimates for feed efficiency and dry matter intake and their association with growth and carcass traits in Nellore cattle. **Livestock Science**, v. 167, p. 80–85, 2014a.

SANTANA, M. H.; UTSUNOMIYA, Y. T.; NEVES, H. H. R.; GOMES, R. C. et al. Genome-wide association analysis of feed intake and residual feed intake in Nellore cattle. **BMG Genetics**, v. 15, p. 21, 2014b.

SANTOS, C.; FONSECA, J. ZINCO: fisiopatologia, clínica e nutrição. **Associação Portuguesa de Nutrição Entérica e Parentérica**, v.6, n. 1, 2012.

SAVIETTO, D.; BERRY, D. P.; FRIGGENS, N. C. Towards an improved estimation of the biological components of residual feed intake in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 467–476, 2014.

SERÃO, N. V. L.; BEEVER, J. E.; FAULKNER, D. B.; ROGRIGUEZ-ZAS, S. L. Integration of polygenic and individual SNP effects in genome-wide association

analyses. **International Conference on Bioinformatics and Biomedicine Workshops**, Atlanta, USA, 2011.

SHAKKOTTAI, V. G.; REGAYA, I.; WULF, H.; FAJLOUN, Z.; TOMITA, H.; FATHALLAH, M.; CAHALAN, M. D.; GARGUS, J. J.; SABATIER, J. M.; CHANDY, K. GEORGE. Design and characterization of a highly selective peptide inhibitor os the small conductance Calcium-activated K^+ Channel, SkCa2. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, p. 43145 – 43151, 2001.

SILVA, B. V.; HORTA, B. A. C.; ALENCASTRO, R. B. e PINTO, A. C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. **Química Nova**. v. 32, p. 453-462, 2009

STARR , T.; WILLIAMS, K. F. e STORRIE, B. Both Post-Golgi and Intra-Golgi Cycling Affect the Distribution of the Golgi Phosphoprotein GPP130. **Traffic**, v. 8, p.1265–1279, 2007.

STRANDEN, I. & GARRICK, D. J. Technical note: Derivation of equivalent computing algorithms for genomic predictions and reliabilities of animal merit. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2971–2975, 2009.

VAN RADEN, P. M.; VAN TASSELL, C. P.; WIGGANS, G. R.; SONSTEGARD, T. S.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F. & SCHENKEL, F. S. Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 16–24, 2009.

VITEZICA, Z. G.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; LEGARRA, A. Bias in genomic predict for populations under selection. **Genetic Research**, p. 1- 10, 2011.

YOUNGERMAN, S. M.; SAXTON, A. M.; PIGHETTI, G. M. Novel single nucleotide polymorphisms and haplotypes within the bovine CXCR2 gene. **Immunogenetics**, v. 56, p. 355– 359, 2004.

WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; MUIR, W. Genome-wide association mapping including phenotypes from relative without genotypes. **Genetic Research**, v. 94, p. 73–83, 2012.

ZHANG, Z.; LIU, J.; DING, X.; BIJMA, P.; DE KONING, D. J. e ZHANG, Q. Best linear unbiased prediction of genomic breeding values using a trait-specific marker derived relationship matrix. **PLoS One**, v. 5, e12648, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Análise de enriquecimento cluster funcional via DAVID database para eficiência alimentar

Annotation Cluster 1		Enrichment Score: 1,5344117928688148			
Category	Term	Count	%	P-Value	FDR
GOTERM_MF_FAT	ATP binding	8	18,60	0,015	15,59
GOTERM_MF_FAT	adenyl ribonucleotide binding	8	18,60	0,016	16,26
GOTERM_MF_FAT	purine ribonucleotide binding	9	20,93	0,017	17,75
GOTERM_MF_FAT	ribonucleotide binding	9	20,93	0,017	17,75
GOTERM_MF_FAT	adenyl nucleotide binding	8	18,60	0,021	20,81
GOTERM_MF_FAT	purine nucleoside binding	8	18,60	0,022	21,69
GOTERM_MF_FAT	purine nucleotide binding	9	20,93	0,022	22,22
GOTERM_MF_FAT	nucleoside binding	8	18,60	0,022	22,22
GOTERM_MF_FAT	nucleotide binding	9	20,93	0,056	46,75
SP_PIR_KEYWORDS	Nucleotídeo de ligação	4	9,30	0,396	99,24
Annotation Cluster 2		Enrichment Score: 1,2910980583495473			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_CC_FAT	Golgi apparatus part	4	9,30	0,004	4,094
GOTERM_CC_FAT	Golgi apparatus	5	11,63	0,013	12,69

Category	Term	Count	%	P-Value	FDR
GOTERM_CC_FAT	Golgi membrane	3	6,98	0,02	18,67
GOTERM_CC_FAT	endomembrane system	4	9,30	0,044	36,55
GOTERM_CC_FAT	organelle membrane	3	6,98	0,414	99,54
SP_PIR_KEYWORDS	membrane	5	11,63	0,877	99,99
Annotation Cluster 3		Enrichment Score: 0,6842922085243253			
Category	Term	Count	%	P-Value	FDR
GOTERM_BP_FAT	protein transport	4	9,30	0,114	76,54
GOTERM_BP_FAT	establishment of protein localization	4	9,30	0,115	76,74
SP_PIR_KEYWORDS	protein transport	3	6,98	0,124	72,32
GOTERM_BP_FAT	protein localization	4	9,30	0,143	84,13
SP_PIR_KEYWORDS	acetylation	5	11,63	0,503	99,88
SP_PIR_KEYWORDS	transport	3	6,98	0,665	99,99
Annotation Cluster 4		Enrichment Score: 0,6688911260597424			
Category	Term	Count	%	P-Value	FDR
SMART	KRAB	3	6,98	0,013	8,26
INTERPRO	Krueppel-associated box	3	6,98	0,023	21,82

Category	Term	Count	%	P-Value	FDR
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-type/integrase, DNA-binding	3	6,98	0,067	52,09
SMART	ZnF_C2H2	3	6,98	0,071	39,17
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-type	3	6,98	0,114	72,37
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-like	3	6,98	0,119	73,98
SP_PIR_KEYWORDS	nucleus	7	16,28	0,164	82,36
SP_PIR_KEYWORDS	Transcription	4	9,30	0,165	82,56
GOTERM_BP_FAT	transcription	4	9,30	0,176	90,06
SP_PIR_KEYWORDS	zinc	4	9,30	0,325	97,75
SP_PIR_KEYWORDS	metal-binding	5	11,63	0,358	98,62
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription	5	11,63	0,460	99,93
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription, DNA-dependent	4	9,30	0,463	99,93
GOTERM_BP_FAT	regulation of RNA metabolic process	4	9,30	0,475	99,95
GOTERM_MF_FAT	metal ion binding	7	16,28	0,657	99,99
GOTERM_MF_FAT	cation binding	7	16,28	0,669	99,99
GOTERM_MF_FAT	ion binding	7	16,28	0,680	99,99
GOTERM_MF_FAT	zinc ion binding	4	9,30	0,737	99,99
GOTERM_MF_FAT	transition metal ion binding	4	9,30	0,864	99,99

Annotation Cluster 5		Enrichment Score: 0,31684937415727393			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_BP_FAT	ion transport	4	9,30	0,190	91,92
GOTERM_CC_FAT	integral to membrane	9	20,93	0,546	99,96
GOTERM_CC_FAT	intrinsic to membrane	9	20,93	0,593	99,98
SP_PIR_KEYWORDS	membrane	5	11,63	0,878	99,99
Annotation Cluster 6		Enrichment Score: 0,269641669383175			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_BP_FAT	phosphorylation	3	6,98	0,462	99,99
GOTERM_BP_FAT	phosphorus metabolic process	3	6,98	0,580	99,99
GOTERM_BP_FAT	phosphate metabolic process	3	6,98	0,580	99,99

APÊNDICE B - Análise de enriquecimento cluster funcional via DAVID database para ganho de peso

Annotation Cluster 1		Enrichment Score: 0,9325203566278826				
Category	Term	Count	%	PValue	FDR	
GOTERM_BP_FAT	negative regulation of macromolecule biosynthetic process	3	5,882	0,104	76,11	
GOTERM_BP_FAT	negative regulation of cellular biosynthetic process	3	5,882	0,107	77,07	
GOTERM_BP_FAT	negative regulation of biosynthetic process	3	5,882	0,113	78,91	
GOTERM_BP_FAT	negative regulation of macromolecule metabolic process	3	5,882	0,148	87,67	
Annotation Cluster 2		Enrichment Score: 0,6333930920755426				
Category	Term	Count	%	PValue	FDR	
SP_PIR_KEYWORDS	activator	4	7,84	0,015	15,10	
GOTERM_MF_FAT	transcription activator activity	3	5,88	0,037	34,71	
GOTERM_MF_FAT	transcription regulator activity	5	9,80	0,137	80,90	
GOTERM_CC_FAT	nucleoplasm part	3	5,88	0,171	86,60	
GOTERM_BP_FAT	transcription	4	7,84	0,176	91,96	
GOTERM_CC_FAT	nucleoplasm	3	5,88	0,221	93,06	
SP_PIR_KEYWORDS	transcription regulation	4	7,84	0,245	95,59	

Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_CC_FAT	intracellular organelle lumen	4	7,84	0,298	97,72
GOTERM_CC_FAT	organelle lumen	4	7,84	0,299	97,75
GOTERM_CC_FAT	membrane-enclosed lumen	4	7,84	0,321	98,41
SP_PIR_KEYWORDS	Transcription	4	7,84	0,322	98,67
GOTERM_CC_FAT	nuclear lumen	3	5,88	0,415	99,67
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription	5	9,80	0,460	99,97
SP_PIR_KEYWORDS	nucleus	6	11,76	0,638	100,00
GOTERM_BP_FAT	regulation of transcription, DNA-dependent	3	5,88	0,729	100,00
GOTERM_BP_FAT	regulation of RNA metabolic process	3	5,88	0,738	100,00

Annotation Cluster 3 Enrichment Score: 0,5012340744445127

Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_MF_FAT	purine nucleotide binding	7	13,73	0,174	88,36
GOTERM_MF_FAT	adenyl nucleotide binding	6	11,76	0,181	89,45
GOTERM_MF_FAT	purine nucleoside binding	6	11,76	0,186	90,14
GOTERM_MF_FAT	nucleoside binding	6	11,76	0,189	90,54

Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_MF_FAT	nucleotide binding	7	13,73	0,295	98,04
GOTERM_MF_FAT	purine ribonucleotide binding	6	11,76	0,301	98,20
GOTERM_MF_FAT	ribonucleotide binding	6	11,76	0,301	98,20
SP_PIR_KEYWORDS	kinase	3	5,88	0,310	98,38
GOTERM_MF_FAT	ATP binding	5	9,80	0,320	98,68
GOTERM_MF_FAT	adenyl ribonucleotide binding	5	9,80	0,326	98,81
GOTERM_MF_FAT	protein kinase activity	3	5,88	0,335	98,98
GOTERM_BP_FAT	protein amino acid phosphorylation	3	5,88	0,385	99,82
SP_PIR_KEYWORDS	nucleotide-binding	5	9,80	0,395	99,63
SP_PIR_KEYWORDS	ATP-binding	4	7,84	0,397	99,64
GOTERM_BP_FAT	phosphorylation	3	5,88	0,462	99,97
GOTERM_BP_FAT	phosphorus metabolic process	3	5,88	0,580	100,00
GOTERM_BP_FAT	phosphate metabolic process	3	5,88	0,580	100,00

Annotation Cluster 4		Enrichment Score: 0,45376291155988574			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_BP_FAT	protein transport	3	5,88	0,336	99,52
GOTERM_BP_FAT	establishment of protein localization	3	5,88	0,338	99,53
GOTERM_BP_FAT	protein localization	3	5,88	0,383	99,82

Annotation Cluster 5		Enrichment Score: 0,451237654137822			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
UP_SEQ_FEATURE	topological domain:Cytoplasmic	7	13,73	0,099	68,17
SP_PIR_KEYWORDS	cell membrane	5	9,80	0,137	80,56
SP_PIR_KEYWORDS	glycoprotein	7	13,73	0,275	97,21
GOTERM_CC_FAT	plasma membrane	6	11,76	0,352	99,04
SP_PIR_KEYWORDS	transmembrane	9	17,65	0,386	99,56
UP_SEQ_FEATURE	topological domain:Extracellular	4	7,84	0,418	99,74
UP_SEQ_FEATURE	glycosylation site:N-linked (GlcNAc,,)	6	11,76	0,427	99,77
SP_PIR_KEYWORDS	membrane	10	19,61	0,452	99,88
UP_SEQ_FEATURE	transmembrane region	7	13,73	0,478	99,92

Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_CC_FAT	integral to membrane	10	19,61	0,723	100,00
GOTERM_CC_FAT	intrinsic to membrane	10	19,61	0,766	100,00
Annotation Cluster 6 Enrichment Score: 0,2459677891883038					
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
SP_PIR_KEYWORDS	calcium	3	5,88	0,375	99,47
GOTERM_MF_FAT	calcium ion binding	3	5,88	0,442	99,86
GOTERM_MF_FAT	metal ion binding	7	13,73	0,697	100,00
GOTERM_MF_FAT	cation binding	7	13,73	0,709	100,00
GOTERM_MF_FAT	ion binding	7	13,73	0,719	100,00
Annotation Cluster 7 Enrichment Score: 0,22734908854405084					
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
SP_PIR_KEYWORDS	glycoprotein	7	13,73	0,275	97,21
SP_PIR_KEYWORDS	disulfide bond	3	5,88	0,867	100,00
UP_SEQ_FEATURE	disulfide bond	3	5,88	0,872	100,00

APÊNDICE C - Análise de enriquecimento cluster funcional via DAVID database para consumo de matéria seca

Annotation Cluster 1		Enrichment Score: 0,8599030396024786			
Categoria	Termo	Count	%	P-Value	FDR
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-type	3	15,79	0,0172	13,64
INTERPRO	Zinc finger, C2H2-like	3	15,79	0,0181	14,29
SMART	ZnF_C2H2	3	15,79	0,0265	14,87
GOTERM_MF_FAT	zinc ion binding	3	15,79	0,3929	98,76
GOTERM_MF_FAT	metal ion binding	4	21,05	0,4220	99,19
GOTERM_MF_FAT	cation binding	4	21,05	0,4305	99,29
GOTERM_MF_FAT	ion binding	4	21,05	0,4377	99,37
GOTERM_MF_FAT	transition metal ion binding	3	15,79	0,5128	99,82

APÊNDICE D - Análise de enriquecimento cluster funcional via DAVID database para consumo alimentar residual

Annotation Cluster 1		Enrichment Score: 0,9695587223163133			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
SP_PIR_KEYWORDS	G-protein coupled receptor	3	13,04	0,008	6,40
SP_PIR_KEYWORDS	transducer	3	13,04	0,011	8,58
GOTERM_BP_FAT	G-protein coupled receptor protein signaling pathway	5	21,74	0,047	40,53
SP_PIR_KEYWORDS	receptor	3	13,04	0,055	36,81
GOTERM_BP_FAT	cell surface receptor linked signal transduction	5	21,74	0,093	65,30
SP_PIR_KEYWORDS	transmembrane	3	13,04	0,401	98,44
SP_PIR_KEYWORDS	membrane	3	13,04	0,506	99,67
GOTERM_CC_FAT	integral to membrane	4	17,39	0,647	99,97
GOTERM_CC_FAT	intrinsic to membrane	4	17,39	0,674	99,98
Annotation Cluster 2		Enrichment Score: 0,1394713957286039			
Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_MF_FAT	metal ion binding	3	13,04	0,719	100,00

Category	Term	Count	%	PValue	FDR
GOTERM_MF_FAT	cation binding	3	13,04	0,726	100,00
GOTERM_MF_FAT	ion binding	3	13,04	0,732	100,00