

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

**ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA PERFIL DE
ÁCIDOS GRAXOS UTILIZANDO HAPLÓTIPOS COMO
MARCADORES EM BOVINOS NELORE**

Fabieli Loise Braga Feitosa
Zootecnista

2018

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

**ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA PERFIL DE
ÁCIDOS GRAXOS UTILIZANDO HAPLÓTIPOS COMO
MARCADORES EM BOVINOS NELORE**

Fabieli Loise Braga Feitosa

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey

Coorientadores: Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo

Dr. Rafael Medeiros de Oliveira Silva

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

2018

Feitosa, Fabieli Loise Braga
F311a Associação e seleção genômica para perfil de ácidos graxos
utilizando haplótipos como marcadores em bovinos Nelore / Fabieli
Loise Braga Feitosa. – – Jaboticabal, 2018
iv, 76 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018
Orientador: Fernando Sebastián Baldi Rey
Coorientador: Gregório Miguel Ferreira de Camargo, Rafael
Medeiros de Oliveira Silva
Banca examinadora: Danísio Prado Munari, Angélica Simone
Cravo Pereira, Nedenia Bonvino Stafuzza, Claudia Cristina Paro de
Paz

Bibliografia

1. *Bos indicus*. 2. Marcadores genéticos. 3. Qualidade da carne.
4. ssGBLUP. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias
e Veterinárias.

CDU 636.082:636.2



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS
UTILIZANDO HAPLÓTIPOS COMO MARCADORES EM BOVINOS NELORE

AUTORA: FABIeli LOISE BRAGA FEITOSA

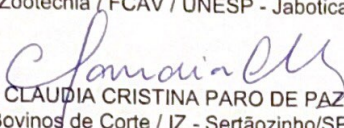
ORIENTADOR: FERNANDO SEBASTIAN BALDI REY

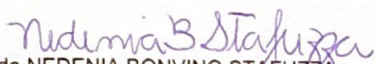
COORDENADOR: GREGÓRIO MIGUEL FERREIRA DE CAMARGO

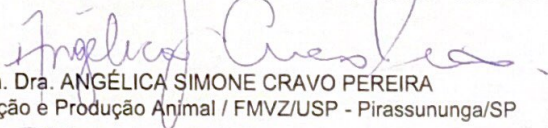
COORDENADOR: RAFAEL MEDEIROS DE OLIVEIRA SILVA

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


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


Pesquisadora Dra. CLAUDIA CRISTINA PARO DE PAZ
Centro APTA de Bovinos de Corte / IZ - Sertãozinho/SP


Pós-doutoranda NEDENIA BONVINO STAFUZZA
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. ANGÉLICA SIMONE CRAVO PEREIRA
Nutrição e Produção Animal / FMVZ/USP - Pirassununga/SP


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

Jaboticabal, 30 de julho de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Fabieli Loise Braga Feitosa, nascida em São José do Rio Preto – SP em 17 de outubro de 1986, filha de Mailton Alves Feitosa e Maria Angélica de Moraes Braga Feitosa. Iniciou o curso de Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal, em fevereiro de 2006, obtendo o grau de Zootecnista em fevereiro de 2011. A autora realizou estágio curricular no segundo semestre de 2010 na empresa Êxito Rural Consultoria em Pecuária Ltda., em Araçatuba – SP. No período de maio de 2011 a julho de 2012 a autora tornou-se bolsista CNPq na modalidade AT – APOIO TÉCNICO A PESQUISA sob orientação da Prof.^a Dr.^a Lucia Galvão de Albuquerque. Em agosto de 2012 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, inicialmente como bolsista CAPES e posteriormente como bolsista FAPESP, obtendo o título de Mestre em julho de 2014. Em agosto de 2014 ingressou no curso de Doutorado do 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, inicialmente como bolsista CAPES e posteriormente como bolsista FAPESP. Realizou o doutorado sanduíche no período de 01/04/2017 a 30/03/2018 na University of Guelph, Canada, sob a supervisão do Prof. Dr. Flávio Schramm Schenkel.

"Há um momento especial que acontece na vida de toda pessoa, o momento para o qual ela nasceu. Quando aproveitada, essa oportunidade extraordinária faz com que a pessoa cumpra sua missão - uma missão para a qual somente ela tem as qualificações necessárias. Nesse momento, a pessoa encontra a grandeza. Esse é seu mais maravilhoso instante."

Winston Churchill

Dedico

Aos meus avós paternos, Antonio Alves Feitosa (*in Memorian*) e Doracy Aparecida de Moura Feitosa (*in Memorian*), e aos meus avós maternos, José Ivanir Braga (*in Memorian*) e Maria Aparecida de Moraes Braga, pelo exemplo de vida, pelo apoio incondicional e pela confiança que depositam em mim.

Ofereço

Aos meus pais, Mailton Alves Feitosa e Maria Angélica de Moraes Braga Feitosa, pela educação, amor, incentivo, compreensão e por sempre apoiarem minhas decisões.

Às minhas irmãs, Francieli Cristina Braga Feitosa e Flavia Beatriz Braga Feitosa, pela ajuda e paciência.

AGRADECIMENTOS

Principalmente a DEUS, Nosso Senhor Jesus Cristo e a Nossa Senhora Aparecida, por estarem comigo em todos os momentos, me abençoando com saúde, força, perseverança e fé.

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.

Ao meu supervisor no doutorado sanduíche Prof. Dr. Flávio Schramm Schenkel, pela oportunidade de experiência no exterior, apoio, paciência, ensinamentos, dedicação, amizade e por ter deixado com que sua família fosse a minha nessa etapa difícil longe da família. Pelas oportunidades de conviver com grandes nomes do Melhoramento Animal e por me mostrar uma nova visão sobre nossa área.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo e Dr. Rafael Medeiros de Oliveira Silva, 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. Henrique Nunes de Oliveira, Prof. Dr. Humberto Tonhati, Dra. Camila Urbano Braz, Dra. Ana Fabrícia Braga Magalhães, Prof. Dr. Danísio Prado Munari, Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira, Dra. Nedenia Bonvino Stafuzza, Dra. Claudia Cristina Paro de Paz, pelas sugestões valiosas que contribuíram para a melhor qualidade da tese final.

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

Às minhas irmãs de coração Carolina (Pantufa), Ana Paula (K-bicera), Mariana (Espoletinha), Marina (Emília) e Annelise (Bixa) pelo apoio, companheirismo, paciência, desabafos e incentivos mesmo à quilômetros de distância.

À República Mete Marcha, que apesar de não morar mais nela, o companheirismo, a amizade e os momentos de descontração continuaram os mesmos.

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

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

Às meninas do LCC de Pirassununga, Adrielle, Lenise e Joyce, pela ajuda nas análises, incentivo e momentos de descontração nessa jornada intensa.

Ao pessoal do Department of Animal Bioscience, Hinayah, Aline, Ana Lúcia, Pablo, Ivan, Giovana, Luiz Brito, Victor, Samir, Sarahnya, Shady, Gabriele, Hakimeh, Kristen, Stephanie e Aroa.

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 University of Guelph, Canada, em especial ao Department of Animal Bioscience por oferecer oportunidades únicas e experiências incríveis tanto profissional como pessoal.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, no período de 04 de agosto de 2014 a outubro de 2016.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado (Processo n. 2015/25304-8) no período de 01 de novembro de 2016 a 31 de julho de 2018, e bolsa de estágio em pesquisa no exterior (Processo n. 2016/24085-3) no período de 01 de abril de 2017 a 31 de março de 2018 e apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que passaram pela minha vida, pois, diretamente ou indiretamente, me ajudaram a ser quem eu sou hoje.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Perfil de ácidos graxos da carne bovina.....	3
2.2. Variabilidade genética para o perfil de ácidos graxos da carne.....	6
2.3. Marcadores genéticos associados com o perfil de ácidos graxos da carne.....	10
2.4. Aplicação de dados genômicos para o melhoramento do perfil de ácidos graxos da carne.....	12
2.5. Predição dos valores genômicos para o perfil de ácidos graxos.....	16
2.6. Haplótipos.....	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1. Objetivo Geral.....	19
3.2. Objetivos Específicos.....	20
4. REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO 2. COMPARISON BETWEEN HAPLOTYPE-BASED AND INDIVIDUAL SNP-BASED GENOMIC PREDICTION FOR BEEF FATTY ACID PROFILE IN NELORE CATTLE.....	30
ABSTRACT.....	30
1. INTRODUCTION.....	31
2. MATERIALS AND METHODS.....	33
2.1. Local, Animals and Management.....	33
2.2. Fatty acid profile.....	34
2.3. Genotyping of the animals.....	35
2.4. Construction of haplotypes.....	35
2.5. Quantitative genetics and genomic prediction analyses.....	35
3. RESULTS AND DISCUSSION.....	38

3.1. Fatty acid profile and heritability estimates.....	38
3.2. Haplotype blocks and genomic predictions.....	40
4. CONCLUSIONS.....	45
5. REFERENCES.....	46
CAPÍTULO 3. ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS UTILIZANDO HAPLÓTIPOS COMO MARCADORES EM BOVINOS NELORE.....	51
RESUMO.....	51
ABSTRACT.....	52
1. INTRODUÇÃO.....	53
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	54
2.1. Animais e informações de manejo.....	55
2.2. Formação dos lotes e procedimentos no abate.....	56
2.3. Perfil de ácidos graxos da carne.....	56
2.4. Genotipagem dos animais.....	58
2.5. Construção de haplótipos.....	58
2.6. Análise de associação genômica com haplótipos.....	59
2.7. Análise funcional.....	60
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4. CONCLUSÃO.....	69
5. REFERÊNCIAS.....	70

ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS UTILIZANDO HAPLÓTIPOS COMO MARCADORES EM BOVINOS NELORE

RESUMO – O objetivo deste estudo foram realizar associação genômica ampla (GWAS) e predição genômica utilizando haplótipos como marcadores genéticos para o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular do músculo *Longissimus dorsi* em bovinos Nelore. Foram utilizados dados de 963 machos da raça Nelore terminados em confinamento, provenientes de fazendas que integram três programas de melhoramento genético. O grupo de contemporâneo foi formado por animais nascidos na mesma fazenda e safra, e do mesmo grupo de manejo ao sobreano. Para a determinação do perfil de ácidos graxos foi utilizado para a extração dos lipídeos o método Folch e para a metilação o método Kramer. Para a genotipagem foi utilizado um painel com mais de 777.000 SNPs do BovineHD BeadChip (High-Density Bovine BeadChip) da Illumina. O controle de qualidade foi feito considerando $MAF < 0,05$ e $Call\ rate < 90\%$. Após o CQ, 469.981 SNPs permaneceram nas análises. A imputação dos “missing” e o “phasing” do genótipo foram realizados utilizando o software FImpute. A definição dos blocos de haplótipos foi realizada baseada no desequilíbrio de ligação utilizando o software HaploView. No capítulo 2 as análises estatísticas incorporando as informações dos haplótipos foram realizadas utilizando o software ASREML implementando o método REML. O modelo incluiu efeitos fixos do grupo contemporâneo (62 níveis), haplótipo (regressão linear no número de cópias) e idade ao abate como covariável linear. Os valores de p foram ajustados pelo método de FDR. Os haplótipos associados significativamente foram selecionados ao nível de 10% de significância. Para a prospecção dos genes foi utilizado o banco de dados do NCBI na versão UMD3.1 do genoma bovino, Ensembl Genome Browser, DAVID. Foram associados significativamente ($p < 0,05$), 4, 3, 5, 1, 6, 2 e 7 haplótipos com AGS, AGMI, AGPI, AGPI/AGS, n3, n6 e n6/n3, respectivamente. Estes haplótipos significativos abrigam genes envolvidos no metabolismo lipídico, fatores de alongamento e síntese de ácidos graxos de cadeia longa, receptores de hormônios reprodutivos, transporte e uso de ácidos graxos e colesterol, biossíntese e hidrólise de fosfolipídios e constituintes de membrana, constituintes de membranas celulares, metabolismo energético e síntese de proteína quinase. Assim, a identificação desses haplótipos associados pode contribuir para estudos adicionais para validar essas regiões e prospectar genes candidatos que seriam úteis para programas de melhoramento genético para melhorar a qualidade da carne de bovino Nelore. No capítulo 3, o modelo utilizado para estimar componentes de variância, parâmetros genéticos e predizer os valores genômicos incluiu efeitos fixos de grupo contemporâneo e idade ao abate como uma covariável linear, e o efeito genético aleatório aditivo. A acurácia utilizando haplótipos variou de 0,07 a 0,31 e a utilizando SNPs variou de 0,06 a 0,33. O coeficiente de regressão usando os haplótipos variou de 0,07 a 0,74 e utilizando SNPs variou de 0,08 a 1,45. Apesar da precisão de predição não ter sido alta para ambas as abordagens, podemos considerar a utilização da abordagem SNP na seleção genômica, pois é um método computacional mais eficiente.

Palavras-chave: *Bos indicus*, marcadores genéticos, qualidade da carne, ssGBLUP

GENOME WIDE ASSOCIATION AND GENOMIC SELECTION FOR BEEF FATTY ACIDS PROFILE USING HAPLOTYPES AS MARKERS IN NELORE BOVINE

ABSTRACT – The aim of this study were genome-wide association (GWAS) and genomic prediction using haplotypes approach for fatty acid profile of intramuscular fat of *longissimus dorsi* muscle in Nellore cattle. The investigated dataset contained records from 963 Nellore bulls, finished in feedlot (90 days) and slaughter with about two years old. Meat samples of *Longissimus dorsi* muscle, between the 12th and 13th ribs of the left half-carcasses, were taken to measure the fatty acids (FAs). FAs were quantified by gas chromatography (GC-2010 Plus - Shimadzu AOC 20i autoinjector) using SP-2560 capillary column (100 m x 0.25 mm diameter with 0.02 mm thickness, Supelco, Bellefonte, PA). The animals were genotyped using the high-density SNP panel (BovineHD BeadChip assay 777k, Illumina Inc., San Diego, CA). Those SNP markers with minor allele frequency less than 0.05, call rate less than 90%, monomorphic, located on sex chromosomes, and those with unknown position were removed from the analysis. After genomic quality control, 469,981 SNPs and 892 animals were available for the analyses. Missing genotypes were imputed and genotypes were phased to haplotypes using FImpute software. Haplotype blocks were defined based on linkage disequilibrium using HaploView software. In chapter 2, statistical analyzes incorporating the haplotype information were performed using ASREML software implementing the REML method. The model included fixed effects of the contemporary group (62 levels), haplotype (linear regression in number of copies) and age at slaughter as a linear covariate. The p values were adjusted by FDR method. Haplotypes significantly associated were selected at 10% significance level. For the prospection of the genes, the NCBI database was used in the UMD3.1 version of the bovine genome, the Ensembl Genome Browser and DAVID. There were significantly ($p < 0.05$), 4, 3, 5, 1, 6, 2 and 7 haplotypes associated with SFA, MUFA, PUFA, PUFA/SFA ratio, n3, n6 and n6/n3 ratio, respectively. These significant haplotypes harboring genes involved in lipid metabolism elongation factors and long-chain fatty acid synthesis, reproductive hormone receptors, transport and use of fatty acids and cholesterol biosynthesis and hydrolysis of phospholipids and constituents membrane, cell membrane constituent, energetic metabolism and protein kinase synthesis. Thus, the identification of these associated haplotypes may contribute to further studies to validate these regions and prospect candidate genes that would be useful for breeding programs to improve the quality of Nellore beef. In chapter 3, the model used to estimate variance components, genetic parameters and predict the genomic values included fixed effects of contemporary group and age at slaughter as a linear covariate, and the additive random genetic effect. The accuracy using haplotype approach ranged from 0.07 to 0.31 and using SNP approach ranged from 0.06 to 0.33. The regression coefficient using haplotype approach ranged from 0.07 to 0.74 and using SNP approach ranged from 0.08 to 1.45. Despite prediction accuracy was not high for both approach we can consider use SNP approach in genomic selection because is more efficient computational.

Keywords: *Bos indicus*, genetic markers, meat quality, ssGBLUP

CAPÍTULO 1 . CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo com, 219,1 milhões de cabeças e com abate de 36,9 milhões, aproximadamente, no ano de 2016 (ABIEC, 2018). Na produção mundial de carne bovina, o Brasil está na 2º posição com 9,1 milhões de toneladas equivalente carcaça (tec), sendo antecedido apenas pelos Estados Unidos com 11,5 milhões de tec (ABIEC, 2018). Mesmo ocupando essa importante posição econômica, a pecuária de corte brasileira vem sendo pressionada a mostrar aumentos em sua eficiência produtiva, tais como a quantidade de carne produzida com a qualidade exigida pelo mercado interno e externo.

A qualidade da carne, atualmente, tem sido exigida pelos consumidores tanto do Brasil quanto do resto do mundo, em relação à maciez e à quantidade de gordura. Esta gordura ou perfil de ácidos graxos também vem sendo muito questionada em relação à sua qualidade, devido à influência em relação à saúde humana (Luchiari Filho, 2006). Os ácidos graxos são divididos em saturados, monoinsaturados e poliinsaturados.

Os ácidos graxos saturados (AGS) não são desejáveis em grande quantidade na carne, pois aumentam os níveis séricos de colesterol e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), ocasionando assim doenças cardiovasculares (Katan et al., 1994). Já os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) são considerados benéficos à saúde, pois protegem o sistema cardiovascular com baixos níveis de colesterol sérico e altos níveis de HDL (lipoproteínas de alta densidade) (Pensel, 1998; Tapiero et al., 2002). O HDL é responsável pelo transporte reverso do colesterol, removendo o excesso deste nos tecidos periféricos depositados pelo LDL e transportando-o para o fígado, onde ele é metabolizado e eliminado do organismo em forma de ácidos e sais biliares (Hirata e Hirata, 2002).

Em bovinos de corte, existe variabilidade entre raças para o perfil de ácidos graxos (De Smet et al., 2004; Aboujaoude et al., 2016), porém a mensuração da

composição de ácidos graxos, em um número expressivo de animais para a predição dos valores genéticos, não é viável atualmente, devido ao custo relativamente alto para a sua determinação. A identificação de marcadores genéticos ou polimorfismos em genes pode facilitar o melhoramento genético por meio da seleção assistida por marcadores (Garrick, 2011).

O sequenciamento do genoma bovino trouxe a descoberta de milhares de marcadores genéticos do tipo polimorfismos de base única (SNP). Com um maior número de marcadores genéticos (SNPs), aumenta-se a possibilidade de encontrar marcadores em maiores níveis de desequilíbrio de ligação (LD) e, consequentemente, as chances de encontrar QTL devido ao mesmo estar em LD com estes marcadores para características produtivas. Neste sentido, estudos baseados na predição dos valores genéticos dos animais a partir das informações genômicas e na identificação de genes que afetam as características de importância econômica, utilizando os painéis de SNPs de alta densidade, têm sido implementados em várias espécies (Goddard e Hayes, 2009). Porém, a utilização dos SNPs, como marcadores em estudos de associação e seleção genômica, pode trazer algumas limitações a longo prazo, como a frequente necessidade da reestimação dos efeitos dos SNPs como consequência da recombinação entre os marcadores individuais e os possíveis QTL (Abdel-Shafy et al., 2014).

Neste sentido, a análise baseada em blocos de haplótipos (“haploblocks”) pode identificar loci que não são captados por um único marcador ou revelar o efeito combinatório entre vários loci (Curtis et al., 2001; Cuyabano et al., 2014). Haplótipos são a combinação de alelos em loci adjacentes, que fazem parte do mesmo cromossomo e são transmitidos de forma conjunta, ele pode ser formado por um ou vários alelos, ou até mesmo pelo cromossomo inteiro (Bansal et al., 2008). Um haplótipo pode estar em forte (ou alto) desequilíbrio de ligação (LD) com uma mutação causal ou QTL do que um SNP e isso pode levar à identificação de um efeito aditivo maior, se eles combinarem várias mutações numa região cromossômica, o que aumenta o poder de identificar o loco associado, mesmo se apresentar pequeno efeito (Fallin e Schork, 2000; Bardel et al., 2005; Bickel et al., 2011; Cuyabano et al., 2014). Assim, o tamanho e, portanto, o número de blocos de haplótipos e sua diversidade em termos de número de alelos são fatores fundamentais que influenciam na

demanda computacional, os resultados dos estudos de associação (GWAS) e a acurácia de predição genômica (Cuyabano et al., 2015).

Em função do limitado número de estudos, e da influência do perfil de ácidos graxos sobre a palatabilidade da carne e na saúde humana, é primordial desenvolver trabalhos que utilizem informações genômicas visando melhorar a composição dos ácidos graxos presentes na carne de bovinos da raça Nelore. Além disto, é importante implementar metodologias de seleção que incluam informações genômicas para a aplicação dos resultados nas condições de produção de carne do Brasil, particularmente, devido às diferenças tanto genéticas como ambientais (clima e manejo) dos rebanhos em relação aos de outros países de clima temperado, em que essas informações genômicas vêm sendo obtidas e utilizadas nas avaliações genéticas. Com o uso de informações de haplótipos nos estudos de associação genômica e seleção genômica, as acurácias de predição podem ser maiores do que com o uso de marcadores individuais (SNPs) (Abdel-Shafy et al., 2014; Cuyabano et al., 2014; Croiseau et al., 2014; Harris et al., 2014), e o potencial dos haplótipos para identificar variações em características economicamente importantes, torna-se um fator importante para a predição dos valores genéticos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Perfil de ácidos graxos da carne bovina

Os ácidos graxos são formados por cadeias de átomos de carbono que se ligam a átomos de hidrogênio com um radical ácido em uma de suas extremidades. Dependendo do tipo das ligações entre os carbonos, os ácidos graxos são classificados em: saturados (onde os carbonos apresentam ligações simples) ou insaturados (com uma ou mais ligações duplas). No caso dos insaturados os números de ligações duplas determinam se são monoinsaturados (apenas uma ligação dupla) ou poliinsaturados (com duas ou mais ligações duplas). O número de carbonos e de

insaturações, a localização das duplas ligações na cadeia carbônica e sua configuração geométrica determinam o papel e destino metabólico dos ácidos graxos.

Os óleos e gorduras dos alimentos diferem fundamentalmente na proporção dos diversos ácidos graxos que os compõem. Atualmente, há uma contínua e crescente preocupação por parte da população e dos órgãos de saúde pública quanto ao consumo excessivo de gorduras, especialmente as gorduras de origem animal, bem como do tipo de gordura ou perfil de ácidos graxos na carne, e seu impacto sobre a saúde do consumidor. Apesar de a carne bovina ser considerada um alimento altamente nutritivo, sendo uma fonte importante de proteínas, micronutrientes e vitaminas do complexo B, a mesma apresenta um alto teor de gordura com composição indesejável, como alta porcentagem de ácidos graxos saturados (AGS). Os AGS predominantes na gordura de bovinos são os ácidos Mirístico (C14:0), Palmítico (C16:0) e Esteárico (C18:0) (Lawrie, 2005).

Os ácidos graxos saturados (AGS) não são desejáveis em grande quantidade na carne, pois aumentam os níveis séricos de colesterol e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), ocasionando assim doenças cardiovasculares (Katan et al., 1994). Dentre os três AGS predominantes na gordura de bovinos, o Mirístico é o ácido graxo que exige mais atenção, uma vez que aumenta de 4 a 6 vezes a concentração de colesterol sérico em relação ao Palmítico (Mensink e Katan, 1992).

No entanto, os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) são considerados benéficos à saúde, pois protegem o sistema cardiovascular levando a baixos níveis de colesterol sérico e altos níveis de HDL (lipoproteínas de alta densidade) (Pensel, 1998; Tapiero et al., 2002). O HDL é responsável pelo transporte reverso do colesterol, removendo o excesso deste nos tecidos periféricos depositados pelo LDL e transportando-o para o fígado, onde ele é metabolizado e eliminado do organismo em forma de ácidos e sais biliares (Hirata e Hirata, 2002).

O tecido gorduroso de ruminantes é uma fonte natural de ácidos graxos poliinsaturados como os isômeros de ácido linoléico conjugado (CLA) cis 9, trans 11 (French et al., 2000), os quais são sintetizados no rúmen como consequência do processo de biohidrogenação de ácidos graxos realizado pelos microrganismos (Tamminga e Doreau, 1991). O CLA possui efeitos favoráveis à saúde humana,

aumentando a atividade imunoestimuladora, antimutagênica e antioxidante (Ip, 1997). Além disto, os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) presentes na gordura de bovinos, como os ácidos linoleico (C18:2 n-6) e linolênico (C18:3 n-3), e monoinsaturados (AGMI), como o ácido oleico (C18:1 n-9), oferecem proteção ao sistema cardiovascular, uma vez que o consumo balanceado dos mesmos está associados à redução nos níveis séricos de colesterol e aumento nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Pensel, 1998; Tapiero et al., 2002).

Por muitos anos, a composição de ácidos graxos em animais destinados à produção de carne tem recebido considerável interesse devido às suas implicações na saúde humana e nas características associadas à de qualidade da carne (Xie et al., 1996; Wood et al., 1999; Gandemer, 1999). Como a maioria das características de interesse econômico na produção animal, a composição de ácidos graxos é influenciada por fatores ambientais e genéticos. Vários estudos têm comprovado grandes mudanças na composição de ácidos graxos por alterações provocadas nas estratégias de alimentação, principalmente em animais monogástricos (Nürnberg et al., 1998; Jakobsen, 1999; Demeyer e Doreau, 1999) mas também em ruminantes (Wood et al., 2003). No entanto, os fatores genéticos que afetam a composição dos ácidos graxos em bovinos tem sido menos investigados, apesar de vários estudos relatarem diferenças entre raças para a composição de ácidos graxos (Gillis et al., 1973; Mills et al. 1992; Huerta-Leidenz et al., 1993, 1996; Siebert et al., 1996; Rule et al., 1997; Malau-Aduli et al., 1997, 1998; Pitchford et al., 2002; Metz et al., 2009). Apesar das diferenças existentes entre raças para a composição de ácidos graxos, as mesmas são muitas vezes confundidas por diferenças na deposição de gordura ou diferenças em precocidade entre as raças (De Smet et al., 2004).

A maioria dos estudos realizados sobre a composição do perfil de ácidos graxos é com raças europeias (*Bos taurus*), sendo poucos os realizados com raças zebuínas (*Bos indicus*) e em clima tropical. Huerta-Leidenz et al. (1993 e 1996) e Perry et al. (1998) comparando a composição do tecido adiposo de *Bos taurus* e *Bos indicus* nos EUA e Austrália, relataram que os zebuínos possuem menos ácidos graxos saturados do que os taurinos. No Brasil, Prado et al. (2003) não observaram diferenças na proporção de ácidos graxos saturados, ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos poliinsaturados da gordura intramuscular do músculo *Longissimus* de bovinos

Bos indicus e bovinos mestiços *Bos indicus* vs. *Bos taurus* terminados a pasto. Já Rossato et al. (2010), destacaram que a carne de animais da raça Nelore é nutricionalmente mais saudável em comparação com a carne de animais da raça Angus, pois apresenta menores percentuais de colesterol. Recentemente, Feitosa et al. (2016), encontrou em maiores proporções os ácidos graxos oleico, palmítico e esteárico (30.64%, 20,9% e 13,6%, respectivamente) em animais da raça Nelore, ressaltando que o ácido graxo oleico é benéfico à saúde humana, uma vez que ele aumenta os níveis de HDL no sangue.

2.2. Variabilidade genética para o perfil de ácidos graxos da carne

A fim de produzir produtos de carnes que satisfaçam a demanda dos consumidores, os pecuaristas devem utilizar os recursos disponíveis no sistema de produção para a produção de carne. Portanto, informações sobre as diferenças genéticas entre raças e parâmetros genéticos para desenvolver programas de melhoramento genético são essenciais. Assim, as estimativas de herdabilidade e correlações genéticas e fenotípicas são atributos fundamentais. Diferenças entre raças puras e cruzas influenciam a composição de ácidos graxos da carne bovina tem sido extensamente avaliadas sobre diferentes sistemas de produção. Em contraste, estudos informando parâmetros genéticos (herdabilidade e correlações genéticas) para o perfil de ácidos graxos são abundantes para animais monogástricos, particularmente em suínos, entretanto, em bovinos ainda são escassos ou o número de dados empregados é limitado.

O componente genético tem um papel importante, no que diz respeito à deposição de gordura. Neste sentido, as raças Preta Japonesa (Wagyu) e Belgian Blue são dois exemplos opostos sobre o desenvolvimento de gordura intramuscular. O tipo racial está entre os principais fatores que afetam a composição dos ácidos graxos, considerando as diferenças na deposição de gordura entre raças e sua relação com a proporção de TAG com os fosfolípidos (Raes et al., 2001; Aldai et al., 2006). Vários estudos demonstraram que os tecidos adiposos de *Bos indicus* são

menos saturados, quando comparados ao *Bos taurus* (Huerta-Leidenz et al., 1996; Perry et al., 1998; Rossato et al., 2010). Nesse sentido, Rossato et al. (2010) descreveram que a carne de bovinos Nelore é nutricionalmente mais saudável, comparado com a carne de bovinos Angus, uma vez que tem percentuais mais baixos de colesterol e maiores quantidades de ácidos graxos ômega 3. Bressan et al. (2011) mostraram que o sistema de produção tem uma influência importante no perfil de ácido graxos da carne bovino quando compararam bovinos *Bos taurus* e *Bos indicus*. Os animais de *Bos taurus* apresentaram menor percentagem SFA e maior de MUFA, em relação a *Bos indicus*, quando foram terminados em confinamento. De acordo com esses autores, bovinos *Bos taurus* tiveram maior capacidade de dessaturação dos SFA, quando os animais foram terminados em sistemas de confinamento.

As diferenças raciais refletem em diferenças no metabolismo de ácidos graxos, na expressão gênica ou na atividade enzimática (Scollan et al., 2006; Bartoň et al., 2007). De fato, as enzimas Δ^9 , Δ^6 e Δ^5 dessaturases, elongases, SREBP-1c e leptina foram consideradas como os fatores genéticos mais importantes associados à deposição de ácidos graxos na gordura da carcaça.

Os níveis de expressão da enzima Δ^9 dessaturase estão associados com o conteúdo de MUFA, no músculo dos ruminantes, bem como com os níveis de CLA, pois convertem C18:1t11 em c9, t11, o maior isômero de CLA em gorduras de ruminantes (Lourenço, 2007). Novilhos da raça Holstein alimentados com silagem de capim formaram mais ácido docosahexaenoico (DHA) em fosfolípidos, a partir do abastecimento de precursores (18:3 n-3) em comparação com novilhos da raça Angus, uma vez que a atividade ou expressão das enzimas Δ^5 e Δ^6 dessaturase foi mais alta na raça Holstein (Warren et al., 2008). A atividade de ambas as enzimas, bem como o fornecimento de precursores, determinará a extensão desses processos e as proporções de PUFA de cadeia longa na gordura intramuscular (De Smet et al., 2004; Scollan et al., 2006).

Em bovinos de corte existe um número considerável de informação no que se diz respeito à variabilidade existente entre raças para o perfil de ácidos graxos, contudo, estimativas de parâmetros genéticos ou da magnitude da variabilidade genética dentro de raças para a composição de ácidos graxos são escassas na literatura. A disponibilidade de parâmetros genéticos é essencial para identificar a

possibilidade de melhoramento genético da composição dos ácidos graxos na carne em bovinos. Neste sentido, Pitchford et al. (2002) quantificaram o perfil de ácidos graxos de 1.215 novilhas e novilhos cruza (Hereford x Jersey, Wagyu, Angus, Hereford, South Devon, Limousin, e Belgian Blue). As estimativas de herdabilidade para a concentração de ácidos graxos individuais foram obtidas utilizando o método de máxima verossimilhança restrita (REML) e variaram de 0,14 a 0,21. Para a percentagem de SFA, MUFA, índices de dessaturação ($100[(18:1n-9)/(18:0 + 18:1n-9)]$) e alongamento ($100[(18:0+18:1n-9)/(16:0+16:1+18:0 + 18:1n-9)]$) as estimativas de herdabilidade foram 0,27, 0,17, 0,18 e 0,16, respectivamente. Apesar do erro padrão das estimativas de correlações genéticas entre os ácidos graxos ter sido alto (0,20), as estimativas de correlações genéticas entre os SFA e MUFA, e entre ácidos graxos individuais e os índices de dessaturação variaram de 0,39 a - 0,75, de 0,55 a - 0,94, e de 0,18 a - 0,79, respectivamente.

Posteriormente, Tait et al. (2007) estimaram parâmetros genéticos, aplicando um modelo touro, para o perfil de ácidos graxos no músculo *Longissimus* e expressaram a concentração de ácidos graxos da carne como a concentração de ácidos graxos no tecido lipídico ou na carne, em 915 bovinos da raça Angus. As estimativas de herdabilidade para os ácidos graxos individuais expressando a concentração de ácidos graxos, tanto na carne como no tecido lipídico, variaram de 0,06 a 0,27, e de 0,20 a 0,49, respectivamente. As estimativas de herdabilidade para os índices de dessaturação (16:1/16:0; 18:1/18:0 e 16:1+18:1/16:0 +18:0) e alongamento (16/14 e 18/16) foram invariantes à forma de expressar a concentração dos ácidos graxos e variaram de 0,24 a 0,40, e de 0,29 a 0,34, respectivamente. De acordo com os autores, a variabilidade genética do perfil de ácidos graxos foi maior quando a concentração foi avaliada em relação ao tecido adiposo.

Malau-Aduli et al. (2000) estimaram parâmetros genéticos para o perfil de ácidos graxos na carne de bovinos de duas idades, ao desmama (324 animais), e pré-abate (310 animais). Os animais eram progênies, resultado do cruzamento de fêmeas da raça Hereford com machos das raças Angus, Belgian Blue, Hereford, Jersey, Limousin, Devon do Sul e Wagyu. Na desmama, as estimativas de herdabilidade para os ácidos graxos individuais, SFA, MUFA e PUFA, bem como os índices de dessaturação e alongamento foram baixas a moderadas, variando de 0,03 a 0,31.

Contudo, ao abate, as estimativas de herdabilidade para o mesmo grupo de características foram levemente maiores, variando de 0,02 a 0,44. As estimativas de correlações genéticas entre o conteúdo de ácidos graxos individuais, MUFA e PUFA, bem como para os índices de dessaturação e alongamento foram altas e positivas, variando de 0,67 a 0,88. As estimativas de correlações fenotípicas foram menores em relação às correlações genéticas. De acordo com os autores, MUFA, que são altamente desejáveis na dieta humana, em vista da sua capacidade para reduzir o colesterol sérico, apresentam variabilidade genética suficiente para responder à seleção.

Também, Nogi et al. (2011) utilizaram um número expressivo de novilhos e novilhas (2.275) de raça Preta Japonesa e estimaram parâmetros genéticos para o perfil de ácidos graxos no músculo *Longissimus*. As estimativas de herdabilidade para os ácidos graxos individuais variaram amplamente, de 0,00 a 0,78. Para os ácidos graxos C18:3 e C20:0, os autores obtiveram estimativas de herdabilidade próximas de zero. Já, as estimativas de herdabilidade para MUFA, SFA e PUFA foram 0,68, 0,66, e 0,47, respectivamente. Já Inoue et al. (2011), trabalharam com 863 novilhos também da raça Preta Japonesa e estimaram parâmetros genéticos para o perfil FA no músculo *Trapezius*. As estimativas de herdabilidade, obtidas em análises uni e bi-característica sobre modelo animal, para os ácidos graxos individuais (0,34 a 0,82), MUFA (0,66), relação SFA:MUFA (0,75) e o índice de alongação (0,67) foram altas. O C18:2 apresentou a menor estimativa de herdabilidade (0,34). Os autores sugeriram que para aprimorar a qualidade da carne uma estratégia apropriada seria utilizar as relações de SFA:MUFA como critério de seleção.

As estimativas de herdabilidade para o perfil de ácidos graxos da carne nestes estudos tem sido diferentes em magnitude, como consequência, provavelmente, de diferenças nas populações e estrutura de dados utilizados, métodos de estimação aplicados, músculo e etc. Além disto, quando se comparam estimativas obtidas em várias raças, diferenças na atividade das enzimas relacionadas com a dessaturação dos FA podem influenciar a variabilidade genética estimada (Inoue et al., 2011). Neste sentido, Abe et al. (2009) detectaram diferença na frequência do gene *FASN*, que afeta a composição de ácidos graxos da carne. Contudo, é claro que a seleção para melhorar a qualidade da carne na diferentes raças consideradas é plausível. Além

disto, existe uma certa coerência nos resultados obtidos nos diferentes estudos (Tait et al., 2007; Inoue et al., 2011; Nogi et al., 2011), uma vez que as estimativas de herdabilidade mais altas de quatro ácidos graxos foram para oleico, palmitoleico, mirístico e palmítico.

Recentemente, Cesar et al. (2014) estimaram parâmetros genéticos para o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular do músculo *Longissimus dorsi* em 386 bovinos da raça Nelore. Os autores descreveram que as estimativas de herdabilidade foram baixas ($<0,10$) para láurico, palmítico, cis-vaccênico, octadecenoico, CLA (C18:2 c9 t11), eicosanóico, eicosatrienóico, araquidônico, e eicosapentaenoico, estimativas moderadas (até 0,29) para mirístico, miristoleico, palmitoleico, margarico, heptadecenoico, esteárico, oleico, octadecenoico, linoleico, octadecenoico, α -linolênico, γ -linolênico, docosapentaenoico, docosa-hexaenoico, SFA, MUFA, PUFA, ômega 3, ômega 6 e relação ômega 6: ômega 3. Portanto, esses resultados sugerem que é possível alterar a composição lipídica da gordura intramuscular em bovinos, por meio de estratégias como seleção. Esta informação é importante para os programas de melhoramento que visam melhorar a composição de ácidos graxos na carne de bovinos.

2.3. Marcadores genéticos associados com o perfil de ácidos graxos da carne

Um dos primeiros estudos de associação de QTL para o perfil de ácidos graxos da carne na gordura subcutânea foi desenvolvido por Morris et al. (2007), em bovinos cruzados Jersey x Limousin. Ao utilizar uma análise de equilíbrio de ligação baseado em marcadores microsatélites, um QTL com efeitos significativos para a concentração de ácido mirístico foi identificado no BA19. O gene *FASN* está localizado no BTA 19 e os autores concluíram que o QTL identificado constitui uma região candidata. Posteriormente, Zhang et al. (2008) avaliaram vários SNPs localizados no gene *FASN* e identificaram associações significativas com o ácido palmítico e mirístico no músculo *Longissimus dorsi*. Os resultados observados pelos autores foram atribuídos a uma possível mutação, com efeito sobre a síntese de novo de ácidos

graxos de diferente comprimento, aumentando a síntese de ácido mirístico, ao invés do ácido palmítico, que é o produto final da reação catalisada pelo gene *FASN* (Zhang et al., 2008). Além disso, Abe et al. (2009) identificaram mutações (*FASN*:g.16024A>G e *FASN*:g.16039T>C) no exon 34 do gene *FASN* associadas com o perfil de ácidos graxos. Estas mutações estão associadas com mudanças nos aminoácidos. Foram também descritas associações significativas entre haplótipos presentes no gene *FASN* com o perfil de ácidos graxos na gordura subcutânea e no músculo *Longissimus dorsi* (Zhang et al., 2008). Zembayashi et al. (1995) também relataram associações significativas entre SNPs presentes no gene *FASN* com o ácido oleico, na gordura intramuscular no músculo *Longissimus dorsi*, em bovinos da raça Preta Japonesa. De acordo com estes autores, os marcadores *FASN*:g.17924A>G, *FASN*:g.16024A>G e *FASN*:g.16039A>G podem ser utilizados para aumentar a concentração de ácido oleico na carne. Em uma comparação das frequências dos haplótipos no gene *FASN* entre as raças Preta Japonesa, Holstein, Angus e Hereford verificou-se a presença dos mesmos haplótipos (AT e GC) em todas as raças citadas (Abe et al., 2009). O cruzamento entre raças que contém predominantemente o haplótipo GC do gene *FASN* com bovinos da raça Preta Japonesa produz um aumento do haplótipo AT em animais cruzados, aumentando a concentração de ácidos graxos oleico e MUFA. Desta forma, os polimorfismos do *FASN* podem ser uma estratégia usada no controle das concentrações de ácidos graxos mirístico, palmítico, oleico e MUFA na carne de bovinos.

Ao trabalhar com bovinos da raça Preta Japonesa (n=2.390) de 38 fazendas, Matsushashi et al. (2011) avaliaram os efeitos independentes e epistáticos de 5 polimorfismos (4 SNP e 1 inserção / deleção (ins / del)) em 4 genes relacionados ao metabolismo lipídico (3 genes de síntese de ácidos graxos (*FASN*, *SCD*, *SREBP1*) e *GH*) na composição de ácidos graxos do músculo *Longissimus thoracis*. O polimorfismo A293V do gene *SCD* teve o maior efeito sobre o ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido esteárico, ácido oleico e MUFA. Os polimorfismos nos genes *FASN*, *SCD* e *SREBP1* não apresentaram efeito sobre nenhum dos ácidos graxos da carne. Não houve efeitos epistáticos significativos na composição de ácidos graxos entre os três genes (*FASN*, *SCD* e *SREBP1*) envolvidos na síntese de ácidos graxos.

Dunner et al. (2013) avaliaram 389 polimorfismos de SNPs localizados em 206 genes candidatos envolvidos na adipogênese, metabolismo lipídico e homeostase energética para os efeitos sobre a composição lipídica muscular em 15 raças bovinas européias. Os autores identificaram um total de 16 genes com efeitos significativos sobre os ácidos graxos, entre estes, os *CFL1* e *MYOZ1* apresentaram grandes efeitos sobre a relação C18:2/18:3, *CRI1* sobre o C22: 4 n-6, *MMP1* sobre o ácido docosa-hexaenoico (22:6 n-3) e *CLA*, *PLTP* na relação de ácidos graxos ômega 6: ômega 3. Além disso, os efeitos dos genes *DGAT1*, *IGF2R* e *IGFBP3* no conteúdo de ácidos graxos da gordura intramuscular muscular e, conseqüentemente, na palatabilidade da carne, confirmam as associações descritas anteriormente para esses genes. De acordo com os autores, os resultados fornecem informações valiosas para elucidar as complexas redes de genes subjacentes à composição dos ácidos graxos em bovinos e compreender os fatores que influenciam os aspectos sensoriais da carne. Ainda, Yeon et al. (2013) realizaram estudos para identificar variantes genéticas *FASN* e associação com a composição de ácidos graxos, em bovinos Hanwoo. Os autores observaram seis variantes genéticas localizadas nos éxons 20, 24, 32, 34 e 39 e concluíram que os SNPs localizados em regiões codificadoras (exons 20, 32 e 39) de *FASN* apresentam associação significativa com a composição dos ácidos graxos.

2.4. Aplicação de dados genômicos para o melhoramento do perfil de ácidos graxos da carne

Com o desenvolvimento de milhares de marcadores do tipo SNP que cobrem com maior abrangência o genoma bovino, maiores níveis de desequilíbrio de ligação entre os marcadores e entre os marcadores com os QTL são obtidos e, conseqüentemente, as chances de encontrar marcadores associados às características produtivas nos animais. Como consequência, a utilização de informações genômicas para a predição dos valores genéticos das características de importância econômica pode contribuir na melhoria da qualidade de carne.

Com a aplicação de seleção genômica, os custos de produção poderão ser reduzidos consideravelmente, sobretudo para características que dependem de testes

de progênie para sua avaliação genética, uma vez que diminuirá o intervalo de geração e incrementará a acurácia de seleção, sobretudo a idades jovens (Schaeffer, 2006). Normalmente, na estimação dos valores genômicos é utilizada uma população de referência, na qual os animais possuem registros fenotípicos de características e informações genotípicas (Calus e Veerkamp, 2007). Posteriormente, as estimativas dos efeitos dos marcadores são utilizadas para predizer os valores genômicos de animais de outra população (por exemplo, candidatos à seleção) com informação genotípica, mas que não possuem dados fenotípicos (Meuwissen et al., 2001; Goddard e Hayes, 2009).

A acurácia de predição dos valores genômicos é condicionada à quantidade de informação fenotípica na população de referência, densidade e tipo de marcadores utilizados (SNPs ou haplótipos), herdabilidade da característica e metodologia utilizada para a estimação dos efeitos dos marcadores (Meuwissen et al., 2001; Muir, 2007; Solberg et al., 2008; Hassen et al., 2009; Bolormaa et al., 2013). Várias metodologias têm sido propostas para a estimação dos efeitos dos marcadores, como “ridge regression” (Whittaker et al., 2000), Best Linear Unbiased Predictor (BLUP) (Meuwissen et al., 2001) e inferência Bayesiana, utilizando vários tipos de distribuições a priori para os efeitos e variâncias dos QTL (Meuwissen et al., 2001; Xu, 2003; Yi e Xu, 2008).

A partir de resultados de simulação, os modelos hierárquicos ou bayesianos resultaram em maiores acurácias na estimação dos efeitos dos QTL (Zhang et al., 2011). Hayes et al. (2010) demonstrou que a metodologia e distribuição mais adequada para a estimação dos efeitos dos QTL é condicionada à característica que está sendo considerada, uma vez que o número de QTL assim como a proporção da variância genética que é explicada pelos marcadores varia em função da característica.

Vários pesquisadores descreveram que o ácidos graxos na carne de bovinos apresenta variação genética para responder à seleção (Inoue et al., 2011; Nogi et al., 2011, Wu et al., 2012; Yeon et al., 2013). Entretanto, devido à dificuldade e alto custo para obtenção de medidas fenotípicas do perfil de ácidos graxos, provavelmente, tem sido limitada a sua implementação em programas de melhoramento genético. A identificação de regiões do genoma responsáveis por variação genética do perfil de

ácidos graxos da carne deverá contribuir para a compreensão da síntese de ácidos graxos da carne, bem como aumentar as oportunidades para melhorar a composição da gordura na carne, por meio de seleção genômica (Bouwman et al., 2011).

Neste sentido, Uemoto et al. (2010) identificaram 32 SNPs localizados no cromossomo 19, associados à quantidade de ácido oleico na gordura intramuscular do músculo *Trapezius* em bovinos da raça Preta Japonesa. O conteúdo de ácido oleico está positivamente correlacionado com a qualidade sensorial da carne (Melton et al., 1982). No estudo de Uemoto et al. (2010), os autores usaram o painel Illumina BovineSNP50 BeadChip e genotiparam apenas 160 bovinos (80 animais com valores mais elevados e 80 animais com valores mais baixos de ácido oleico) selecionados de 3.356 animais com base no fenótipo corrigido.

Reecy et al. (2010) genotiparam 2.285 touros da raça Angus com o painel Illumina BovineSNP50 BeadChip para identificar regiões genômicas associadas com a concentração de ácidos graxos da carne. Os efeitos de SNPs sobre cada ácido foram estimados usando o modelo BayesC, considerando a probabilidade de um SNP não influenciar a característica (π) = 0,90. Desta, dependendo do ácido graxo considerado na análise, 2,3% a 48,5% da variância observada pode ser explicada pelos marcadores genéticos. Segundo os autores, os ácidos graxos de cadeia longa são características de baixa herdabilidade, com uma baixa proporção de variância explicada pelos marcadores, em relação àqueles de cadeia curta. Os autores concluíram que uma grande proporção de variação na composição de ácidos graxos está associada a um número relativamente baixo de SNPs.

O primeiro estudo de associação ampla do genoma para o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular em bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) foi realizado por Cesar et al. (2014). Os autores genotiparam 386 touros Nelore usando o painel BovineHD BeadChip (770 k) e usaram o modelo Bayes B para identificar regiões genômicas e genes candidatos associados com a composição de ácidos graxos em Nelore. Os autores encontraram oito regiões genômicas (janelas de 1 Mb) para os ácidos saturados que explicaram mais de 1% da variação genotípica para os ácidos láurico, mirístico, palmítico e esteárico. Dez regiões genômicas para MUFA, como palmitoleico, miristoleico, oleico e vacênico. Para os PUFA, nove regiões genômicas que relacionam linoleico, α -linolênico, linolênico, eicosatrienóico, eicosapentaenóico e

docosapentaenoico. Os autores concluíram que a composição da gordura intramuscular é afetada por muitos loci, com pequenos efeitos e a identificação de regiões genômicas associadas à composição de ácidos graxos da carne pode levar à seleção para melhorar a nutrição e a saúde humana. Além disso, a identificação de tais regiões e os respectivos genes candidatos contribuem para melhorar o conhecimento genético do perfil de ácidos graxos de bovinos Nelore e melhorar a seleção de tais características para favorecer a saúde humana.

Ainda são limitados os trabalhos de seleção genômica para o perfil de ácidos graxos em bovinos (Saatchi et al., 2013; Chen et al., 2015; Onogi et al., 2015). Neste sentido, trabalhando com uma população de bovinos Angus, Saatchi et al. (2013) realizaram estudos de associação e seleção genômica ampla para determinar a extensão em que os marcadores moleculares poderiam ser responsáveis por variação em composição de ácidos graxos no músculo esquelético e identificar as regiões genômicas associadas a essa variação. Os autores trabalharam com um painel de 54K, tendo verificado que até 54% da variação na composição dos ácidos graxos da carne era explicada pelos marcadores do tipo SNP e a acurácia na predição do valor genômico genético direto variou de -0.06 a 0.57.

Por conseguinte, Chen et al. (2015) realizaram estudos de associação e predição genômica, visando avaliar a acurácia de predição genômica na composição de ácidos graxos da carne, usando os métodos GBLUP e bayesianos. Os autores trabalharam com bovinos de raças taurinas e seus cruzamentos e concluíram que a composição de ácidos graxos na carne bovina é influenciada por alguns genes de efeito maior e muitos genes de efeito menor, existindo potencial de prever o valor genômico da composição de ácidos graxos em bovinos de corte, com moderada a alta acurácia para ácidos graxos que apresentam estimativa de herdabilidade moderada a alta. Ademais, Onogi et al. (2015) avaliaram a habilidade preditiva do método passo único genômico BLUP (ssGBLUP) na composição de ácidos graxos da carne de bovinos da raça preta Japonesa, com fenótipo de 3088 animais, dos quais 952 machos foram genotipados. Na referida avaliação, a acurácia de predição foi maior para o método ssGBLUP, em relação ao BLUP, para todas as características, sendo que, em uma avaliação empírica, os ganhos em acurácia do método ssGBLUP em relação ao

BLUP aumentaram à medida que o desvio dos valores fenotípicos dos animais aumentou.

Contudo, ainda são limitados os trabalhos de seleção genômica para o perfil de ácidos graxos em bovinos (Saatchi et al., 2013; Chen et al., 2015; Onogi et al., 2015). Além disso, a divergência entre estudos, sugere-se que a diferença dentro os métodos se deve à arquitetura genética da característica, ou seja, a acurácia tende a aumentar na medida que o modelo se ajusta à arquitetura genética da característica (Lund et al., 2009). Para as características que são afetadas por poucos genes de moderado a grande efeito, melhores resultados podem ser alcançados com os métodos bayesianos (Neves et al., 2014). Para características que são controladas por muitos pares genes com pequenos efeitos, o método SNP-BLUP apresenta a melhor habilidade de predição (Clark et al., 2011).

2.5. Predição dos valores genômicos para perfil de ácidos graxos

A obtenção das predições de valores genéticos é geralmente baseada na metodologia dos modelos mistos, que permite a inclusão de dados genealógicos e fenotípicos do animal e seus parentes para obter predições lineares não viesadas (BLUP) do valor genético dos indivíduos (Henderson, 1975). A inclusão de dados fornecidos pelos marcadores moleculares, cobrindo todo genoma no processo de predição do mérito genético, além dos dados fenotípicos e genealógicos, na seleção genômica (Meuwissen et al., 2001), permite um aumento na acurácia dos valores genéticos estimados (Goddard e Hayes, 2009).

A predição do valor genômico pode envolver múltiplos passos (*multi-step*) (Vanraden, 2008; Hayes et al., 2009) ou passo único genômico BLUP (ssGBLUP) (Aguilar et al., 2010; Chen et al., 2011). Para predizer os valores genômicos por *multi-step*, os valores genéticos que serão utilizados como pseudo-fenótipos são estimados pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP), o qual considera a matriz de parentesco baseada apenas no pedigree. Em seguida, estes pseudo-fenótipos são utilizados em modelo de predição genômica para estimar os efeitos dos marcadores

na população de referência, nesse caso, todos os animais devem estar genotipados e, por último, prever os valores genômicos por um índice de seleção (Hayes et al., 2009) que é formado por uma média da habilidade de transmissão genética gerada a partir das informações dos passos anteriores. As ponderações do índice são realizadas com base na herdabilidade e acurácia das características analisadas (Misztal et al., 2009).

Os efeitos dos marcadores podem ser estimados com diferentes pressuposições, quanto a sua distribuição, com distribuição normal e variância homogênea para todos os SNPs no método SNP-BLUP, variância heterogênea para os efeitos dos SNPs no método BayesA, parte dos SNPs, sem efeito com probabilidade π e uma fração de efeito com probabilidade $1-\pi$ com variância heterogênea no método BayesB (Meuwissen et al., 2001); parte dos SNPs sem efeito com probabilidade π e uma fração de efeito com probabilidade $1-\pi$ com variância homogênea no método BayesC; com π fixo no caso do BayesC π (Habier et al., 2011) e exponencial dupla no método Bayesian Lasso (Park e Casella, 2008). As etapas do método *multi-step* dependem de muitos parâmetros e suposições, os quais são extremamente difíceis de verificar, sobretudo na seleção de animais. Os principais problemas estão relacionados à má qualidade e definição dos pseudo-fenótipos, por exemplo, para animais com pequeno número de progênie, como acontece em alguns casos de bovinos de corte.

Assim, quando apenas uma parcela da população for genotipada, pode-se utilizar o método ssGBLUP (Aguilar et al., 2010), o qual apresenta vantagens por ser de fácil aplicação, pois permite considerar simultaneamente as informações fenotípicas dos animais genotipados e não genotipados. Esse método também é adequado para análises multicaracterística e permite a predição indireta de valores genéticos em animais jovens através dos efeitos dos SNPs com acurácia de uma avaliação completa (Chen et al., 2011; Lourenço et al., 2014).

2.6. Haplótipos

Haplótipos são variações genéticas transmitidas em blocos não recombinantes, sendo que sua existência revela um estado de desequilíbrio de ligação entre variantes alélicas de regiões cromossômicas fortemente ligadas (Boopathi, 2013). O desequilíbrio de ligação refere-se à associação não aleatória de alelos em dois locos resultando em maior frequência de certos haplótipos no loco do que o esperado ao acaso (Bohmanova et al., 2010).

Um haplótipo pode estar em desequilíbrio de ligação (LD) mais elevado com a mutação causal do que o SNP e isso pode levar à identificação de um efeito aditivo maior, se eles combinarem várias mutações numa região cromossômica, o que aumenta o poder de identificar o loci, mesmo se tiverem pequenos efeitos (Fallin e Schork, 2000; Bickel et al., 2011). Do mesmo modo que o haplótipo pode estar em LD com o QTL e o SNP não, devido às frequências serem diferentes do SNP e QTL, sendo que os haplótipos tem uma maior possibilidade de detectar QTLs com baixa frequência (Lorenz et al., 2010; Boleckova et al., 2012; Cuyabano et al., 2014) e os SNPs capturam uma informação genética limitada (Tang et al., 2009; Guo et al., 2009; Wu et al., 2014). Além disso, haplótipos podem capturar possíveis interações epistáticas entre SNPs de um mesmo loco (Clark, 2004; Bardel et al., 2005).

O tamanho, o número de blocos de haplótipos e sua diversidade em termos de quantidade de alelos e suas frequências são fatores fundamentais que influenciam a demanda computacional, os resultados dos estudos de associação (GWAS) e a acurácia de predição genômica (Hayes et al., 2007; Cuyabano et al., 2014; Cuyabano et al., 2015; Hess et al., 2017).

Existem evidências que o uso de dados de painéis de SNP de alta densidade para formar blocos de haplótipos para uma análise genômica, pode melhorar a acurácia de predição (Croiseau et al., 2014; Sun et al. 2014). Se a densidade do painel de marcador SNP é suficiente para produzir blocos de haplótipos que estão em LD com os alelos de QTL, uma maior proporção da variância genética vai ser explicada pelos blocos de haplótipos (Croiseau et al., 2014). Uma série de fatores pode, potencialmente, resultar em acurácias inferiores: pequena população de treinamento; baixos níveis de LD entre marcadores SNP e QTL, fazendo a suposição implícita de homogeneidade do tamanho do QTL e do marcador SNP e; efeito do marcador.

Modelos de predição genômica que utilizam blocos de haplótipos baseada em painéis de SNP de alta densidade e a inclusão de um grande número de animais nas populações de treinamento podem melhorar as acurácias de predição (Harris et al., 2014; Cuyabano et al., 2015). Cuyabano et al. (2014), comparando a capacidade preditiva dos modelos usando SNPs individuais e blocos de haplótipos concluíram que os haplótipos podem melhorar a acurácia de predição, sendo potenciais preditores de características complexas. Do mesmo modo, Abdel-Shafy et al., (2014) ao realizar uma associação genômica (GWAS) tanto pelo método de marcador individual (SNP) quanto pelo método utilizando informações de haplótipos, chegaram à conclusão que o GWAS utilizando haplótipos adicionam informações que não foram obtidas pela análise dos SNPs.

Até o momento a maioria dos estudos de associação genômica e predição genômica utilizando haplótipos tem sido realizados basicamente com dois métodos de construção dos blocos de haplótipos: baseado no LD (Cuyabano et al., 2014; Abdel-Shafy et al., 2014; Cuyabano et al., 2015) e baseado em um número fixo de SNPs ou tamanho do bloco de haplótipos (Sun et al., 2014; Hess et al., 2017) não existindo assim um consenso na literatura sobre qual metodologia utilizar.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Os objetivos deste estudo foram realizar associação genômica ampla (GWAS) e predição genômica utilizando haplótipos como marcadores genéticos para o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular do músculo *longissimus dorsi* em bovinos Nelore.

3.2. Objetivos Específicos

- Construir blocos de haplótipos baseados no desequilíbrio de ligação utilizando informações genômicas do painel BovineHD BeadChip (High-Density Bovine BeadChip - Illumina) com 777.962 marcadores SNPs;
- Identificar regiões genômicas associados ao perfil de ácidos graxos da carne de bovinos da raça Nelore por meio de estudos de associação genômica ampla, utilizando haplótipos;
- Identificar vias metabólicas associadas à característica de perfil de ácidos graxos da carne por meio de estudos de associação genômica ampla, utilizando haplótipos;
- Avaliar a viabilidade da seleção genômica para o perfil de ácidos graxos da carne bovina por meio da acurácia e viés da predição genômica utilizando o método ssGBLUP baseado em haplótipos ou marcadores SNP em bovinos Nelore.

4. REFERÊNCIAS

Abdel-Shafy, H, Bordfeldt RH, Tetens J, Brockmann GA (2014) Single nucleotide polymorphism and haplotype effects associated with somatic cell score in German Holstein cattle. **Genetic Selection Evolution** 46(1):35.

Abe TJ, Saburi H, Hasebe T, Nakagawa S, Misumi T, Nade H, Nakajima N, Shoji M, Kobayashi, Kobayashi E (2009) Novel mutations of the FASN gene and their effect on fatty acid composition in Japanese Black beef. **Biochemical Genetics** 47:397–411.

ABIEC (2018) Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Balanço da pecuária. Perfil da Pecuária no Brasil: Relatório Anual 2016.

Aboujaoude C, Pereira ASC, Feitosa FLB, Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Peripolli E, Silva RMO, Ferrinho AM, Mueller LF, Olivieri BF, Albuquerque LG, Oliveira HN, Tonhati H, Espigolan R, Tonussi R, Gordo DM, Magalhães AFB Baldi F (2016) Genetic parameters for fatty acids in intramuscular fat from feedlot-finished Nelore carcasses. **Animal Production Science** 58(2):1-14.

Aguilar I, Misztal I, Johnson DL, Legarra A, Tsuruta S, Lawlor T J (2010) Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science** 93:743-752.

Aldai N, Murray BE, Oliván M, Martínez A, Troy DJ, Osoro K, Nájera AI (2006) The influence of breed and mh-genotype on carcass conformation, meat physicochemical characteristics, and the fatty acid profile of muscle from yearling bulls. **Meat Science** 72:486-495.

Bansal V, Halpern AL, Axelrod N, Bafna V (2008) An MCMC algorithm for haplotype assembly from whole-genome sequence data. **Genome Research** 18:1336-1346.

Bardel C, Danjean V, Hugot JP, Darlu P, Genin E (2005) On the use of haplotype phylogeny to detect disease susceptibility loci. **BMC Genetics** 6.

Bartoň L, Marounek M, Kudrna V, Bureš D, Zahradková R (2007) Growth performance and fatty acid profiles of intramuscular and subcutaneous fat from Limousin and Charolais heifers fed extruded linseed. **Meat Science** 76:571-523.

Bickel RD, Kopp A, Nuzhdin SV (2011) Composite Effects of Polymorphisms near Multiple Regulatory Elements Create a Major-Effect QTL. **PLoS Genetics** 7(1).

Bohmanova J, Sargolzaei M, Schenkel FS (2010) Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. **BMC Genomics** 11.

Bolečková J, Matějčková J, Štípková M, Kyselová J, Bartoň L (2012) The association of five polymorphisms with milk production traits in Czech Fleckvieh cattle. **Czech Journal of Animal Science** 57:45-53.

Bolorma S, Pryce JE, Kemper KE, Hayes BJ, Zhang Y, Tier B, Barendse W, Reverter A, Goddard ME (2013) Detection of quantitative trait loci in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using genome-wide association studies. **Genetics Selection Evolution** 45:43.

Boopathi NM (2013) Genetic mapping and marker assisted selection. Basics, Practice and Benefits. In: _____. (Ed.). **Mapping population development**. Coimbatore: Springer, p. 23-37.

Bouwman AC, Bovenhuis H, Visker MH, Van Arendonk J (2011) A Genome-wide association of milk fatty acids in Dutch dairy cattle. **BMC Genetics** 43:2-12.

Bressan MC, Rossato LV, Rodrigues EC, Alves SP, Bessa RJB, Ramos EM (2011) Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. **Journal of Animal Science** 89:221-232.

Calus MPL, Veerkamp RF (2007) Accuracy of breeding value when using and ignoring the polygenic effect in genomic breeding value estimation with a marker density of one SNP per cM. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 124:362 - 368.

Cesar ASM, Regitano LCA, Tullio RR, Lanna DPD, Nassu RT, Mudado MA, Oliveira PSN, Do Nascimento ML, Chaves AS, Alencar MM, Sonstegard TS, Garrick DJ, Reecy JM, Coutinho LL (2014) Genome-wide association study for intramuscular fat deposition and composition in Nellore cattle. **BMC Genetics** 15:39.

Chen L, Ekine-Dzivenu C, Vinsky M, Basarab J, Aalhus J, Dugan ME, Fitzsimmons C, Stothard P, Li C (2015) Genome-wide association and genomic prediction of breeding values for fatty acid composition in subcutaneous adipose and longissimus lumborum muscle of beef cattle. **BMC genetics** 16:135-149.

Clark AG (2004) The role of haplotypes in candidate gene studies. **Genetic Epidemiology** 27:321–333.

Clark SA, Hickey JM, Van Der Werf JHJ (2011) Different models of genetic variation and their effect on genomic evaluation. **Genetics Selection Evolution** 43:18.

Croiseau P, Fouilloux MN, Jonas D, Fritz S, Baur A, Ducrocq V, Phocas F, Boichard D (2014) Extension to haplotypes of genomic evaluation algorithms. **Proceedings**, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Curtis D, North BV, Sham PC (2001) Use of an artificial neural network to detect association between a disease and multiple marker genotypes. **Annals of Human Genetics** 65:95–107.

Cuyabano BCD, Su G, Lund MS (2014) Genomic prediction of genetic merit using LD-based haplotypes in the Nordic Holstein population. **BMC Genomics** 15:1171.

Cuyabano BCD, Su G, Lund MS (2015) Selection of haplotype variables from a high-density marker map for genomic prediction. **Genetics Selection Evolution** 47:61.

De Smet S, Raes K, Demeyer D (2004) Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. **Animal Research** 53:81 – 98.

Demeyer D, Dorea M (1999) Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings Nutrition Society** 58:593–607.

Dunner S, Sevane N, Garcia D, Levéziel H, Williams JI, Mangin B, Valentini A (2013) Genes involved in muscle lipid composition in 15 European Bos taurus breeds. **Animal Genetics** 44(5):493-501.

Fallin D, Schork NJ (2000) Accuracy of haplotype frequency estimation for biallelic loci, via the expectation-maximization algorithm for unphased diploid genotype data. **The American Journal of Human Genetics** 67:947-959.

Feitosa FLB, Olivieri BF, Aboujaoude C, Pereira ASC, Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Peripolli E, Ferrinho AM, Mueller LF, Mazalli MR, Albuquerque LG, Oliveira HN, Tonhati H, Espigolan R, Tonussi RL, Silva RMO, Gordo DGM, Magalhães AFB, Aguilar I, Baldi F (2016) Genetic correlation estimates between beef fatty acid profile with meat and carcass traits in Nellore cattle finished in feedlot, **Journal of Applied Genetics** 58:123-132.

French P, O'riordan EG, Monahan FJ (2000) Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate-based diets. **Meat Science** 56:173-180.

Gandemer G (1999) Lipids and meat quality: lipolysis, oxidation, Maillard reaction and flavour, **Science Aliments** 19:439–458.

Garrick DJ (2011) The nature, scope and impact of genomic prediction in beef cattle in the United States. **Genetics Selection Evolution** 43:17.

Gillis AT, Eskin NAM, Cliplef RL (1973) Fatty acid composition of bovine intramuscular and subcutaneous fat as related to breed and sex. **Journal of Food Science** 38:408–411.

Goddard ME, Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. **Nature Reviews Genetics** 10:381–91.

Guo G, Lund MS, Zhang Y, Su G (2010) Comparison between genomic predictions using daughter yield deviation and conventional estimated breeding value as response variables. **Journal Animal Breeding Genetics** 127:423-432.

Habier DRL, Fernando K, Garrick DJ (2011) Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics** 12:186-199.

Harris BL, Winkelman AM, Johnson DL (2014) Across-breed genomic prediction in dairy cattle. **Proceedings**, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Hassen A, Avendano S, Hill WG, Fernando RL, Lamont SJ, Dekkers JCM (2009) The effect of heritability estimates on high-density single nucleotide polymorphism analyses with related animals. **Journal of Animal Science** 87:868-875.

Hayes BJ, Chamberlain AJ, McPartlan H, Macleod I, Sethuraman L, Goddard ME (2007) Accuracy of marker-assisted selection with single markers and marker haplotypes in cattle. **Genetics Research** 89(4):215-220.

Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AC, Goddard ME (2009) Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. **Journal Dairy Science** 92:1313-1326.

Hayes BJ, Pryce J, Chamberlain AJ, Bowman PJ, Goddard ME (2010) Genetic architecture of complex traits and accuracy of genomic prediction: coat colour, milk-fat percentage, and type in Holstein cattle as contrasting model traits. **PLoS Genetics** 23(6):e1001139.

Henderson CR (1975) Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. **Biometrics** 31:423.

Hess M, Druet T, Hess A, Garrick D (2017) Fixed-length haplotypes can improve genomic prediction accuracy in an admixed dairy cattle population. **Genetics Selection Evolution** 49:54.

Hirata MH, Hirata RDC (2002) Transporte de ácidos graxos no plasma. In: CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. (1 Ed.). **Entendendo a gordura: ácidos graxos**. Barueri, São Paulo 7:61-72.

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

Huerta-Leidenz NO, Cross HR, Savell JW, Lunt DK, Baker LS, Smith B (1996) Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from male calves at different stages of growth. **Journal of Animal Science** 74:1256-1264.

Inoue K, Kobayashi M, Shoji N, Kato K (2011) Genetic parameters for fatty acid composition and feed efficiency traits in Japanese Black cattle. **Animal** 5:987–994.

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

Jakobsen K (1999) Dietary modifications of animal fats: status and future perspectives. **European Journal of Lipid Science and Technology** 101(12):475–483.

Katan MB, Zoock PM, Mensink RP (1994) Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. **American Journal for Clinical Nutrition** 60:1017-1022.

Lawrie RA (2005) **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed, 6. ed. p. 384.

Lorenz AJ, Hamblin MT, Jannink JL (2010) Performance of single nucleotide polymorphisms versus haplotypes for genome-wide association analysis in barley. **Plos One** 5.

Lourenço M (2007) **Influence of forages on the fatty acid composition of rumen digesta and ruminant milk and meat**. Ph.D. Thesis. Ghent University, Ghent, 202p.

Lourenço DAL, Misztal I, Tsuruta S, Aguilar I, Lawlor TJ, Forni S, Weller JI (2014) Are evaluations on Young genotyped animals benefiting from the past generations. **Journal of Dairy Science** 97:3930-3942.

Luchiari Filho A (2006) Produção de carne bovina no brasil qualidade, quantidade ou ambas? In: II SIMBOI - Simpósio sobre Desafios e Novas Tecnologias na Bovinocultura de Corte. **Anais...** Brasília.

Lund MS, Sahana G, Koning D, Su G, Carlborg O (2009) Comparison of analyses of the QTLMAS XII common dataset. I: Genomicselection. **BMC Proceedings** 3:S1.

Malau-Aduli AEO, Siebert BD, Bottema CDL, Pitchford WSA (1997) comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. **Australian Journal Agricultural Research** 48:715–722.

Malau-Aduli AEO, Siebert BD, Bottema CDK, Pitchford WS (1998) Breed comparison of the fatty acid composition of muscle phospholipids in Jersey and Limousin cattle. **Journal of Animal Science** 76:766–773.

Malau-Aduli AEO, Edriss MA, Siebert BD, Bottema CDK, Deland MPB Pitchford WS (2000) Estimates of genetic parameters for triacylglycerol fatty acids in beef cattle at weaning and slaughter. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 83:169–180.

Matsushashi T, Maruyama S, Uemoto Y, Kobayashi N, Mannen H, Abe T, Sakaguchi S, Kobayashi E (2011) Effects of bovine fatty acid synthase, stearyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. **Journal of Animal Science** 89:12–22.

Melton SL, Amiri M, Davis GW, Backus WR (1982) Flavor and chemical characteristics of ground beef from grass-, forage-grain- and grain-finished steers. **Journal of Animal Science** 55:77-87.

Mensink RP, Katan MB (1992) Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: A meta-analysis of 27 trials. **Arteriosclerosis and Thrombosis: a Journal of Vascular Biology** 12(8):911–919.

Metz PAM, Menezes LFG, Santos AP, Brondani IL, Restle J, Lanna DPD (2009) Perfil de ácidos graxos na carne de novilhos de diferentes idades e grupos genéticos terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38(3):523-531.

Meuwissen TH, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker map. **Genetics** 157:1819-1829.

Mills EW, Comerford JW, Hollender R, Harpster HW, House B, Henning WR (1992) Meat composition and palatability of Holstein and beef steers as influenced by forage type and protein source. **Journal of Animal Science** 70:2446-2451.

Misztal I, Legarra A, Aguilar I (2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree and genomic information. **Journal of Dairy Science** 92:4648-4655.

Morris CA, Cullen NG, Glass BC, Hyndman DL, Manley TR, Hickey SM, Mcewan JC, Pitchford WS, Bottema CD, Lee MA (2007) Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. **Mammalian Genome** 18:64–74.

Muir WM (2007) Comparison of genomic and traditional BLUP - estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 124:342-355.

Neves HH, Carneiro R, O'Brien AMP, Utsunomiya YT, Do Carmo AS, Schenkel FS, Sölkner J, Mcewan JC, Van Tassell CP, Cole JB, Silva MVGB, Queiroz SA, Sonstegard TS, Garcia JF (2014) Accuracy of genomic predictions in *Bos indicus* (Nelore) cattle. **Genetics Selection Evolution** 46:17-25.

Nogi T, Honda T, Mukai F, Okagaki T, Oyama K (2011) Heritabilities and genetic correlations of fatty acid compositions in longissimus muscle lipid with carcass traits in Japanese Black cattle. **Journal of Animal Science** 89:615–621.

Nürnberg K, Wegner J, Ender K (1998) Factors influencing fat composition in muscle and adipose tissue of farm animals. **Livestock Production Science** 56:145-156.

Onogi A, Ogino A, Komatsu T, Shoji N, Shimizu K, Kurogi K, Yasumori T, Togashi K, Iwata H (2015) Whole-genome prediction of fatty acid composition in meat of Japanese Black cattle. **Animal Genetics** 46:557-559.

Park T, Casella G (2008) The bayesian lasso. **Journal of the American Statistical Association** 103:681-686,.

Pensel N (1998) The future of red meat in human diets. **The Professional Animal Scientist** 14(2):133-140.

Perry D, Nicholls PJ, Thompson JM (1998) The effect of sire breed on the melting point and fatty acid composition of subcutaneous fat in steers. **Journal of Animal Science** 76:87-952.

Pitchford W S, Deland M P B, Siebert B D, Malau-Aduli A E O, Bottema C D K (2002) Genetic variation in fatness and fatty acid composition of crossbred cattle. **Journal Animal Science** 80:2825–2832.

Prado IN, Moreira FB, Matsushita M, Souza NE (2003) *Longissimus dorsi* fatty acids composition of *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* crossbred steers finished in pasture. **Brazilian Archives Biology Technology** 46:599–606.

Raes K, Smet S, Demeyer D (2001) Effect of double-muscling in Belgium Blue young bulls on the intramuscular fatty acid composition with emphasis on conjugated linoleic acid and polyunsaturated fatty acids. **Animal Science** 73:253-260.

Reecy JM, Tait RG, Vanoverbeke DL, Garmyn AJ, Mateescu RG, Van Eenennaam AL, Duan Q, Liu Q, Schoonmaker JP, Drewnoski ME, Beitz DC, Kizilkaya K, Fernando RL, Garrick DJ (2010) Use of Genomics to Improve Healthfulness And Quality of Meat. In: 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 1 to 6 of august of 2010, Leipzig, **Proceedings**..... Proceedings of 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.

Rossato LV, Bressan MC, Rodrigues EC, Gama LT, Bessa RJB, Alves SPA (2010) Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39(5):1127-1134.

Rule DC, Macneil MD, Short RE (1997) Influence of sire growth potential, time on feed, and growing-finishing strategy on cholesterol and fatty acids of the ground carcass and *Longissimus* muscle of beef steers. **Journal Animal Science** 75:1525–1533.

Saatchi M, Garrick DJ, Tait RG Jr, Mayes MS, Drewnoski M, Schoonmaker J, Diaz C, Beitz DC, Reecy JM (2013) Genome-wide association and prediction of direct genomic breeding values for composition of fatty acids in Angus beef cattle. **BMC Genomics** 14:730.

Schaeffer LR (2006) Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 123:218-223.

Scollan N, Hocquette JF, Nuernberg K, Dannenberger D, Richardson I, Moloney A (2006) Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science** 74:17- 33.

Siebert BD, Deland MP, Pitchford WS (1996) Breed differences in the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipid of early and late maturing, grain-finished cattle. **Australian Journal Agricultural Research** 47:943–952.

Solberg TR, Sonesson AK, Woolliams JA, Meuwissen THE (2008) Genomic selection using different marker types and densities. **Journal of Animal Science** 86:2447-2454.

Sun X, Fernando RL, Garrick DJ, Dekkers JCM (2014) Improved accuracy of genomic prediction for traits with rare QTL by fitting haplotypes. **Proceedings**, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Tait RJr, Zhang S, Knight T, Minick J, Bormann D, Beitz L, Reecy J (2007) Heritability estimates for fatty acid quantity in Angus beef. **Journal of Animal Science** 85:58-70.

Tamminga S, Doreau M (1991) **Lipids and rumen digestion**. In: JOUANY, J.P. (Ed.). Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Paris: INRA, p. 151-164.

Tang QQ, Otto TC, Lane MD (2003) CCAAT/enhancer-binding protein beta is required for mitotic clonal expansion during adipogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 100:850-855.

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

Uemoto Y, Abe T, Tameoka N, Hasebe H, Inoue K, Nakajima H, Shoji N, Kobayashi M, Kobayashi E (2010) Whole-genome association study for fatty acid composition of oleic acid in Japanese Black cattle. **Animal Genetics** 42:141-148.

Vanraden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science** 91:4414-23.

Warren HE, Scollan ND, Enser M, Hughes SI, Richardson RI, Wood JD (2008) Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. **Meat Science** 78:256-69.

Whittaker JC, Thompson R, Visscher PM (2000) Marker-assisted selection using ridge regression. **Genetics Research** 75:249-252.

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

Wood JD, Richardson RI, Nute GR, Fisher AV, Campo MM, Kasapidou E, Sheard P R, Enser M (2003) Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science** 66:21-32.

Wu XX, Yang ZP, Shi XK, Li JY, Ji DJ, Mao YJ, Gao HJ (2012) Association of SCD1 and DGAT1 SNPs with the intramuscular fat traits in Chinese Simmental cattle and their distribution in eight Chinese cattle breeds. **Molecular biology reports** 39(2):1065-1071.

Wu Y, Fan H, Wang Y, Zhang L, Gao X, Chen Y, Li J, Ren HY, Gao H (2014) Genome-Wide Association Studies Using Haplotypes and Individual SNPs in Simmental Cattle. **PloS One** 9(10):e109330.

Xie YR, Busboom JR, Gaskins CT, Johnson KA, Reeves JJ, Wright RW, Cronrath JD (1996) Effects of breed and sire on carcass characteristics and fatty acid profiles of crossbred Wagyu and Angus steers. **Meat Science** 43:167–177.

Xu J, Teran-Garcia M, Park JH, Nakamura MT, Clarke SD (2001) Polyunsaturated fatty acids suppress hepatic sterol regulatory element-binding protein-1 expression by accelerating transcript decay. **Journal of Biological Chemistry** 276:9800–9807.

Yeon SH, Lee SH, Choi BH, Lee HJ, Jang GW, Lee KT, Kim KH, Lee JH, Chung HY (2013) Genetic variation of FASN is associated with fatty acid composition of Hanwoo. **Meat Science** 94:133-138.

Yi N, Xu S (2008) Bayesian LASSO for Quantitative Trait Loci Mapping. **Genetics** 179:1045-1055.

Zembayashi M, Nishimura K, Lunt DK, Smith SB (1995) Effect of breed type and sex on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of finishing steers and heifers. **Journal of Animal Science** 73:3325–3332.

Zhang STJ, Knight JM, Reecy, Beitz DC (2008) DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. **Animal Genetics** 39:62–70.

Zhang Z, Zhang Q, Ding XD (2011) Advances in genomic selection in domestic animals. **Chinese Science Bulletin** 56:2655-2663.

CAPÍTULO 2. COMPARISON BETWEEN HAPLOTYPE-BASED AND INDIVIDUAL SNP-BASED GENOMIC PREDICTION FOR BEEF FATTY ACID COMPOSITION IN NELORE CATTLE

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate genomic prediction using ssGBLUP method based on haplotype markers and SNP markers associated with groups of beef fatty acids in Nelore cattle. The investigated dataset contained records from 963 Nelore bulls, finished in feedlot (90 days) and slaughtered with approximately two years old. Meat samples of *Longissimus dorsi* muscle, were taken to measure fatty acids composition (FAs). FAs were quantified by gas chromatography using SP-2560 capillary column. The animals were genotyped using a high-density SNP panel (BovineHD BeadChip assay 777k, Illumina Inc., San Diego, CA). Those SNP markers with minor allele frequency less than 0.05, call rate less than 90%, monomorphic, located on sex chromosomes, and those with unknown position were removed from the analysis. After genomic quality control, 469,981 SNPs and 892 animals were available for the analyses. Missing genotypes were imputed and genotypes were phased to haplotypes using FImpute software. Haplotype blocks were defined based on linkage disequilibrium using HaploView software. The model used to estimate variance components, genetic parameters and predict the genomic values included fixed effects of contemporary group and age at slaughter were defined as linear covariate, and additive random genetic effect. The accuracy using haplotype approach ranged from 0.07 to 0.31, SNP approach accuracy ranged from 0.06 to 0.33. The regression coefficient using haplotype approach ranged from 0.07 to 0.74, when used SNP approach ranged from 0.08 to 1.45. Genomic information can assist in improving the beef fatty acid profile in Nelore cattle, since the use of genomic information yielded values for beef fatty acid profile, with accuracies ranging from low to moderate. None of the genetic marker approaches evaluated (SNPs or haplotypes) excelled in terms of accuracy, however, the SNP approach allows obtaining less biased genomic evaluations, thereby, this method is more feasible when taking account the computational and operational cost to infer the haplotypes.

Keywords: *Bos indicus*, genetic markers, heritability, meat quality, ssGBLUP

1. INTRODUCTION

Beef is a high nutritional food, it is a rich source of protein, iron, zinc, complex B vitamins and essential polyunsaturated fatty acids (PUFA), such as linoleic, linolenic and arachidonic acid (McNeill et al., 2012). However, beef is also a harmful source of saturated fats (SFA), that has been associated with coronary heart diseases, diabetes, obesity and cancer (Jakobsen et al., 2008; Enser et al., 2001). In the last years, the consumers demand has changed, and there is a higher concern with the beef nutritional quality, mainly related to beef fat composition. Thus, researches in the area of genomic selection in livestock species may be a strategy for beef differentiation through nutritional quality, in order to improve competitiveness with other sources of animal protein.

In beef cattle, the additive genetic component plays an important role in beef fat profile in taurine and indicine cattle (Pitchford et al., 2002; Tait et al., 2007; Nogi et al., 2011; Cesar et al., 2014; Feitosa et al., 2016). Several studies (Cesar et al., 2014; Lemos et al., 2016; Berton et al., 2016) identified genomic regions and candidate genes involved in metabolic pathways associated with beef fatty acid composition in indicine cattle, providing a better support to elucidate the genetic basis for the improvement of beef fatty acid profile, with emphasis in human health. Nevertheless, there are limited genomic selection studies for beef fatty acid profile in indicine and taurine cattle (Saatchi et al., 2013; Chen et al., 2015; Onogi et al., 2015; Chiaia et al., 2017). In addition, there is some divergence between studies suggesting that differences in the evaluated genomic methods was due to the genetic architecture of the trait, i.e., accuracy tends to increase as the model fits the genetic architecture of the trait (Lund et al., 2009). Moreover, the mechanisms underlying the associations remain largely unaddressed, because the mapping resolution of genome-wide association studies is limited by the complicated linkage disequilibrium structure of the genome and by the sampling variation in statistical tests due to finite sample sizes (Wu et al., 2018).

The analysis based on haplotype blocks can potentially identify loci that are not captured by one single marker or identify joint effect of two or more loci. Haplotypes are a combination of alleles at adjacent loci, which are part of the same chromosome and are transmitted jointly. The haplotype markers have higher linkage disequilibrium (LD) levels with mutation (QTL) than SNP markers (Fallin and Schork, 2000; Bickel et al., 2011). According to these authors, this can lead to the identification of a larger aggregate effect, if they combine several mutations in a chromosomal region, which increases the power to identify loci, even if they have minor effects. In this sense, Cuyabano et al. (2015) compared the predictive ability of models using individual SNPs and haploblocks and concluded that the haplotypes improved the prediction accuracy, being potential predictors of complex traits.

The single-step genomic BLUP procedure (ssGBLUP) proposed by Legarra et al. (2009) and Aguilar et al. (2010), combines pedigree-based relationship matrix with genomic relationship matrix into a single matrix (H) to predict the genomic estimated breeding value (GEBV). Although the usual multi-step genomic evaluations mostly rely on highly reliable sires as reference population, single-step approach includes genomic data into the traditional EBV analysis, that has all the phenotyped animals (Su et al., 2012). The single-step method does not explicitly divide the population into training group (reference population) and prediction group (validation population), but instead, genomic data is included along the phenotypic data and pedigree relationship information (Aguilar et al., 2010; Christensen and Lund, 2010). Silva et al. (2016) stated that ssGBLUP provided most accurate predictions, and should be considered as an option to simplify genomic evaluations, especially for low heritability traits and traits with unreliable EBVs in training populations. The genomic selection provides a potential to increase the genetic response for hard measure traits, like the beef fatty acid profile, however, the most suitable genetic marker, haplotypes or SNPs, to evaluate the beef fatty acid profile is still being studied. The objective of this study was to evaluate the feasibility of genomic selection for beef fatty acid profile, through accuracy and bias of genomic prediction using the ssGBLUP method based on haplotype or SNP markers in Nelore cattle.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Local, Animals and Management

This study was approved by Ethics Committee of the Faculty of Agrarian Sciences and Veterinary, Sao Paulo State University (UNESP). Data from 963 Nelore bulls slaughtered with approximately two years of age and finished in feedlot (90 days) from eight farms located in the Southeast, Northeast and Midwest of Brazil, which participate in three beef cattle breeding programs (NeloreQualitas, Paint and DeltaGen) were collected.,with animals based on growth, finishing and sexual precocity traits.

Breeding seasons are adopted at different periods on these farms. Therefore, calving seasons concentrate from August to October in some farms, and from November to January in others. The weaning was performed at seven months of age. The animals were raised on grazing conditions using *Brachiaria sp.* and *Panicum sp.* forages, and free access to mineral salt, at density varying from 1.2 to 1.6 animal unit/hectare (AU/ha). After yearling, the breeding animals were selected and the rest remained in feedlot. During feedlot the forage: concentrate ratio ranged from 50:50 to 70:30, depending on the farm. In general, whole-plant corn or sorghum silage was used as high quality forage. Grains of corn and/or sorghum, and soybeans, soybean meal, or sunflower seeds were used as protein concentrate. The criteria used by farmers for slaughtering was weight (500-550 kg). The slaughter occurred in commercial slaughterhouses under Brazilian Federal Inspection Service (SIF), in accordance with the commercial standard procedure. After stored for 48 hours at 0-2°C, beef samples from *Longissimus dorsi* muscle, between the 12th and 13th ribs of the left half-carcasses were removed, placed in plastic bags and stored at -80°C, to measure the fatty acids profile (FAs).

2.2. Fatty acid profile

The fatty acid profile was determined at the Meat Science Laboratory (LCC) in the Department of Animal Nutrition and Production at FMVZ/USP. Meat fatty acids (FAs) were extracted from intramuscular fat (IMF) of the LT muscle as described by Folch et al. (1957) while methyl esters were formed according to Kramer et al. (1997). The FAs were quantified by gas chromatography (GC-2010 Plus AOC 20i auto-injector, Shimadzu, Kyoto, Japan) with a SP-2560 capillary column (100 m x 0.25 mm I.D. x 0.02 mm, Supelco, Bellefonte, PA). The initial temperature of 70 °C was gradually increased to 175 °C (13 °C/min) and maintained for 27 min, with a further increased to 215 °C (4 °C/min) and maintained for 31 min, using hydrogen (H₂) as carrier gas flowing at 40 cm³/s. The temperature used by flame ionization detector (FID) was 250 °C, H₂ flow of 40 ml/min, *air flow* of 400 mL/min, *Make-up* of 30 mL/min kPa (N₂), and *Sampling Rate* of 40 msec. The total running time of each sample (Stop time) was 86 minutes. FAs were identified by comparing the retention time of sample methyl esters with the FAs standard C4-C24 (F.A.M.E mix Sigma®) and GLC 463 Reference Mixture Nu Check, vaccenic acid C18:1 trans-11 (V038-1G, Sigma®) C18:2 trans-10 cis-12 (UC-61M 100mg), CLA and C18:2 cis-9, trans-11 (UC- 60M 100mg), (Sigma®), tricosanoic acid (Sigma®), and nonadecanoic acid (Sigma®). FAs were quantified by normalizing the area under the curve of methyl esters using the GS 2.42 software. FA contents were expressed as percentage of total FA methyl ester quantified. The sum of saturated fatty acid (SFA) (C10:0 + C11:0 + C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C21:0 + C24:0), monounsaturated (MUFA) (C16:1 + C17:1 c10 + C18:1 t11 + C15:1 c10 + C20:1 c11 + C24:1 + C22:1 n9 + C18:1 n9c + C14:1 + C18:1 n9t), polyunsaturated (PUFA) (C18:2 n6 + C18:3 n3 + C18:3 n6 + C20:3 n3 cis-11, 14, 17 + C20:3 n6 cis-8, 11, 14 + C20:4 n6 + C20:5 n3 + C22:6 n3), omega 6 (n6) (C18:3 n6 + C20:3 n6 c8, c11, c14 + C18:2 n6 + C20:4 n6) and omega 3 (n3) (C18:3 n3 + C20:3 n3 c11, c14, c17 + C22:6 n3 + C20:5 n3) were calculated. The polyunsaturated/saturated fatty acids and n-6/n-3 ratios were also calculated.

2.3. Genotyping of the animals

A total of 963 animals were genotyped using 777,962 SNPs of the Bovine SNP BeadChip (High-Density Bovine BeadChip). The quality control of the SNPs markers consisted of excluding those with unknown genomic position, located on sex chromosomes; SNP that were out of Hardy-Weinberg equilibrium with very low probability (P -value $< 10^{-6}$); monomorphic and markers with minor allele frequency (MAF) less than 0.05; call rate less than 90%, and markers with excess heterozygosity. Samples with a call rate less than 90% were also excluded. After genomic quality control, 469,981 SNPs and 893 animals were available for the analyses. PREGSF90 software was used for SNP quality control (Misztal et al., 2002).

2.4. Construction of haplotypes

Missing genotypes were imputed and genotypes were phased to haplotypes using FImpute software (Sargolzaei et al., 2014). Haplotype blocks were defined using Gabriel et al. (2002) method based on linkage disequilibrium, where 95% confidence bounds on D' are generated and each comparison is called "strong LD" (D' between 0.7 and 0.98), using HaploView software (Barrett et al., 2005). Only haplotypes alleles with more than 1% of frequency were considered for analyses.

2.5. Quantitative genetics and genomic prediction analyses

Contemporary groups (CG) included animals born in the same year and farm, and same management group at yearling. The CGs with less than 3 observations and observations that deviated ± 3 standard deviations from the GC mean were excluded.

After data editing, a total of 801, 803, 798, 799, 797, 795 and 802 animals with records for SFA, MUFA, PUFA, n3, n6, PUFA:SFA ratio and n6:n3 ratio, respectively, remained in the dataset (Table 2).

The variances and genetic parameters were estimated using the restricted maximum likelihood method, using AIREMLF90 software (Misztal et al. 2002), and considering an animal linear model. The genomic prediction was performed by single step genomic BLUP model (Aguilar et al., 2010). The model used to estimate variance components, genetic parameters and predict the genomic values for beef fatty acid groups included the fixed effects of contemporary group, age at slaughter as a linear covariable, and the additive random genetic effect. For all the traits, the model can be represented by the following matrix form:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}$$

where $\mathbf{y}$ is the vector of phenotype, $\mathbf{b}$ is the vector of fixed effects, $\mathbf{u}$ is the vector of additive genetic effects, $\mathbf{X}$ e $\mathbf{Z}$ are incidence matrices and $\mathbf{e}$ is the vector of random residuals. Considering an infinitesimal model, $\text{var}(\mathbf{u}) = \mathbf{H}\sigma_u^2$, where, $\mathbf{H}$ is the numerator relationship matrix obtained from pedigree and genomic information and σ_u^2 is the variance of additive genetic effect. In single-step genomic BLUP (Misztal et al., 2009), the inverse of the numerator relationship matrix ($\mathbf{A}^{-1}$) was replaced by $\mathbf{H}^{-1}$ that combines pedigree and genomic information. The $\mathbf{H}^{-1}$ was constructed according to Aguilar et al. (2010) as showed below:

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

where $\mathbf{H}^{-1}$ is the inverse of the realized relationship matrix that incorporates the inverse of the genomic relationship matrix ($\mathbf{G}^{-1}$) and the inverse of pedigree relationship matrix among genotyped animals ($\mathbf{A}_{22}^{-1}$). The $\mathbf{G}$ matrix was created according to VanRaden (2008):

$$\mathbf{G} = \frac{(\mathbf{M} - \mathbf{P})(\mathbf{M} - \mathbf{P})'}{2 \sum_{j=1}^m p_j (1 - p_j)}$$

where **M** is a matrix of marker alleles with m columns (m is the total number of haplotype or SNPs alleles) and n rows (n is total number of genotyped individuals), and **P** is a matrix containing the frequency of the second allele (p_j), expressed as $2p_j$. When used haplotype approach, M_{ij} was 0 if the haplotype of individual i for haplotype j was homozygous for one allele, 1 if heterozygous, or 2 if the haplotype was homozygous for both alleles. When used SNP approach, M_{ij} was 0 if the genotype of individual i for SNP j was homozygous for the first allele, 1 if heterozygous, or 2 if the genotype was homozygous for the second allele.

Training and validation population were divided in forward validation, where the youngest animals according to month and year of birth were validation population (Table 1). The prediction ability was computed as the correlation between the estimate breeding value (EBV) and genomic EBV (GEBV). Regression of EBV on GEBV was used as a measure of the inflation of the prediction method, where a regression coefficient equal to one denotes no inflation.

Table 1. Structure of training and validation datasets for single-step genomic BLUP (ssGBLUP) methods

Trait	Validation population ¹	Training population ²
Sum of SFA	160	641
Sum of MUFA	160	643
Sum of PUFA	160	638
Sum of Omega 3	160	639
Sum of Omega 6	160	637
PUFA:SFA ratio	160	635
omega6:omega3 ratio	160	642

¹ Young animals of the total animals according to month and year of birth.

² Number of animals

SFA: saturated fatty acid; MUFA: monounsaturated fatty acid; PUFA: polyunsaturated fatty acid.

The pedigree file contained the identifications of the animal, sire and dam, totalizing 2,989 animals (after pruning) in the relationship matrix. The data file contained 606 sires and 1,200 dams with progeny with phenotypic records for beef fatty acid profile.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Fatty acid profile and heritability estimates

The descriptive statistics for SFA, MUFA and PUFA, omega-3, omega-6, omega-6: omega-3 ratio, and PUFA:SFA ratio are presented in Table 2. The state of saturation was predominated by SFA, followed by MUFA and PUFA. Moreover, Prado et al. (2003) also reported results in Nelore cattle, 43.93%, 42.33% and 12.08% for SFAs, MUFAs and PUFAs, respectively. The sum of SFA obtained in current study was similar to that reported by Sasago et al. (2017) (39.74%) in Japanese Black cattle (Wagyu). However, higher SFA concentrations were reported by Cesar et al. (2014) (47.23) in Nelore cattle, Wielgosz-Groth et al. (2016) (51.28%) working with Polish Holstein-Friesian × Hereford crossbred cattle and Gunn et al. (2017) (46.88%) in Angus-Simmental crossbred heifers. The sum of MUFA obtained was lower than those observed by Cesar et al. (2014) (48.34%), Wielgosz-Groth et al. (2016) (44.98%), Sasago et al. (2017) (57.77) and Gunn et al. (2017) (45.82%). For the sum of PUFA, the mean value obtained in this study was the highest, in comparison with Cesar et al. (2014) (13.19%), Wielgosz-Groth et al. (2016) (2.87%), Sasago et al. (2017) (3.75%) and Gunn et al. (2017) (2.47%). The values obtained for PUFA:SFA ratio (0.33) was higher than that reported by Wielgosz-Groth et al. (2016) (0.07) and higher than reported by Cesar et al. (2014) (6.08). The Department of Health recommends values above 0.45 for the PUFA:SFA ratio. However, Cesar et al. (2014) observed that the mean values of omega-3 (0.44%) and omega-6 (2.13%) were lower than those obtained in our study, but the omega-6: omega-3 ratio was higher (4.84).

Also, Wielgosz-Groth et al. (2016) showed lower values for omega-3 (0.88%) and omega 6 (2.26%), but the value for the omega-6:omega-3 (2.68) was very close to that observed in our this study. Likewise, Gunn et al. (2017) obtained lower values for n3 (0.22%) and for n6 (3.95%). Excessive amounts of omega-6 and a high omega-6: omega-3 ratio can lead to several health problems, including cardiovascular, inflammatory, cancer and autoimmune diseases while increased levels of omega-3 fatty acids help to suppress such effects (Lorgeril et al., 1994).

Table 2. Descriptive statistics and heritability estimates (h^2) for beef fatty acid profile of Nelore cattle

Trait	h^2	N ²	Mean ¹	SD ³	Minimum	Maximum
Sum of SFA	0.09	801	41.00	5.47	22.32	52.05
Sum of MUFA	0.35	803	38.00	7.71	17.43	61.78
Sum of PUFA	0.11	798	13.19	5.29	2.07	30.12
Sum of Omega-3	0.06	799	3.77	1.46	0.24	8.38
Sum of Omega-6	0.12	797	9.10	4.13	0.74	22.22
PUFA:SFA ratio	0.07	795	0.33	0.15	0.04	0.94
Omega-6: omega-3 ratio	0.02	802	2.46	0.81	0.12	5.12

¹The concentration of fatty acids is expressed as a percentage of total fatty acid methyl esters (FAME) quantified.

² Number of animals with records.

³ Standard deviation.

SFA: saturated fatty acid; MUFA: monounsaturated fatty acid; PUFA: polyunsaturated fatty acid;

The heritability estimates for SFA, MUFA, PUFA, omega-3, omega-6, PUFA:SFA ratio and omega-6: omega-3 ratio varied from low to moderate magnitude. Recently, Lemos et al. (2016) working with the same dataset, but applying ssGBLUP method with SNP marker approach, reported similar heritability estimates for SFA (0.12), MUFA (0.20) and PUFA (0.08), omega-3 (0.11), omega-6 (0.23), PUFA:SFA ratio (0.11) and omega-6: omega-3 ratio (0.07). Thus, non-differences in heritability estimates for beef fatty acid profile were identified using ssGBLUP method based on haplotype or SNP markers. In previous study, Cesar et al. (2014) using GBLUP model with SNP markers obtained low heritability estimate for SFA (0.11), and moderate for MUFA (0.14), PUFA (0.15) omega-

3 (0.17) and omega-6 (0.15) also in Nelore cattle. Nevertheless, other studies with taurine breeds reported higher heritability estimates for these groups of fatty acids, 0.47 for PUFA, 0.35 to 0.66 for SFA and 0.35 to 0.68 for MUFA in Japanese Black cattle (Enser et al., 1996; Inoue et al., 2011). Recently, Kelly et al. (2013) estimated higher heritability estimates for SFA (0.54) and MUFA (0.54), therefore, concluded that there is sufficient genetic variation for the fatty acid profile of subcutaneous fat to respond to selection in cattle. The results of this study pointed out that selection to improve the beef fatty acid profile in Nelore cattle is feasible. However, the high cost to obtain the phenotypic records and the fact that this trait can be only obtained after slaughter limits the genetic improvement through traditional selection.

3.2. Haplotype blocks and genomic predictions

A total of 84,395 haplotypes blocks were constructed, and the chromosome with the highest number of haplotypes blocks was the BTA1, where 5,239 haplotypes blocks were constructed, and BTA25 had the lowest number of haplotypes blocks (1,508) (Table 3). Cuyabano et al. (2014) working with different parameters for construction of haplotype blocks in the cattle genome based on LD (D' ranging from 0.25 to 0.75), displayed a number of haplotype blocks with a $D' = 0.75$ similar to the present study (84,395) a D' ranging from 0.70 to 0.98. Another similar result was the number of haplotypes alleles (366,167) showed by Cuyabano et al. (2014) with the present study (325,269). Hess et al. (2017) evaluated fixed-length haplotype alleles (from 125 kb to 2 Mb) with varying allele frequency thresholds (from 1 to 10%) in an admixed dairy cattle population from New Zealand genotyped with the Illumina BovineSNP50 Beadchip, and reported lower number of haplotype blocks (17,452) with a haploblock length of 125 kb. Using simulated data from dairy cattle, Villumsen et al., (2009) reported higher reliabilities for genomic estimated breeding values (GEBV) when the haploblock length was 1 cM (10 SNP haplotypes) for simulated traits with heritabilities ranging from 0.02 to 0.30. According to Hess et al. (2017), the optimal haplotype length for an analysis needs to be evaluated independently for each

dataset and by taking the purpose of the analysis (i.e. shorter length haplotype for QTL mapping or longer for genomic prediction into account).

Table 3. Descriptive statistics for haplotypes, number of haplotypes blocks per chromosome and number of haplotypes alleles

BTA	Haplotype s blocks	Haplotypes Alleles	Mean (kb)	Minimum (kb)	Maximum (kb)	Coverage (%)
1	5,239	20,259	17.000	0.350	603.047	56.25
2	4,499	17,413	17.058	0.454	299.121	55.99
3	4,167	16,397	17.011	0.044	257.827	58.37
4	4,012	15,259	16.157	0.470	613.343	53.65
5	3,626	14,058	19.354	0.151	547.956	57.91
6	4,075	16,414	18.157	0.458	277.842	61.94
7	3,650	14,343	17.762	0.004	662.438	57.56
8	3,993	16,020	17.006	0.420	543.382	59.89
9	3,713	14,705	17.176	0.467	487.080	60.33
10	3,249	12,274	16.297	0.464	418.942	50.76
11	3,457	13,065	16.556	0.376	352.740	53.34
12	2,894	11,157	16.740	0.443	392.517	53.14
13	2,808	10,744	16.786	0.035	405.403	55.95
14	3,103	12,511	16.538	0.092	335.174	60.63
15	2,877	10,973	15.612	0.098	282.611	52.66
16	2,743	10,563	15.856	0.229	233.669	53.22
17	2,721	10,425	15.161	0.452	665.442	54.89
18	2,108	8,142	16.593	0.225	363.815	52.99
19	2,069	7,606	14.268	0.140	314.829	46.08
20	2,417	9,143	15.305	0.442	250.540	51.35
21	2,448	9,368	16.285	0.272	999.176	55.68
22	2,003	7,503	15.125	0.474	258.122	49.31
23	1,902	7,188	13.097	0.167	739.807	47.42
24	2,148	8,258	15.402	0.316	481.986	52.75
25	1,508	5,620	15.292	0.658	253.137	53.75
26	1,892	7,171	14.284	0.466	432.115	52.29
27	1,653	6,202	13.714	0.130	504.407	49.92
28	1,653	6,088	12.901	0.486	181.162	46.05
29	1,768	6,400	13.508	0.126	289.930	46.37
TOTAL	84,395	325,269	15.931	0.307	429.226	53.81

BTA: *Bos taurus* autosomal.

The predictive ability of ssGBLUP using haplotype approach were low to moderate, ranging from 7 to 31 percentage points (Table 4), where the lowest predictive ability was for SFA and the highest for omega-6: omega-3 ratio. For MUFA, PUFA, PUFA:SFA ratio, omega-3 and omega-6, the prediction ability was 12, 18, 20, 19 and 26 percentage points, respectively. Using the SNP marker approach, the results were similar, ranging from 6 to 33 percentage points. We identified that the use of haplotype approach with ssGBLUP method did not improve the prediction ability for beef fatty acid profile. However, Cuyabano et al. (2014) compared the genomic predictions based on haplotype approach (constructed based on LD and from HD data) or SNP approach for economically important traits in dairy cattle (milk protein, fertility and mastitis) and reported higher prediction ability using the haplotype approach. Moreover, Hess et al. (2017) performed genomic predictions fitting covariates for either SNPs or haplotypes using BayesA, BayesB and BayesN concluded that fitting covariates for haplotype alleles rather than SNPs can increase prediction accuracy up to 5.5%, although it decreased drastically for long (>500 kb) haplotypes.

Table 4. Prediction ability (r) and bias (b) of genomic prediction between estimate breeding value (EBV) on genomic estimate breeding value (GEBV) for beef fatty acid profile using haplotypes or SNP approach on ssGBLUP

Trait ³	$r_{(\text{HAPLO})}$ ¹	$b_{(\text{HAPLO})}$	$r_{(\text{SNP})}$ ²	$b_{(\text{SNP})}$
Sum of SFA	0.072	0.126	0.062	0.107
Sum of MUFA	0.119	0.077	0.100	0.080
Sum of PUFA	0.186	0.467	0.181	0.549
Sum of Omega 3	0.207	0.645	0.213	0.596
Sum of Omega 6	0.197	0.254	0.189	0.311
PUFA:SFA ratio	0.263	0.745	0.272	1.453
Omega-6: omega-3 ratio	0.311	0.255	0.333	0.538

¹Correlation (r_{HAPLO}) between EBV and GEBV using haplotypes(r_{HAPLO}) or using SNP (r_{SNP});

²Regression coefficient of the linear regression of EBV on GEBV using haplotypes (b_{HAPLO}) or using SNPs (b_{SNP}).

³SFA: saturated fatty acid; MUFA: monounsaturated fatty acid; PUFA: polyunsaturated fatty acid; n3: sum of omega 3; n6: sum of omega 3.

Recently, Karimi (2018) carried out a study to assess the possible advantages of using haplotype-based GBLUP compared to using individual SNP-based GBLUP, in terms of reliability and bias of genomic predictions in Holstein cattle. For most of the 57 traits analyzed, the predictive reliability of GBLUP based on haplotypes was found to be equal to or only slightly better than GBLUP based on SNPs. According to this author, the results revealed that the effect of the alternate relationship matrices had a significant interaction with the level of trait heritability, since higher reliability gains by using the GBLUP based on haplotypes were obtained for high-heritability traits compared to low-heritability traits.

Moreover, previous studies suggested the predictive ability of genomic selection for beef fatty acid composition using the SNP approach in American Angus cattle (Saatchi et al., 2013) (ranging from -0.06 to 0.57), in Canadian beef cattle (Chen et al., 2015) (ranging from -0.05 to 0.73), Japanese Black cattle (Onogi et al., 2015) (ranging from 0.44 to 0.72) and Chinese Simmental cattle (Zhu et al., 2017) (ranging from 0.03 to 0.51). In most of these studies, except for Japanese Black cattle, the accuracies of genomic prediction were low to moderate as those obtained in the present study. Also, Chiaia et al. (2017) working with the same dataset from this study evaluated the prediction ability of four methods using SNP markers (SNP-BLUP, Bayesian Lasso and BayesC BayesC π) reported genomic prediction accuracies ranging from 7 to 50 percentage points. Some results obtained by Chiaia et al. (2017) were similar to those displayed in this study, such as MUFA (0.07), PUFA (0.24), PUFA:SFA ratio (0.32) and omega-6 (0.22).

The regression coefficient involving observed and predicted values is a practical measure of the ability of the methods to perform unbiased predictions. Regression coefficients less than 1 indicate that the genetic values are overestimated and exhibit higher variability than expected; coefficients higher than 1 indicate that the estimated genetic values exhibit less than expected variability (Wiggans et al., 2011). The estimated regression coefficients ranged from 0.07 to 0.74 for haplotype approach (Table 4), indicating an inflation of the genomic prediction variance. For SNP approach, the

regression coefficients ranged from 0.10 to 1.45 (Table 4), indicating an inflation of the variance of genomic prediction for all fatty acids, except for PUFA:SFA ratio, indicating a deflation of the genomic prediction variance. Comparing the regression coefficients obtained with the ssGBLUP, using haplotype or SNP approach, the results were very close, except for PUFA:SFA ratio. For haplotype and SNP approach, the less biased results were for PUFA:SFA ratio, omega-3 and PUFA, and the more biased results were for MUFA, SFA and omega-6. Hess et al. (2017), using haploblocks longer than 500 kb tended to decrease accuracy and increase bias of the haplotype model compared to SNP model, especially when using a higher haplotype allele frequency threshold (>5%). Chiaia et al. (2017), working with the same dataset but evaluating different models using SNP markers (SNP-BLUP, Bayesian Lasso, BayesC and BayesC π) also showed biased results for MUFA (0.37), PUFA (2.28) and PUFA:SFA ratio (2.35).

The low to moderate genomic prediction ability and biased regression coefficient obtained for the beef fatty acid profile are justified mainly by the low heritability estimates obtained for the most of the beef fatty acids, as well as the small training population and pedigree with missing information (multiple-sires) of this study. Cuyabano et al. (2014), using haplotype blocks approach for traits of low heritability reported similar prediction ability for haplotype and SNP marker approach. Hess et al. (2017) reported that longer haploblocks (1 Mb or longer with on average at least 15 SNPs per haploblock) showed lower accuracies than the SNP model for milk dairy traits, in New Zealand admixture dairy cattle population.

Overall, the beef fatty acid profile of intramuscular fat is a high cost trait and it is difficult to evaluate, since it requires a progeny test and complex laboratory analyzes. Therefore, the use of genomic information to obtain direct genomic value predictions for each fatty acid can be a viable alternative from a technical and economic point of view. In general, the models evaluated in our study to perform the genomic predictions presented close results in terms of prediction ability for beef fatty acid profile. Studies with simulated and real data have shown that evaluations with haplotype blocks are more reliable than individual markers, especially when the marker density is low (Calus et al., 2008; de Roos

et al., 2011), since the ancestral haplotype segments capture higher linkage disequilibrium with QTL than individual markers. Probably, the marker density utilized in the present study was enough to capture sufficient linkage disequilibrium between the SNP or haplotype markers with the QTL region. Moreover, genomic selection studies that reported higher prediction ability with the haplotype approach (Cuyabano et al., 2014; Hess et al., 2017) adjusted directly the SNPs or haplotype effects in the model. In this study, the SNPs or haplotype markers were used to infer the actual genomic relationships. With the ssGBLUP method, the relationships reflect the actual proportion of marker alleles shared by identity-by-state, as a deviation from the expected proportion of alleles shared in the population. Probably, differences in the approach used to model the marker effects, marker density, population background, heritability and trait architecture are explaining the differences obtained among the different studies.

Considering the operational cost to infer the haplotypes and the similar results obtained with the SNP and haplotype approach, ssGBLUP with SNP approach, would be a viable tool in genomic evaluations for beef fatty acid profile in indicine cattle. Although accuracies estimated have not been high, the use of genomic information to predict the genomic values for the beef fatty acid profile is a reasonable technical strategy to contribute to the improvement of beef quality. Furthermore, the increase in the prediction ability of genetic markers and the improvement of the reliability of the predictions is fundamental to increase the size of the reference population, with a higher number of phenotyped and genotyped animals. However, this will require greater investment in time, financial resources and logistics from breeding programs and research groups.

4. CONCLUSIONS

Genomic information can assist in improving the beef fatty acid profile in Nelore cattle, since the use of genomic information yielded genomic values for the beef fatty acid profile with accuracies ranging from low to moderate. None of the genetic marker

approaches evaluated (SNPs or haplotypes) excelled in terms of accuracy, however, we identified that the SNP approach allows obtaining less biased genomic evaluations, thereby, this method is more feasible when taking account the computational and operational cost to infer the haplotypes.

5. REFERENCES

Aguilar I, Misztal I, Johnson DL, Legarra A, Tsuruta S, Lawlor T J (2010) Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science** 93:743-752.

Barrett, JC, Fry B, Maller J, Daly MJ (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics** 21(2):263-265.

Berton MP, Fonseca LFS, Gimenez DFJ, Utembergue BL, Cesar ASM, Coutinho LL, Lemos MVA, Aboujaude C, Pereira ASC, Silva RMO, Stafuzza NB, Feitosa FLB, Chiaia HLJ, Olivieiri BF, Peripolli E, Tonussi RL, Gordo DM, Espigolan R, Ferrinho AM, Mueller LF, Albuquerque LG, Oliveira HN, Duckett S, Baldi F (2016) Gene expression profile of intramuscular muscle in Nellore cattle with extreme values of fatty acid. **BMC Genomics** 17:972.

Bickel RD, Kopp A, Nuzhdin SV (2011) Composite Effects of Polymorphisms near Multiple Regulatory Elements Create a Major-Effect QTL. **PLoS Genetics** 7(1).

Cesar ASM, Regitano LCA, Tullio RR, Lanna DPD, Nassu RT, Mudado MA, Oliveira PSN, Do Nascimento ML, Chaves AS, Alencar MM, Sonstegard TS, Garrick DJ, Reecy JM, Coutinho LL (2014) Genome-wide association study for intramuscular fat deposition and composition in Nellore cattle. **BMC Genetics** 15:39.

Chen L, Ekine-Dzivenu C, Vinsky M, Basarab J, Aalhus J, Dugan ME, Fitzsimmons C, Stothard P, Li C (2015) Genome-wide association and genomic prediction of breeding values for fatty acid composition in subcutaneous adipose and *longissimus lumborum* muscle of beef cattle. **BMC genetics** 16:135-149.

Chiaia HLJ, Peripoli E, Silva RMO, Aboujaude C, Feitosa FLB, Lemos MVA, Berton MP, Olivieri BF, Espigolan R, Tonussi RL, Gordo DGM, Bresolin T, Magalhães AFB, Fernandes Júnior GA, Albuquerque LG, Oliveira HN, Furlan JJM, Ferrinho AM, Mueller

LF, Tonhati H, Pereira ASC, Baldi F (2017) Genomic prediction for beef fatty acid profile in Nellore cattle. **Meat Science** 128:60-67.

Christensen OF, Lund MS (2010) Genomic prediction when some animals are not genotyped. **Genet. Sel. Evol.** 42:2.

Cuyabano BCD, Su G, Lund MS (2014) Genomic prediction of genetic merit using LD-based haplotypes in the Nordic Holstein population. **BMC Genomics** 15:1171.

Cuyabano BCD, Su G, Lund MS (2015) Selection of haplotype variables from a high-density marker map for genomic prediction. **Genetics Selection Evolution** 47:61.

Enser M, Hallett K, Hewitt B, Fursey GAJ, Wood JD (1996) Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. **Meat Sci.**42:443–56.

Enser M (2001) **The role of fats in human nutrition**. In B. Rossell (Ed.), Oils and fats, v. 2. Animal carcass fats, 77-122. Leatherhead, Surrey, UK: Leatherhead Publishing.

Fallin D, Schork NJ (2000) Accuracy of haplotype frequency estimation for biallelic loci, via the expectation-maximization algorithm for unphased diploid genotype data. **The American Journal of Human Genetics** 67:947-959.

Feitosa FLB, Olivieri BF, Aboujaoude C, Pereira ASC, Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Peripolli E, Ferrinho AM, Mueller LF, Mazalli MR, Albuquerque LG, Oliveira HN, Tonhati H, Espigolan R, Tonussi RL, Silva RMO, Gordo DGM, Magalhães AFB, Aguilar I, Baldi F (2016) Genetic correlation estimates between beef fatty acid profile with meat and carcass traits in Nellore cattle finished in feedlot, **Journal of Applied Genetics** 58:123-132.

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

Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, Higgins J, Defelice M, Lochner A, Faggart M, Liu-Cordero SN, Rotimi C, Adeyemo A, Cooper R, Ward R, Lander ES, Daly MJ, Altshuler D (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. **Science** 296: 2225-2229.

Gunn PJ, Bridges GA, Lemenager RP, Schoonmaker JP (2017) Feeding corn distillers grains as an energy source to gestating and lactating beef heifers: Impact of excess protein on feedlot performance, glucose tolerance, carcass characteristics and

Longissimus muscle fatty acid profile of steer progeny. **Animal Science Journal**,. Disponível em: <10.1111/asj.12780>.

Hess M, Druet T, Hess A, Garrick D (2017) Fixed-length haplotypes can improve genomic prediction accuracy in an admixed dairy cattle population. **Genetics Selection Evolution** 49:54.

Inoue K, Kobayashi M, Shoji N, Kato K (2011) Genetic parameters for fatty acid composition and feed efficiency traits in Japanese Black cattle. **Animal** 5:987–994.

Karimi Z (2018) **Assessing Haplotype-based Methods for Genomic Prediction in Holstein Cattle and Major Swine Breeds in Canada**. 92 f. Thesis (Doctor of Animal Biosciences) – University of Guelph.

Jakobsen K (1999) Dietary modifications of animal fats: status and future perspectives. **European Journal of Lipid Science and Technology** 101(12):475–483.

Kelly MJ, Tume RK, Newman S, Thompson JM (2013) Genetic variation in fatty acid composition of subcutaneous fat in cattle. **Anim Prod Sci** 53:129–133.

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

Legarra A, Aguilar I, Misztal I (2009) A relationship matrix including full pedigree and genomic information. **J Dairy Sci**. 92: 4656-4663.

Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Feitosa FLB, Aboujaoude C, Camargo GMF, Pereira ASC, Albuquerque LG, Ferrinho AM, Mueller LF, Mazalli MR, Furlan JJM, Carnevali R, Gordo DGM, Tonussi R, Espigolan R, Silva RMO, Oliveira HN, Duckett S, Aguilar I, Baldi F Genome-wide association between single nucleotide polymorphisms with beef fatty acid profile in Nellore cattle using the single step procedure. **BMC Genomics** 17: 213.

Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. (1994) Mediterranean alpha-linolenic acid rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. **Lancet**. 343(8911):1454–9.

Lund MS, Sahana G, Koning D, Su G, Carlborg O (2009) Comparison of analyses of the QTLMAS XII common dataset. I: Genomic selection. **BMC Proceedings** 3:S1.

Mcneill S, Van Elswyk M (2012) Red meat in global nutrition. **Meat Science** 92:166 173.

Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Druet T, Lee DH (2002) BLUPF90 and related programs (BGF90). Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production; August 19±23; Montpellier, France. Communication No 28±07.

Misztal I., Legarra A, Aguilar I(2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **J. Dairy Sci.** 92:4648–4655.

Nogi T, Honda T, Mukai F, Okagaki T, Oyama K (2011) Heritabilities and genetic correlations of fatty acid compositions in *Longissimus* muscle lipid with carcass traits in Japanese Black cattle. **Journal of Animal Science** 89:615–621.

Onogi A, Ogino A, Komatsu T, Shoji N, Shimizu K, Kurogi K, Yasumori T, Togashi K, Iwata H (2015) Whole-genome prediction of fatty acid composition in meat of Japanese Black cattle. **Animal Genetics** 46:557-559.

Pitchford W S, Deland M P B, Siebert B D, Malau-Aduli A E O, Bottema C D K (2002) Genetic variation in fatness and fatty acid composition of crossbred cattle. **Journal Animal Science** 80:2825–2832.

Prado IN, Moreira FB, Matsushita M, Souza NE (2003) *Longissimus dorsi* fatty acids composition of *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* crossbred steers finished in pasture. **Brazilian Archives Biology Technology** 46:599–606.

Saatchi M, Garrick DJ, Tait RG Jr, Mayes MS, Drewnoski M, Schoonmaker J, Diaz C, Beitz DC, Reecy JM (2013) Genome-wide association and prediction of direct genomic breeding values for composition of fatty acids in Angus beef cattle. **BMC Genomics** 14:730.

Sargolzaei M, Chesnais JP, Schenkel FS (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **BMC Genomics** 15:478.

Sasago N, Abe T, Sakuma H, Kojima T, Uemoto Y (2017) Genome-wide association study for carcass traits, fatty acid composition, chemical composition, sugar, and the effects of related candidate genes in Japanese Black cattle. **Animal Science Journal** 88(1):33-44.

Silva RMO, Fragomeni BO, Lourenco DAL, Magalhães AFB, Irano N, Carneiro R, Canesin RC, Mercadante ME, Boligon AA, Baldi FS, Mizstal I, Albuquerque LG (2016) Accuracies of genomic prediction of feed efficiency traits using different prediction and validation methods in an experimental Nelore cattle population. **Journal of Animal Science** 94:3613–3623.

Su G, Brøndum RF, Ma P, Guldbrandtsen B, Aamand GR, Lund MS (2012) Comparison of genomic predictions using medium-density (~54,000) and high-density (~777,000) single nucleotide polymorphism marker panels in Nordic Holstein and Red Dairy Cattle populations. **Journal of Dairy Science** 95:4657-4665.

Tait RJr, Zhang S, Knight T, Minick J, Bormann D, Beitz L, Reecy J (2007) Heritability estimates for fatty acid quantity in Angus beef. **Journal of Animal Science** 85:58-70.

Vanraden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science** 91:4414-23.

Villumsen TM, Janss L, Lund MS (2009) The importance of haplotype length and heritability using genomic selection in dairy cattle. **J Anim Breed Genet.** 126:3–13.

Wielgosz-Groth Z, Sobczuk-Szul M, Nogalski Z, Mochol M, Purwin C, Winarski R (2016) Fatty acid profiles of intramuscular, intermuscular, external and internal fat in Polish Holstein-Friensian x Hereford bulls and steers fed grass silage-based diets supplemented with concentrates. **Animal Production Science** 57(2):371-377.

Wiggans GRT, Cooper PM, Vanraden JB, Cole (2011) Technical note: Adjustment of traditional cow evaluations to improve accuracy of genomic predictions. **J. Dairy Sci.** 94:6188–93.

Wu Y, Zeng J, et al. (2018) Integrative analysis of omics summary data reveals putative mechanisms underlying complex traits. **Nature Communications** 9 (1).

Zhu B, Niu H, Zhang W, Wang Z, Liang Y, Guan L, Guo P, Chen Y, Zhang L, Guo Y, Ni H, Gao X, Xu L, Li J (2017) Genome wide association study and genomic prediction for fatty acid composition in Chinese Simmental beef cattle using high density SNP array. **BMC Genomics** 18:464.

CAPÍTULO 3. ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS UTILIZANDO HAPLÓTIPOS COMO MARCADORES EM BOVINOS NELORE

RESUMO – O objetivo deste estudo foi identificar regiões genômicas associadas à quantidade total de ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI), ômega 3 (n3), ômega 6 (n6) e as relações AGPI:AGS e n6:n3 em bovinos da raça Nelore. Foram utilizados dados de 963 machos da raça Nelore terminados em confinamento, provenientes de fazendas que integram três programas de melhoramento genético. O grupo de contemporâneo foi formado por animais nascidos na mesma fazenda e safra, e do mesmo grupo de manejo ao sobreano. Para a determinação do perfil de ácidos graxos foi utilizado para a extração dos lipídeos o método Folch e para a metilação o método Kramer. Para a genotipagem foi utilizado um painel com mais de 777.000 SNPs do BovineHD BeadChip (High-Density Bovine BeadChip) da Illumina. O controle de qualidade foi feito considerando $MAF < 0,05$ e $Call\ Freq < 90\%$. Após o CQ, 469.981 SNPs permaneceram nas análises. A imputação dos “missing” e o “phasing” do genótipo foram realizados utilizando o software FImpute. A definição dos blocos de haplótipos foi realizada baseada no desequilíbrio de ligação utilizando o software HaploView. Análises estatísticas incorporando as informações dos haplótipos foram realizadas utilizando o software ASREML implementando o método REML. O modelo incluiu efeitos fixos do grupo contemporâneo (62 níveis), haplótipo (regressão linear no número de cópias) e idade ao abate como covariável linear. Os valores de p foram ajustados pelo método de FDR. Os haplótipos associados significativamente foram selecionados ao nível de 10% de significância. Para a prospecção dos genes foi utilizado o banco de dados do NCBI na versão UMD3.1 do genoma bovino e DAVID. Foram associados significativamente ($p < 0,05$), 4, 3, 5, 1, 6, 2 e 7 haplótipos com AGS, AGMI, AGPI, AGPI:AGS, n3, n6 e n6:n3, respectivamente. Estes haplótipos significativos abrigam genes envolvidos no metabolismo lipídico, fatores de alongamento e síntese de ácidos graxos de cadeia longa, receptores de hormônios reprodutivos, transporte e uso de ácidos graxos e colesterol, biossíntese e hidrólise de fosfolipídios e constituintes de membrana, constituintes de membranas celulares, metabolismo energético e síntese de proteína quinase. Assim, a identificação desses haplótipos associados pode contribuir para estudos adicionais para validar essas regiões e prospectar genes candidatos que seriam úteis para programas de melhoramento genético para melhorar a qualidade da carne de bovino Nelore.

Palavras-chave: *Bos indicus*, marcadores genéticos, qualidade da carne

CHAPTER 3. GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY FOR FATTY ACID PROFILE USING HAPLOTYPES IN NELLORE CATTLE

ABSTRACT – The aim of this study was to identify the genomic regions in relation to the total amount of saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA), omega 3 (n3), omega 6, PUFA/SFA ratio and n6:n3 ratio in Nellore cattle. Data from 963 Nellore bulls finished in feedlot from farms that are part of three breeding programs were used. The contemporary group consisted of animals born in the same farm and year, and the same management group yearling. To determine the fatty acid profile was used for extraction of lipids the Folch method and methylation Kramer method. A panel with more than 777,000 SNPs from BovineHD BeadChip (High-Density Bovine BeadChip) from Illumina was used for genotyping. Quality control was performed considering MAF < 0.05 and Call rate < 90%. After QC, 469,981 SNPs remained in the analyzes. Imputation of missing and phasing of the genotype were performed using the FImpute software. The definition of haplotype blocks was performed based on linkage disequilibrium using HaploView software. Statistical analyzes incorporating the haplotype information were performed using ASREML software implementing the REML method. The model included fixed effects of the contemporary group (62 levels), haplotype (linear regression in number of copies) and age at slaughter as a linear covariate. The p values were adjusted by FDR method. Haplotypes significantly associated were selected at 10% significance level. For the prospection of the genes, the NCBI database was used in the UMD3.1 version of the bovine genome and DAVID. There were significantly ($p < 0.05$), 4, 3, 5, 1, 6, 2 and 7 haplotypes associated with SFA, MUFA, PUFA, PUFA/SFA ratio, n3, n6 and n6:n3 ratio, respectively. These significant haplotypes harboring genes involved in lipid metabolism elongation factors and long-chain fatty acid synthesis, reproductive hormone receptors, transport and use of fatty acids and cholesterol biosynthesis and hydrolysis of phospholipids and constituents membrane, cell membrane constituent, energetic metabolism and protein kinase synthesis. Thus, the identification of these associated haplotypes may contribute to further studies to validate these regions and prospect candidate genes that would be useful for breeding programs to improve the quality of Nellore beef.

Keywords: *Bos indicus*, genetic markers, meat quality

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira vem se destacando nos últimos anos no cenário mundial por sua capacidade produtiva e de exportação de carnes. O Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina e o maior exportador de carne *in natura* (USDA, 2017). No entanto, a cadeia produtiva de carne bovina vem sendo pressionada a produzir uma maior quantidade e, principalmente, carnes com uma melhor qualidade. A produção de carne com uma melhor qualidade vem ganhando destaque nos últimos anos devido à maior demanda de cortes especiais e carnes oriundas de determinadas raças.

No Brasil aproximadamente 70% do rebanho é composto pela raça Nelore, uma raça zebuína (*Bos indicus*) que apresenta maior adaptabilidade ao clima tropical e resistência aos ecto e endoparasitas em comparação com as raças taurinas (Hadlich et al., 2013). A carne de raças zebuínas possui escassa marmorização e baixa maciez (Curi et al., 2010), características altamente demandadas e exigidas por parte do mercado consumidor brasileiro de alto poder aquisitivo. Contudo, a carne de animais zebuínos possuem características mais saudáveis à saúde humana, como uma maior concentração de ácidos graxos mono e poli-insaturados em relação a raças taurinas (*Bos taurus*), que possuem uma maior concentração de ácidos graxos saturados (Metz et al., 2009; Rossato et al., 2010).

Os ácidos graxos saturados (AGS) em grandes quantidades não são desejáveis, pois são correlacionados com doenças cardiovasculares devido ao aumento de níveis séricos de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), ou seja, favorece o acúmulo de colesterol nas paredes internas das artérias diminuindo o fluxo de sangue. Já os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), são desejáveis em grandes quantidades por sua capacidade de aumentar os níveis séricos de lipoproteínas de alta densidade (HDL), que possui a capacidade de absorver os sedimentos de colesterol depositados nas artérias, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (Hirata e Hirata, 2002).

O perfil de ácidos graxos da carne é influenciado tanto por fatores genéticos como fatores ambientais. Há estudos que demonstram que o manejo alimentar

influencia a composição dos ácidos graxos da carne (Nürnberg et al., 1998; Jakobsen, 1999; Demeyer e Doreau, 1999; Wood et al., 2003), assim como a as diferenças genéticas entre e dentro de raças (Gillis et al., 1973; Mills et al. 1992; Huerta-Leidenz et al., 1993, 1996; Rule, 1997; Rule et al., 1997; Malau-Aduli et al., 1997, 1998; Pitchford et al., 2002; Metz et al., 2009).

Uma base genética para a melhoria da qualidade da carne, principalmente a característica de perfil de ácidos graxos com ênfase na saúde humana, vem sendo formada para auxiliar a seleção de animais que produzem carne com melhor qualidade nutricional. Estudos de associação genômica para a identificação de genes candidatos em Nelore (Cesar et al., 2014; Lemos et al., 2016) e de identificação de genes diferencialmente expressos (Berton et al., 2016), identificaram genes associados ao perfil de ácidos graxos que podem auxiliar na melhora da composição da gordura de animais zebuínos.

Os haplótipos são blocos constituídos de vários SNPs localizados proximalmente, ao longo de um cromossomo, que tendem a ser herdados conjuntamente, em alto desequilíbrio de ligação e sem recombinação (Bansal et al., 2008; Boopathi, 2013). Estudos vêm demonstrando que análises de associação genômica ampla (GWAS) com haplótipos apresentam maior acurácia de predição comparando com análises que usam marcadores individuais (SNPs), assim os haplótipos podem ser potenciais preditores de características complexas e dos valores genéticos (Abdel-Shafy et al., 2014; Cuyabano et al., 2014; Croiseau et al., 2014; Harris et al., 2014). Existe poucos estudos que investigam a influência dos fatores genéticos na composição dos ácidos graxos. O interesse por essa característica vem aumentando ao longo dos anos devido à crescente preocupação em relação aos seus efeitos na saúde humana. A determinação do perfil de ácidos graxos da carne é onerosa e de difícil mensuração, devido à demanda de mão de obra especializada e alto custo da análise. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi detectar genes associados ao perfil de ácidos graxos da carne e suas vias metabólicas em bovinos da raça Nelore, utilizando análises baseadas em haplótipos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Animais e informações de manejo

Foram utilizados dados de 963 machos não castrados da raça Nelore terminados em confinamento, com idade aproximada de dois anos de idade, provenientes de 8 fazendas que integram três programas de melhoramento genético (DeltaGen, CRV PAINT e Nelore Qualitas). A avaliação dos animais, nestas fazendas, é realizada para várias características de importância econômica como, peso à desmama, peso ao sobreano, escores visuais para características morfológicas como a conformação da carcaça, sua musculabilidade e precocidade de terminação, perímetro escrotal, ou seja, os animais são selecionados para características de crescimento, reprodução e funcionalidade. O banco de dados fenotípicos e de genealogia completos com as informações constantes dos arquivos zootécnicos destes programas foi disponibilizado.

As épocas de nascimento dos bezerros concentraram-se de agosto a outubro em algumas fazendas, de novembro a janeiro em outras, e os mesmos foram mantidos com suas mães até os sete meses de idade. Os animais foram criados em sistema de pastagem, com lotação variando de 1,2 a 1,6 UA/ha, utilizando forrageiras do gênero *Brachiaria sp* e *Panicum sp*, com sal mineral à vontade. Após o sobreano, os animais que não foram selecionados para a reprodução foram terminados em confinamento, por um período de no mínimo 90 dias, utilizando como critério de abate dos animais o peso (500 a 550 kg) e grau de acabamento. No confinamento, a relação volumoso:concentrado variou entre 50:50 para 70:30, dependendo da fazenda, sendo que foram utilizados volumosos de alta qualidade como silagem de planta inteira de milho ou sorgo. Como concentrado energético foram utilizados grãos de milho e/ou sorgo, e grãos de soja, farelo de soja, ou girassol como concentrado proteico. A composição da dieta foi obtida em cada confinamento em virtude das possíveis alterações que a dieta possa causar sobre a composição dos ácidos graxos. Contudo, o efeito da dieta ou manejo no confinamento foi ajustado no modelo, uma vez que este efeito foi considerado na formação dos grupos de contemporâneos.

2.2. Formação dos lotes e procedimento no abate

Para a formação dos lotes de abate foram utilizados dados dos animais em relação à fazenda de nascimento, ano e época de nascimento, e manejo alimentar desde o nascimento até o abate.

Os animais foram abatidos em função do peso e acabamento pré-estabelecido nas fazendas. Os abates ocorreram em frigoríficos comerciais sob inspeção Federal, de acordo com o procedimento padrão comercial. O resfriamento das carcaças dos animais selecionados foi de 24 a 48 horas *post-mortem*, com temperaturas entre 0 e 2°C. Foram retiradas amostras de 2,54 cm de espessura do músculo *longissimus dorsi* na região entre 12^a - 13^a costelas, da meia-carcaça esquerda de cada animal. As amostras foram embaladas a vácuo e armazenadas em freezer a -80°C.

2.3. Perfil de ácidos graxos da carne

A quantificação do perfil de ácidos graxos da carne foi realizada no Laboratório de Ciência da Carne pertencente ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP. O perfil de ácidos graxos da carne foi determinado pelo método de extração de Folch et al. (1957). Foi utilizada uma amostra de 2,5 g do centro do músculo *longissimus*, acondicionada em um tubo Falcon de 50 mL. Os lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1. Em seguida os lipídeos foram isolados após a adição de solução de NaCl a 1,5% e centrifugação por 20 min a 2400 rpm. Os lipídeos isolados foram transferidos para um tubo de ensaio com tampa e secos com nitrogênio (N₂) em bloco digestor a 50°C.

A gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer et al. (1997). No tubo de ensaio com os lipídeos isolados e secos com N₂ (extração), foi adicionado metóxido de sódio e levado ao banho-maria por 10 minutos a 50°C. Após o banho-maria, o tubo foi resfriado em gelo por 5 minutos. Adicionou-se ácido clorídrico metanoico e levado ao banho-maria

por 10 minutos a 80°C. Foi retirado do banho-maria e resfriado em temperatura ambiente por 15 minutos. Adicionou-se hexano, carbonato de potássio e ficou em espera no escuro por 30 minutos. Retirou-se o sobrenadante e foi acondicionado em outro tubo de ensaio com sulfato de sódio. Os tubos foram resfriados em gelo por 30 minutos. Posteriormente foi retirado o sobrenadante e colocado em vial com padrão interno que foram secos com N₂ e depois diluídos em hexano para após fazer a leitura em cromatógrafo gasoso. Foi utilizado padrão interno C23:0 (tricosanoico) a fim de corrigir as perdas durante o processo de metilação dos ácidos graxos. Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC-2010 Plus - Shimadzu, auto-injetor AOC 20i), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70°C, com aquecimento progressivo (13°C/min) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos. Em seguida, um novo aumento de 4°C/minuto foi iniciado até 215°C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H₂) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm³/s. Durante o processo de identificação foram utilizados os seguintes padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (F.A.M.E. mix Sigma®), C8-C28 (F.A.M.E. mix Sigma®), ácido vacênico C18:1 trans-11 (V038-1G, Sigma®), C18 CLA:2 trans-10, cis-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 cis-9, trans-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®) e ácido tricosanoico (Sigma®) para identificação dos ácidos graxos que foram formados durante a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados.

Os AGs foram escolhidos devido a sua maior importância em relação à saúde humana. A proporção de ácidos graxos saturados (C4:0 + C6:0 + C8:0 + C10:0 + C11:0 + C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C21:0 + C24:0), ácidos graxos monoinsaturados (C16:1 + C17:1 c10 + C18:1 t11 + C15:1 c10 + C20:1 c11 + C24:1 + C22:1 n9 + C18:1 c9 + C14:1 + 18:1 n7 + C18:1 n9t), ácidos graxos poli-insaturados (C18:2 n6 + C18:3 n3 + C18:3 n6 + C20:3 n3 + C20:3 n6 + C20:4 n6 + C20:5 n3 + C22:6 n3), ácidos graxos n-6 (C18:3 n6 + C20:3 n6 + C18:2 n6 + C20:4 n6) e ácidos graxos n-3 (C18:3 n3 + C20:3 n3 + C22:6 n3 + C20:5 n3) foram calculados utilizando a concentração de ácidos graxos individuais. A relação entre os ácidos graxos poli-insaturados/saturados e ácidos graxos n6:n3 também foram calculados.

2.4. Genotipagem dos animais

Para a genotipagem dos 963 animais foi utilizado um painel com 777.962 SNPs do BovineHD BeadChip (High-Density Bovine BeadChip) da Illumina. Foi realizado o controle de qualidade dos marcadores SNPs, excluindo-se aqueles com posição genômica desconhecida, marcadores monomórficos, SNPs que não estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg com probabilidade muito baixa (p -valor $< 10^{-6}$), além dos que apresentaram MAF (frequência de alelos menores) menor que 0,05. Também foram excluídos das análises marcadores SNPs que apresentarem taxa de atribuição dos genótipos (Call rate) menor a 90%, e os com excesso de genótipos heterozigotos (Het Excess). Após o controle de qualidade, 469.981 SNPs de 893 animais permaneceram nas análises. O software PREGSF90 foi utilizado para realizar o controle de qualidade dos SNPs (Misztal et al., 2002).

2.5. Construção de haplótipos

Os genótipos perdidos (“missing”) foram imputados e o faseamento do genótipo (“phasing”) para haplótipos foram realizados utilizando o software FImpute (Sargolzaei et al., 2014). Os blocos de haplótipos foram definidos baseados no desequilíbrio de ligação (LD) segundo a metodologia proposta por Gabriel et al. (2002) utilizando o software HaploView (Barrett et al. 2005). Gabriel et al. (2002) define que pares de SNPs estão em “LD forte” se o intervalo de confiança for igual ou superior a 95% e o D' for de 0,98 (isto é, consistente com nenhuma recombinação histórica) e o limite inferior estiver acima de 0,7. Inversamente, os mesmos autores, definem “forte evidência para recombinação histórica”, pares para os quais o intervalo de confiança para o D' for menor que 0,9. Nas análises foram considerados apenas alelos de haplótipos com frequência maior que 1%.

2.6. Análise de associação genômica com haplótipos

Os grupos contemporâneos (GC) incluíram animais nascidos no mesmo ano e fazenda, e o mesmo grupo de manejo ao sobreano. Os GCs com menos de 3 observações e observações que desviaram ± 3 desvios padrão da média foram excluídos. Após a edição dos dados, um total de 801, 803, 798, 799, 797, 795 e 802 animais com dados de AGS, AGMI, AGPI, n3, n6, relação AGPI:AGS e relação n6:n3, respectivamente, permaneceram no conjunto de dados. O arquivo de pedigree continha as identificações do animal, pai e mãe, com um total de 2.989 animais (após a poda) na matriz de parentesco. O arquivo de dados continha 606 touros e 1.200 vacas com progênies apresentando dados fenotípicos para o perfil FA.

O modelo utilizado para estimar os efeitos dos haplótipos para os grupos de ácidos graxos da carne incluiu os efeitos fixo do grupo contemporâneo, efeito fixo do haplótipo (regressão linear no número de cópias do haplótipo: 0, 1 ou 2) e idade ao abate como covariável linear, e o efeito genético aditivo como aleatório. As análises de associação genômica foram realizadas usando um modelo de máxima verossimilhança restrita (REML) usando o software ASReml v4.3. A correção para “False Discovery Rate (FDR)” foi aplicada a 10% de significância para ajustar para múltiplos testes. Para todas as características, o modelo utilizado para estimar os efeitos dos haplótipos pode ser representado pela seguinte forma matricial:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}$$

onde $\mathbf{y}$ é o vetor do fenótipo, $\mathbf{b}$ é o vetor de efeitos fixos, $\mathbf{u}$ é o vetor de efeitos genéticos aditivos, $\mathbf{X}$ e $\mathbf{Z}$ são matrizes de incidência e $\mathbf{e}$ é o vetor de resíduos aleatórios. Considerando um modelo infinitesimal, $\text{var}(\mathbf{u}) = \mathbf{A}\sigma_u^2$, onde $\mathbf{A}$ é o numerador da matriz de parentesco obtida a partir da informação do pedigree e σ_u^2 é a variância do efeito genético.

2.7. Análise funcional

As análises funcionais iniciaram-se utilizando a ferramenta BioMart (www.ensembl.org/biomart) para identificar os genes candidatos presentes na região significativa.

O enriquecimento das vias metabólicas e ontologia dos genes foram realizadas utilizando "The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) v. 6.7" (DAVID - <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>). A identificação de QTLs anotados nas regiões candidatas foi realizada utilizando a ferramenta de busca "Data Analysis by Query – Query QTL by genome locations" do banco de dados CattleQTLdb (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>).

A versão do genoma bovino utilizado como referência nas análises funcionais do presente estudo foi a UMD3.1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram significativamente associados ($p < 0,10$) 16 haplótipos para os ácidos graxos monoinsaturados (Figura 1), sendo que nestes foram encontrados 5 genes (Tabela 1). Porém nenhum dos genes foram relacionados aos ácidos graxos da carne.

Ao submeter as regiões candidatas dos haplótipos no Cattle QTLdb identificamos QTLs previamente relatados associados com ácido graxo tridecanoico em bovinos Angus (Saatchi et al., 2013), peso ao desmame em bovinos de corte dos Estados Unidos (Saatchi et al., 2014a) e consumo alimentar residual em raças de bovino de corte (Saatchi et al., 2014b).

Nos ácidos graxos poli-insaturados foram encontrados 15 haplótipos significativamente associados ($p < 0,10$) (Figura 2) e nestes foram encontrados 6 genes (Tabela 1). O gene *CLUL1* (clusterin like 1) possui um importante parálogo, o gene *CLU*. Este gene codifica uma proteína chaperona responsável pela modulação da atividade transcricional de NF-kappa-B que está envolvida na resposta celular a estímulos como o estresse, citocinas, radicais livres, radiação

ultravioleta, oxidação de LDL e antígenos virais e bacterianos (Gilmore, 1999; Glezer et al., 2000).

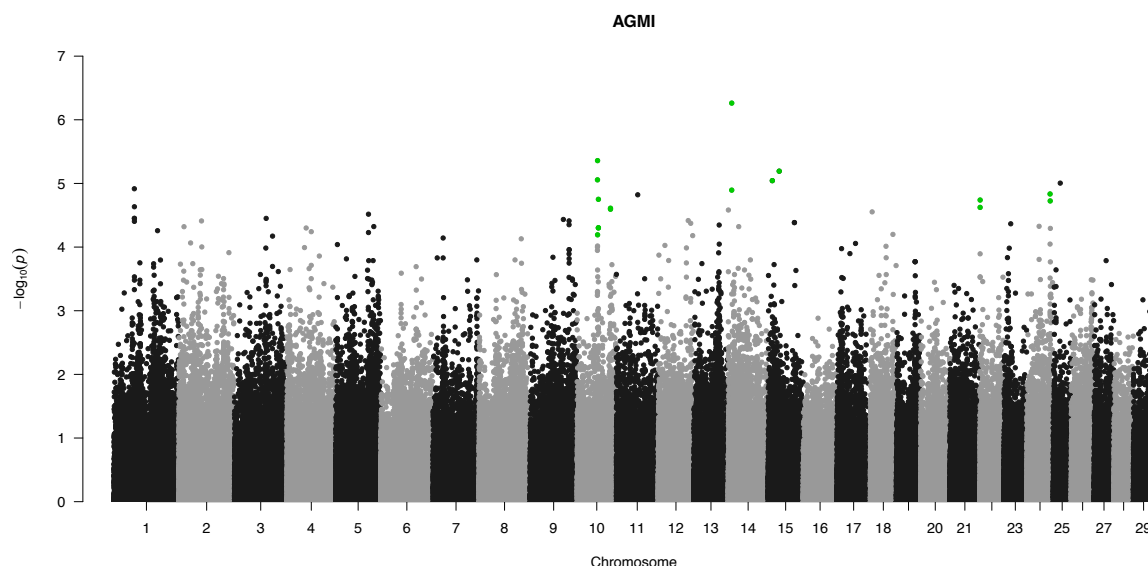


Figura 1. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para o somatório dos ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) da carne de bovinos da raça Nelore.

Os genes parálogos são genes relacionados por homologia, ou seja, compartilham uma origem comum. Os genes homólogos são classificados em genes ortólogos e genes parálogos. Genes parálogos estão relacionados entre si pela duplicação, ocupando duas posições diferentes no mesmo genoma e geralmente possuem funções idênticas ou similares (Souza, 2010).

A proteína codificada pelo gene *CHST9* (carbohydrate sulfotransferase 9) pertence à família das sulfotransferases e tem anotações GO (GO:0044262) para processo biossintético de carboidratos. Os grupos sulfato em carboidratos conferem funções altamente específicas às glicoproteínas, glicolipídios e proteoglicanos e são críticos para a interação célula-célula, transdução de sinal e desenvolvimento embrionário (Hooper et al., 1996).

O gene *ENOSF1* (enolase superfamily member 1) está relacionado ao metabolismo energético uma vez que possui anotações GO (GO:0016052) para o processo catabólico de carboidratos celulares e pertence à via metabólica do metabolismo de frutose e manose.

Tabela 1. Haplótipos significativamente associados aos ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), ácidos graxos saturados (AGS), relação AGPI:AGS, ácidos graxos ômega 3 (n3), ácidos graxos ômega 6 (n6) e relação n6:n3 no músculo *Longissimus dorsi* de Nelore.

AG	BTA	Posição no mapa (UMD 3.1)	p-valor	Gene Candidato
AGMI	10	55909280-55910192	0,0726	<i>UNC13C</i>
AGMI	10	91955798-91969035	0,0752	<i>ENSBTAG00000025324</i>
AGMI	10	91971322-91975274	0,0623	<i>ENSBTAG00000025324</i>
AGMI	10	55778761-55884656	0,1019	<i>UNC13C</i>
AGMI	10	55894571-55907437	0,0874	<i>UNC13C</i>
AGMI	10	52733953-52768453	0,0984	<i>MYZAP</i>
AGMI	22	937728-958720	0,1368	<i>EGFR</i>
AGMI	22	919612-922608	0,0892	<i>EGFR</i>
AGMI	24	56443426-56461897	0,0777	<i>TXNL1</i>
AGPI	10	62267100-62285604	0,0888	<i>DUT</i>
AGPI	22	54422439-54477489	0,0254	<i>LARS2</i>
				<i>ENOSF1</i>
AGPI	24	35909641-35950109	0,0415	<i>CLUL1</i>
				<i>TYMS</i>
AGPI	24	30137891-30183845	0,0405	<i>CHST9</i>
AGPI	24	30094437-30132702	0,0569	<i>CHST9</i>
AGPI	24	25441104-25481368	0,0924	<i>RNF125</i>
AGS	9	98807010-98810624	0,0224	<i>PRKN</i>
				<i>RITA1</i>
AGS	17	63446868-63468435	0,0057	<i>CFAP73</i>
				<i>DDX54</i>
AGS	18	4465590-4493835	0,0285	<i>SYCE1L</i>
AGS	18	65579737-65590031	0,0478	<i>ZNF814</i>
AGPI:AGS	5			<i>RAP1B</i>
AGPI:AGS	5	45235256-45390164	0,0147	<i>RF00428</i>
AGPI:AGS	5			<i>NUP107</i>
AGPI:AGS	5			<i>SLC35E3</i>
AGPI:AGS	23	6058585-6066189	0,0649	<i>TINAG</i>
OMEGA 3	20	23029920-23037151	0,0365	<i>ANKRD55</i>
OMEGA 6	10	101051178-101055089	0,0950	<i>KCNK10</i>
N6:N3	5	78734230-78969010	0,0005	<i>DENND5B</i>
				<i>RNF41</i>
				<i>RPS26</i>
N6:N3	5	57444406-57606624	0,0070	<i>ERBB3</i>
				<i>PA2G4</i>

				<i>ZC3H10</i>
				<i>ESYT1</i>
				<i>MYL6B</i>
				<i>MYL6</i>
				<i>SMARCC2</i>
N6:N3	23	28794410-28805588	0,0159	<i>GABBR1</i>
N6:N3	28	29001640-29029144	0,0542	<i>MCU</i>
N6:N3	29	19170744-19189471	0,0156	<i>LOC524642</i>

AG: ácidos graxos
BTA: *Bos Taurus* autosome

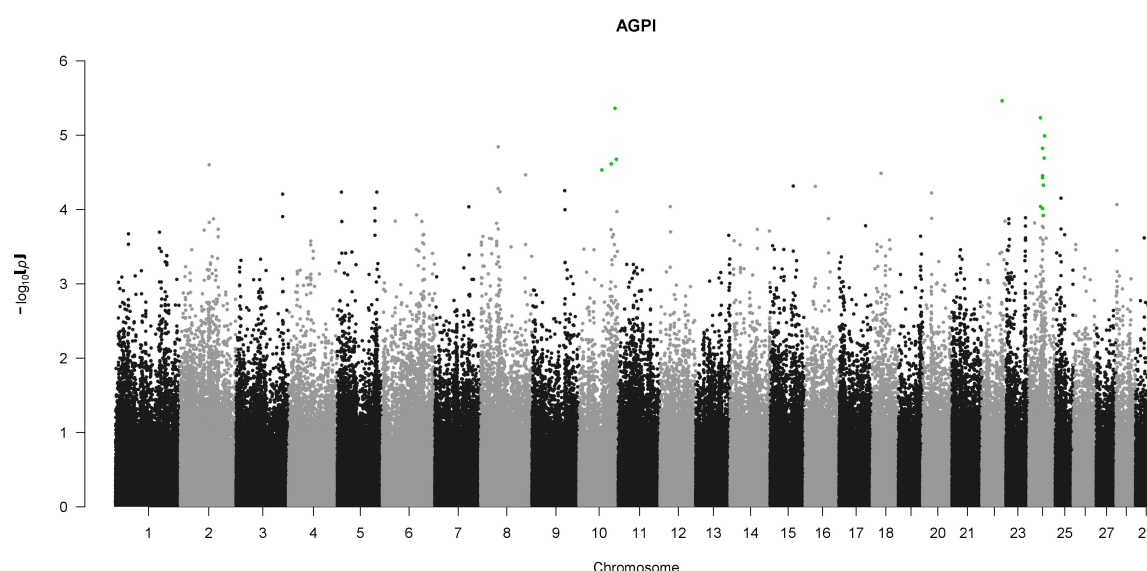


Figura 2. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para o somatório dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) da carne de bovinos da raça Nelore.

Para os ácidos graxos saturados foram significativamente ($p < 0,10$) associados 4 haplótipos (Figura 3), sendo que nestes foram encontrados 6 genes (Tabela 1). A proteína codificada pelo gene *PRKN* (Parkin RBR E3 Protein Ligase Ubiquitina) é um componente de um complexo multiproteína E3 ubiquitina ligase que medeia o direcionamento de proteínas de substrato para degradação proteasomal (Cui et al., 2018). Dentre suas anotações GO (gene ontology) estão as ligações receptor acoplado à proteína G, ligação fosfolipase, ligação à proteína quinase e regulação positiva da sinalização de quinase I-kappaB/NF-kappaB. Cui et al., 2018 investigando a expressão gênica de *PINK1* e *Parkin* em pré-adplócitos 3T3-L1, com estresse metabólico (dieta rica em gordura – ácido palmítico) em

camundongos, concluíram que a expressão gênica desses genes foi aumentada no tecido adiposo de camundongos obesos, e a via *PINK1-Parkin* desempenhou um papel protetor no estresse metabólico.

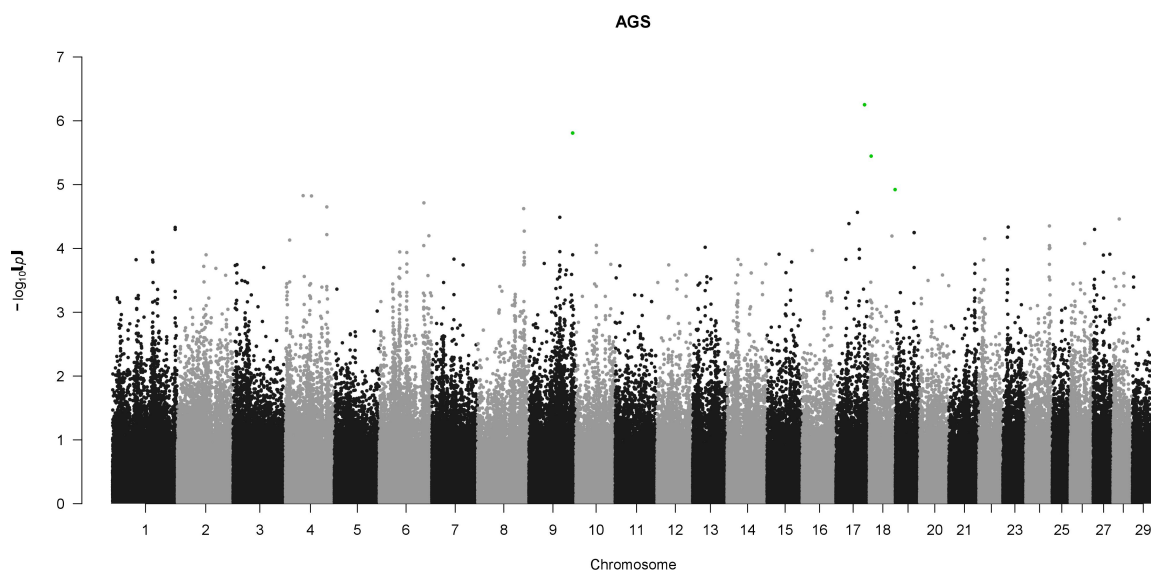


Figura 3. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para o somatório dos ácidos graxos saturados (AGS) da carne de bovinos da raça Nelore.

O gene *DDX54* (DEAD box helicase 54) codifica proteínas que são supostas helicases de RNA dependentes de ATPase (Milek et al., 2017). Suas anotações GO são compostas por ligação ATP e receptor de estrogênio. Da mesma família desse gene, Lemos et al. (2016) encontraram o gene *DDX1* associado ao ácido graxo poli-insaturado, C18:2 cis-9 cis-12 n-6.

Para a relação dos ácidos graxos poli-insaturados com os ácidos graxos saturados (AGPI:AGS) foram significativamente associados ($p < 0,10$) 3 haplótipos (Figura 4), sendo que nestes foram encontrados 5 genes (Tabela 1). O gene *SLC35E3* (solute carrier family 35 member E3) é um transportador de açúcar de nucleosídeo localizado no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi (Ishida e Kawakita, 2004; song, 2013). Os açúcares nucleotídicos são substratos para a glicosilação de proteínas, lípidos e proteoglicanos (Ishida e Kawakita, 2004). Lemos et al. (2016) ao realizarem o estudo de associação genômica ampla para AGs utilizando a mesma base de dados que o presente estudo, encontraram os genes da mesma família: *SLC51A* (associados aos ácidos graxos saturados e aos

ácidos graxos poli-insaturados) e *SLC4A4* (associado aos ácidos graxos monoinsaturados).

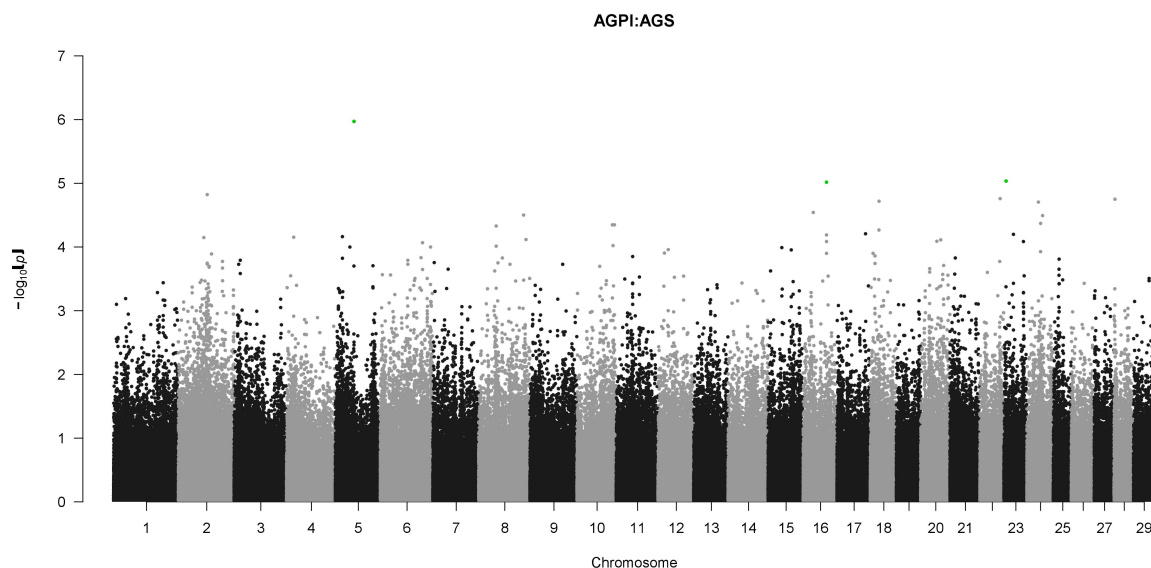


Figura 4. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para a relação entre o somatório dos ácidos graxos poli-insaturados e o somatório dos ácidos graxos saturados (AGPI:AGS) da carne de bovinos da raça Nelore.

A proteína nucleoporina (*NUP107*) está localizada na borda nuclear e é um componente essencial do complexo de poros nucleares (NPC), responsáveis pelo transporte intermembrana (Krull et al., 2004). Elas fazem parte de um complexo que auxilia o transporte de esteróis que regulam o metabolismo lipídico (Zhou et al., 2011). Cesar et al. (2014) ao realizar o estudo de GWAS com SNPs para identificar regiões genômicas associadas com a deposição de gordura e a composição dos ácidos graxos em bovinos Nelore, encontraram um gene da mesma família (*NUP214*) para ácido graxo saturado C18:0.

O gene *RAP1B* codifica uma proteína de ligação GTP que possui uma atividade GTPase intrínseca. Essas proteínas estão envolvidas na cascata de sinalização de MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases), que culmina com a translocação de MAPK para o núcleo, onde ativa fatores de transcrição que resultam na expressão gênica (McCain, 2013). As anotações GO (GO:0071320 e GO:0051591) relacionadas a esse gene incluem resposta celular a AMP cíclico e resposta a cAMP. A cAMP é um mensageiro secundário na transdução de

regulação de genes, sinalização celular e biossíntese de hormônios esteroides (Gonzalez, Ceroni da Silva, 2017).

Foram significativamente associados ($p < 0,10$) 7 haplótipos para os ácidos graxos ômega 3 (Figura 5), sendo que nestes foram encontrados apenas 1 gene (Tabela 1). O gene *ANKRD55* (Ankyrin Repeat Domain 55) possui um importante parálogo, o gene *KIDINS220* (Kinase D Interacting Substrate 220). Em suas anotações GO incluem-se atividade reguladora da proteína quinase (uma enzima que catalisa a transferência de um grupo fosfato de uma molécula doadora para uma receptora) (McCain, 2013) e ligação do domínio PDZ (mecanismos reguladores tais como fosforilação) (Lee e Zheng, 2010).

Ao analisar as regiões candidatas no Cattle QTLdb observou-se 7 QTLs associados à ácidos graxos no leite de vacas da raça Holandesa (Bouwman et al., 2012) e um associado à maciez da carne em raças taurinas (McClure et al., 2012).

Nos ácidos graxos ômega 6 (n_6) foram encontrados 5 haplótipos significativamente ($p < 0,10$) associados (Figura 6) e 1 gene na região associada (Tabela 1). O gene *KCNK10* (Potassium Two Pore Domain Channel Subfamily K Member 10) codificada uma proteína pertence à família de proteínas do canal de potássio. Este canal é um retificador aberto que passa principalmente a corrente para fora sob concentrações fisiológicas de K^+ e é fortemente estimulado pelo ácido graxo araquidônico e outros ácidos graxos livres insaturados de ocorrência natural e, em menor grau, pelo alongamento da membrana, acidificação intracelular e anestésicos gerais.

Foram observados QTLs previamente identificados relacionados à gordura da carne em animais da raça Holandesa (Doran et al., 2014); ao peso ao sobreano em bovinos cruzados (Snelling, 2010); ao teor de ácido gama-linolênico, teor de ácidos graxos poli-insaturados e teor de ácidos graxos poli-insaturados ômega 6 em bovinos da raça Nelore (Lemos et al., 2016) e; à maciez da carne em raças taurinas (McClure et al., 2012).

Na tabela 1 estão expostos os 10 haplótipos significativamente ($p < 0,10$) associados (Figura 7) à relação dos ácidos graxos ômega 6 com os ácidos graxos ômega 3 ($n_6:n_3$), em que foram encontrados 13 genes. Dos genes encontrados, foram relacionados ao metabolismo de lipídios, transporte e uso de ácidos graxos e colesterol, biossíntese e hidrólise de fosfolipídios e constituintes de membrana,

síntese de proteína quinase 4 genes (*RNF41*, *GABBR1*, *LOC524642*, *ERBB3*, *ESYT1*, *SMARCC2*).

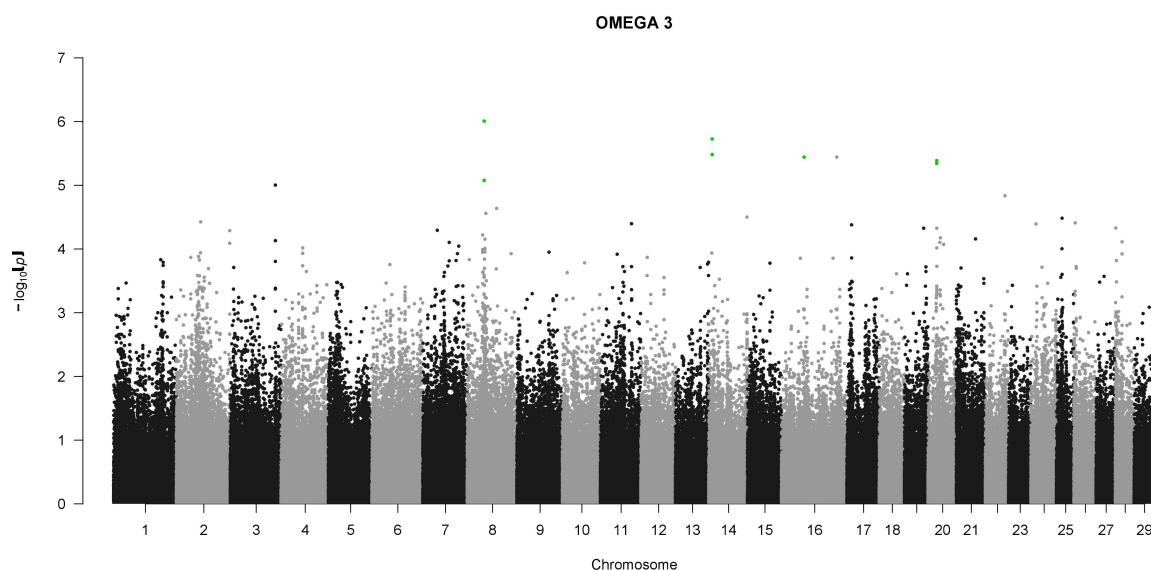


Figura 5. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para o somatório dos ácidos graxos ômega 3 (n3) da carne de bovinos da raça Nelore.

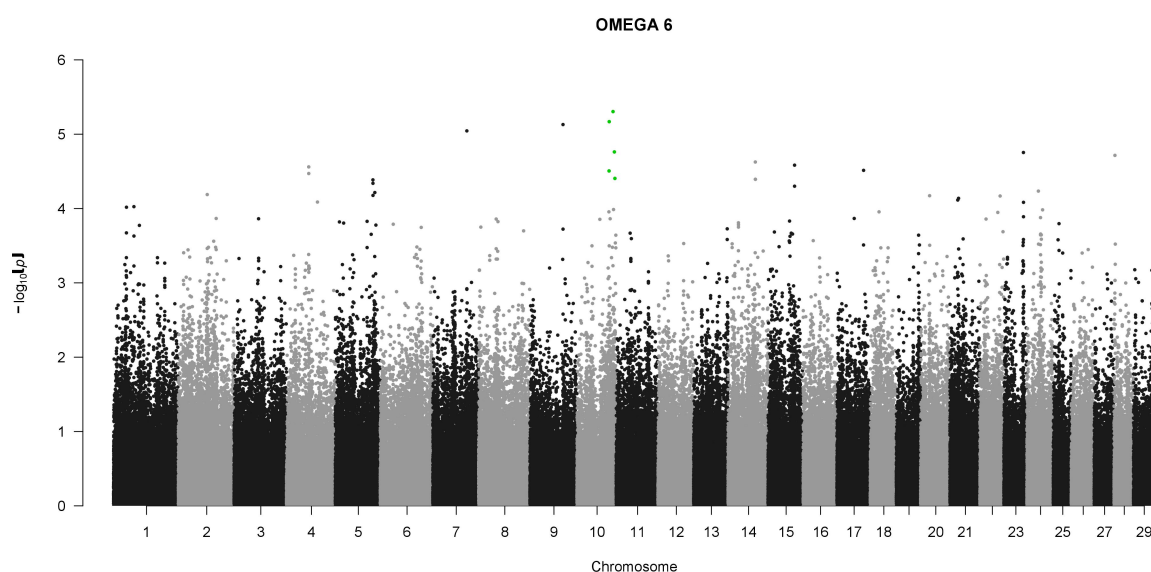


Figura 6. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para o somatório dos ácidos graxos ômega 6 (n6) da carne de bovinos da raça Nelore.

Na tabela 1 estão expostos os 10 haplótipos significativamente ($p < 0,10$) associados (Figura 7) à relação dos ácidos graxos ômega 6 com os ácidos graxos ômega 3 (n6:n3), em que foram encontrados 13 genes. Dos genes encontrados, foram relacionados ao metabolismo de lipídios, transporte e uso de ácidos graxos e colesterol, biossíntese e hidrólise de fosfolipídios e constituintes de membrana, síntese de proteína quinase 4 genes (*RNF41*, *GABBR1*, *LOC524642*, *ERBB3*, *ESYT1*, *SMARCC2*).

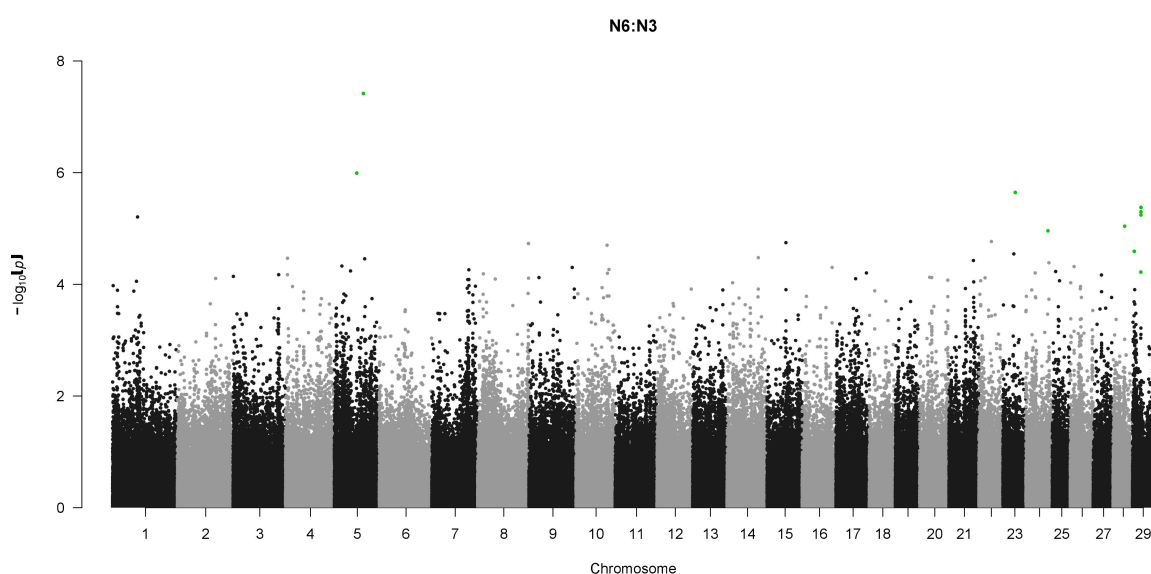


Figura 7. Manhattan plot dos resultados da associação genômica ampla utilizando haplótipos para a relação entre o somatório dos ácidos graxos ômega 6 e o somatório dos ácidos graxos ômega 3 (n6:n3) da carne de bovinos da raça Nelore.

A E3 ubiquitina-proteína ligase é a proteína codificada pelo gene *RNF41* (ring finger protein 41) e regula a degradação de proteínas-alvo, tais como a Clec16a (C-type lectin domain family 16, member A) que possui um papel fundamental na regulação da mitofagia (Ashrafi e Schwarz, 2013) e na secreção de insulina estimulada pela glicose (Soleimanpour et al., 2014).

O gene *GABBR1* (gamma-aminobutyric acid type B receptor subunit 1) medeia o acoplamento à proteínas G que participam do processo de sinalização que estimula a fosfolipase A_2 e modula a hidrólise dos fosfolipídios inositol (Ng et al., 1999). As fosfolipases A_2 (PLA₂s) pertencem a uma superfamília de enzimas que realizam a clivagem de fosfolipídios da membrana celular em ácidos graxos

(ácido araquidônico) e lisofosfolípidios, numa reação dependente de cálcio (Defilippo, 2009).

As anotações de GO (GO:0006629 e GO:0008889) relacionadas com o gene *LOC524642* (glycerophosphodiester phosphodiesterase domain-containing protein 4) incluem atividade de fosfodiesterase de glicerofosfodiéster e processo metabólico lipídico. O gene *ERBB3* (erb-b2 receptor tyrosine kinase 3) um membro da família do receptor do fator de crescimento das tirosinas quinase. Codifica uma tirosina quinase associada à membrana que tem sido implicada no controle do crescimento celular. A proteína liga-se à neuregulina-1 (NRG1) e é ativada, essa ligação aumenta a fosforilação nos resíduos de tirosina e promove a sua associação com a subunidade p85 da fosfatidilinositol 3-quinase (Ieguchi et al., 2010). Anotações GO relativas a este gene incluem sinalização fosfatidilinositol 3-quinase (GO:0014065) e atividade da proteína tirosina quinase (GO:0004713). As anotações GO relacionadas com o gene *ESYT1* (extended synaptotagmin 1) incluem ligação lipídica (GO:0008289) e transporte lipídico (GO:0006869).

O gene *SMARCC2* (SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin subfamily c member 2) codificada uma proteína que faz parte do complexo SWI/SNF, que realizam atividades enzimáticas chave, de remodelamento da cromatina, alterando os contatos DNA-histona dentro de um nucleossomo, dependente de ATP (Kadam et al., 2000).

O enriquecimento das vias metabólicas e dos termos de GO (gene ontology) não foram significativos a 5% ($p < 0,05$).

4. CONCLUSÃO

O presente trabalho é o primeiro estudo de associação genômica ampla para o perfil de ácidos graxos da carne em animais zebuínos que utiliza a metodologia de haplótipos como unidades fundamentais dos testes de associação no genoma bovino. Os genes identificados pelos haplótipos significativamente associados com o perfil de ácidos graxos da carne, podem estar relacionados com o metabolismo energético, componentes de membrana celular e regulação gênica. Estes resultados poderão contribuir para o melhoramento da qualidade da carne

em animais zebuínos por meio da seleção de animais baseada nos genes associados com ácidos graxos identificados no presente estudo e, dessa forma, possibilitará a produção de uma alimento com maiores benefícios para a saúde humana.

5. REFERÊNCIAS

Abdel-Shafy, H, Bordfeldt RH, Tetens J, Brockmann GA (2014) Single nucleotide polymorphism and haplotype effects associated with somatic cell score in German Holstein cattle. **Genetic Selection Evolution** 46(1):35.

Ashrafi G, Schwarz TL (2013) The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. **Cell Death & Differentiation** 20(1):31-42.

Bansal V, Halpern AL, Axelrod N, Bafna V (2008) An MCMC algorithm for haplotype assembly from whole-genome sequence data. **Genome Research**, 18:1336–1346.

Barrett, JC, Fry B, Maller J, Daly MJ (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics** 21(2):263-265.

Berton MP, Fonseca LFS, Gimenez DFJ, Utembergue BL, Cesar ASM, Coutinho LL, Lemos MVA, Aboujaude C, Pereira ASC, Silva RMO, Stafuzza NB, Feitosa FLB, Chiaia HLJ, Olivieiri BF, Peripolli E, Tonussi RL, Gordo DM, Espigolan R, Ferrinho AM, Mueller LF, Albuquerque LG, Oliveira HN, Duckett S, Baldi F (2016) Gene expression profile of intramuscular muscle in Nellore cattle with extreme values of fatty acid. **BMC Genomics** 17:972.

Boopathi NM (2013) Genetic mapping and marker assisted selection. Basics, Practice and Benefits. In: _____. (Ed.). **Mapping population development**. Coimbatore: Springer, p. 23-37.

Bouwman AC, Visker MHPW, Arendonk JAM, Bovenhius H (2012) Genomic regions associated with bovine milk fatty acids in both summer and winter milk samples. **BMC Genetics** 13:93.

Cesar ASM, Regitano LCA, Mourão GB, Tullio RR, Lanna DPD, Nassu RT, Mudado MA, Oliveira PSN, Nascimento ML, Chaves AS, Alencar MM, Sonstegard TS, Garrick DJ, Reecy JM, Coutinho LL (2014) Genome-wide association study for

intramuscular fat deposition and composition in Nellore cattle. **BMC Genetics** 15:39.

Croiseau P, Fouilloux MN, Jonas D, Fritz S, Baur A, Ducrocq V, Phocas F, Boichard D (2014) Extension to haplotypes of genomic evaluation algorithms. **Proceedings**, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Cui C, Chen S, Qiao J, Qing L, Wang L, He T, Wang C, Liu F, Gong L, Chen L, Hou X (2018) PINK1-Parkin alleviates metabolic stress induced by obesity in adipose tissue and in 3T3-L1 preadipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 498(3):445-452.

Curi RA, Chardulo LAL, Giusti J, Silveira AC, Martins CL, Oliveira HN (2010) Assessment of GH1, CAPN1 and CAST polymorphisms as markers of carcass and meat traits in Bos indicus and Bos taurus–Bos indicus cross beef cattle. **Meat Science** 86: 915–920.

Cuyabano BCD, Su G, Lund MS (2014) Genomic prediction of genetic merit using LD-based haplotypes in the Nordic Holstein population. **BMC Genomics** 15:1171.

Defilippo PP (2009) **Atividade enzimática dos subtipos de fosfolipase A2 (PLA2) em cultura primária de neurônios**. 2009. 125 f. Dissertação (Mestre em Ciências (Fisiopatologia Experimental)) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo.

Demeyer D, Doreau M (1999) Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings Nutrition Society** 58: 593–607.

Derry JJ, Richard S, Carvajal HV, Ye X, Vasioukhin V, Cochrane AW, Chen T, Tyner AL (2000) Sik (BRK) Phosphorylates Sam68 in the Nucleus and Negatively Regulates Its RNA Binding Ability. **Molecular and Cellular Biology** 20(16):6114-6126.

Doran AG, Berry DP, Creevey CJ (2014) Whole genome association study identifies regions of the bovine genome and biological pathways involved in carcass trait performance in Holstein-Friesian cattle. **BMC Genomics** 15(1):837.

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

Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, Higgins J, Defelice M, Lochner A, Faggart M, Liu-Cordero SN, Rotimi C, Adeyemo A, Cooper R, Ward R, Lander ES, Daly MJ, Altshuler D (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. **Science** 296: 2225-2229.

Gillis AT, Eskin NAM, Cliplef RL (1973) Fatty acid composition of bovine intramuscular and subcutaneous fat as related to breed and sex. **Journal of Food Science** 38: 408–411.

Gilmore TD (1999) The Rel/NF-kappaB signal transduction pathway: introduction. **Oncogene** 18(49): 6842-6844.

Glezer I, Marcourakis T, Avellar MCW, Gorenstein C, Scavone C (2000) O fator de transcrição NF-kB nos mecanismos moleculares de ação de psicofármacos. **Revista Brasileira de Psiquiatria** 22(1):26-30.

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

Hadlich JC, Curi RA, Da Silva MGB, Factori MA, Silveira AC, Chardulo LAL (2013) Maciez da carne bovina e sua relação com o crescimento e os tipos de fibra musculares. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais** 11: 421-430.

Haegebarth A, Heap D, Bie D Derry JJ, Richard S, Tyner AL (2004) The nuclear tyrosine kinase BRK/Sik phosphorylates and inhibits the RNA-binding activities of the Sam68-like mammalian proteins SLM-1 and SLM-2. **Journal of Biological Chemistry** 279(52):54398-404.

Harris BL, Winkelman AM, Johnson DL (2014) Across-breed genomic prediction in dairy cattle. **Proceedings**, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Hirata MH, Hirata RDC (2002) Transporte de ácidos graxos no plasma. In: CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. (1 Ed.). **Entendendo a gordura: ácidos graxos**. Barueri, São Paulo 7:61-72.

Hooper LV, Manzella SM, Baenziger JU (1996) From legumes to leukocytes: biological roles for sulfated carbohydrates. **The FASEB Journal** 10(10):1137-46.

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

Huerta-Leidenz NO, Cross HR, Savell JW, Lunt DK, Baker LS, Smith B (1996) Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from male calves at different stages of growth. **Journal of Animal Science** 74:1256-1264.

Ieguchi K, Fujita M, Ma Z, Davari P, Taniguchi Y, Sekiguchi K, Wang B, Takada YK, Takada Y (2010) Direct Binding of the EGF-like Domain of Neuregulin-1 to

Integrins ($\alpha\beta 3$ and $\alpha 6\beta 4$) Is Involved in Neuregulin-1/ErbB Signaling. **Journal of Biological Chemistry** 285(41):31388-31398.

Ishida N, Kawakita M (2004) Molecular physiology and pathology of the nucleotide sugar transporter family (SLC35). **Pflügers Archiv** 447(5):768-775.

Jakobsen K (1999) Dietary modifications of animal fats: status and future perspectives. **European Journal of Lipid Science and Technology** 101(12):475–483.

Kadam S, McAlpine GS, Phelan ML, Kingston RE, Jones KA, Emerson BM (2000) Functional selectivity of recombinant mammalian SWI/SNF subunits. **Genes & Development** 14(19).

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

Krull S, Thyberg J, Björkroth B, Rackwitz HR, Cordes VC (2004) Nucleoporins as Components of the Nuclear Pore Complex Core Structure and Tpr as the Architectural Element of the Nuclear Basket. **Molecular Biology of the Cell** 15(9):4261-4277.

Lee HJ, Zheng JJ (2010) PDZ domains and their binding partners: structure, specificity, and modification. **Cell Communication & Signaling** 8:8.

Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Feitosa FLB, Aboujaoude C, Camargo GMF, Pereira ASC, Albuquerque LG, Ferrinho AM, Mueller LF, Mazalli MR, Furlan JJM, Carneiro R, Gordo DGM, Tonussi R, Espigolan R, Silva RMO, Oliveira HN, Duckett S, Aguilar I, Baldi F Genome-wide association between single nucleotide polymorphisms with beef fatty acid profile in Nellore cattle using the single step procedure. **BMC Genomics** 17: 213.

Lukong KE, Larocque D, Tyner AL, Richard S (2005) Tyrosine phosphorylation of sam68 by breast tumor kinase regulates intranuclear localization and cell cycle progression. **Journal of Biological Chemistry** 280(46):38639-47.

Makvandi-Nejad S, Hoffman GE, Allen JJ, Chu E, Gu E, Chandler AM, Loredó AI, Bellone RR, Mezey JG, Brooks SA, Sutter NB (2012) Four loci explain 83% of size variation in the horse. **PloS One** 7(7):e39929.

Malau-Aduli AEO, Siebert BD, Bottema CDL, Pitchford WSA (1997) comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. **Australian Journal Agricultural Research** 48:715–722.

Malau-Aduli AEO, Siebert BD, Bottema CDK, Pitchford WS (1998) Breed comparison of the fatty acid composition of muscle phospholipids in Jersey and Limousin cattle. **Journal of Animal Science** 76:766–773.

McCain J (2013) The MAPK (ERK) Pathway: Investigational Combinations for the Treatment Of BRAF-Mutated Metastatic Melanoma. **Pharmacy and Therapeutics** 38(2):96-98,105-108.

McClure MC, Ramey HR, Rolf MM, McKay SD, Decker JE, Chapple RH, Kim JW, Taxis TM, Weaber RL, Schnabel RD, Taylor JF (2012) Genome-wide association analysis for quantitative trait loci influencing Warner-Bratzler shear force in five taurine cattle breeds. **Animal Genetics** 43(6):662-73.

Metz PAM, Menezes LFG, Santos AP, Brondani IL, Restle J, Lanna DPD (2009) Perfil de ácidos graxos na carne de novilhos de diferentes idades e grupos genéticos terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38(3):523-531.

Milek M, Imami K, et al. (2017) DDX54 regula a dinâmica do transcriptoma durante a resposta ao dano no DNA. **Genome Research** 27(8):1344-1359.

Mills EW, Comerford JW, Hollender R, Harpster HW, House B, Henning WR (1992) Meat composition and palatability of Holstein and beef steers as influenced by forage type and protein source. **Journal of Animal Science** 70:2446-2451.

Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Druet T, Lee DH (2002) BLUPF90 and related programs (BGF90). Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production; August 19±23; Montpellier, France. Communication No 28±07.

Ng GYK, Clark J, et al. (1999) Identification of a GABAB Receptor Subunit, gb2, Required for Functional GABAB Receptor Activity. **Journal of Biological Chemistry** 274:7607-7610.

Nürnberg K, Wegner J, Ender K (1998) Factors influencing fat composition in muscle and adipose tissue of farm animals. **Livestock Production Science** 56:145-156.

Pitchford W S, Deland M P B, Siebert B D, Malau-Aduli A E O, Bottema C D K (2002) Genetic variation in fatness and fatty acid composition of crossbred cattle. **Journal Animal Science** 80:2825–2832.

Rossato LV, Bressan MC, Rodrigues EC, Gama LT, Bessa RJB, Alves SPA (2010) Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39(5):1127-1134.

Rule DC (1997) Direct trans esterification of total fatty acids of adipose tissue, and of freeze-dried muscle and liver with boron-trifluoride in methanol. **Meat Science** 46:23-32.

Rule DC, Macneil MD, Short RE (1997) Influence of sire growth potential, time on feed, and growing-finishing strategy on cholesterol and fatty acids of the ground carcass and *Longissimus* muscle of beef steers. **Journal Animal Science** 75:1525–1533.

Saatchi M, Garrick DJ, Tait RG Jr, Mayes MS, Drewnoski M, Schoonmaker J, Diaz C, Beitz DC, Reecy JM (2013) Genome-wide association and prediction of direct genomic breeding values for composition of fatty acids in Angus beef cattle. **BMC Genomics** 14:730.

Saatchi M, Schnabel RD, Taylor JF, Garrick DJ (2014a) Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate within and across ten US cattle breeds. **BMC Genomics** 15(1):442.

Saatchi M, Beever JE, Decker JE, Faulkner DB, Freetly HC, Hansen SL, Yampara-Iquise H, Johnson KA, Kachman SD, Kerley MS, Kim J, Loy DD, Marques E, Neiberghs HL, Pollak EJ, Schnabel RD, Seabury CM, Shike DW, Snelling WM, Spangler ML, Weaber RL, Garrick DJ, Taylor JF (2014b) QTLs associated with dry matter intake, metabolic mid-test weight, growth and feed efficiency have little overlap across 4 beef cattle studies. **BMC Genomics** 15:1004.

Sargolzaei M, Chesnais JP, Schenkel FS (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **BMC Genomics** 15:478.

Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn LA, McDanel T, Smith TP, Sonstegard TS, Thallman RM, Bennett GL (2010) Genome-wide association study of growth in crossbred beef cattle. **Journal of Animal Science** 88(3):837-48.

Soleimanpour SA, Gupta A, et al. (2014) The diabetes susceptibility gene Clec16a regulates mitophagy. **Cell** 157(7):1577-1590.

Song Z (2013) Roles of the nucleotide sugar transporters (SLC35 family) in health and disease. **Molecular Aspects of Medicine** 34(2-3):590-500.

Souza GT (2010) **Inferência de raiz evolutiva de genes como base para a simulação de crescimento de genomas**. 45 f. Monografia (Bacharelado em Física) - Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Tozaki T, Kikuchi M, Kakoi H, Hirota K, Nagata S (2017) A genome-wide association study for body weight in Japanese Thoroughbred racehorses clarifies

candidate regions on chromosomes 3, 9, 15, and 18. **Journal of Equine Science** 28(4):127-134.

Tsunoda T, Takashima Y, Tanaka Y, Fujimoto T, Doi K, Hirose Y, Koyanagi M, Yoshida Y, Okamura T, Kuroki M, Sasazuki T, Shirasawa S (2010) Immune-related zinc finger gene ZFAT is an essential transcriptional regulator for hematopoietic differentiation in blood islands. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 107(32):14199-14204.

Tuteja N (2009) Signaling through G protein coupled receptors. **Plant Signaling & Behavior** 4(10):942-947.

USDA. United State Department of Agriculture. Disponível em <www.usda.gov>. Acesso em 5 janeiro 2017.

Wood JD, Richardson RI, Nute GR, Fisher AV, Campo MM, Kasapidou E, Sheard PR, Enser M (2003) Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science** 66:21-32.

Zhou T, Li S, et al. (2011) OSBP-Related Protein 8 (ORP8) Regulates Plasma and Liver Tissue Lipid Levels and Interacts with the Nucleoporin Nup62. **PloS One** 6(6):e21078.