

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor ,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
27/08/2020.

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

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

DANIELA DUTRA ESTEVAM

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

Botucatu/SP

Agosto/2019

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

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

DANIELA DUTRA ESTEVAM
ZOOTECNISTA

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

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

Botucatu/SP

Agosto/2019

E79i

Estevam, Daniela Dutra

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

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Mário De Beni Arrigoni

Coorientador: Danilo Domingues Millen

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

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

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DA AUTORA

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

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

DEDICO.

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

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

MUITO OBRIGADA!

EPÍGRAFE

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

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

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

Mário Sérgio Cortella

LISTA DE FIGURAS

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

LISTA DE TABELAS

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

ANEXOS

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

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

SUMÁRIO

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

RESUMO

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

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

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

ABSTRACT

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

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

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

1. INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

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

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e Locais dos Experimentos

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

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

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

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

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

4. CONCLUSÃO

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

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

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

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