

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM TRÊS LINHAS DE
BOVINOS NELORE SELECIONADOS PARA
CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO

Diercles Francisco Cardoso
Zootecnista

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

**ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM TRÊS LINHAS DE
BOVINOS NELORE SELECIONADOS PARA
CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO**

Diercles Francisco Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Humberto Tonhati

Coorientadores: Prof. Dr. Fernando Sebastian Baldi Rey

Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante

Prof. Dr. Henner Simianer

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal.

2016

Cardoso, Diercles Francisco

C268a Assinaturas de seleção em três linhas de bovinos Nelore selecionados para características de crescimento / Diercles Francisco Cardoso. – – Jaboticabal, 2016
x, 53 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Humberto Tonhati
Coorientadores: Fernando Sebastian Baldi Rey, Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, Henner Simianer
Banca examinadora: Fábio Ricardo Pablos de Souza, Lúcia Galvão de Albuquerque, Joslayne Noely dos Santos Gonçalves Cyrillo, Marcos Eli Buzanskas
Bibliografia

1. Bovinos de corte. 2. Estrutura de populações. 3. F_{ST} . 4. iHS. 5. Varreduras seletivas. 6. XP-EHH. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.2:636.082

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM TRÊS LINHAS DE BOVINOS NELORE
SELECIONADOS PARA CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO**

AUTOR: DIERCLES FRANCISCO CARDOSO

ORIENTADOR: HUMBERTO TONHATI

CO-ORIENTADORA: MARIA EUGÊNIA ZERLOTTI MERCADANTE

CO-ORIENTADOR: HENNER SIMIANER

CO-ORIENTADOR: FERNANDO SEBASTIAN BALDI REY

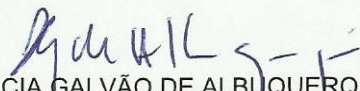
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



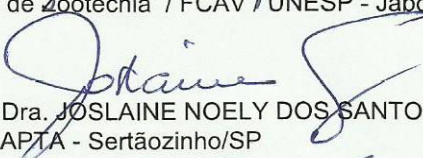
Prof. Dr. HUMBERTO TONHATI
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



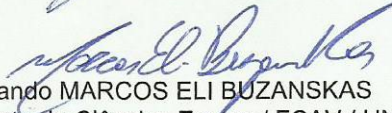
Prof. Dr. FABIO RICARDO PABLOS DE SOUZA
Departamento de Zoologia e Genética / Universidade Federal de Pelotas



Profa. Dra. LUCIA GALVÃO DE ALBUQUERQUE
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. JOSLAINE NOELY DOS SANTOS GONÇALVES CYRILLO
Diretoria / IZ / APTA - Sertãozinho/SP



Pós-doutorando MARCOS ELI BUZANSKAS
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 28 de julho de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DIERCLES FRANCISCO CARDOSO – nascido na cidade de Berilo – MG na data de 04 de junho de 1988, filho de Domingos Francisco das Virgens e Valdirene Cardoso Santos. No ano de 2006 ingressou no curso de graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciência Agrárias da Universidade de Marília (UNIMAR), obtendo o título de Zootecnista em dezembro de 2009. Em agosto de 2010, ingressou no mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, sob a orientação do Prof. Dr. Humberto Tonhati. Foi Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo durante o mestrado, obtendo o título de Mestre em Genética e Melhoramento Animal em 27 de julho de 2012. Em agosto de 2012, ingressou no doutorado pelo mesmo programa de Pós-graduação, bolsista da mesma agência de fomento e sob mesma orientação. Realizou estágio de pesquisa na Universidade de Göttingen, na Alemanha, sob a supervisão do Prof. Dr. Henner Simianer pelo período de um ano, entre 2014 e 2015. Obteve o título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal em 28 de Julho de 2016.

Epígrafe

“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas, valeu a intenção da semente.”

Henfil

"Não acredite no que eu digo, pois é a minha experiência e não a sua. Experimente, indague e busque."

Osho Rajneesh

AGRADECIMENTOS

Agradeço ..

Ao Prof. Dr. Humberto Tonhati, por ter sido meu orientador durante o mestrado e doutorado, pela oportunidade, pela confiança e por todos os ensinamentos realizados e também pela amizade. Devo agradecê-lo também pela paciência e principalmente pelo exemplo de profissional e Ser Humano que transmitiu a mim ao longo desses anos;

Aos meus Co-orientadores, Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, Dr. Fernando Baldi e Dr. Henner Simianer, por todas as colaborações com a minha formação;

Ao Centro APTA Bovinos de Corte - Instituto de Zootecnia, pela disponibilização de dados para realização das pesquisas de mestrado e doutorado;

À professora Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque, pela oportunidade de fazer parte de seu projeto de pesquisa, pelos ensinamentos e colaborações;

À minha noiva, Daiane, com muito amor, pelo seu companheirismo, pela sua compreensão e solidariedade, pela prazerosa parceria pessoal e profissional, e por todos os anos que ainda viveremos juntos;

À primeira professora que tive na vida, minha mãe Valdirene, que sem sombra de dúvidas é a inspiração para o meu ideal de um dia ser professor;

Ao meu pai, Domingos e aos meus irmãos Diêime e Beatriz, por estabelecerem de maneira sólida o pilar necessário para a sustentação de qualquer pessoa, a família;

Ao irmão que a vida me proporcionou, Dr. Guilherme Venturini, que tanto me ajuda e incentiva desde meus primeiros dias em Jaboticabal. Sem ti, nada teria sido possível;

À todos os atuais e ex-integrantes do “Team Tonhati”, Daniel Jordan, Fernanda Tanamati, Alejandro Naudin, Camila Barros, Ana Claudia, Willian Galena, Valentina Roldán, Gabriela Steffani, Gregório Camargo, Rusbel Raul, Daniele Portela, Daniele Araújo, Larissa Zetouni, Patrícia Fonseca, Camila Urbano, Julia Pierucci, entre outros. Muito agradável o ambiente de trabalho ao lado de vocês;

À todos os colegas de departamento;

Aos membros da banca examinadora da qualificação, Dr. Daniel Jordan de Abreu Santos, Dr. Danísio Prado Munari, Dr. Roberto Carvalheiro e Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque pela atenção e por todas as contribuições;

Aos membros da banca examinador da defesa, Dr. Fábio Ricardo Pablos de Souza, Dra. Joslayne Noely dos Santos Gonçalves Cyrillo, Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque e Dr. Marcos Eli Buzanskas, por fazerem parte da minha história na Pós-graduação, e por colaborarem com a etapa final desta etapa;

Ao Dr. Henner Simianer e sua equipe (Christian Reimer, Malena Erbe, Saber Qanbari, Reza Sharif, Amanda Nava, Anna Holthaus, Mahmood Gholami, Johannes Martini, Guiyan Ni; Mrs. Doering), que me recebeu e me deu todo o suporte durante o doutorado sanduiche na Alemanha;

À Alemanha, que me proporcionou tantas experiências boas, aprendizado e principalmente novas amizades (Marcelo Ganzella, Alex Viana, Johannes Martini, Juan David, Helga Pinent e sua família tão acolhedora);

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, pelas portas abertas;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo apoio financeiro concedido na forma de bolsa de estudos (Processo: 2012/24600-4);

A todos os professores pelos conhecimentos transmitidos, e pela colaboração com a minha formação.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Seleção.....	3
2.2 Assinaturas de seleção.....	5
2.3 Aplicação de assinaturas de seleção em populações bovinas (<i>Bos taurus</i>).....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Programa experimental de seleção do rebanho Nelore do Instituto de Zootecnia	10
3.2 Genotipagem e controle de qualidade dos dados genômicos	12
3.3 Análises de estrutura de populações	13
3.4 Abordagens utilizadas na identificação de assinaturas de seleção	14
3.5 Identificação de genes e QTL nas assinaturas de seleção.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1 Estrutura de populações	20
4.2 Assinaturas de seleção.....	23
4.3 Genes e QTL detectados nas assinaturas de seleção	31
5. CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM TRÊS LINHAS DE BOVINOS NELORE SELECIONADOS PARA CARACTERÍSTICAS CRESCIMENTO

RESUMO - Análises de assinaturas de seleção são ferramentas úteis para identificação de padrões genômicos estabelecidos devido às interações humanas com animais domésticos. Em algumas situações, a estratificação dentro de uma raça permite a comparações genômicas entre subpopulações para elucidar assinaturas de seleção. O presente estudo teve o objetivo de analisar a estratificação existente em uma população experimental de bovinos da raça Nelore com três linhas de seleção e revelar assinaturas de seleção pertinentes à seleção direcional para aumento no peso ao sobreano. Para estes fins, foram utilizados animais genotipados com o painel de alta densidade de SNPs (Illumina® BovineHD beadchip – 777K), sendo 674 animais pertencentes à duas linhas mantidas sob seleção direcional para aumento do peso ao sobreano e 89 animais pertencentes a uma linha mantida sob seleção estabilizadora, baseada na mesma característica. A estratificação populacional foi avaliada pela análise de escalonamento multidimensional da matriz de distâncias genômicas e também pela análise da ancestralidade individual estimada a partir da matriz de marcadores. As assinaturas de seleção foram avaliadas com três métodos complementares, o índice de fixação de Wright (F_{ST}), a homozigose do haplótipo estendido entre populações (XP-EHH) e o escore de integração dos haplótipos (iHS). As diferentes abordagens utilizadas na avaliação da estrutura de populações apresentaram elevada consistência, revelando separação da população em três subgrupos que caracterizam as três diferentes linhas de seleção. A linha sob seleção estabilizadora apresenta-se como um grupo isolado, enquanto as linhagens mantidas sob seleção direcional apresentam certo nível de sobreposição. Os três métodos utilizados na identificação de assinaturas de seleção não apresentaram resultados coincidentes entre si, dado que não foram observadas intersecções entre as regiões consideradas assinaturas de seleção por cada um deles. No entanto, cada método revelou assinaturas de seleção em regiões genômicas abrangendo QTL bovinos de características de crescimento, previamente relatados na literatura, assim como genes envolvidos em funções biológicas relacionada ao metabolismo do crescimento.

Palavras-chave: Bovinos de corte, estrutura de populações, F_{ST} , iHS, varreduras seletivas, XP-EHH

SELECTION SIGNATURES IN THREE LINES OF NELLORE CATTLE SELECTED FOR GROWTH TRAITS

ABSTRACT - Analyses of selection signatures are valuable tools to identify genomic patterns formed by the interaction between humans and domestic animals. In some situations, the within-breed stratification enables genomic comparisons between groups of the same breed in order to study genetic mechanisms underlying given phenotypes under selection. The current study aimed to analyze the genomic stratification in an experimental population of Nellore cattle that keeps three selection lines, and highlight selection signatures pertinent to the practiced directional selection. To this end, was used a sample of animals genotyped with high density SNPs panel (Illumina® BovineHD beadchip – 777K), being 674 animals from two lines kept under directional selection for higher yearling body weight and 89 animals from one line kept under stabilizing selection based on the same trait. The population structure was assessed with multidimensional analysis based on the genomic distances matrix and with Admixture analyses based on genotype matrix. Selection signatures scans were based on three complementary methods the Wright's fixation index (F_{ST}), Cross Population Extended Haplotype Homozygosity (XP-EHH) and the integrated Haplotype score (iHS). The different approaches used in order to assess the population structure were largely consistent, revealing the population separation in three clusters equivalent to the three selection lines. The line under stabilizing selection was represented by an isolated cluster, whilst the lines under directional selection presented some overlapping level. The three applied methods of selection signatures presented no accordance regarding found selection signatures. However, each of them highlighted selection signatures co-localized with previously known QTL affecting growth traits, as such as some genes already known as having a metabolic function important to growth metabolism.

Keywords: Beef Cattle, Population structure, F_{ST} , iHS, selective sweep, XP-EHH

1. INTRODUÇÃO

A espécie bovina é representada por diversas raças e subgrupos adaptados e/ou selecionados para diferentes propósitos produtivos (trabalho, produção de carne e leite). A diversidade fenotípica dentro desta espécie tem propiciado um modelo biológico interessante para investigação de padrões genômicos estabelecidos pela seleção, denominados como assinaturas de seleção. A análise de assinaturas de seleção é uma ferramenta promissora na identificação de vestígios de seleção artificial, estabelecidos durante a domesticação e/ou formação de raças, que pode elucidar mecanismos genéticos relacionados a características morfológicas, fisiológicas e produtivas específicas de cada raça (QANBARI; SIMIANER, 2014).

Uma estratégia eficaz para identificação de assinaturas de seleção recente é a comparação entre populações que tenham passado por diferentes processos de seleção. Em bovinos, esta estratégia é amplamente aplicada para comparação de diferentes raças (HAYES et al., 2009; MACEACHERN et al., 2009; LIM et al., 2016). No entanto, existem casos em que, é possível a comparação de rebanhos de uma mesma raça para identificar assinaturas de seleção, devido à existência de estratificação populacional e diferenças fenotípicas entre os estratos. Em estudos dedicados à comparação entre subpopulações de bovinos Holstein sob seleção divergente, foi observado o estabelecimento de assinaturas de seleção em regiões genômicas abrigando *loci* de características quantitativas (QTL, “Quantitative Trait *Loc*”) para produção de leite e constituintes (SONSTEGARD et al., 2010; KIM et al., 2013).

Uma população experimental de bovinos Nelore é mantida pelo Centro APTA Bovinos de Corte - Instituto de Zootecnia, desde 1980, com três linhas de seleção para crescimento. Duas das linhas são mantidas sob seleção direcional para aumento do peso ao sobreano e uma terceira linha, denominada controle, tem sido mantida sob seleção estabilizadora para peso ao sobreano. Após quase quarenta anos de seleção, foram observadas acentuadas diferenças entre a linha sob seleção estabilizadora e as linhas sob seleção direcional, para pesos em diferentes idades,

medidas corporais, circunferência escrotal, características de qualidade de carcaça, entre outras (CYRILLO et al., 2000; MERCADANTE et al., 2003; BONILHA et al., 2008). Estudos prévios relataram comparações entre frequências alélicas em genes candidatos, entre as linhas sob seleção direcional e a linha controle (AYRES et al., 2010; SOUZA et al., 2010; CARDOSO et al., 2014; FONSECA et al., 2015). No entanto, a análise de assinaturas de seleção, realizada por meio de painéis densos de marcadores moleculares distribuídos por todo o genoma, corresponde a uma abordagem mais adequada para a identificação de regiões genômicas sob efeito da seleção nesta população.

A identificação de genes e regiões genômicas sob efeito da seleção permitirá compreender melhor a dinâmica das características selecionadas e pode proporcionar informações para trabalhos futuros. Assim, o objetivo do presente estudo foi: (1) avaliar o efeito da seleção na estrutura da população experimental de bovinos Nelore mantida pelo IZ; e (2) identificar assinaturas de seleção pertinentes à seleção direcional.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Seleção

A seleção é caracterizada pela existência de diferentes valores adaptativos entre categorias genotípicas/fenotípicas presentes em uma população, o que confere a uma das classes vantagens de sobrevivência e reprodução em relação às demais (NIELSEN, 2005). Este processo pode ser natural ou artificial, dependendo da existência de influências humanas em sua realização.

Sob o ponto de vista quantitativo, a seleção é classificada como: direcional, estabilizadora e diversificadora (BULMER, 1976). Resumidamente, a seleção direcional favorece um dos extremos fenotípicos existentes em uma população; a seleção estabilizadora favorece a permanência de fenótipos intermediários; enquanto a seleção diversificadora favorece, simultaneamente, mais de um dos extremos fenotípicos existentes em uma população.

Na área de evolução molecular, a seleção é definida como o processo não aleatório de propagação diferenciada de um alelo, devido ao seu efeito sobre determinado fenótipo (VITTI; GROSSMAN; SABETI, 2013), podendo ser classificada como: positiva, negativa (seleção purificadora) e balanceadora (OLEKSYK et al., 2010). A seleção positiva promove o aumento na frequência de alelos favoráveis, enquanto a seleção negativa promove a redução na frequência de alelos deletérios ou de valor adaptativo reduzido, sendo ambos, processos que tendem a reduzir a diversidade genética em regiões genômicas. Por outro lado, a seleção balanceadora refere-se a mecanismos que mantenham a diversidade genética, como a sobredominância, a vantagem de alelos raros ou a seleção influenciada por frequências alélicas (ANDRÉS et al., 2009).

Embora não exista correspondência única entre as classificações estabelecidas para a seleção nas áreas de genética quantitativa e evolução molecular, a seleção direcional, provavelmente, é a principal forma de seleção positiva (AKEY, 2009), especialmente se os genes sob seleção apresentarem ação aditiva. A identificação de regiões genômicas que tenham sido alteradas por seleção positiva, tem sido o objetivo de pesquisas em diversas espécies. A ênfase da

pesquisa sobre este tipo de seleção é devido ao estabelecimento de padrões genômicos mais evidentes (VITTI; GROSSMAN; SABETI, 2013), cuja identificação gera valiosa contribuição no entendimento de pressões de seleção vivenciadas por cada população (NIELSEN, 2005; NIELSEN et al., 2007; AKEY, 2009).

A seleção positiva, também conhecida como seleção darwiniana, é classicamente definida pelo aumento na frequência de alelos favoráveis, recém-introduzidos em uma população por meio de mutações, até que estes sejam fixados. Contudo, é suposto que polimorfismos neutros ao valor adaptativo possam tornar-se favoráveis após alguma alteração ambiental ou de qualquer outra natureza e passe a caracterizar seleção positiva (PRITCHARD et al., 2010). Concomitante ao aumento na frequência de alelos favoráveis, a seleção positiva promove alterações na frequência alélica em *loci* neutros que estejam próximos a este alelo devido à segregação não independente de sítios polimórficos de um mesmo cromossomo (SMITH; HAIGH, 1974). Este processo de redução da variabilidade em regiões genômicas adjacentes a um polimorfismo sob seleção positiva é chamado de varredura seletiva (“selective sweeps”), sendo classificado como varredura seletiva drástica (“hard sweeps”), ou varredura seletiva discreta (“soft sweep”).

As varreduras seletivas drásticas são aquelas geradas quando um alelo passa a ser selecionado imediatamente após seu surgimento, atendendo a definição clássica de seleção positiva. Por isso, espera-se que o haplótipo em que o alelo favorável foi inserido por meio de mutação prevaleça em uma população após a seleção. Em contrapartida, as varreduras seletivas discretas referem-se a seleção de alelos que já segregavam em uma população e estavam presentes em mais de um tipo possível de haplótipo antes do início da seleção. Desta forma, a seleção de um alelo favorece mais de um tipo de haplótipo e as varreduras seletivas discretas são caracterizadas pela diversidade haplotípica mesmo após a fixação do alelo selecionado (PENNING; HERMISSON, 2006).

Estudos com genes candidatos foram as primeiras tentativas de identificação de varreduras seletivas em populações que tivessem vivenciado processos de seleção (SABETI et al., 2006). No entanto, além de requerer suposições *a priori* sobre genes influenciados pela seleção, essa abordagem era sensível a sinais espúrios em regiões neutras, causados por fatores demográficos que resultassem

em deriva genética (AKEY, 2009). Atualmente, o estágio avançado de desenvolvimento de ferramentas genômicas potencializa a detecção de evidências de seleção positiva em nível de genoma amplo, as quais são denominadas assinaturas de seleção.

2.2 Assinaturas de seleção

De acordo com a teoria neutralista da evolução, a maioria dos polimorfismos segregando em uma espécie são neutros ao valor adaptativo (KIMURA, 1968). As flutuações em frequências alélicas nestes *loci* polimórficos são provavelmente causadas por fenômenos que afetam o genoma inteiramente (BAMSHAD; WOODING, 2003), como expansões ou gargalos populacionais, migração, deriva genética e mutações. Por outro lado, a seleção é um processo *loci* específico, restrito a regiões associadas ao fenótipo sob seleção. Assim, assinaturas de seleção são padrões genéticos diferenciados, em relação ao restante do genoma, apresentados em regiões que abrigam polimorfismos relacionados a um fenótipo que está ou esteve sob pressão de seleção (QANBARI et al., 2012).

Os padrões genômicos característicos de assinaturas de seleção recentes ou de seleção em andamento equivalem à: (1) redução da diversidade genética local; (2) mudanças no espectro de frequências alélicas, (3) extrema diferenciação entre subpopulações; e (4) padrões específicos de desequilíbrio de ligação (LD, “Linkage Disequilibrium”) (MA et al., 2015; UTSUNOMIYA et al., 2015). Algumas particularidades de cada um desses padrões serão descritas a seguir:

- Redução na diversidade genética local (1): padrão genômico caracterizado pelo alto grau de fixação alélica. Os testes propostos na identificação deste tipo de assinaturas de seleção buscam por regiões apresentando heterozigosidade ou diversidade nucleotídica extremamente baixas em relação à média do genoma. Utsunomiya et al. (2015), ressaltaram que análises de heterozigosidade local baseada no uso de painéis comerciais de marcadores, apresentam propensão ao erro estatístico tipo I, pois a taxa de heterozigose média observada com marcadores inseridos em painéis comerciais superestima a média de heterozigose genômica. Por isso, grande parte de estudos buscando regiões genômicas que apresentem

baixa heterozigosidade utilizam de sequenciamentos de nova geração (RUBIN et al., 2010; QANBARI et al., 2012; QANBARI et al., 2014; GHOLAMI et al., 2015).

- Mudança no espectro da frequência alélica (2): teoricamente, este é o padrão genômico estabelecido após a redução na diversidade genética local. Enquanto a frequência dos alelos favoráveis está aumentando em uma população podem acontecer mutações em *loci* dentro da região sob varredura seletiva. Assim, estes alelos recém introduzidos alcançarão frequências elevadas relativamente rápido, enquanto o alelo selecionado é conduzido à fixação. Outras mutações neutras que ocorrerem após a fixação do alelo selecionado permanecerão em baixa frequência, de modo que a região selecionada passará a ser composta por excesso de ambos, alelos ancestrais raros e em alta frequência (BRAVERMAN et al., 1995; KIM; STEPHAN, 2002). Recentemente, ao comparar diversas metodologias de detecção de assinaturas de seleção, Ma et al. (2015) observaram que métodos baseados no espectro da frequência alélica são em geral mais eficientes que os demais métodos, para a detecção de seleção recente.

- Diferenciação entre populações (3): a seleção não atua sob os mesmos *loci* quando populações vivenciam processos e pressões de seleção diferentes. Este princípio tem motivado a comparação entre populações de uma mesma espécie, mas com histórico evolutivo diferente. A estatística mais comum para comparação entre populações é o índice de fixação de Wright (F_{ST} , “Wright's Fixation Index”), que inclusive foi utilizada no primeiro estudo de assinaturas de seleção com painéis de alta densidade de marcadores em seres humanos (AKEY et al., 2002).

- Padrões específicos de LD (4): regiões genômicas sob seleção devem apresentar médias de LD superiores às observadas no genoma. Um alelo selecionado leva menos gerações para atingir a frequência por ele apresentada, do que se estivesse segregando ao acaso. De modo que, menos eventos de recombinação acontecem para desfazer os haplótipos em que os alelos selecionados estão inseridos, preservando altos valores de LD (SERVICE et al., 2006). A estatística homozigose do haplótipo estendido (EHH, “Extended Haplotype Homozygosity”) proposta por Sabeti et al. (2002), estima a probabilidade de escolha aleatória de dois haplótipos longos idênticos em uma população. A premissa dessa análise é que altos valores de LD são causados pela alta frequência de algum

haplótipo, gerando altos valores de EHH. Diversas estatísticas têm sido desenvolvidas a partir do modelo de EHH para a identificação de assinaturas de seleção dentro de populações e até mesmo por meio da comparação de EHH entre populações.

2.3 Aplicação de assinaturas de seleção em populações bovinas (*Bos taurus*)

As populações de animais domésticos passaram por acentuadas mudanças fenotípicas em aspectos morfológicos, fisiológicos e comportamentais, devido à adaptação a diversificados ambientes e, posteriormente, devido à domesticação e à seleção (LUSH, 1945). De modo que, estas espécies são modelos excelentes para estudos genômicos sobre o efeito da seleção positiva (RUBIN et al., 2010). A identificação de mudanças genômicas relacionadas à evolução destas características fornece perspectivas sobre os mecanismos em que variações genéticas determinam a diversidade fenotípica.

Uma das principais vantagens da aplicação de assinaturas de seleção para detecção de genes e processos biológicos relacionados a fenótipos de importância econômica está na possibilidade de identificar associação entre fenótipos e genótipos, mesmo quando alelos estão fixados em uma população (QANBARI et al., 2014). Nestas condições, os estudos de associação genômica ampla (GWAS, “*Genome Wide Association Studies*”) não seriam eficazes, devido a alguns dos procedimentos necessários no controle de qualidade de marcadores, como a exclusão de marcadores com base nas frequências do alelo menos comum (MAF, “*Minor Allele Frequency*”) e equilíbrio de Hardy-Weinberg (TURNER et al., 2011). Outra vantagem das assinaturas de seleção está na necessidade de um número de amostras até 10 vezes menor que o requerido no GWAS, sem a necessidade de bancos de dados fenotípicos (QANBARI; SIMIANER, 2014; UTSUNOMIYA et al., 2015).

Regiões genômicas que abrigam genes relacionados à aparência são comumente detectadas como assinaturas de seleção em bovinos. É provável que determinados fenótipos, em sua maioria qualitativos, tenham sido priorizados nas formações raciais, por serem considerados melhores, e assim assinaturas de

seleção tenham sido estabelecidas nestas regiões. O gene *MC1R* é um dos principais genes determinantes da coloração da pelagem em mamíferos, sendo que polimorfismos neste gene definem a expressão da coloração de pelagem preta ou vermelha em algumas raças (KLUNGLAND et al., 1995). Assinaturas de seleção próximas a este gene têm sido relatadas em raças de pelagem vermelha como Holstein vermelho e branco, Hereford e Montbeliarde (FLORI et al., 2009; ROTHAMMER et al., 2013; QANBARI et al., 2014), e também em raças de pelagem preta como Holstein preto e branco, Angus e Simental (FLORI et al., 2009; STELLA et al., 2010; RAMEY et al., 2013). Os genes *KIT*, *KITLG* e *PMEL*, que também são relacionados a variações na coloração da pelagem, têm suas regiões genômicas detectadas como assinaturas de seleção em diversas raças (FORBES et al., 2006; STELLA et al., 2010; FARIELLO et al., 2014; KEMPER et al., 2014; QANBARI et al., 2014; URBINATI et al., 2016). Adicionalmente, assinaturas de seleção também são detectadas próximas à região centromérica do cromossomo 1 em diversas raças europeias (RAMEY et al., 2013; KEMPER et al., 2014; RANDHAWA et al., 2014). Esta região é a suposta localização de um *locus* controlando a ausência de chifres (SEICHTER et al., 2012).

Assinaturas de seleção também têm sido eficientes em demonstrar padrões genômicos alterados devido à adaptação de bovinos a ambientes adversos. Varreduras seletivas detectadas em raças adaptadas ao clima africano demonstraram considerável representação de regiões genômicas relacionadas à resposta imune, que provavelmente foram primordiais para a resistência daquelas raças a doenças infecciosas de clima tropical (GAUTIER et al., 2009; FLORI et al., 2014). Genes relacionados à tolerância ao calor também foram descritos em assinaturas de seleção detectadas em raças africanas (BAHBAHANI et al., 2015).

Em relação à seleção para características quantitativas, muitos estudos demonstram consistência entre assinaturas de seleção e QTL de grande efeito conhecidos em bovinos. Por exemplo, a região centromérica do cromossomo 14 foi identificada como assinatura de seleção em algumas raças bovinas leiteiras (HAYES et al., 2009; QANBARI et al., 2010; SCHWARZENBACHER et al., 2012). O gene *DGAT1*, mapeado nesta região, representa um QTL de grande efeito em características como produção de leite e gordura do leite (GRISART et al., 2002;

KÜHN et al., 2004). Outras regiões genômicas abrigando genes de maior efeito para características produtivas sob seleção, como *ABCG2* (produção de proteína no leite), *MSTN* (características de crescimento), *GHR* (características de crescimento e produção de leite) também são constantemente identificadas como assinaturas de seleção (WIENER et al., 2003; FLORI et al., 2009; HAYES et al., 2009; SONSTEGARD et al., 2010; RAMEY et al., 2013; PINTUS et al., 2014).

Kemper et al. (2014) sugerem parcimônia na interpretação de assinaturas de seleção como indícios de QTL, pois genes explicando pequenas proporções da variância genética de uma característica não sofrem alterações em suas frequências ao longo de poucas gerações de seleção. Além disso, propriedades pleiotrópicas de alguns genes podem comprometer o estabelecimento de varreduras seletivas perceptíveis. O gene *PLAG1*, por exemplo, apresenta um polimorfismo no qual um dos alelos promove aumento na estatura de bovinos, mas afeta de maneira negativa a eficiência reprodutiva (FORTES et al., 2013), de modo que a frequência deste alelo não aumenta rapidamente em uma população. Outro fator que pode comprometer a identificação de assinaturas de seleção em regiões abrigando QTL é o estabelecimento de varreduras seletivas discretas, dado que a seleção pode ter sido iniciada quando os alelos favoráveis já apresentam frequências moderadas nas populações (QANBARI et al., 2010).

Grande atenção está sendo dada à aplicação de metodologias para detecção de assinaturas de seleção estabelecidas em populações bovinas. A identificação de regiões genômicas sob efeito da seleção tem contribuído para o entendimento de variações genéticas que influenciam a diversidade fenotípica na espécie quanto à aparência, adaptação e aptidões produtivas. No entanto, a grande maioria de pesquisas desenvolvidas nesta área são voltadas a estudos com raças taurinas. Randhawa et al. (2016) observaram a existência de 13.640 assinaturas de seleção descritas na literatura para raças taurinas e apenas 1.246 em raças zebuínas. Essa grande diferença, reflete a carência por pesquisas de assinaturas em raças zebuínas, que são de grande importância na produção de alimentos em países de clima tropical.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Programa experimental de seleção do rebanho Nelore do Instituto de Zootecnia

O delineamento do programa de seleção da raça Nelore do Instituto de Zootecnia foi descrito detalhadamente em Mercadante et al. (2003) e Mercadante e Razook (2010). Resumidamente, um rebanho representativo das principais linhagens brasileiras da raça Nelore foi estabelecido durante os anos de fundação do programa experimental (1976-1980), pelo acasalamento das vacas e novilhas existentes no IZ com touros recém adquiridos ou por meio de inseminação artificial. Em 1980, o rebanho Nelore foi dividido em três linhas de seleção, denominadas: Nelore Controle (NeC), Nelore Seleção (NeS) e Nelore Tradicional (NeT). Desde então cada linha tem sido mantida sob seleção para peso ao sobreano dentro de grupos de contemporâneos (ano de nascimento, sexo e linha de seleção).

A linha NeC foi inicialmente composta por 60 matrizes e tem sido mantida como um rebanho fechado, sob seleção estabilizadora. A linha NeS foi inicialmente composta por 120 matrizes e também tem sido mantida como um rebanho fechado, no entanto, sob seleção direcional para maior peso ao sobreano. Finalmente, a linha NeT foi composta por 170 matrizes e tem sido mantida sob seleção direcional para maior peso ao sobreano, porém nesta linha houve eventuais introduções de touros NeS ou de rebanhos comerciais como reprodutores. O critério de seleção em cada linha são os registros individuais de peso de machos corrigidos para 378 dias de idade e de fêmeas corrigidos para 550 dias. Os machos são selecionados após 168 dias em prova de ganho de peso, a qual tem início logo após o desmame, enquanto fêmeas são mantidas a pasto até a idade de seleção.

O pedigree do rebanho Nelore do IZ, cuja completa descrição foi apresentada por Silva et al. (2016), foi utilizado para estimar coeficientes de geração individuais (CG) e o tamanho efetivo (N_e) de cada linha de seleção. Os CG foram estimados de acordo com o algoritmo proposto no pacote estatístico pedigreemm (VAZQUEZ et al., 2010) do software R (R CORE TEAM, 2013), em que cada progênie é classificada em uma geração seguinte a do pai com maior CG. Para esta estimativa, os animais utilizados no início da formação das linhas foram classificados como

fundadores (CG=0), de modo que o pedigree sugere 10 gerações de seleção em cada linha, desde sua formação. Os N_e estimados para a 10ª geração, com base no aumento individual da endogamia entre 1980 a 2013, seguindo Gutiérrez, Cervantes e Goyache (2009), foram iguais a 51, 88 e 177 animais para as linhas NeC, NeS e NeT, respectivamente. A Figura 1A e 1B apresenta, respectivamente, a evolução das médias de peso em machos e fêmeas, por geração em cada linha. Nas Figuras 1C e 1D são apresentados dois touros de quatro anos de idade com diferença de um dia em suas datas de nascimento, sendo o primeiro pertencente ao rebanho NeS e o segundo ao rebanho NeC.

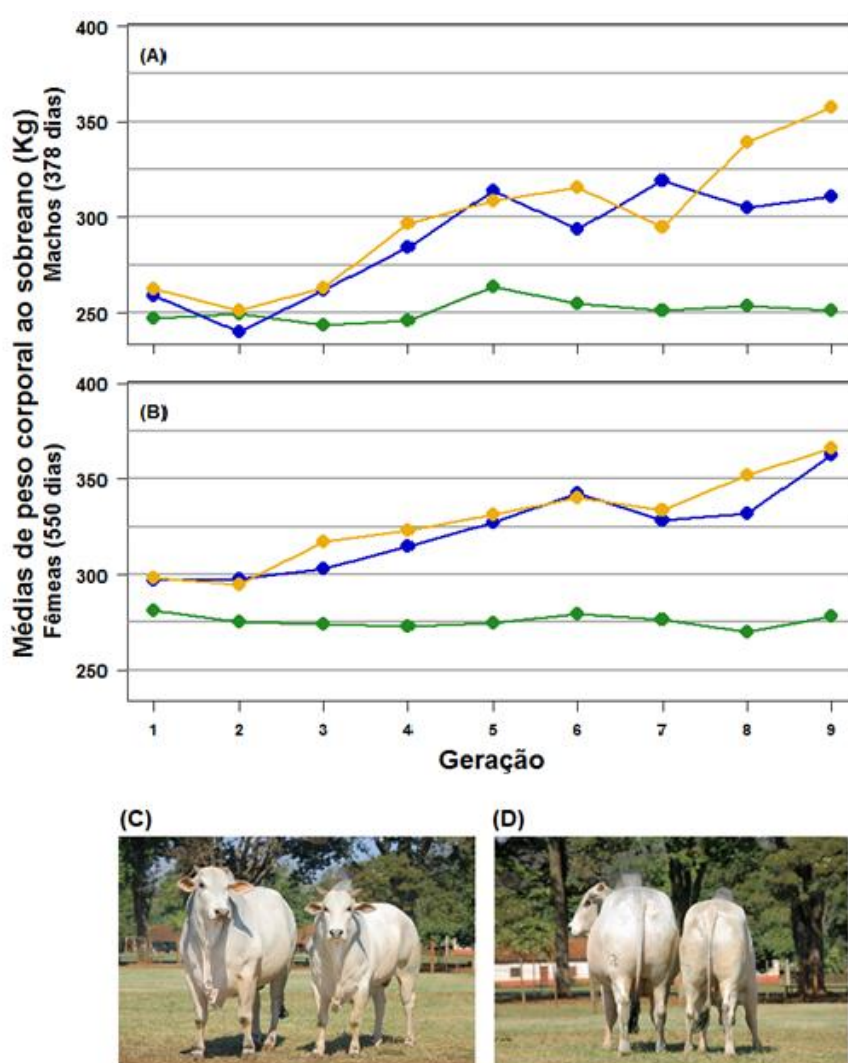


Figura 1. Respostas direta à seleção para peso ao sobreano em 10 gerações. (A) Médias do peso de machos (B) Médias do peso de fêmeas. Linhas NeC, NeS e NeT representadas pelas cores verde, azul e amarelo, respectivamente. (C) e (D) Touro da linha NeS (lado esquerdo) e touro da linha NeC (lado direito).

3.2 Genotipagem e controle de qualidade dos dados genômicos

Neste estudo, foi utilizada uma amostra de 782 animais, sendo 92, 192 e 498 animais das linhas NeC, NeS e NeT, respectivamente. Estes animais foram genotipados com o Illumina BovineHD BeadChip (Illumina®, San Diego, CA), através do projeto temático: “Ferramentas genômicas no melhoramento genético de características de importância econômica direta em bovinos da raça Nelore”, Processo FAPESP 2009/16118-5.

Genótipos com escore de leitura (GC, “Genotype Calling score”) inferiores a 0,15 foram classificados como informações perdidas e o controle de qualidade dos dados genômicos foi efetuado no software Plink (versão 1.07) (PURCELL et al., 2007). Foram removidas amostras com taxa de leitura (CR; “Call Rate”) menor que 0,90, assim como SNPs apresentando CR inferior a 0,95; SNPs não mapeados em cromossomos autossômicos; SNPs monomórficos e o SNP de menor CR entre os pares de SNPs duplicados.

Um procedimento adicional de controle de qualidade foi realizado para detecção e remoção de marcadores com posições genômicas supostamente erradas, seguindo o algoritmo proposto por Bohmanova, Sargolzaei e Schenkel (2010), que é baseado no decaimento do desequilíbrio de ligação (LD, “linkage disequilibrium”) em função das distâncias físicas entre marcadores. Para este fim, o LD entre todos os pares de SNPs de um mesmo cromossomo foi estimado por meio da estatística r^2 (HILL; ROBERTSON, 1968), então um arquivo com informações referentes aos 10 maiores valores de r^2 observados para cada SNP foi criado. Quando distâncias maiores que 10 Mb foram observadas entre pares de SNPs deste arquivo, ambos foram inseridos em um novo arquivo como suspeita de erros de mapeamento. Marcadores mais frequentes na lista de suspeita de erros de mapeamento foram removidos gradativamente, até eliminação deste arquivo e de ruídos observados nos gráficos de decaimento de r^2 em função da distância física. Esta prática levou à remoção de 2961 marcadores. A Figura 2 exemplifica os padrões de decaimento de r^2 antes e após remoção de supostos erros de mapeamento nos cromossomos 11 e 12, em que foram removidos 1 e 154 SNPs com supostos erros de mapeamento, respectivamente.

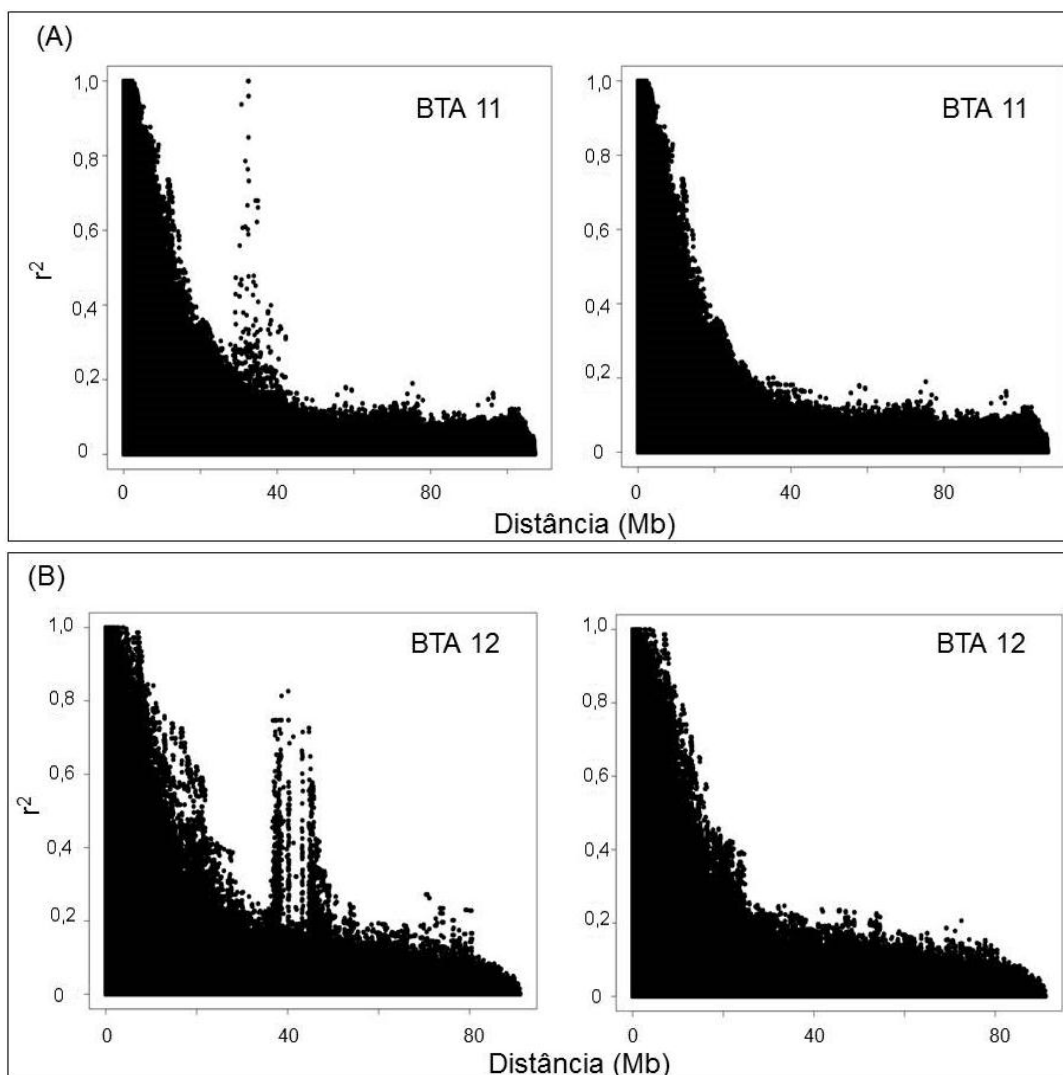


Figura 2. Decaimento do desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância física antes (esquerda) e após (direita) a remoção de supostos erros de mapeamento nos BTAs 11 e 12.

Após controle de qualidade dos dados genômicos, restaram 763 amostras e 529.172 marcadores autossômicos. Os genótipos perdidos de marcadores restantes após controle de qualidade foram imputados usando o software Beagle (versão 3.3.2) (BROWNING; BROWNING, 2007). As fases haplotípicas em cada cromossomo foram inferidas, utilizando o mesmo software.

3.3 Análises de estrutura de populações

Neste estudo foram utilizados dois procedimentos para análise da estrutura populacional na amostra. Primeiro, a análise de escalonamento multidimensional

(MDS, “Multidimensional scaling”), também conhecida por análise de coordenadas principais, foi aplicada à matriz de distância genômica usando a função “cmdscale” do software R (R CORE TEAM, 2013). A distância genômica entre dois indivíduos foi assumida sendo um menos a proporção de alelos idênticos por estado (IBS, “Identical by State”) compartilhado por eles.

A segunda análise consistiu na avaliação da proporção da ancestralidade de cada indivíduo em populações ancestrais hipotéticas. Esta análise foi realizada a partir da matriz de genótipos com o software ADMIXTURE (versão 1.04) (ALEXANDER; NOVEMBRE; LANGE, 2009), que utiliza o procedimento de máxima verossimilhança para inferir a frequências alélicas em populações ancestrais e a contribuição de cada população ancestral hipotética no genoma de cada indivíduo. Foi avaliada a estrutura populacional com números de populações ancestrais hipotéticas (k) iguais a dois e três. Para otimização do tempo computacional, foram removidos da matriz de genótipos, SNPs que apresentassem valores de r^2 maiores que 0,5 com qualquer outro em um intervalo de 50 Kb, resultando em 227.547 SNPs.

3.4 Abordagens utilizadas na identificação de assinaturas de seleção

Três metodologias diferentes foram aplicadas para a detecção de assinaturas de seleção, o índice de fixação de Wright (F_{ST} , “Wright’s fixation index”) (WRIGHT, 1949), a homozigose do haplótipo estendido entre populações (XP-EHH, “Cross Population Extended Haplotype Homozygosity”) (SABETI et al., 2007) e o escore de Integração dos Haplótipos (iHS, “integrated haplotype score”) (VOIGHT et al., 2006). O F_{ST} e o XP-EHH são métodos de detecção de assinaturas de seleção baseados em comparações genômicas entre diferentes populações, enquanto iHS detecta assinaturas de seleção dentro de populações.

A estatística F_{ST} , originalmente proposta para marcadores bialélicos, mede a proporção da variação na frequência alélica de um marcador que é atribuída à variância entre subpopulações, sendo igual a 0 quando as frequências alélicas são iguais nas subpopulações e igual a 1 quando alelos diferentes são fixados em cada subpopulação. A seleção divergente deve levar a altos valores de F_{ST} em regiões

genômicas sob seleção, de modo que as regiões genômicas em que marcadores apresentam maiores valores de F_{ST} representam assinaturas de seleção.

Muitos estimadores de F_{ST} , com diferentes aplicabilidades, têm sido propostos na literatura. Devido à diferença no número de amostras entre as linhas de seleção utilizadas neste estudo, optou-se pelo uso de um estimador de F_{ST} com balanceamento para tamanhos de subpopulações, conforme a seguinte fórmula proposta por Weir (1996):

$$F_{ST} = \frac{\sum n_i (\tilde{p}_i - \bar{p})^2 / N}{\bar{p} (1 - \bar{p})}$$

em que, n_i é o tamanho da linha i ; $\tilde{p}_i$ é a frequência do alelo p na linha de seleção i ; e $\bar{p}$ é a média da frequência do alelo p ponderada pelo tamanho das linhas de seleção.

Valores de F_{ST} foram estimados para cada um dos 529.172 SNPs restantes após controle de qualidade, considerando três cenários de comparação: “NeC vs. NeS”, “NeC vs. NeT” e “NeS vs. NeT”. Posteriormente, médias de F_{ST} foram calculadas em janelas de 100 Kb, com 75 Kb de sobreposição. Dado que NeS e NeT são mantidas sob o mesmo tipo e critério de seleção, a comparação “NeS vs. NeT” não foi utilizada para identificação de assinaturas de seleção.

A definição de assinaturas de seleção baseada no teste F_{ST} requer a utilização de limites de significância empíricos para refutar a hipótese de que não exista efeito da seleção sobre cada região genômica (hipótese de nulidade) (HAYES et al., 2009; WAGH et al., 2012). Neste estudo, foram consideradas significativas as janelas apresentando mais de cinco SNPs e com os maiores valores de F_{ST} (top 0,5%) em ambos cenários de comparação “NeC vs. NeS”, “NeC vs. NeT”.

As estatísticas XP-EHH e iHS, são derivações da metodologia EHH, proposta por Sabeti et al. (2002), que busca sinais de seleção caracterizados por regiões genômicas em que existam haplótipos em alta frequência em uma população. O EHH representa a probabilidade de escolha aleatória de dois haplótipos idênticos dentro de uma população, considerando a distância genômica estendida de um núcleo a um ponto “x”. O elemento que é chamado de núcleo pode ser um alelo, um SNP ou até mesmo um haplótipo, de acordo com a análise a ser realizada, sendo que o valor de EHH é estimado para ele. O ponto “x” pode ser qualquer SNP

adjacente ao núcleo, sendo que o valor de EHH decai a medida que aumenta-se a distância e o número de SNPs entre o núcleo e o ponto “x”. No XP-EHH, cada SNP é considerado como um núcleo, enquanto no iHS cada alelo de um SNP é considerado como um núcleo.

O cálculo da estatística XP-EHH foi feita com o software SELSCAN (versão 1.1.0) (SZPIECH; HERNANDEZ, 2014). Primeiramente, valores de EHH foram estimados para cada SNP em cada linha de seleção com a seguinte fórmula:

$$EHH(x_i) = \sum_{h \in C(x_i)} \frac{\binom{n_h}{2}}{\binom{n}{2}}$$

em que, i representa a ordem do marcador adjacente ao SNP núcleo (x_0), para o qual EHH está sendo estimado; $C(x_i)$ é o conjunto de todos os possíveis distintos haplótipos existentes na extensão do *locus* x_0 ao $i^{\text{ésimo}}$ *locus* adjacente a x_0 (ex.: $i = 0$, $C(x_0) = \{A, B\}$; $i = 1$, $C(x_1) = \{AA, AB, BA, BB\}$); n_h é o número observado de haplótipos do tipo $h \in C(x_i)$; e n é o total de haplótipos utilizados na análise, logo o dobro de animais em cada linha.

Os valores de EHH foram estimados para cada SNP núcleo nas duas direções, até a inclusão do $i^{\text{ésimo}}$ SNP adjacente, necessário para que a probabilidade EHH fosse inferior a 0,05. Quando intervalos maiores que 1 Mb ocorreram entre SNPs nas imediações de um núcleo, antes que a estatística EHH atingisse o valor 0,05, este SNP não teve valores de EHH estimados. Desta forma apenas 528.335 marcadores participaram das análises seguintes, pertinentes ao cálculo de XP-EHH.

A integral de EHH (iHH) foi computada para cada um dos SNPs em cada linha de seleção, como a área sob a curva de decaimento de EHH pela distância física entre o núcleo e o último SNP, considerado como ponto “x”. O seguinte modelo foi utilizado no cálculo de iHH:

$$iHH = \sum_{i=1}^{|D|} \frac{1}{2} (EHH(x_{i-1}) + EHH(x_i)) g(x_{i-1}, x_i) + \sum_{i=1}^{|U|} \frac{1}{2} (EHH(x_{i-1}) + EHH(x_i)) g(x_{i-1}, x_i)$$

em que, D e U representam as duas direções a partir do SNP núcleo; e $g(x_{i-1}, x_i)$ representa a distância física entre dois marcadores.

Posteriormente, os valores não padronizados de XP-EHH foram estimados para cada SNP, nas comparações entre “NeC vs. NeS” e “NeC vs. NeT”, com a seguinte fórmula:

$$\text{XP-EHH não padronizado} = \ln \left(\frac{iHH_A}{iHH_R} \right)$$

em que, iHH_A é a iHH de um SNP estimado na população alternativa (NeS ou NeT) e iHH_R é a iHH de cada SNP estimado na população referência (NeC).

Finalmente, os valores não padronizados de XP-EHH foram transformados para uma distribuição normal, pela seguinte fórmula:

$$\text{XP-EHH} = \frac{\ln \left(\frac{iHH_A}{iHH_R} \right) - E \left[\ln \left(\frac{iHH_A}{iHH_R} \right) \right]}{SD \left[\ln \left(\frac{iHH_A}{iHH_R} \right) \right]}$$

em que, E e SD são a média e desvio padrão calculados para os valores não padronizados de XP-EHH do genoma inteiro.

Após cálculo do XP-EHH, médias foram estimadas para janelas de 100 Kb, com 75 Kb de sobreposição. Valores negativos de XP-EHH, indicam seleção na população referência e valores positivos indicam seleção na população alternativa. Janelas com valores de XP-EHH maiores que 3,29 ($P \leq 0,001$, teste bilateral) nos dois cenários de comparação (“NeC vs. NeS” e “NeC vs. NeT”) foram considerados como assinaturas de seleção causadas pela seleção direcional.

O cálculo da estatística iHS também foi realizado com o software SELSCAN (versão 1.1.0) (SZPIECH; HERNANDEZ, 2014). As amostras das linhas NeS e NeT foram consideradas como uma mesma população para a aplicação deste método. Como o iHS não é matematicamente apropriado para marcadores monomórficos, SNPs com MAF inferior a 0,01 foram removidos desta análise.

As etapas para o cálculo de iHS são bastante similares ao XP-EHH, no entanto, esta é uma abordagem aplicável a uma única população, e compara o decaimento de EHH do alelo ancestral com o alelo alternativo. Neste estudo, um dos alelos em cada *locus* foi arbitrariamente assumido como ancestral. Esta medida foi tomada devido ao grande número de SNPs (>100.000) utilizados que não são representados em duas listas disponíveis com a definição de alelos ancestrais bovinos (UTSUNOMIYA et al., 2013; ROCHA et al., 2014). Análises preliminares, baseadas na remoção dos SNPs cujo estado ancestral era desconhecido, demonstraram que a classificação aleatória de um alelo como ancestral não resulta em mudanças na identificação de assinaturas de seleção para a amostra utilizada nesse estudo, dado que a correlação entre valores de iHS estimados com e sem a definição de alelo ancestral foi alta (>0.9).

Valores de EHH_c foram computados em ambas as direções, para cada alelo de cada SNP até que essa estatística atingisse o valor 0,05, com a seguinte fórmula:

$$EHH_c(x_i) = \sum_{h \in H_c(x_i)} \frac{\binom{n_h}{2}}{\binom{n_c}{2}}$$

em que, c é um dos alelos representados em cada SNP (A ou B); i representa a ordem do marcador adjacente ao núcleo (x_0); $H_c(x_i)$ é o conjunto de todos os possíveis haplótipos existentes contendo o alelo c , na extensão do *locus* x_0 ao $i^{\text{ésimo}}$ marcador adjacente a x_0 (ex.: $c = A$ e $i = 1$ $H_c(x_i) = \{AA, AB\}$; $c = B$ e $i = 1$ $H_c(x_i) = \{BA, BB\}$); n_h é o número observado de haplótipos do tipo $h \in H_c(x_i)$; e n_c é o total de haplótipos estendidos apresentando o alelo núcleo c , logo é equivalente à frequência de c na população.

A integral de EHH_c (iHH_c) foi então calculada para cada alelo núcleo. E os valores não padronizados de iHS foram calculados com a seguinte fórmula:

$$iHS \text{ não padronizado} = \ln \left(\frac{iHH_1}{iHH_0} \right)$$

em que, iHH_1 é a iHH do alelo ancestral e iHH_0 é a iHH do alelo alternativo.

Os valores absolutos de iHS não padronizados de 494.372 SNPs foram divididos em 20 classes, estabelecidas pela frequência do alelo classificado como ancestral e então transformados para distribuições normais dentro de classes. Posteriormente, médias de $|iHS|$ foram calculadas em janelas de 100 Kb, com 75 Kb de sobreposição e janelas com valores de $|iHS|$ maiores que 3,09 ($P < 0,001$) foram assumidas como assinaturas de seleção.

3.5 Identificação de genes e QTL nas assinaturas de seleção

A presença de QTL bovinos previamente relatados, sobrepondo as assinaturas de seleção identificadas neste estudo, foi consultada na base de dados CattleQTL (HU; PARK; REECY, 2015). O levantamento de genes mapeados nas regiões classificadas como assinaturas de seleção foi feito com a base de dados Ensembl cow genes 84 (YATES et al., 2015). O programa DAVID (versão 6.7) (HUANG; SHERMAN; LEMPICKI, 2009) foi utilizado para identificação de enriquecimento funcional de processos biológicos e vias metabólicas, considerando o limite de significância ($P < 0,01$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No controle de qualidade, a remoção de SNPs monomórficos levou em conta que os marcadores fossem fixados nas três linhas de seleção, desta forma, foram mantidos marcadores monomórficos em uma das linhas, mas polimórfico nas demais. A linha NeC apresentou a maior taxa de monomorfismo, assim como as menores médias de frequência do alelo menos comum (MAF, “Minor Allele Frequency”) (Tabela 1). Além de ser a amostra de menor tamanho neste estudo, a linhagem NeC é o rebanho de menor tamanho efetivo, de modo que é mais sensível a processos dispersivos que conduzam à fixação de alelos.

Tabela 1. Descrição da proporção de SNPs monomórficos e frequência do alelo menos comum (MAF) em cada linha de seleção.

Linha de seleção	Nº de SNPs monomórficos	Proporção de fixação	Proporção MAF $\leq 0,05$	Proporção MAF $\leq 0,10$	MAF média $\pm$ SD
NeC	74.896	0,14	0,28	0,38	0,19 $\pm$ 0,16
NeS	26.923	0,05	0,21	0,33	0,20 $\pm$ 0,15
NeT	9.456	0,02	0,21	0,33	0,20 $\pm$ 0,15

NeC: Linha Nelore Controle, NeS: Linha Nelore Seleção; NeT: Linha Nelore Tradicional

4.1 Estrutura de populações

Pela análise de escalonamento multidimensional (MDS) da matriz de distâncias genômicas para duas dimensões, observou-se que as duas coordenadas principais (PC_0) explicam juntas 7,88% da variância contida na matriz de diferença genômica. A Figura 3 apresenta a subestrutura da população revelada em duas dimensões, com animais das linhas NeC, NeS e NeT representados por pontos verdes, azuis e amarelos, respectivamente. A primeira PC_0 (eixo x) separa completamente a linha NeC do grupo composto pelas duas linhas mantidas sob seleção direcional, enquanto a segunda PC_0 (eixo y) separa parcialmente as linhas NeS e NeT.

O padrão de dispersão apresentado na Figura 3 sugere que o tipo de seleção exerce grande influência no distanciamento genético entre as linhas. A variação genética observada dentro dos agrupamentos representando cada linha foi

proporcional aos seus N_e , ressaltando a influência da quantidade de animais em reprodução e a diversidade genética dentro de uma população. Adicionalmente, a grande variação observada no grupamento referente à linha NeT, reflete o aumento da diversidade genética causado pelo fluxo gênico, representado pela utilização de touros de outras linhas e rebanhos comerciais para reprodução nesta linha.

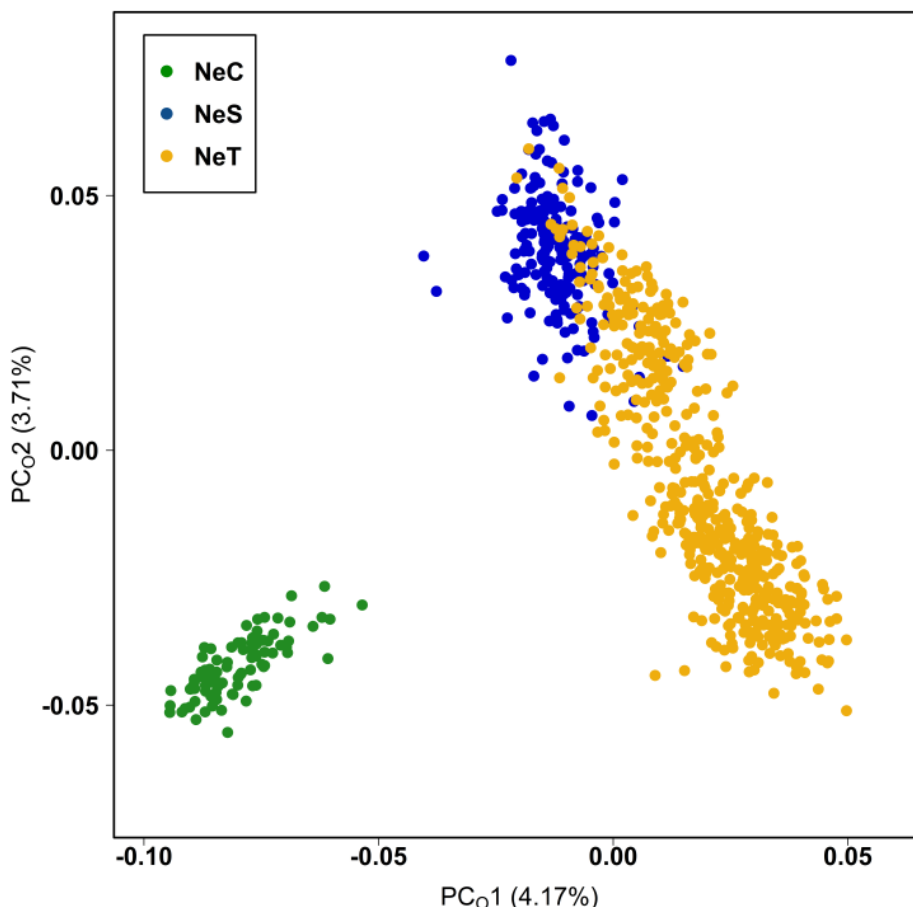


Figura 3. Estrutura da população Nelore revelada pela análise de escalonamento multidimensional usando a matriz de distância genômicas. Porcentagem entre parênteses correspondem à variância explicada por cada coordenada principal. Animais das linhas NeC, NeS e NeT representados por pontos verdes, amarelos e azuis, respectivamente.

A estratificação da população também foi avaliada pela proporção de ancestralidade compartilhada entre indivíduos em diferentes populações ancestrais hipotéticas. A Figura 4 representa as proporções individuais de ancestralidade atribuídas a duas ($k=2$) e três ($k=3$) populações, sendo que cada animal está representado por uma barra vertical e as cores verde, azul e amarela representam

as proporções de ancestralidade atribuídas às populações hipotética 1, 2 e 3, respectivamente. Com $k=2$, o agrupamento dos animais reflete o tipo de seleção praticada, sendo que todos os animais da linha sob seleção estabilizadora apresentaram maior proporção de ancestralidade atribuída a população 1 (média, valor mínimo e máximo iguais a 0,95, 0,73 e 1, respectivamente), enquanto todos os animais das linhas sob seleção direcional apresentaram maior proporção de ancestralidade atribuída à população 2 (média e valor mínimo e máximo iguais a 0,88, 0,54 e 1, respectivamente). Com $k=3$, cada linha de seleção teve a maior média de ancestralidade individual atribuída a uma população diferente, sendo que a média da proporção individual de ancestralidade da linha NeC na população 1 foi igual a 0,95 (variando de 0,70 a 1,00), da linha NeS na população 2 foi 0,85 (variando de 0,51 a 1,00), e da linha NeT na população 3 foi de 0,65 (variando de 0,01 a 1,00).

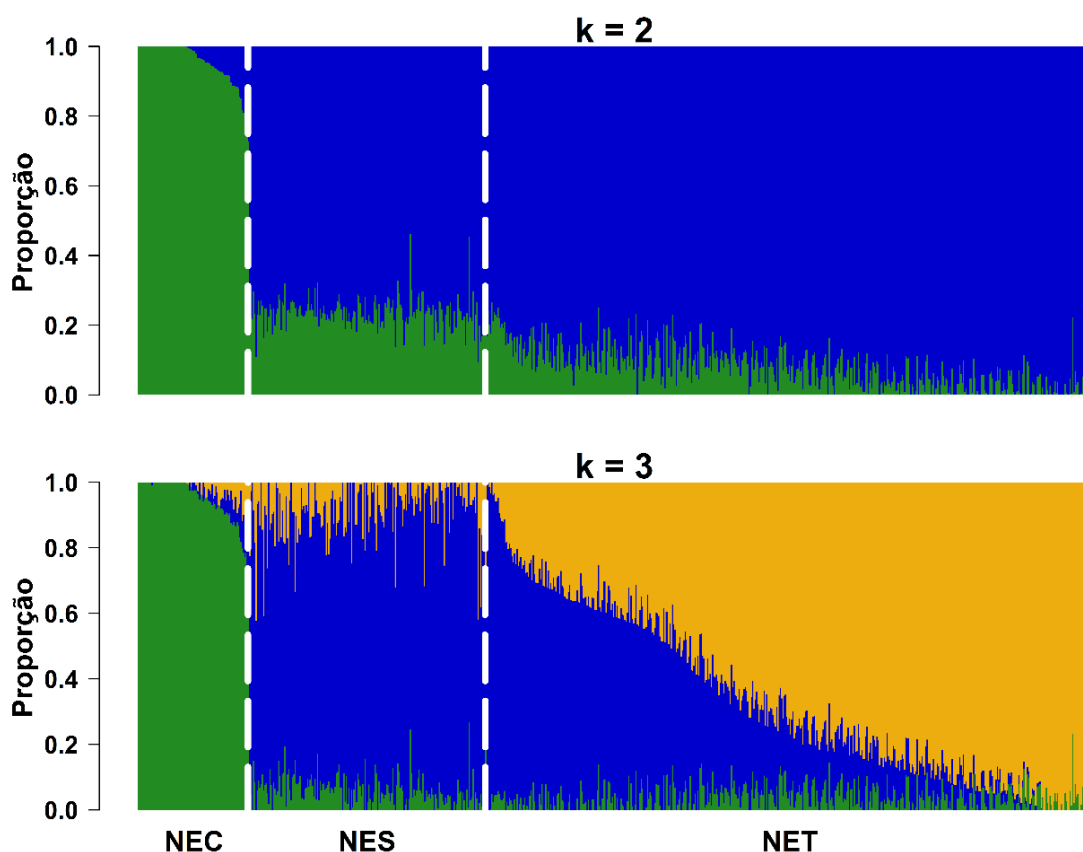


Figura 4. Estrutura da população Nelore revelada pela análise de ancestralidade, supondo 2 e 3 diferentes populações ancestrais hipotéticas. As cores verde, azul e amarelo representam as populações ancestrais 1, 2 e 3, respectivamente. Linhas brancas tracejadas separam as três linhas de seleção.

Foi observada concordância entre a estrutura de população sugerida pela análise MDS (Figura 3) e a análise de ancestralidade com $k=3$ (Figura 4), pois nos dois casos foi possível visualizar o agrupamento dos animais de acordo com suas respectivas linhas de seleção, com alguns animais da linhagem NeT apresentando elevada similaridade genômica com o “cluster” formado pelos animais do rebanho NeS. Uma explicação para essa sobreposição entre NeT e NeS é, provavelmente, a eventual utilização de touros da linha NeS para reprodução na linha NeT.

4.2 Assinaturas de seleção

Foram observadas 95.078 janelas com escores de F_{ST} ao longo dos 29 cromossomos autossômicos, apresentando média de 22 SNPs por janela (variando de 6 a 76). Em geral, a média de F_{ST} foi baixa nas três comparações entre linhas de seleção, sendo $0,029 \pm 0,023$, $0,018 \pm 0,015$ e $0,009 \pm 0,008$ para “NeC vs. NeS”, “NeC vs. NeT” e “NeS vs. NeT”. Flori et al. (2012), também observaram baixas médias de F_{ST} (0,02) ao compararem populações bovinas de uma mesma raça. A distribuição dos valores de F_{ST} estimados em “NeS vs. NeT” foi mais homogênea que as observadas nos cenários de comparação envolvendo NeC (Figura 5), sendo que o valor máximo observado nessa comparação foi 0,091. Por outro lado, as distribuições de valores de F_{ST} estimados nas comparações “NeC vs. NeS” e “NeC vs. NeT” indicam a existência de regiões genômicas com alto nível de diferenciação entre as linhas. Os valores máximos de F_{ST} observados para janelas de 100Kb foram 0,303 e 0,225, nas comparações “NeC vs. NeS” e “NeC vs. NeT”, respectivamente. A correlação entre os valores de F_{ST} obtidos nesses dois cenários foi de 0,64.

As janelas top 0,5% foram utilizadas para identificação de assinaturas de seleção, de modo que valores de F_{ST} maiores que 0,09 e 0,13 foram utilizados como limites de significância em “NeC vs. NeS” e “NeC vs. NeT”, respectivamente. Somente as janelas que apresentavam médias superiores aos limites de significância nos dois cenários de comparação foram tratadas como assinaturas de seleção. Assim, 137 janelas em 16 dos cromossomos foram assumidas como sinais de seleção. Na Figura 6, estas janelas são representadas por pontos na cor

vermelha. Contabilizando as janelas adjacentes como uma única assinatura de seleção, as 137 janelas corresponderam a 35 assinaturas de seleção (Tabela 2).

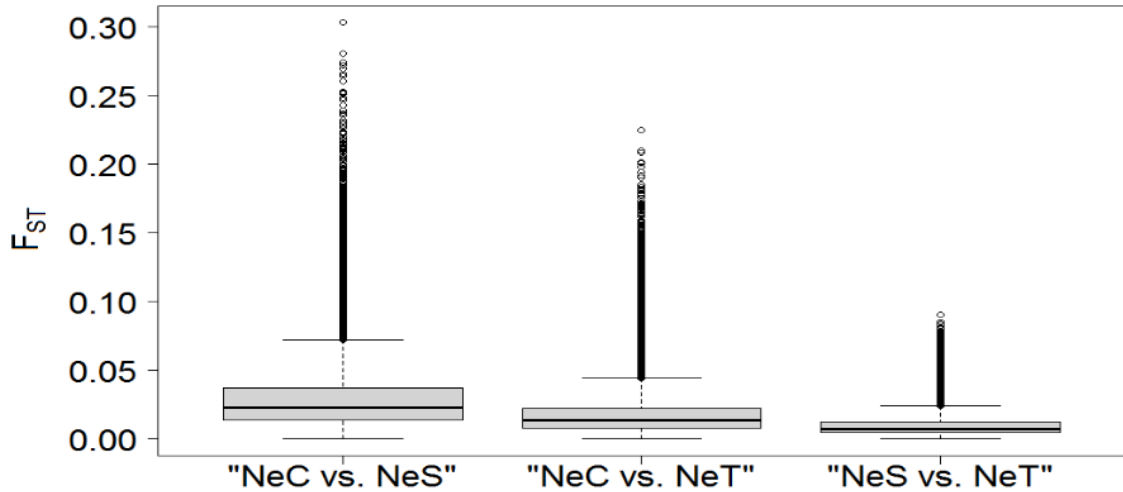


Figura 5. Gráficos de Box-Plot para os valores de F_{ST} em janelas de 100 Kb estimados em cada cenário de comparação. Valores de 95.078 janelas distribuídas pelos 29 cromossomos.

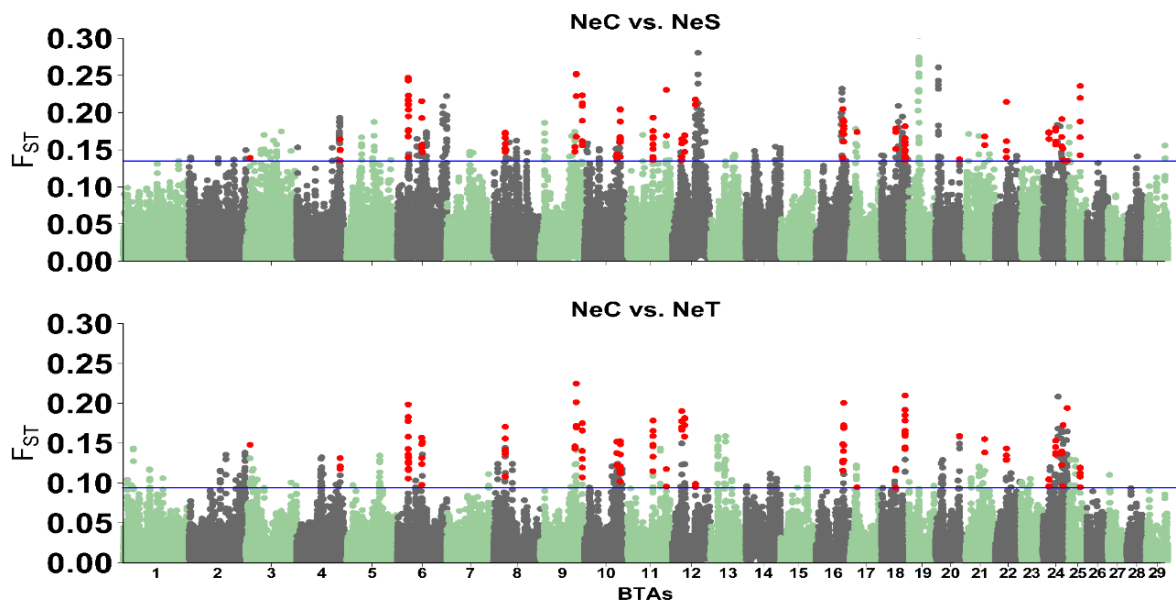


Figura 6. Gráfico de Manhattan dos valores de F_{ST} por janelas de 100 Kb em 29 BTAs. Linha horizontal azul indica o limite top 0,5% em cada comparação. As 137 Janelas acima dos limites de significância nos dois cenário de comparação (assinaturas de seleção) são representadas por pontos vermelhos.

Tabela 2. Genes candidatos e QTL mapeados em regiões genômicas classificadas como assinaturas de seleção pelo teste F_{ST}

Assinatura de Seleção*	Genes candidatos
BTA3:9425000-9525000	<i>NHLH1, NCSTN, COPA, PEX19</i>
BTA4:104275000-104450000	<i>TBXAS1, PARP12, KDM7A</i>
BTA6:26025000-26275000	<i>MGC157237, H2AFZ, DNAJB14, LAMTOR3, DAPP1</i>
BTA6:26725000-26950000	<i>ADH6, ADH4, ADH5, METAP1</i>
BTA6:58700000-58900000	<i>PGM2, TBC1D1</i>
BTA6:60025000-60125000	<i>WDR19, RFC1</i>
BTA8:27025000-27350000	<i>CNTLN</i>
BTA9:82850000-82975000	<i>UTRN</i>
BTA9:86025000-86200000	-
BTA9:100325000-100575000	<i>QKI</i>
BTA10:77825000-77975000	-
BTA10:85550000-85725000	<i>PTGR2, ZNF410, FAM161B</i>
BTA10:85850000-86175000	<i>LIN52, VSX2, ABCD4, VRTN, SYNDIG1L, NPC2</i>
BTA11:60250000-60350000	-
BTA11:60400000-60675000	<i>CCT4, COMMD1, B3GNT2</i>
BTA11:92550000-92675000	<i>DAB2IP</i>
BTA12:22325000-22500000	-
BTA12:29125000-29350000	<i>RXFP2</i>
BTA12:55200000-55325000	-
BTA16:63975000-64150000	<i>CACNA1E</i>
BTA16:65500000-65600000	<i>LAMC1</i>
BTA16:66075000-66275000	<i>SMG7, NCF2, ARPC5, APOBEC4</i>
BTA17:16500000-16600000	-
BTA18:34200000-34350000	<i>CDH5, BEAN1</i>
BTA18:56450000-56800000	<i>NOSIP, PRRG2, PRR12, RRAS, SCAF1, IRF3, BCL2L12, HRMT1L2, CPT1C, TSKS, AP2A1, FUZ, MED25, PTOV1, PNKP, AKT1S1, TBC1D17, IL4I1, ATF5, LOC511180, VRK3, ZNF473</i>
BTA20:57450000-57550000	-
BTA21:45875000-46000000	<i>KIAA0391, U6, PSMA6</i>
BTA22:26450000-26625000	-
BTA24:15100000-15250000	-
BTA24:31025000-31200000	<i>SS18, bta-mir-2380</i>
BTA24:45775000-45925000	<i>SLC14A2, SLC14A1</i>
BTA24:48325000-48425000	-
BTA24:49025000-49125000	<i>SMAD7</i>
BTA24:58875000-58975000	<i>CCBE1</i>
BTA25:27300000-27500000	<i>FBXL19, ORAI3, SETD1A, HSD3B7, STX1B, STX4, ZNF668, ZNF646, PRSS53, BCKDK, KAT8, PRSS8, PRSS36</i>

* Assinaturas são denominadas com o "Cromossomo: Posição inicial – Posição final; BTA: cromossomo de *Bos taurus*.

O BTA 24 foi o cromossomo que teve o maior percentual do tamanho total identificado como assinaturas de seleção (1,2%), baseado no teste F_{ST} , apresentando seis assinaturas de seleção. A assinatura de seleção de maior comprimento, “BTA18:56450000-56800000”, apresentou uma região rica em genes abrangendo 350 Kb no BTA 18. Apesar de ser difícil o discernimento de qual gene justifique o efeito da seleção sobre esta região, dois genes relacionados à resistência à insulina são potenciais candidatos, os genes *AKT1S1* e *CPT1C* (GAO et al., 2009; WIZA et al., 2014).

A assinatura de seleção “BTA6:58700000-58900000”, coincide com sinais de seleção identificados na raça Limousin (ZHAO et al., 2015), que também é uma raça especializada na produção de carne. O gene *TBC1D1*, mapeado nesta assinatura, foi identificado como assinatura de seleção em frangos de corte (RUBIN et al., 2010). Estes resultados reforçam o possível efeito de seleção para peso sobre esta região. A assinatura de seleção, “BTA8:27025000-27350000”, é outra que corrobora varreduras seletivas identificadas em raças bovinas de corte. Lim et al. (2016) identificaram assinaturas de seleção nesta região ao compararem o EHH da raça chinesa Hanwoo, com outras raças coreanas que não são selecionadas. O rebanho Hanwoo utilizado por estes autores tem sido selecionado pelas ultimas 4 décadas, para aumento no peso ao sobreano, assim como no rebanho Nelore utilizado no presente estudo. O gene *CNTLN*, mapeado nesta região, não possui funções sobre o crescimento claramente elucidadas, mas foi o único gene apresentando uma mutação não conservativa, com frequências alélicas apresentando diferenças significativas entre as populações selecionadas e não selecionadas, comparadas por Lim et al. (2016).

Os valores de XP-EHH foram computados para 94.962 janelas de 100 Kb, apresentando média de 22 SNPs por janela (variando de 7 a 76). A redução no número de janelas em relação ao número apresentado no teste F_{ST} , foi devido à um longo intervalo entre marcadores no cromossomo 7 (1080Kb), que fez que muitos SNPs naquela região não tivessem valores XP-EHH computados. O coeficiente de correlação de Pearson entre os valores de XP-EHH de “NeC vs. NeS” e “NeC vs. NeT” foi de 0,80. Foram identificadas 166 janelas com valores de XP-EHH superiores a 3,29 ($P \leq 0,001$, teste bilateral) nos dois cenários de comparação, as

quais equivalem a três assinaturas de seleção pertinentes aos rebanhos sob seleção direcional, uma no BTA 14 e duas no BTA 16 (Figura 7, Tabela 3).

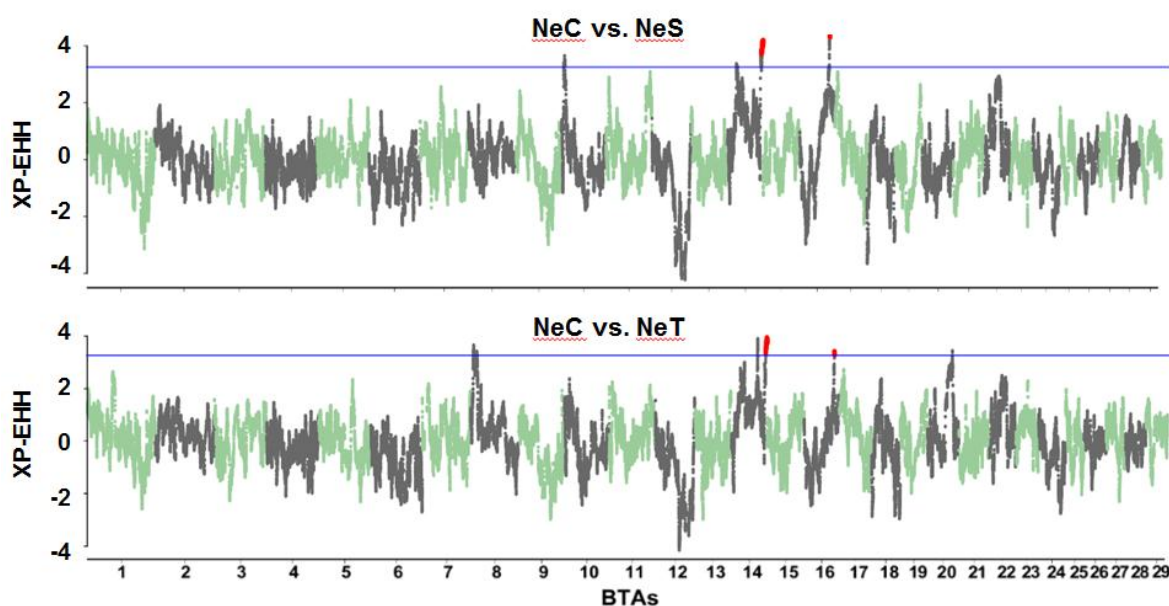


Figura 7. Manhattan plot dos valores de XP-EHH por janelas de 100 Kb. Linha horizontal azul indica o limite de significância ($P \leq 0,001$, teste bilateral). Pontos vermelhos representam sinais de seleção compartilhados pelas comparações NeC vs. NeS e NeC vs. NeT.

Tabela 3. Regiões genômicas com sinais de seleção recente em bovinos Nelore, baseado no métodos XP-EHH

Assinatura de seleção	Genes Candidatos
BTA14:81000000-84675000	<i>SNX16, CHMP4C, ZFAND1, IMPA1, ENPP2, TAF2, DSCC1, DEPTOR, COL14A1, MRPL13, MTBP, SNTB1, SLC10A5</i>
BTA16:70125000-70475000	<i>CENPF, PTPN14, SMYD2, RNPEP, ELF3</i>
BTA16:70525000-70875000	-

As três assinaturas de seleção identificadas com o teste XP-EHH, sobrepõem varreduras seletivas identificadas em uma população comercial de bovinos Nelore (SOMAVILLA et al., 2014). Dado que rebanhos comerciais priorizam características de crescimento, a concordância entre sinais de seleção identificados por estes autores e os sinais de seleção identificados nas linhas sob seleção direcional utilizadas nesse estudo, sugerem que o sistema de seleção baseado no peso

corporal em bovinos Nelore afeta essas regiões, devido à existência de um provável QTL.

Valores extremos negativos de XP-EHH foram observados no BTA 12 nos dois cenários de comparação (Figura 7), sugerindo assinaturas de seleção em NeC. No entanto, a seleção estabilizadora tende a elevar a diversidade genética em regiões relacionadas à característica sob seleção, promovendo sinais de seleção sutis (VITTI; GROSSMAN; SABETI, 2013). A mais provável explicação para que essa região apresente um haplótipo em alta frequência é a deriva genética causada pelo baixo N_e da linha NeC. Outra hipótese é a segregação de um QTL que apresente efeito de sobredominância, de modo que a seleção por fenótipos intermediários esteja favorecendo indivíduos homozigotos e conduzindo à redução da diversidade haplotípica.

Os SNPs com maiores valores positivos de XP-EHH no cromossomo 14 e 16, correspondem a SNPs intrônicos nos genes *COL14A1* e *SNTB1*, respectivamente. A Figura 8A mostra a alta persistência dos valores de EHH nas linhas NeS e NeT quando esses SNPs são assumidos como núcleos (linha vertical tracejada), sugerindo a existência de pelo menos um haplótipo em elevada frequência nessas populações. A mesma persistência não é observada na linha NeC. Os diagramas de bifurcação (Figura 8B), confirmam a presença de um haplótipo altamente frequente em cada região, nas linhas sob seleção direcional. Nesta imagem, os SNPs intrônicos ocupam a posição central, cada ponto de bifurcação representa um SNP adjacente a eles e a espessura da linha representa a frequência dos haplótipos.

Nenhuma das assinaturas de seleção identificadas por XP-EHH, coincidiu com assinaturas de seleção identificadas pela análise dos valores de F_{ST} . Estes resultados eram esperados, pois apesar de serem duas metodologias voltadas à comparação entre populações, elas buscam por diferentes padrões genômicos característicos de assinaturas de seleção. O F_{ST} leva em conta apenas diferenças na frequência alélica em um SNP. Se este SNP estiver em um ponto crítico de recombinação, a habilidade de detecção dessa região pelo método XP-EHH é pequena. Adicionalmente, as frequências do alelo favorável no início da seleção influenciam a habilidade de XP-EHH em identificar os mesmos sinais de seleção detectados pelo F_{ST} , pois varreduras seletivas discretas são difíceis de serem

detectadas. Talvez a principal vantagem do XP-EHH em relação ao F_{ST} , é que este método permite discernir qual população está sofrendo seleção. O ideal a respeito de diferentes métodos voltados à identificação de assinaturas de seleção é explorar a complementariedade entre eles (BARENDSE et al., 2009).

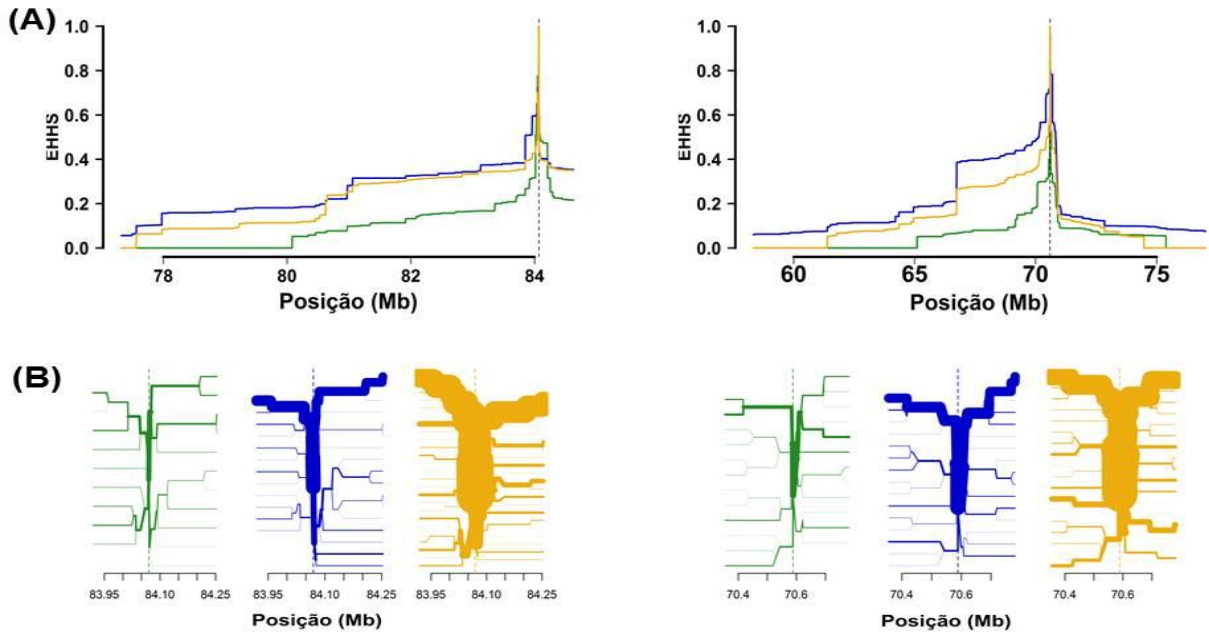


Figura 8. Padrões haplotípicos observados próximos aos maiores valores de XP-EHH, nos cromossomos 14 (esquerda) e 16 (direita). (A) Decaimento de EHH pelas distâncias físicas para SNPs nos genes *COL14A1* (BTA 14) e *PTPN14* (BTA 16) nas linhas NeC (verde), NeS (azul) e NeT (amarelo). (B) Diagramas de bifurcações considerando SNPs núcleos nos genes *COL14A1* e *PTPN14* e 60 marcadores adjacentes em cada direção.

Valores de $|iHS|$ foram computados para 94.127 janelas sobrepostas de 100 Kb, com média de 21 SNPs por janela (variando de 5 a 76). A redução no número de janelas em relação aos demais métodos foi devido ao longo intervalo entre marcadores no cromossomo 7 e também devido a não serem estimados valores $|iHS|$ para SNPs com MAF inferior a 0,01. Foram identificadas 17 janelas com valores de $|iHS|$ superior a 3,09 ($P < 0,001$), que corresponderam a assinaturas de seleção, nos BTAs 1, 3, 14 e 16 (Tabela 4).

Tabela 4. Regiões genômicas com sinais de seleção recente em bovinos Nelore, baseado no método iHS

Assinatura de Seleção	Genes Candidatos
BTA1:44975000-45075000	<i>ZNF596</i>
BTA3:91125000-91250000	-
BTA14:30875000-30975000	<i>BHLHE22</i>
BTA14:31275000-31425000	-
BTA14:31725000-31875000	<i>MTFR1, PDE7A, SNORA72</i>
BTA14:32000000-32175000	<i>DNAJC5B, TRIM55</i>
BTA16:69250000-69350000	<i>PTGS2</i>

Embora o objetivo deste estudo fosse identificar assinaturas de seleção nas linhas sob seleção direcional, valores de iHS também foram estimados na linha NeC, levando em consideração que sinais coincidentes entre as duas análises representariam assinaturas de seleção mais antigas, referentes a seleção na raça Nelore. As janelas genômicas que compõem a assinatura de seleção no cromossomo 1 não foram formadas na linha NeC, pois os SNPs naquela região estavam todos fixados. No entanto, as janelas adjacentes à esta região apresentaram sinais mais intensos que o restante do cromossomo (Figura 9). Nas linhas NeS e NeT, essa região também está próxima a fixação, sugerindo que o sinal de seleção identificado nesta região é referente a seleção na raça Nelore. Utsunomiya et al. (2013) descreveram uma assinatura seleção muito próxima a essa em outra população Nelore, utilizando um método combinando diferentes abordagens para identificação de assinaturas de seleção. O gene *ZNF596* anotado nessa região é fator de ligação de DNA, que atua na regulação transcricional. As outras assinaturas de seleção são sinais de seleção detectados apenas em linhas sob seleção direcional.

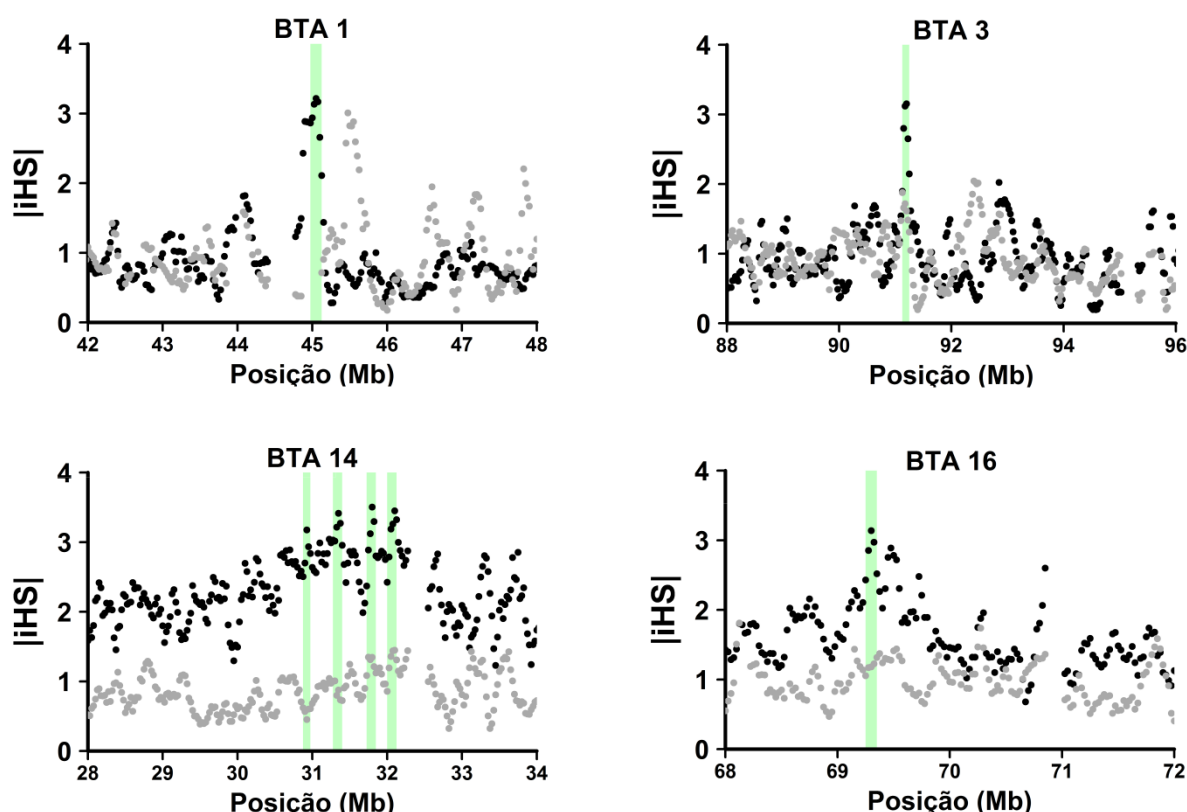


Figura 9. Representação gráfica das assinaturas de seleção identificadas nos BTAs 1, 3, 14 e 16 com a estatística iHS. Regiões destacadas em verde representam as assinaturas de seleção; Pontos pretos e cinzas representam valores de iHS estimados nas linhas sob seleção direcional e na linha NeC.

4.3 Genes e QTL detectados nas assinaturas de seleção

O total de 89, 18 e 8 genes codificantes de proteína foram identificados nas assinaturas de seleção detectadas com os testes F_{ST} , XP-EHH e iHS, respectivamente. Os processos biológicos enriquecidos significativamente ($P < 0,01$) por estes 115 genes foram principalmente vias metabólicas relacionadas ao metabolismo dos lipídeos (Tabela 5). No entanto, estudos prévios demonstraram que não existem diferenças entre os rebanhos, quanto a deposição de gordura na carcaça (BONILHA et al., 2008).

A via metabólica de degradação de ácidos graxos e a via Glicólise/Glicogênese são ambas relacionadas ao fornecimento de energia no organismo animal, sendo que a degradação de ácido graxos é ativada durante o período de jejum e a glicólise após alimentação (RUI, 2014). Todos os genes

candidatos participantes desta via foram identificados em assinaturas de seleção detectadas pelo método F_{ST} . A exigência de energia por parte dos animais das linhas sob seleção direcional para manter cada quilograma é maior que animais NeC (HERD, 1995). Assim, é razoável que a seleção esteja favorecendo animais com maior capacidade de liberação de energia para o crescimento por qualquer das duas vias.

Tabela 5. Lista de vias metabólicas e ontologias enriquecidas ($P < 0,01$) por genes candidatos identificados nas assinaturas de seleção

Descrição	Genes	P-valor
Degradação de ácidos graxos	<i>ADH4, ADH5, ADH6, CPT1C</i>	0,001
Glicólise/Glicogênese	<i>ADH4, ADH5, ADH6, PGM2</i>	0,003
Processo de biossíntese lipídica	<i>TBXAS1, QK1, IMPA1, RNPEP, PTGS2, HSD3B7,</i>	0,004
Processo de biossíntese de ácidos graxos	<i>TBXAS1, QK1, RNPEP, PTGS2</i>	0,005
Processos de biossíntese de ácidos graxos insaturados	<i>TBXAS1, RNPEP, PTGS2</i>	0,008

*Porcentagem dos genes candidatos que estão entre os genes da via metabólica

Três genes codificantes de álcool desidrogenases são comuns aos dois processos e são mapeados em uma mesma assinatura de seleção, “BTA6:26725000-26950000”, onde já foi descrito um QTL que afeta o peso ao sobreano em bovinos Maine Anjou (SAATCHI et al., 2014b). O quarto gene envolvido na via de degradação de ácidos graxos foi o gene *CPT1C*. Alguns estudos evidenciaram a associação deste gene com o metabolismo de ácidos graxos em bovinos e descrevem sua hiper-regulação no fígado de vacas sob balanço energético negativo e no músculo *longissimus dorsi* de Angus durante a fase de maior deposição de gordura na carcaça (MOISÁ et al., 2013; LAPORTA et al., 2014). Adicionalmente, o gene *CPT1C* é sugerido como uma proteína essencial na regulação da grelina, que é o hormônio do apetite (GAO et al., 2009; RAMÍREZ et al., 2013). A inativação do gene *CPT1C* em ratos resulta em redução na ingestão de alimentos e, conseqüentemente, redução do peso corporal (WOLFGANG et al., 2006).

Outros genes identificados nas assinaturas de seleção, mas que não fazem parte de processos biológicos enriquecidos, merecem atenção nesse estudo, devido as suas funções conhecidas sobre processos relacionados ao crescimento e outras

características diferenciadas entre as populações (por exemplo, *SMAD7*, *TBC1D1*, *COL14A1*). O gene *SMAD7*, mapeado na assinatura de seleção “BTA24:4902500-49125000”, é o regulador negativo da expressão da miostatina, que é um inibidor do crescimento muscular (FORBES et al., 2006). Mutações no gene da miostatina, que levam à inativação ou redução da proteína em seu estado funcional, são responsáveis pela hipertrofia muscular característica das raças Belgian Blue e Piemontês (MCPHERRON; LEE, 1997), no entanto, essas mutações não segregam na raça Nelore (GRISOLIA et al., 2009; CURI et al., 2012). O gene *SMAD7* pode estar sob influência da seleção para crescimento, a qual o rebanho utilizado neste estudo é submetido, devido ao seu efeito sobre o nível de expressão da miostatina. Todavia, outras pesquisas seriam necessárias para análise desta hipótese.

O gene *AKT1S1* é parte do complexo multiprotéico intracelular sensível a quinase, mTORC1, que promove estímulos a processos anabólicos fundamentais para o crescimento, como a síntese proteica. Mais precisamente, o *AK1TS1* tem função inibitória desses estímulos, mas é separado do complexo quando ocorre a ligação de insulina ou fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF-1) aos seus respectivos receptores (BURGOS; CANT, 2010; WANG et al., 2012).

O gene *TBC1D1* codifica uma proteína de importante papel na utilização de glicose e lipídeos pelo músculo esquelético, sendo que sua deficiência leva a uma redução na eliminação de glicose e estabelecimento dos ácidos graxos como substrato de preferência para a síntese de energia (DOKAS et al., 2013). Polimorfismos no gene *TBC1D1* já foram associados ao emagrecimento e à obesidade em humanos e ratos (STONE et al., 2006; CHADT et al., 2008; MEYRE et al., 2008), peso corporal e desenvolvimento muscular em frangos de corte (WANG et al., 2014) e espessura de gordura em suínos (FONTANESI et al., 2011).

O gene *COL14A1* codifica uma isoforma de colágeno com funções no desenvolvimento muscular normal (TONO-OKA et al., 1996). Este gene foi hiper-regulado em bovinos Angus com baixo consumo alimentar residual (CHEN et al., 2011). Adicionalmente, a assinatura em que este gene foi identificado (“BTA14:81000000-84675000”), sobrepõe-se a um QTL que afeta a eficiência alimentar em bovinos Nelore (OLIVEIRA et al., 2014). Este pode ser um gene com ações pleiotrópicas sobre crescimento e eficiência alimentar. Além da região

contendo o gene *COL14A1*, vários outros QTL relacionados à eficiência alimentar são descritos nas regiões identificadas como assinaturas de seleção (Tabela 6), sugerindo que a seleção para crescimento pode estar influenciando de alguma forma esse tipo de característica. A assinatura de seleção “BTA24:58875000-58975000” sobrepõe um QTL, identificado na própria amostra utilizada neste estudo, que explica mais de 3% da variação genética aditiva da característica consumo alimentar residual (OLIVIERI, 2015).

Tabela 6. QTL mapeados em regiões genômicas classificadas como assinaturas de seleção pelos testes F_{ST} , XP-EHH e iHS

Assinatura de Seleção	Método	QTL
BTA3:9425000-9525000	F_{ST}	Peso ao nascimento ¹ ; Conteúdo de gordura intramuscular ^{2,3}
BTA3:91125000-91250000	iHS	Tamanho do bezerro e facilidade de parto ⁹
BTA6:26725000-26950000	F_{ST}	Peso ao sobreano ¹ ; Maciez da carne ⁴
BTA6:58700000-58900000	F_{ST}	Maciez da carne ⁴
BTA8:27025000-27350000	F_{ST}	Ganho médio diário de peso ⁵ ; Peso de carcaça ⁶ ; Maciez da carne ⁴
BTA9:86025000-86200000	F_{ST}	Escore de condição corporal ⁷
BTA10:85550000-85725000	F_{ST}	Consumo alimentar residual ⁸ ;
BTA12:29125000-29350000	F_{ST}	Tamanho do bezerro e facilidade ao parto ⁹
BTA14:30875000-30975000	iHS	Espessura de gordura na carcaça ^{10,13} ; Nível sérico de IGF-1 e circunferência escrotal ¹⁴ ; Consumo alimentar residual ⁸ ; Precocidade e eficiência reprodutiva ¹⁵
BTA14:81000000- 84675000	XP-EHH	Eficiência parcial de crescimento ¹⁶
BTA16:69250000-69350000	iHS	Facilidade de parto ¹
BTA18:56450000-56800000	F_{ST}	Tamanho do bezerro e facilidade ao parto ⁹
BTA20:57450000-57550000	F_{ST}	Conteúdo de gordura intramuscular ¹⁰
BTA21:45875000-46000000	F_{ST}	Tamanho do bezerro ⁹
BTA24:31025000-31200000	F_{ST}	Rendimento de cortes magros ¹¹
BTA24:58875000-58975000	F_{ST}	Consumo alimentar residual ¹²
BTA25:27300000-27500000	F_{ST}	Maciez da carne ⁴ ; Ganho médio diário de peso e consumo alimentar residual ⁵ ; facilidade ao parto ⁹

BTA: cromossomo de *Bos taurus*; ¹Saatchi et al. (2014a); ²Bolormaa et al. (2011); ³Kim et al. (2011); ⁴McClure et al. (2012); ⁵Rolf et al. (2012); ⁶Nishimura et al. (2012); ⁷Veerkamp et al. (2012); ⁸Saatchi et al. (2014b); ⁹Sahana; Guldbrandtsen; Lund (2011); ¹⁰Peters et al. (2012); ¹¹Doran; Berry; Creevey (2014); ¹²Olivieri (2015); ¹³Veneroni-Gouveia et al. (2012); ¹⁴Fortes et al. (2012); ¹⁵Costa et al. (2015); ¹⁶De Oliveira et al. (2014).

Algumas assinaturas de seleção foram identificadas em regiões onde são conhecidos QTL para características de crescimento, inclusive peso ao sobreano, o que valida eficiência das metodologias utilizadas neste estudo. As assinaturas de seleção identificadas pelo método iHS no cromossomo 14, sobrepõem-se à QTL para vários tipos de características, incluindo QTL de características reprodutivas encontrados na raça Nelore. Fortes et al. (2013) relataram associação de polimorfismos desta região com o nível sérico de hormônio IGF-1, o que poderia ser uma explicação muito plausível para detecção de sinais de seleção nesta região.

Muitos QTL associados a maciez da carne foram observados, entre os QTL sobrepostos por assinaturas de seleção neste estudo. Uma observação importante é que as assinaturas de seleção nestas regiões não indicam que a maciez tem sido selecionada nos rebanhos sob seleção direcional, pois a seleção pode inclusive estar afetando de forma negativa esta característica. Primeiramente, porque a associação entre ganho de peso e maciez é controversa, como demonstrado nos trabalhos de Oddy et al. (1998) e Shackelford et al. (1994). Segundo, porque trabalhos realizados com bovinos do rebanho experimental do IZ demonstraram que a carne do rebanho controle é mais macia em relação ao rebanho seleção (BONILHA et al., 2007).

Apesar de não coincidirem em nenhuma região genômica identificada como assinatura de seleção, os três métodos utilizados neste estudo revelaram sinais de seleção plausíveis. A grande quantidade de QTL e genes relacionados ao metabolismo do crescimento, provavelmente reflete o fato das comparações genômicas entre populações de uma mesma raça serem menos sensíveis a sinais de seleção remota, como comumente observado em comparações entre raças e mais eficientes para a detecção de QTL pertinentes à fenótipos sob seleção. Adicionalmente, o método iHS, apesar de não ser uma abordagem comparativa, e especialmente eficaz para identificação de assinaturas de seleção devido a seleção em andamento (VOIGHT et al., 2006; QANBARI et al., 2014). Algumas das assinaturas de seleção identificadas neste estudo coincidem com assinaturas de seleção ou resultados de associação genômica ampla identificados na própria raça Nelore, reforçando a hipótese de mutações causais sob essas regiões, que deveriam ser analisada com minúcia em estudos futuros.

5. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo evidenciam o efeito da seleção sobre a estrutura da população Nelore experimental, mantida pelo Instituto de Zootecnia, dado que as informações genômicas possibilitaram o agrupamento dos animais de acordo com o tipo de seleção a que cada linha tem sido submetida. Adicionalmente, existem regiões genômicas mais afetadas pela seleção para crescimento, que inclusive apresentam padrões genômicos diferenciados, característicos de assinaturas de seleção. A quantidade de assinaturas de seleção sobrepondo genes envolvidos em processos biológicos relacionados ao crescimento, assim como QTL conhecidos, avigora a evidência de efeito da seleção direcional sobre essas regiões. Genes que desempenham funções metabólicas importantes para o metabolismo de crescimento foram revelados por este estudo, motivando pesquisas futuras sobre associação destes aos fenótipos diferenciados entre os rebanhos, quanto a busca por mutações causais.

REFERÊNCIAS

- AKEY, J. M.; ZHANG, G.; ZHANG, K.; JIN, L.; SHRIVER, M. D. Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. **Genome Research**, Long Island, v. 12, n. 12, p. 1805–1814, 2002.
- ALEXANDER, D. H.; NOVEMBRE, J.; LANGE, K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. **Genome Research**, Long Island, v. 19, n. 9, p. 1655–1664, 2009.
- ANDRÉS, A. M.; HUBISZ, M. J.; INDAP, A.; TORGERSON, D. G.; DEGENHARDT, J. D.; BOYKO, A. R.; GUTENKUNST, R. N.; WHITE, T. J.; GREEN, E. D.; BUSTAMANTE, C. D.; CLARK, A. G.; NIELSEN, R. Targets of balancing selection in the human genome. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 26, n. 12, p. 2755–2764, 2009.
- AYRES, D. R.; SOUZA, F. R. P.; MERCADANTE, M. E. Z.; FONSECA, L. F. S.; TONHATI, H.; CYRILLO, J. N. S. G.; BONILHA, S. F. M.; ALBUQUERQUE, L. G. Evaluation of TFAM and FABP4 gene polymorphisms in three lines of Nellore cattle selected for growth. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 2050–2059, 2010.
- BAHBAHANI, H.; CLIFFORD, H.; WRAGG, D.; MBOLE-KARIUKI, M. N.; VAN TASSELL, C.; SONSTEGARD, T.; WOOLHOUSE, M.; HANOTTE, O. Signatures of Positive Selection in East African Shorthorn Zebu: A Genome-Wide Single Nucleotide Polymorphism Analysis. **Scientific reports**, Harvard, v. 5, 2015.
- BAMSHAD, M.; WOODING, S. P. Signatures of natural selection in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 4, n. 2, p. 99–111, 2003.
- BARENDSE, W.; HARRISON, B. E.; BUNCH, R. J.; THOMAS, M. B.; TURNER, L. B. Genome Wide Signatures of Positive Selection: The Comparison of Independent Samples and the Identification of Regions Associated to Traits. **BMC Genomics**, London, v. 10, n. 1, p. 178, 2009.
- BOHMANOVA, J.; SARGOLZAEI, M.; SCHENKEL, F. S. Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. **BMC Genomics**, London, v. 11, n. 1, p. 421, 2010.

BOLORMAA, S.; NETO, L. R. P.; ZHANG, Y. D.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; GODDARD, M. E.; BARENDSE, W. A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 8, p. 2297–309, 2011.

BONILHA, S. F. M.; TEDESCHI, L. O.; PACKER, I. U.; RAZOOK, A. G.; ALLEONI, G. F.; NARDON, R. F.; RESENDE, F. D. Evaluation of carcass characteristics of *Bos indicus* and tropically adapted *Bos taurus* breeds selected for postweaning weight. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 8, p. 1770–1780, 2008.

BRAVERMAN, J. M.; HUDSON, R. R.; KAPLAN, N. L.; LANGLEY, C. H.; STEPHAN, W. The hitchhiking effect on the site frequency spectrum of DNA polymorphisms. **Genetics**, Austin, v. 140, n. 2, p. 783–796, 1995.

BROWNING, S. R.; BROWNING, B. L. Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 81, n. 5, p. 1084–1097, 2007.

BULMER, M. G. The effect of selection on genetic variability: a simulation study. **Genetical Research**, London, v. 28, n. 2, p. 101–117, 1976.

BURGOS, S. A.; CANT, J. P. IGF-1 stimulates protein synthesis by enhanced signaling through mTORC1 in bovine mammary epithelial cells. **Domestic animal endocrinology**, New York, v. 38, n. 4, p. 211–21, maio 2010.

CARDOSO, D. F.; DE SOUZA, F. R. P.; DE CAMARGO, G. M. F.; FONSECA, P. D. da S.; FONSECA, L. F. S.; BRAZ, C. U.; BOLIGON, A. A.; MERCADANTE, M. E. Z.; DE ALBUQUERQUE, L. G.; TONHATI, H. Polymorphism analysis in genes of the somatotropic axis in Nellore cattle selected for growth. **Gene**, Amsterdam, v. 545, n. 2, p. 215–219, 2014.

CHADT, A.; LEICHT, K.; DESHMUKH, A.; JIANG, L. Q.; SCHERNECK, S.; BERNHARDT, U.; DREJA, T.; VOGEL, H.; SCHMOLZ, K.; KLUGE, R.; ZIERATH, J. R.; HULTSCHIG, C.; HOEBEN, R. C.; SCHÜRMANN, A.; JOOST, H.-G.; AL-HASANI, H. *Tbc1d1* mutation in lean mouse strain confers leanness and protects from diet-induced obesity. **Nature Genetics**, New York, v. 40, n. 11, p. 1354–1359, 2008.

CHEN, Y.; GONDRO, C.; QUINN, K.; HERD, R. M.; PARNELL, P. F.; VANSELOW, B. Global gene expression profiling reveals genes expressed differentially in cattle with high and low residual feed intake. **Animal Genetics**, Oxford, v. 42, n. 5, p. 475–490, 2011.

COSTA, R. B.; CAMARGO, G. M. F.; DIAZ, I. D. P. S.; IRANO, N.; DIAS, M. M.; CARVALHEIRO, R.; BOLIGON, A. A.; BALDI, F.; OLIVEIRA, H. N.; TONHATI, H.; ALBUQUERQUE, L. G. Genome-wide association study of reproductive traits in Nelore heifers using Bayesian inference. **Genetics, Selection, Evolution**, v. 47, p. 67, 2015.

CURI, R. A.; KRAUSKOPF, M. M.; HADLICH, J. C.; FORTES, M. R. S.; VANKAN, D. M.; SILVA, J. A. I. V.; OLIVEIRA, H. N. de; MOTA, M. D. S. da. Candidate SNPs for carcass and meat traits in Nelore animals and in their crosses with *Bos taurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 2, p. 294–301, 2012.

CYRILLO, J. N. S. G.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A.; BONILHA NETO, L. M.; RUGGIERI, A. C.; TONHATI, H. Effects of Post-Weaning Weight Selection on Body Measurements and Scrotal Perimeter in Nelore Males of Sertãozinho (SP). **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 403–412, 2000.

DOKAS, J.; CHADT, A.; NOLDEN, T.; HIMMELBAUER, H.; ZIERATH, J. R.; JOOST, H. G.; AL-HASANI, H. Conventional Knockout of *Tbc1d1* in Mice Impairs Insulin- and AICAR-Stimulated Glucose Uptake in Skeletal Muscle. **Endocrinology**, Baltimore, v. 154, n. 10, p. 3502–3514, 2013.

DORAN, A. G.; BERRY, D. P.; CREEVEY, C. J. Whole genome association study identifies regions of the bovine genome and biological pathways involved in carcass trait performance in Holstein-Friesian cattle. **BMC genomics**, London, v. 15, p. 837, 2014.

FARIELLO, M.-I.; SERVIN, B.; TOSSER-KLOPP, G.; RUPP, R.; MORENO, C.; International Sheep Genomics Consortium; CRISTOBAL, M. S.; BOITARD, S.; Selection Signatures in Worldwide Sheep Populations. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 8, p. e103813, 15 ago. 2014.

FLORI, L.; FRITZ, S.; JAFFRÉZIC, F.; BOUSSAHA, M.; GUT, I.; HEATH, S.; FOULLEY, J.-L.; GAUTIER, M. The genome response to artificial selection: a case study in dairy cattle. **PloS ONE**, San Francisco, v. 4, n. 8, p. e6595, 8 jan. 2009.

FLORI, L.; GONZATTI, M. I.; THEVENON, S.; CHANTAL, I.; PINTO, J.; BERTHIER, D.; ASO, P. M.; GAUTIER, M. A quasi-exclusive European ancestry in the Senepol tropical cattle breed highlights the importance of the slick locus in tropical adaptation. **PloS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 5, 2012.

FLORI, L.; THEVENON, S.; DAYO, G. K.; SENOU, M.; SYLLA, S.; BERTHIER, D.; MOAZAMI-GOUDARZI, K.; GAUTIER, M. Adaptive admixture in the West African bovine hybrid zone: Insight from the Borgou population. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 23, p. 3241–3257, 2014.

FONSECA, P. D. da S.; DE SOUZA, F. R. P.; DE CAMARGO, G. M. F.; GIL, F. M. M.; CARDOSO, D. F.; ZETOUNI, L.; BRAZ, C. U.; BOLIGON, A. A.; BRANCO, R. H.; DE ALBUQUERQUE, L. G.; MERCADANTE, M. E. Z.; TONHATI, H. Association of ADIPOQ, OLR1 and PPARGC1A gene polymorphisms with growth and carcass traits in Nelore cattle. **Meta Gene**, v. 4, p. 1–7, 2015.

FONTANESI, L.; GALIMBERTI, G.; CALÒ, D. G.; FRONZA, R.; MARTELLI, P. L.; SCOTTI, E.; COLOMBO, M.; SCHIAVO, G.; CASADIO, R.; BUTTAZZONI, L.; RUSSO, V. Identification and Association Analysis of Several Hundred Single Nucleotide Polymorphisms within Candidate Genes for Back Fat Thickness in Italian Large White Pigs Using a Selective Genotyping Approach. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 8, p. 2450–2464, 2012.

FORBES, D.; JACKMAN, M.; BISHOP, A.; THOMAS, M.; KAMBADUR, R.; SHARMA, M. Myostatin auto-regulates its expression by feedback loop through Smad7 dependent mechanism. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 206, n. 1, p. 264–272, 2006.

FORTES, M. R. S.; KEMPER, K.; SASAZAKI, S.; REVERTER, A.; PRYCE, J. E.; BARENDSE, W.; BUNCH, R.; MCCULLOCH, R.; HARRISON, B.; BOLORMAA, S.; ZHANG, Y. D.; HAWKEN, R. J.; GODDARD, M. E.; LEHNERT, S. A. Evidence for pleiotropism and recent selection in the PLAG1 region in Australian Beef cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 44, n. 6, p. 636-647, 2013.

FORTES, M. R. S.; REVERTER, A.; HAWKEN, R. J.; BOLORMAA, S.; LEHNERT, S. A. Candidate genes associated with testicular development, sperm quality, and hormone levels of inhibin, luteinizing hormone, and insulin-like growth factor 1 in Brahman bulls. **Biology of Reproduction**, New York, v. 87, n. 3, p. 58, 2012.

GAO, X. F.; CHEN, W.; KONG, X. P.; XU, A. M.; WANG, Z. G.; SWEENEY, G.; WU, D. Enhanced susceptibility of Cpt1c knockout mice to glucose intolerance induced by a high-fat diet involves elevated hepatic gluconeogenesis and decreased skeletal muscle glucose uptake. **Diabetologia**, Berlin, v. 52, n. 5, p. 912–920, 2009.

GAUTIER, M.; FLORI, L.; RIEBLER, A.; JAFFRÉZIC, F.; LALOÉ, D.; GUT, I.; MOAZAMI-GOUDARZI, K.; FOULLEY, J.-L. A whole genome Bayesian scan for adaptive genetic divergence in West African cattle. **BMC genomics**, London, v. 10, p. 550, 2009.

GHOLAMI, M.; REIMER, C.; ERBE, M.; PREISINGER, R.; WEIGEND, A.; WEIGEND, S.; SERVIN, B.; SIMIANER, H. Genome Scan for Selection in Structured Layer Chicken Populations Exploiting Linkage Disequilibrium Information. **PloS one**, San Francisco, v. 10, n. 7, p. e0130497, 2015.

GRISART, B.; COPPIETERS, W.; FARNIR, F.; KARIM, L.; FORD, C.; BERZI, P.; CAMBISANO, N.; MNI, M.; REID, S.; SIMON, P.; SPELMAN, R.; GEORGES, M.; SNELL, R. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine *DGAT1* gene with major effect on milk yield and composition. **Genome research**, Long Island, v. 12, n. 2, p. 222–231, 2002.

GRISOLIA, A. B.; D'ANGELO, G. T.; NETO, L. R. P.; SIQUEIRA, F.; GARCIA, J. F. Myostatin (GDF8) single nucleotide polymorphisms in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 82, p. 822–830, 2009.

GUTIÉRREZ, J. P.; CERVANTES, I.; GOYACHE, F. Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Malden, v. 126, n. 4, p. 327–332, 2009.

HAYES, B. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; MACEACHERN, S.; SAVIN, K.; MCPARTLAN, H.; MACLEOD, I.; SETHURAMAN, L.; GODDARD, M. E. A genome map of divergent artificial selection between *Bos taurus* dairy cattle and *Bos taurus* beef cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 40, n. 2, p. 176–184, 2009.

HILL, W. G.; ROBERTSON, A. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and applied genetics**, Berlin, v. 38, n. 6, p. 226–31, jun. 1968.

HU, Z.-L.; PARK, C. A.; REECY, J. M. Developmental progress and current status of the Animal QTLdb. **Nucleic Acids Research**, London, v. 44, n. 1, p. 827–833, 2015.

HUANG, D. W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. **Nature Protocols**, London, v. 4, n. 1, p. 44–57, 2009.

KEMPER, K. E.; SAXTON, S. J.; BOLORMAA, S.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Selection for complex traits leaves little or no classic signatures of selection. **BMC genomics**, London, v. 15, p. 246, 2014.

KIM, E.-S.; COLE, J. B.; HUSON, H.; WIGGANS, G. R.; VAN TASSELL, C. P.; CROOKER, B. A.; LIU, G.; DA, Y.; SONSTEGARD, T. S. Effect of artificial selection on runs of homozygosity in U.S. Holstein cattle. **PloS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 11, 2013.

KIM, Y.; RYU, J.; WOO, J.; KIM, J. B.; KIM, C. Y.; LEE, C. Genome-wide association study reveals five nucleotide sequence variants for carcass traits in beef cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 361–365, 2011.

KIM, Y.; STEPHAN, W. Detecting a local signature of genetic hitchhiking along a recombining chromosome. **Genetics**, Austin, v. 160, n. 2, p. 765–777, 2002.

KIMURA, M. Evolutionary rate at the molecular level. **Nature**, London, v. 217, n. 5129, p. 624–626, 1968.

KLUNGLAND, H.; VÅGE, D. I.; GOMEZ-RAYA, L.; ADALSTEINSSON, S.; LIEN, S. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. **Mammalian genome**, New York, v. 6, n. 9, p. 636–639, 1995.

KÜHN, C.; THALLER, G.; WINTER, A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; KAUPÉ, B.; ERHARDT, G.; BENNEWITZ, J.; SCHWERIN, M.; FRIES, R. Evidence for multiple alleles at the DGAT1 locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. **Genetics**, Austin, v. 167, n. 4, p. 1873–1881, 2004.

LAPORTA, J.; ROSA, G. J. M.; NAYA, H.; CARRIQUIRY, M. Liver functional genomics in beef cows on grazing systems: novel genes and pathways revealed. **Physiological Genomics**, Bethesda, v. 46, n. 4, p. 138–147, 2014.

LIM, D.; STRUCKEN, E. M.; CHOI, B. H.; CHAI, H. H.; CHO, Y. M.; JANG, G. W.; KIM, T.H.; GONDRO, C.; LEE, S. H. Genomic Footprints in Selected and Unselected Beef Cattle Breeds in Korea. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 3, p. e0151324, 2016.

LUSH, J. L. **Animal breeding plans**. 3. ed. Ames: Iowa State College Press, 1945, p. 10-18.

MA, Y.; DING, X.; QANBARI, S.; WEIGEND, S.; ZHANG, Q.; SIMIANER, H. Properties of different selection signature statistics and a new strategy for combining them. **Heredity**, Edinburgh, v. 115, n. 5, p. 426–436, 2015.

MACEACHERN, S.; MCEWAN, J.; MCCULLOCH, A.; MATHER, A.; SAVIN, K.; GODDARD, M. Molecular evolution of the Bovini tribe (Bovidae, Bovinae): is there evidence of rapid evolution or reduced selective constraint in Domestic cattle? **BMC genomics**, London, v. 10, n. 1, p. 179, 2009.

McCLURE, M. C.; RAMEY, H. R.; ROLF, M. M.; MCKAY, S. D.; DECKER, J. E.; CHAPPLE, R. H.; KIM, J. W.; TAXIS, T. M.; WEABER, R. L.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F. Genome-wide association analysis for quantitative trait loci influencing Warner-Bratzler shear force in five taurine cattle breeds. **Animal Genetics**, Oxford, v. 43, n. 6, p. 662–673, 2012.

McPHERRON, A. C.; LEE, S. J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 94, n. 23, p. 12457–12461, 1997.

MERCADANTE, M. E. Z.; PACKER, I. U.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G.; FIGUEIREDO, L. A. Direct and correlated responses to selection for yearling weight on reproductive performance of Nelore cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 376–384, 2003.

MERCADANTE, M. E. Z.; RAZOOK, A. G. Programa de melhoramento genético do Instituto de Zootecnia. In: PIRES, A. V. (2. Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: Fealq, 2010. p. 847-860.

MEYRE, D.; FARGE, M.; LECOEUR, C.; PROENCA, C.; DURAND, E.; ALLEGAERT, F.; TICHET, J.; MARRE, M.; BALKAU, B.; WEILL, J.; DELPLANQUE, J.; FROGUEL, P. R125W coding variant in TBC1D1 confers risk for familial obesity and contributes to linkage on chromosome 4p14 in the French population. **Human molecular genetics**, Oxford, v. 17, n. 12, p. 1798–802, 2008.

MOISÁ, S. J.; SHIKE, D. W.; GRAUGNARD, D. E.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; EVERTS, R. E.; LEWIN, H. A.; FAULKNER, D. B.; BERGER, L. L.; LOOR, J. J. Bioinformatics analysis of transcriptome dynamics during growth in angus cattle longissimus muscle. **Bioinformatics and Biology Insights**, New York, v. 7, p. 253–270, 2013.

NIELSEN, R. Molecular signatures of natural selection. **Annual review of genetics**, Palo Alto, v. 39, p. 197–218, 2005.

NIELSEN, R.; HELLMANN, I.; HUBISZ, M.; BUSTAMANTE, C.; CLARK, A. G. Recent and ongoing selection in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 8, n. 11, p. 857–868, 2007.

NISHIMURA, S.; WATANABE, T.; MIZOSHITA, K.; TATSUDA, K.; FUJITA, T.; WATANABE, N.; SUGIMOTO, Y.; TAKASUGA, A. Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the *PLAG1-CHCHD7* QTN for stature in Japanese Black cattle. **BMC Genetics**, London, v. 13, p. 40, 2012.

ODDY, V. H.; HERD, R. M.; MCDONAGH, M. B.; WOODGATE, R.; QUINN, C. A.; ZIRKLER, K. Effect of divergent selection for yearling growth rate on protein metabolism in hind-limb muscle and whole body of Angus cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 56, n. 3, p. 225–231, 1998.

OLEKSYK, T. K.; SMITH, M. W.; O'BRIEN, S. J. Genome-wide scans for footprints of natural selection. **Philosophical transactions of the Royal Society B**, London, v. 365, n. 1537, p. 185–205, 2010.

OLIVEIRA, P. S. N.; CESAR, A. S. M.; DO NASCIMENTO, M. L.; CHAVES, A. S.; TIZIOTO, P. C.; TULLIO, R. R.; LANNA, D. P. D.; ROSA, A. N.; SONSTEGARD, T. S.; MOURAO, G. B.; REECY, J. M.; GARRICK, D. J.; MUDADU, M. A.; COUTINHO, L. L.; REGITANO, L. C. A. Identification of Genomic Regions Associated with Feed Efficiency in Nelore Cattle. **BMC Genetics**, London, v. 15, n. 1, p. 100, 2014.

OLIVIERI, B. F. **Estudo de Associação entre Polimorfismos de Base Única com Características de Eficiência de Conversão, Consumo e Desempenho em Bovinos da Raça Nelore**. 2015. 63 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2015.

PENNINGS, P. S.; HERMISSON, J. Soft Sweeps III: The Signature of Positive Selection from Recurrent Mutation. **PLoS Genetics**, London, v. 2, n. 12, p. e186, 2006.

PETERS, S. O.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J.; FERNANDO, R. L.; REECY, J. M.; WEABER, R. L.; SILVER, G. A.; THOMAS, M. G. Bayesian Genome-Wide Association Analysis of Growth and Yearling Ultrasound Measures of Carcass Traits in Brangus Heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 10, p. 3398–3409, 2012.

PINTUS, E.; SORBOLINI, S.; ALBERA, A.; GASPA, G.; DIMAURO, C.; STERI, R.; MARRAS, G.; MACCIOTTA, N. P. P. Use of locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) regression to study selection signatures in Piedmontese and Italian Brown cattle breeds. **Animal Genetics**, Oxford, v. 45, n. 1, 2014.

PRITCHARD, J. K.; PICKRELL, J. K.; COOP, G. The genetics of human adaptation: hard sweeps, soft sweeps, and polygenic adaptation. **Current biology**, London, v. 20, n. 4, 2010.

PURCELL, S.; NEALE, B.; TODD-BROWN, K.; THOMAS, L.; FERREIRA, M. A. R.; BENDER, D.; MALLER, J.; SKLAR, P.; DE BAKKER, P. I. W.; DALY, M. J.; SHAM, P. C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 81, n. 3, p. 559–575, 2007.

QANBARI, S.; PAUSCH, H.; JANSEN, S.; SOMEL, M.; STROM, T. M.; FRIES, R.; NIELSEN, R.; SIMIANER, H. Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 10, n. 2, 2014.

QANBARI, S.; PIMENTEL, E. C. G.; TETENS, J.; THALLER, G.; LICHTNER, P.; SHARIFI, A. R.; SIMIANER, H. A genome-wide scan for signatures of recent selection in Holstein cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 377–389, 2010.

QANBARI, S.; SIMIANER, H. Mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 166, p. 133–143, 2014.

QANBARI, S.; STROM, T. M.; HABERER, G.; WEIGEND, S.; GHEYAS, A. A.; TURNER, F.; BURT, D. W.; PREISINGER, R.; GIANOLA, D.; SIMIANER, H. A high resolution genome-wide scan for significant selective sweeps: an application to pooled sequence data in laying chickens. **PloS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 11, 2012.

R CORE TEAM (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing; Vienna; Austria.

RAMEY, H. R.; DECKER, J. E.; MCKAY, S. D.; ROLF, M. M.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F. Detection of Selective Sweeps in Cattle Using Genome-Wide SNP Data. **BMC genomics**, London, v. 14, n. 1, p. 382, 2013.

RAMÍREZ, S.; MARTINS, L.; JACAS, J.; CARRASCO, P.; POZO, M.; CLOTET, J.; SERRA, D.; HEGARDT, F. G.; DIÉGUEZ, C.; LÓPEZ, M.; CASALS, N. Hypothalamic ceramide levels regulated by CPT1C mediate the orexigenic effect of ghrelin. **Diabetes**, New York, v. 62, n. 7, p. 2329–2337, 2013.

RANDHAWA, I. A. S.; KHATKAR, M. S.; THOMSON, P. C.; RAADSMA, H. W. Composite Selection Signals Can Localize the Trait Specific Genomic Regions in Multi-Breed Populations of Cattle and Sheep. **BMC genetics**, London, v. 15, n. 1, p. 34, 2014.

RANDHAWA, I. A. S.; KHATKAR, M. S.; THOMSON, P. C.; RAADSMA, H. W. A Meta-Assembly of Selection Signatures in Cattle. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 4, p. e0153013, 5 abr. 2016.

ROCHA, D.; BILLEREY, C.; SAMSON, F.; BOICHARD, D.; BOUSSAHA, M. Identification of the putative ancestral allele of bovine single-nucleotide polymorphisms. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, v. 131, n. 6, p. 483–486, 2014.

ROLF, M. M.; TAYLOR, J. F.; SCHNABEL, R. D.; MCKAY, S. D.; MCCLURE, M. C.; NORTHCUTT, S. L.; KERLEY, M. S.; WEABER, R. L. Genome-wide association analysis for feed efficiency in Angus cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 367–374, 2012.

ROTHAMMER, S.; SEICHTER, D.; FÖRSTER, M.; MEDUGORAC, I. A genome-wide scan for signatures of differential artificial selection in ten cattle breeds. **BMC genomics**, London, v. 14, p. 908, 2013.

RUBIN, C.-J.; ZODY, M. C.; ERIKSSON, J.; MEADOWS, J. R. S.; SHERWOOD, E.; WEBSTER, M. T.; JIANG, L.; INGMAN, M.; SHARPE, T.; KA, S.; HALLBÖÖK, F.; BESNIER, F.; CARLBORG, O.; BED'HOM, B.; TIXIER-BOICHARD, M.; JENSEN, P.; SIEGEL, P.; LINDBLAD-TOH, K.; ANDERSSON, L. Whole-Genome Resequencing Reveals Loci under Selection during Chicken Domestication. **Nature**, London, v. 464, n. 7288, p. 587–591, 2010.

RUI, L. Energy metabolism in the liver. **Comprehensive Physiology**, Bethesda, v. 4, n. 1, p. 177–197, 2014.

SAATCHI, M.; BEEVER, J. E.; DECKER, J. E.; FAULKNER, D. B.; FREETLY, H. C.; HANSEN, S. L.; YAMPARA-IQUISE, H.; JOHNSON, K. A.; KACHMAN, S. D.; KERLEY, M. S.; KIM, J.; LOY, D. D.; MARQUES, E.; NEIBERGS, H. L.; POLLAK, E. J.; SCHNABEL, R. D.; SEABURY, C. M.; SHIKE, D. W.; SNELLING, W. M.; SPANGLER, M. L.; WEABER, R. L.; GARRICK, D. J.; TAYLOR, J. F. QTLs associated with dry matter intake, metabolic mid-test weight, growth and feed efficiency have little overlap across 4 beef cattle studies. **BMC Genomics**, London, v. 15, 2014a.

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

SABETI, P. C.; REICH, D. E.; HIGGINS, J. M.; LEVINE, H. Z. P.; RICHTER, D. J.; SCHAFFNER, S. F.; GABRIEL, S. B.; PLATKO, J. V.; PATTERSON, N. J.; MCDONALD, G. J.; ACKERMAN, H. C.; CAMPBELL, S. J.; ALTSHULER, D.; COOPER, R.; KWIATKOWSKI, D.; WARD, R.; LANDER, E. S. Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. **Nature**, London, v. 419, n. 6909, p. 832–837, 2002.

SABETI, P. C.; SCHAFFNER, S. F.; FRY, B.; LOHMUELLER, J.; VARILLY, P.; SHAMOVSKY, O.; PALMA, A.; MIKKELSEN, T. S.; ALTSHULER, D.; LANDER, E. S. Positive natural selection in the human lineage. **Science**, New York, v. 312, n. 5780, p. 1614–20, 16 jun. 2006.

SABETI, P. C.; VARILLY, P.; FRY, B.; LOHMUELLER, J.; HOSTETTER, E.; COTSAPAS, C.; XIE, X.; BYRNE, E. H.; MCCARROLL, S. A.; GAUDET, R.; SCHAFFNER, S. F.; LANDER, E. S.; The International HapMap Consortium. Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. **Nature**, London, v. 449, n. 7164, p. 913–918, 2007.

SAHANA, G.; GULDBRANDTSEN, B.; LUND, M. S. Genome-wide association study for calving traits in Danish and Swedish Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 1, p. 479-486, 2011.

SCHWARZENBACHER, H.; DOLEZAL, M.; FLISIKOWSKI, K.; SEEFRIED, F.; WURMSER, C.; SCHLÖTTERER, C.; FRIES, R. Combining evidence of selection with association analysis increases power to detect regions influencing complex traits in dairy cattle. **BMC genomics**, London, v. 13, p. 48, 2012.

SEICHTER, D.; RUSS, I.; ROTHAMMER, S.; EDER, J.; FÖRSTER, M.; MEDUGORAC, I. SNP-based association mapping of the polled gene in divergent cattle breeds. **Animal Genetics**, Oxford, v. 43, n. 5, p. 595–598, 2012.

SERVICE, S.; DEYOUNG, J.; KARAYIORGOU, M.; ROOS, J. L.; PRETORIOUS, H.; BEDOYA, G.; OSPINA, J.; RUIZ-LINARES, A.; MACEDO, A.; PALHA, J. A.; HEUTINK, P.; AULCHENKO, Y.; OOSTRA, B.; VAN DUIJN, C.; JARVELIN, M.-R.; VARILLO, T.; PEDDLE, L.; RAHMAN, P.; PIRAS, G.; MONNE, M.; MURRAY, S.; GALVER, L.; PELTONEN, L.; SABATTI, C.; COLLINS, A.; FREIMER, N. Magnitude and distribution of linkage disequilibrium in population isolates and implications for genome-wide association studies. **Nature Genetics**, New York, v. 38, n. 5, p. 556–560, 2006.

SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L. V.; GREGORY, K. E.; ROHRER, G. A.; SAVELL, J. W. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of animal science**, Champaign, v. 72, n. 4, p. 857–863, 1994.

SILVA, R. M. O.; FRAGOMENI, B. O.; LOURENCO, D. A. L.; MAGALHÃES, A. F. B.; IRANO, N.; CARVALHEIRO, R.; CANESIN, R. C.; MERCADANTE, M. E. Z.; BOLIGON, A. A.; BALDI, F. S.; MISZTAL, I.; ALBUQUERQUE, L. G. Accuracies of genomic prediction of feed efficiency traits using different prediction and validation methods in an experimental Nelore cattle population. **Journal of Animal Science**, Champaign, 2016.

SMITH, J. M.; HAIGH, J. The hitch-hiking effect of a favourable gene. **Genetical Research**, London, v. 23, n. 1, p. 23–35, 1974.

SOMAVILLA, A. L.; SONSTEGARD, T. S.; HIGA, R. H.; ROSA, A. N.; SIQUEIRA, F.; SILVA, L. O. C.; TORRES JÚNIOR, R. A. A.; COUTINHO, L. L.; MUDADU, M. A.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A. A genome-wide scan for selection signatures in Nellore cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 45, n. 6, p. 771–781, 2014.

SONSTEGARD, T. S.; MA, L.; VAN TASSELL, C. P.; KIM, E.-S.; COLE, J. B.; WIGGANS, G. R.; CROOKER, B. A.; MARIANI, B. D.; MATUKUMALLI, L. K.; GARBE, J. R.; FAHRENKRUG, S. C.; LIU, G.; DA, Y. Forty years of artificial selection in U.S. Holstein cattle had genome-wide signatures. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 9., 2010, Leipzig, Germany. **Proceedings...** 2010.

SOUZA, F. R. P.; MERCADANTE, M. E. Z.; FONSECA, L. F. S.; FERREIRA, L. M. S.; REGATIERI, I. C.; AYRES, D. R.; TONHATI, H.; SILVA, S. L.; RAZOOK, A. G.; ALBUQUERQUE, L. G. Assessment of *DGAT1* and *LEP* gene polymorphisms in three Nelore (*Bos indicus*) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 2, p. 435–441, 2010.

STELLA, A.; AJMONE-MARSAN, P.; LAZZARI, B.; BOETTCHER, P. Identification of selection signatures in cattle breeds selected for dairy production. **Genetics**, Austin, v. 185, n. 4, p. 1451–1461, 2010.

STONE, S.; ABKEVICH, V.; RUSSELL, D. L.; RILEY, R.; TIMMS, K.; TRAN, T.; TREM, D.; FRANK, D.; JAMMULAPATI, S.; NEFF, C. D.; ILIEV, D.; GRESS, R.; HE, G.; FRECH, G. C.; ADAMS, T. D.; SKOLNICK, M. H.; LANCHBURY, J. S.; GUTIN, A.; HUNT, S. C.; SHATTUCK, D. TBC1D1 is a candidate for a severe obesity gene and evidence for a gene/gene interaction in obesity predisposition. **Human Molecular Genetics**, Oxford, v. 15, n. 18, p. 2709–2720, 2006.

SZPIECH, Z. A.; HERNANDEZ, R. D. selscan: an efficient multithreaded program to perform EHH-based scans for positive selection. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 31, n. 10, p. 2824–2827, 2014.

TONO-OKA, S.; TANASE, S.; MIIKE, T.; TANAKA, H. Transient expression of collagen type XIV during muscle development and its reappearance after denervation and degeneration. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, Baltimore, v. 44, n. 8, p. 907–918, 1996.

TURNER, S.; ARMSTRONG, L. L.; BRADFORD, Y.; CARLSON, C. S.; CRAWFORD, D. C.; CRENSHAW, A. T.; DE ANDRADE, M.; DOHENY, K. F.; HAINES, J. L.; HAYES, G.; JARVIK, G.; JIANG, L.; KULLO, I. J.; LI, R.; LING, H.; MANOLIO, T. A.; MATSUMOTO, M.; MCCARTY, C. A.; MCDAVID, A. N.; MIREL, D. B.; PASCHALL, J. E.; PUGH, E. W.; RASMUSSEN, L. V.; WILKE, R. A.; ZUVICH, R. L.; RITCHIE, M. D. Quality control procedures for genome-wide association studies. *Current protocols in human genetics*, Chapter 1, p. Unit1.19, 2011.

URBINATI, I.; STAFUZZA, N. B.; OLIVEIRA, M. T.; CHUD, T. C. S.; HIGA, R. H.; REGITANO, L. C. de A.; DE ALENCAR, M. M.; BUZANSKAS, M. E.; MUNARI, D. P. Selection signatures in Canchim beef cattle. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 7, p. 29, 2016.

UTSUNOMIYA, Y. T.; PÉREZ O'BRIEN, A. M.; SONSTEGARD, T. S.; SÖLKNER, J.; GARCIA, J. F. Genomic Data as the “hitchhiker’s Guide” to Cattle Adaptation: Tracking the Milestones of Past Selection in the Bovine Genome. **Frontiers in genetics**, Lausanne, v. 6, p. 36, 2015.

UTSUNOMIYA, Y. T.; PÉREZ O'BRIEN, A. M.; SONSTEGARD, T. S.; VAN TASSELL, C. P.; DO CARMO, A. S.; MÉSZÁROS, G.; SÖLKNER, J.; GARCIA, J. F. Detecting Loci under Recent Positive Selection in Dairy and Beef Cattle by Combining Different Genome-Wide Scan Methods. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 5, p. 1–11, 2013.

VAZQUEZ, A. I.; BATES, D. M.; ROSA, G. J. M.; GIANOLA, D.; WEIGEL, K. A. Technical note: an R package for fitting generalized linear mixed models in animal breeding. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 2, p. 497–504, 2010.

VEERKAMP, R. F.; COFFEY, M. P.; BERRY, D. P.; DE HAAS, Y.; STRANDBERG, E.; BOVENHUIS, H.; CALUS, M. P. L.; WALL, E. Genome-wide associations for feed utilisation complex in primiparous Holstein-Friesian dairy cows from experimental research herds in four European countries. **Animal**, Cambridge, v. 6, n. 11, p. 1738–1749, 2012.

VENERONI-GOUVEIA, G.; MEIRELLES, S. L.; GROSSI, D. A.; SANTIAGO, A. C.; SONSTEGARD, T. S.; YAMAGISHI, M. E. B.; MATUKUMALLI, L. K.; COUTINHO, L. L.; ALENCAR, M. M.; OLIVEIRA, H. N.; REGITANO, L. C. A. Whole-genome analysis for backfat thickness in a tropically adapted, composite cattle breed from Brazil. **Animal Genetics**, Oxford, v. 43, n. 5, p. 518–524, 2012.

VITTI, J. J.; GROSSMAN, S. R.; SABETI, P. C. Detecting natural selection in genomic data. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 47, p. 97–120, 2013.

VOIGHT, B. F.; KUDARAVALLI, S.; WEN, X.; PRITCHARD, J. K. A map of recent positive selection in the human genome. **PLoS Biology**, San Francisco, v. 4, n. 3, 2006.

WAGH, K.; BHATIA, A.; ALEXE, G.; REDDY, A.; RAVIKUMAR, V.; SEILER, M.; BOEMO, M.; YAO, M.; CRONK, L.; NAQVI, A.; GANESAN, S.; LEVINE, A. J. Lactase Persistence and Lipid Pathway Selection in the Maasai. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 9, 2012.

WANG, X.; WURMSER, C.; PAUSCH, H.; JUNG, S.; REINHARDT, F.; TETENS, J.; THALLER, G.; FRIES, R. Identification and dissection of four major QTL affecting milk fat content in the German Holstein-Friesian population. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 7, 2012.

WANG, Y.; XU, H.-Y.; GILBERT, E. R.; PENG, X.; ZHAO, X.-L.; LIU, Y.-P.; ZHU, Q. Detection of SNPs in the TBC1D1 gene and their association with carcass traits in chicken. **Gene**, Amsterdam, v. 547, n. 2, p. 288–294, 2014.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis ii : methods for discrete population genetic data**. Sunderland Mass.: Sinauer Associates, 1996.

WIENER, P.; BURTON, D.; AJMONE-MARSAN, P.; DUNNER, S.; MOMMENS, G.; NIJMAN, I. J.; RODELLAR, C.; VALENTINI, A.; WILLIAMS, J. L. Signatures of selection? Patterns of microsatellite diversity on a chromosome containing a selected locus. **Heredity**, Edinburgh, v. 90, n. 5, p. 350–358, 2003.

WIZA, C.; CHADT, A.; BLUMENSATT, M.; KANZLEITER, T.; HERZFELD DE WIZA, D.; HORRIGHS, A.; MUELLER, H.; NASCIMENTO, E. B. M.; SCHÜRMANN, A.; AL-HASANI, H.; OUWENS, D. M. Over-expression of PRAS40 enhances insulin sensitivity in skeletal muscle. **Archives of Physiology and Biochemistry**, Lisse, v. 120, n. 2, p. 64–72, 2014.

WOLFGANG, M. J.; KURAMA, T.; DAI, Y.; SUWA, A.; ASAUMI, M.; MATSUMOTO, S.-I.; CHA, S. H.; SHIMOKAWA, T.; LANE, M. D. The brain-specific carnitine palmitoyltransferase-1c regulates energy homeostasis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 19, p. 7282–7287, 2006.

WRIGHT, S. THE GENETICAL STRUCTURE OF POPULATIONS. **Annals of Eugenics**, v. 15, n. 1, p. 323–354, 1949.

YATES, A.; AKANNI, W.; AMODE, M. R.; BARRELL, D.; BILLIS, K.; CARVALHO-SILVA, D.; CUMMINS, C.; CLAPHAM, P.; FITZGERALD, S.; GIL, L.; GIRÓN, C. G.; GORDON, L.; HOURLIER, T.; HUNT, S. E.; JANACEK, S. H.; JOHNSON, N.; JUETTEMANN, T.; KEENAN, S.; LAVIDAS, I.; MARTIN, F. J.; MAUREL, T.; MCLAREN, W.; MURPHY, D. N.; NAG, R.; NUHN, M.; PARKER, A.; PATRICIO, M.; PIGNATELLI, M.; RAHTZ, M.; RIAT, H. S.; SHEPPARD, D.; TAYLOR, K.; THORMANN, A.; VULLO, A.; WILDER, S. P.; ZADISSA, A.; BIRNEY, E.; HARROW, J.; MUFFATO, M.; PERRY, E.; RUFFIER, M.; SPUDICH, G.; TREVANION, S. J.; CUNNINGHAM, F.; AKEN, B. L.; ZERBINO, D. R.; FLICEK, P. Ensembl 2016. **Nucleic Acids Research**, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkv1157>>.

ZHAO, F.; MCPARLAND, S.; KEARNEY, F.; DU, L.; BERRY, D. P. Detection of Selection Signatures in Dairy and Beef Cattle Using High-Density Genomic Information. **Genetics, Selection, Evolution**, v. 47, n. 1, p. 49, 2015.