

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

**ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES NO NÚMERO DE  
CÓPIAS NO GENOMA DE BOVINOS NELORE COM  
CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS E QUANTITATIVAS DA  
CARNE**

**Mariana Piatto Berton**  
Zootecnista

**2015**

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

**ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES NO NÚMERO DE  
CÓPIAS NO GENOMA DE BOVINOS NELORE COM  
CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS E QUANTITATIVAS DA  
CARNE**

**Mariana Piatto Berton**

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey**

**Coorientadores: Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo**

**Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira**

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

**2017**

Berton, Mariana Piatto  
M499a Associação entre as variações no número de cópias no genoma de bovinos Nelore com características qualitativas e quantitativas da carne/ Mariana Piatto Berton. – – Jaboticabal, 2017  
xix, 81 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017  
Orientador: Fernando Sebastián Baldi Rey  
Banca examinadora: Danísio Prado Munari, Ana Fabrícia Braga Magalhães, José Bento Sterman Ferraz, Saulo da Luz Silva  
Bibliografia

1. Algoritmo, 2. Detecção de CNVR 3. Qualidade de carne 4. Nelore. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.728.3:636.92

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

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES NO NÚMERO DE CÓPIAS NO GENOMA DE BOVINOS NELORE COM CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS E QUANTITATIVAS DA CARNE

**AUTORA: MARIANA PIATTO BERTON**

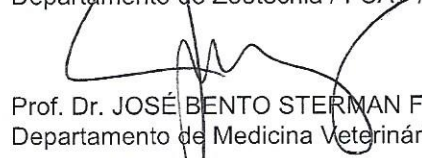
**ORIENTADOR: FERNANDO SEBASTIAN BALDI REY**

**COORIENTADOR: GREGÓRIO MIGUEL FERREIRA DE CAMARGO**

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



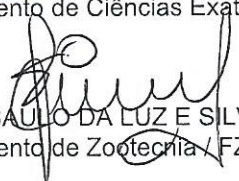
Prof. Dr. FERNANDO SEBASTIAN BALDI REY  
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



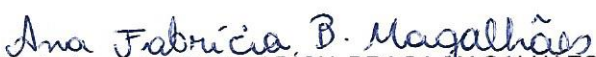
Prof. Dr. JOSÉ BENTO STERMAN FERRAZ  
Departamento de Medicina Veterinária / FZEA / USP - Pirassununga/SP



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



Prof. Dr. SAULO DA LUZ E SILVA  
Departamento de Zootecnia / FZEA/USP - Pirassununga/SP



Ana Fabrícia B. Magalhães  
Pós-doutoranda ANA FABRÍCIA BRAGA MAGALHAES  
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 02 de agosto de 2017

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Mariana Piatto Berton, nascida em São José do Rio Preto – SP em 27 de junho de 1986, filha de João Adalberto Berton e Adriana Bellintani Piatto Berton. Iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista, UNESP – Jaboticabal, em fevereiro de 2005, obtendo o grau de Zootecnista em janeiro de 2010. Em março de 2011 iniciou Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Hirasilva Borba e obteve o título de Mestre em julho de 2013. Neste mesmo ano iniciou o Doutorado em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey, como bolsista CAPES. Durante o doutorado efetuou estágio sanduiche na ARS-USDA em Maryland, USA por um período de 10 meses (Março de 2016 à Fevereiro de 2017) e obteve o título de Doutor em agosto de 2017.

“Sonhe com aquilo que você quiser.  
Seja o que você quer ser,  
porque você possui apenas uma vida  
e nela só se tem uma chance  
de fazer aquilo que se quer.  
Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.  
Dificuldades para fazê-la forte.  
Tristeza para fazê-la humana.  
E esperança suficiente para fazê-la feliz.  
As pessoas mais felizes  
não têm as melhores coisas.  
Elas sabem fazer o melhor  
das oportunidades que aparecem  
em seus caminhos.  
A felicidade aparece para aqueles que choram.  
Para aqueles que se machucam.  
Para aqueles que buscam e tentam sempre.  
E para aqueles que reconhecem a importância  
das pessoas que passam por suas vidas.  
O futuro mais brilhante  
é baseado num passado intensamente vivido.  
Você só terá sucesso na vida  
quando perdoar os erros  
e as decepções do passado.  
A vida é curta, mas as emoções que podemos deixar  
duram uma eternidade.  
A vida não é de se brincar  
porque um dia se morre.”  
(Há momentos - Clarice Lispector).

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal por oferecer os melhores professores, funcionários e conhecimentos para realização do curso de pós-graduação no Programa de Genética e Melhoramento Animal.

À CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

A banca examinadora de defesa, Dra. Ana Fabrícia Braga Magalhães, Prof. Dr. Danísio Prado Munari, Prof. Dr. José Bento Sterman Feraz e Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva, pela disponibilidade e sugestões para o aprimoramento do presente estudo.

Aos meus co-orientadores, Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira e Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo, também pelo incentivo e ensinamentos

Aos pesquisadores e ao grupo de pesquisa, especialmente ao Derek Bickhart, pela oportunidade e por me receberem com tanta atenção durante meu estágio sanduiche na USDA em Maryland, EUA. Foram momentos que jamais esquecerei e que me trouxeram grandes aprendizados, tanto profissional como pessoalmente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Baldi, pelo incentivo e apoio durante esses anos e principalmente pela amizade que criamos ao longo do tempo.

Ao pessoal da Salinha (Hermanos), Bianca, Sabrina, Elisa, Gildo, Marcos, Rafael, Fabieli e aos colegas e amigos do GMA pela disposição e amizade... e também pelas risadas, churrascos e brincadeiras.

À Tatiane Chud (Tati), pela ajuda, incentivo, pelo companheirismo e amizade que criamos durante nossa estadia dos EUA e por dividir comigo momentos que estarão sempre gravados em nossa memória. Ah...pelos risotos e ensinamentos gastronômicos. rsrs

Às minhas amigas de república, Juliana, Lorena, Nathalia, Brigida, Carolina e Renata, pelos momentos de descontração, desabafos, risadas e companhia.

À toda minha família, principalmente meus pais, João e Adriana, irmão e cunhada Rafael e Anita, pelo apoio em todos os momentos, pelo amor que me ajudou a me tornar a pessoa que sou hoje, por sempre me incentivarem nos estudos e reconhecimento pelas minhas conquistas.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>CAPÍTULO 1. Considerações gerais .....</b>                                                                                                                   | <b>1</b>  |
| <b>1. Introdução .....</b>                                                                                                                                      | <b>1</b>  |
| <b>2.Revisão de Literatura .....</b>                                                                                                                            | <b>6</b>  |
| 2.1 Características quantitativas e qualitativas .....                                                                                                          | 7         |
| 2.1.1 Área de Olho de Lombo .....                                                                                                                               | 7         |
| 2.1.2 Intensidade de Cor .....                                                                                                                                  | 7         |
| 2.1.3 Maciez .....                                                                                                                                              | 9         |
| 2.1.4 Marmoreio .....                                                                                                                                           | 11        |
| <b>2.2 Genômica na Qualidade da Carne .....</b>                                                                                                                 | <b>12</b> |
| 2.2.2 Variação no número de cópias (CNVs) .....                                                                                                                 | 13        |
| 2.2.3 Metodologias aplicadas .....                                                                                                                              | 14        |
| 2.2.4 Estudos de associação com CNVs .....                                                                                                                      | 17        |
| <b>3.Referências Bibliográficas .....</b>                                                                                                                       | <b>20</b> |
| <b>Capítulo 2. Estudo de diferentes métodos para a detecção de regiões com variações no número de cópias (CNVRs) em uma população de bovinos Nelore. ....</b>   | <b>33</b> |
| <b>1.Introdução .....</b>                                                                                                                                       | <b>34</b> |
| <b>2. Material e Métodos .....</b>                                                                                                                              | <b>36</b> |
| 2.1 Animais e informações de manejo .....                                                                                                                       | 36        |
| 2.2 Genotipagem dos animais .....                                                                                                                               | 37        |
| 2.3 Identificação de CNV .....                                                                                                                                  | 37        |
| 2.3.1 PennCNV .....                                                                                                                                             | 38        |
| 2.3.2 SVS .....                                                                                                                                                 | 39        |
| 2.4 Sobreposição dos softwares .....                                                                                                                            | 40        |
| <b>3. Resultados e Discussão .....</b>                                                                                                                          | <b>40</b> |
| <b>4.Conclusão .....</b>                                                                                                                                        | <b>51</b> |
| <b>5. Referências Bibliográficas .....</b>                                                                                                                      | <b>53</b> |
| <b>Capítulo 3. Associação entre as variações no número de cópias no genoma de bovinos Nelore com características qualitativas e quantitativas da carne.....</b> | <b>65</b> |
| <b>1. Introdução .....</b>                                                                                                                                      | <b>67</b> |
| <b>2. Materiais e Métodos .....</b>                                                                                                                             | <b>70</b> |
| 2.1 Animais e informações de manejo .....                                                                                                                       | 70        |
| 2.2 Formação dos lotes e procedimento no abate .....                                                                                                            | 71        |
| 2.3 Avaliação das características qualitativas e quantitativas da carne .....                                                                                   | 72        |
| 2.3.1 Índice de marmorização .....                                                                                                                              | 72        |
| 2.3.2 Área de olho-de-lombo (AOL) .....                                                                                                                         | 72        |
| 2.3.4 Intensidade de cor da carne .....                                                                                                                         | 72        |
| 2.3.5 Força de Cisalhamento .....                                                                                                                               | 73        |
| 2.4 Genotipagem dos animais .....                                                                                                                               | 73        |

|                                                                                                     |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.5 Formação dos grupos contemporâneos e ajuste dos dados .....                                     | 74         |
| 2.6 Identificação de CNV e CNVR.....                                                                | 74         |
| 2.7 Prospecção de genes.....                                                                        | 75         |
| <b>3. Resultados E Discussão</b> .....                                                              | <b>76</b>  |
| 3.1 Análise descritiva das características.....                                                     | 76         |
| 3.2 Variações no número de cópias (CNVs) e regiões de variações no número<br>de cópias (CNVRs)..... | 78         |
| 3.3 Associação de genes com as CNVRs.....                                                           | 78         |
| 3.3.1 Força de Cisalhamento.....                                                                    | 78         |
| 3.3.2 Marmoreio.....                                                                                | 81         |
| 3.3.3 Área de olho de lombo (AOL) .....                                                             | 82         |
| 3.3.4. Intensidade de cor .....                                                                     | 83         |
| 3.3.5. Regiões relacionadas entre características .....                                             | 85         |
| <b>4. Conclusão</b> .....                                                                           | <b>90</b>  |
| <b>5.Referências Bibliográficas</b> .....                                                           | <b>109</b> |

## ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIAÇÕES NO NÚMERO DE CÓPIAS NO GENOMA DE BOVINOS NELORE COM CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS E QUANTITATIVAS DA CARNE

**RESUMO** - Este estudo propôs avaliar uma outra forma de detecção de variações estruturais no genoma bovino, as variações no número de cópias CNVs, e sua associação com características de qualidade de carne. O capítulo 1 aborda considerações gerais e revisão de literatura das características de qualidade da carne e de sua inclusão em estudos genômicos, bem como a utilização das variações do número de cópias em estudos de associação com características de interesse econômico para a agropecuária brasileira. O capítulo 2 teve como objetivo explorar diferentes softwares para avaliar diferenças na detecção de CNVs em uma população de bovinos da raça Nelore. A diferença metodológica entre os softwares pode ser a causa da diferença de CNVR detectados em ambos os métodos. Os grupos funcionais enriquecidos significativos foram relacionados a funções de ligações de ATP, bem como estruturas das membranas celulares e resposta do sistema imunológico. A presença de genes do tipo LOC também é bastante interessante, pois estes são genes os quais ainda não foram confirmadas sua função biológica, necessitando de mais estudos para a determinação da mesma. O estudo de diferentes algoritmos na detecção de CNVRs pode divergir dependendo das plataformas e metodologias aplicadas em cada software, como foi observado no presente estudo. A sobreposição dos mesmos nos fornece maior confiabilidade na detecção de regiões de CNVs. O capítulo 3 propôs identificar regiões no genoma de bovinos da raça Nelore que apresentam variações no número de cópias (CNV: Copy Number Variation) e estudar a associação genética entre os CNVs com características quantitativas e qualitativas da carne. O enriquecimento de genes das regiões de CNV revelaram processos biológicos que podem estar envolvidos na qualidade de carne. Várias regiões genômicas foram associadas à QTL relacionadas à deposição de gordura (FABP7) e contração muscular (SLC34A3, TRDN), matriz extracelulares (INS e COL10A1), bem como genes transportadores de creatina (SLC6A18 e SLC6A19) foram identificadas, além das respectivas vias metabólicas. Estas devem contribuir para consolidar características que quando agregadas às informações genômicas, poderão auxiliar a seleção de Nelore (*Bos indicus*) em relação à qualidade da carne. Além disso, as CNVRs podem ser usadas como ferramenta auxiliar em futuros estudos de GWAS, cuja principal função é procurar mutações causadoras informativas, que vão auxiliar o melhor entendimento dos mecanismos de ação e a fisiologia de características importantes. A sobreposição de CNVs com SNPs aumenta as chances de encontrar regiões mais confiáveis para a detecção de QTLs relacionados com características de interesse. Uma vez detectadas as CNVRs podem ser inseridos em chips personalizados de baixa densidade permitem avaliação genética rentável e acessível para os criadores.

**Palavras-chave:** algoritmos, detecção de CNVR, qualidade da carne, Nelore.

## ASSOCIATION BETWEEN COPY NUMBERS VARIATIONS IN THE NELLORE BOVINE GENOME WITH QUALITATIVE AND QUANTITATIVE TRAITS OF MEAT

**Abstract** - The aim of this study was to evaluate another way to detect structural variations in bovine genome, the variations in CNVs number of copies and its association with meat quality traits. Chapter 1 addresses general considerations and literature review of meat quality traits and their inclusion in genomic studies, as well as the use of variations in the number of copies in association studies with characteristics of economic interest for Brazilian agribusiness. Chapter 2 aimed to explore different softwares to evaluate differences in the detection of CNVs in a population of Nellore cattle. The difference in methodologies between the softwares can be the cause of the difference in CNVR detected in both methods. Significant enriched functional groups were related to ATP binding functions, as well as cell membrane structures and immune system response. The presence of genes of the LOC type is also very interesting, since the biological function of these genes have not been confirmed yet, requiring further studies to determine the same. The study of different algorithms in CNVRs detection can differ depending on the applied platforms and methodologies in each software, as it was observed in this study. The overlaps can provide more reliability in the detection of CNVs regions. Chapter 3 proposed to identify genome regions of Nellore cattle that presented variations in the number of copies (CNV: copy number variation) and to study the genetic association of CNVs with quantitative and qualitative traits in meat. The enrichment of CNV regions genes revealed biological processes which can be involved in meat quality. Several genomic regions were associated with QTL related to fat deposition (FABP7) and muscle contraction (SLC34A3, TRDN), extracellular matrix (INS and COL10A1), as well as creatine transporter genes (SLC6A18 and SLC6A19) were identified, in addition to their respective metabolic pathways. These regions should contribute to consolidate characteristics that when added to genomic information may help the selection of Nellore animals (*Bos indicus*) for meat quality. Furthermore, CNVRs can be used as an auxiliary tool in further GWAS studies, which will help to better understand the mechanisms of action and the physiology of important traits. The overlap of CNVs with SNPs increases the chances of finding more reliable regions to the detection of QTLs related to traits of interest. Once detected, the CNVRs can be inserted in low-density customized chips allowing cost-effect and affordable genetic evaluation for farmers.

**Keywords:** algorithms, CNVR detection, meat quality, Nellore

## **CAPÍTULO 1. Considerações gerais**

### ***1. Introdução***

O Brasil possui atualmente cerca de 197 milhões de cabeça de gado e abateu cerca de 40 milhões de cabeças no ano de 2016, produzindo aproximadamente 8,243 mil toneladas, desse total exportou cerca de 1,911 mil toneladas de carne (ANUALPEC,2016), onde os dez principais países de destino da carne bovina in natura brasileira, no 4º trimestre foram China (21,8% do total), Hong Kong (16,0%), Irã (13,8%), Rússia (13,3%), Chile (7,1%), Egito (4,8%), Itália (2,6%), Arábia Saudita (2,6%), Emirados Árabes Unidos (2,1%) e Filipinas (1,9%), que responderam juntos por 86,1% da carne exportada. Porém, o mercado interno ainda é decisivo quando se trata do consumo da carne bovina, uma vez que absorve 77.6% da produção do país (ANUALPEC, 2016).

A comercialização de produtos cárneos no mercado interno e externo tem mostrado uma tendência crescente para fornecer garantias técnico-científicas para certificar ou garantir a segurança alimentar, a qualidade dos produtos e seus benefícios para a saúde humana. A informação é uma chave para promover e melhorar a comercialização de produtos cárneos. Apesar desta tendência, no Brasil, isto é uma preocupação recente, de modo que o posicionamento de nossos produtos cárneos no contexto nacional e internacional pode ser limitado se não forem tomadas estratégias apropriadas para diferenciar e valorizar o produto final. Consequentemente, o país deve promover estudos científicos da avaliação dos produtos cárneos, visando à produção de informação objetiva em projetos inovadores, que irá melhorar a competitividade da cadeia da carne no Brasil.

No entanto, um dos maiores problemas da indústria da carne bovina no Brasil reside na falta de uniformização da idade de abate dos animais, de cobertura de gordura e marmorização da carne, fatores estes que exercem grande influência na qualidade da carne Segundo Faria et al. (2008). E diante destes fatores, para atender os mercados interno e externo, existe a necessidade de produzir animais que tenham uma qualidade de carcaça adequada, apresentando entre outras características, maior rendimento de cortes comerciais e uma boa cobertura de gordura. Atualmente, em busca de qualidade, os consumidores se deparam com farta opções de produtos cárneos diferenciados, identificação de cortes, preparos, embalagens, identificação de origem e rotulagens de marcas ligadas aos sistemas de criação e às raças (CHAMPREDONDE et al., 2014; MAYSSONAVE et al., 2014). Dessa forma, os criadores de bovinos brasileiros enfrentam o desafio de usar ambientes e sistemas de produção muito diversos para produzir produtos de carne que satisfaçam as exigências do consumidor (PEREIRA et al., 2014).

No Brasil, a raça Nelore (*Bos indicus*) é a que possui o maior contingente numérico, devido a sua maior resistência a altas temperaturas, umidade e parasitas, quando comparada às raças derivadas do gado europeu (*Bos taurus*) (BARROS et al., 2006; HANSEN et al., 2004). Os resultados obtidos no Programa de Avaliação de Germoplasma realizado no Meat Animal Research Center, onde foram avaliadas diferentes raças de bovinos de corte para várias características de importância econômica (CUNDIFF, 2004), apontou que, apesar do Zebu e seus cruzamentos demonstrarem maior adaptação ao meio ambiente e resistência a parasitas, produziram carcaças com menor proporção de gordura/magra, menor sensibilidade da carne e menor porcentagem de gordura intramuscular do que as raças *Bos*

*Taurus*. Além disso, Parmigiani & Torres (2009) ressaltaram que a terminação dos zebuínos a pasto e idade de abate tardia, leva o Brasil a produzir carne de qualidade inferior quando comparada a qualidade de carne dos animais *bos taurus* consideradas dura.

Estudos realizados em animais da raça Nelore identificaram que a maciez tem herdabilidade baixa, Magalhães et al. (2016) encontraram herdabilidade para maciez da carne de  $0,12 \pm 0,07$  e Castro et al. (2014) de  $0,11 \pm 0,02$ . Porém, por ser uma característica de grande importância no setor produtivo, novas formas de avaliação desta característica estão sendo exploradas. Braz et al., (2016) notaram que com a adição dos dados genômicos na avaliação foi possível um acréscimo na herdabilidade para maciez ( $0,29 \pm 0,05$ ), sugerindo que a seleção baseada em marcadores genéticos pode ser efetiva para o melhoramento da maciez da carne. Além da maciez, características como área de olho de lombo, acabamento, e marmoreio também têm sido exploradas com intuito de atender o complexo sistema de produção de carne de qualidade. O custo na obtenção dessas informações, entretanto, limita sua utilização em programas de melhoramento e sua seleção. A determinação de critérios de seleção diretos ou indiretos para características de qualidade de carne ainda é um desafio a ser vencido pela pesquisa. Apesar de ainda existir uma distância entre a seleção, a produção pecuária e o mercado de carne, os elos devem tentar se aproximar para melhorar esta integração e coordenação da cadeia produtiva com o único objetivo de atender as necessidades do consumidor.

O sequenciamento do genoma bovino trouxe a descoberta de milhares de marcadores genéticos do tipo SNP (polimorfismos de base única), além do desenvolvimento de subconjuntos SNP que podem caracterizar o genoma bovino

com uma maior abrangência e a um menor custo (MATUKUMALLI et al., 2009). Inicialmente, os microarranjos de SNP foram projetadas para genotipar milhares de SNPs em todo o genoma simultaneamente e suas aplicações agora se expandiram para incluir uma forma de variação genômica estrutural, que tem conquistado o interesse em estudos genômicos, conhecida como variação no número de cópias (CNV, do inglês *Copy number variation*). As CNVs compreendem em inserções, deleções e duplicações no DNA, com comprimento variável, de 1kb a 5 Mb (TUZUN et al., 2004; SHARP et al., 2005; FEUK et al., 2006; FREEMAN et al., 2006; REDON et al., 2006; ZHANG et al., 2009), também podem apresentar inversões e translocações no genoma (SCHERER et al. 2007). Estimar o ponto de quebra do loci e o número de cópias são sempre desejáveis (DUAN et al., 2013), ou seja, a variação do número de cópia existe quando um indivíduo tem uma ou mais deleções ou duplicações em um segmento de DNA no genoma, o que resulta num número diferente de cópias (BREHENY et al., 2012).

Os microarranjos de CNV explicam além dos SNPs, pois permitem maior exploração do genoma para fontes de variabilidade para explicar o forte componente genético de vários fenômenos de interesse econômico. Principalmente pelo fato de que eles representam maior variação genética entre o genoma de diferentes indivíduos, em termos de bases totais envolvidas, e têm uma taxa de mutação por locus maior do que SNPs (LOCKE et al., 2006). Desta forma, a análise e caracterização sistemática das CNVs melhoram a compreensão da variação genética e é uma ferramenta importante para determinar o papel das CNV na herdabilidade de características complexas (LIU et al., 2013). Com a diversidade de

abordagens e opções de análise é importante estudar o método é mais adequado para as necessidades específicas de cada experimento.

A compreensão da base genética das diferenças nas características produtivas e funcionais em bovinos tem grande importância econômica e biológica. No entanto, relativamente poucos estudos têm investigado CNVs em bovinos (IBEAGHA-AWEMU, et al. 2008, BICKHART et al., 2012), principalmente em zebuínos. Dessa forma, o conhecimento de como os CNVs contribui para a variação fenotípica de características de importância econômica em bovinos ainda é pouco conhecido, quando comparado com humanos e outros organismos-modelo. Em função do limitado número de estudos e da crescente busca por produtos de melhor qualidade e mais saudáveis, são indispensáveis o desenvolvimento de trabalhos que utilizam informações genômica visando estudar a arquitetura genética da característica e melhorar a qualidade da carne em bovinos da raça Nelore. Considerando a herdabilidade dos CNVs e as suas elevadas taxas de mutação, é possível que CNVs estejam associados ou afetar as características economicamente importantes sob seleção recente (BICKHART et al., 2012). Além disto, é importante implementar metodologias de seleção que incluam informações genômicas para a aplicação dos resultados nas condições de produção de carne do Brasil, particularmente, devido tanto a diferenças genéticas, como ambientais (clima e manejo) dos rebanhos em relação aos de outros países de clima temperado, em que essas informações genômicas já vêm sendo obtidas e utilizadas nas avaliações genéticas.

Neste sentido o objetivo do presente estudo foi identificar regiões no genoma de bovinos da raça Nelore que apresentam variações no número de cópias (CNV:

Copy Number Variation) e estudar a associação genética entre os CNVs com características quantitativas e qualitativas da carne, sendo elas: força de cisalhamento, área de olho de lombo, marmoreio, intensidade de cor a\*, intensidade de cor b\* e luminosidade, bem como avaliar diferentes métodos de detecção de CNVs.

## **2.Revisão de Literatura**

A carne bovina é considerada um alimento altamente nutritivo, sendo uma fonte importante de proteínas, micronutrientes e vitaminas do complexo B, porém a mesma apresenta um alto teor de gordura com composição indesejável, como alta porcentagem de ácidos graxos saturados. Nos últimos anos, as demandas dos consumidores por carne e derivados de maior qualidade com níveis reduzidos de gordura, colesterol, cloreto de sódio (NaCl), nitrito, e composição melhorada do perfil de ácidos graxos tem aumentado rapidamente em todo o mundo (SCOLLAN et al, 2006; HOCQUETTE et al, 2012; CARVALHO et al, 2013). Em específico, no caso da carne, os atributos qualitativos mais observados estão associados a palatabilidade (maciez, textura, sabor e suculência) e a aparência (cor, firmeza e marmorização), sendo estes observados por meio de características físico-químicas obtidas no músculo *Longissimus thoracis* (PINHEIRO et al., 2009).

Para compreender os atributos que influenciam a qualidade da carne é necessário primeiramente ter o conhecimento da estrutura da carne e seus constituintes básicos, bem como compreender como se dá a transformação do músculo em carne (*rigor mortis*).

## 2.1 Características quantitativas e qualitativas

### 2.1.1 Área de Olho de Lombo

A medida de área de olho de lombo (AOL) é utilizada como indicador da composição da carcaça, existindo uma correlação positiva entre elas e a porção comestível da carcaça (LUCHIARI FILHO, 2000). Segundo Silva et al. (2003), a AOL apresenta alta correlação com o rendimento de cortes nobres da carcaça.

Estudos realizados por Fernandes Júnior et al. (2016), indicaram a existência de variabilidade genética baixa para esta característica ( $h^2=0,2\pm0.1$ ) e utilizando a metodologia do single-step onde identificaram janelas SNPs que em conjunto explicaram 8,72% da variância genética desta característica. Bonin et al. (2014), compararam valores médios de DEP de touros das principais linhagens da raça Nelore no Brasil e concluíram que a utilização de touros geneticamente superiores foram capazes de acrescentar, em média,  $+0,10\text{cm}^2$  na área de olho de lombo em seus descendentes, existindo, portanto, uma variabilidade entre touros destas raças para aumento da AOL.

### 2.1.2 Intensidade de Cor

Por ser um atributo visual, a cor da carne é o primeiro critério utilizado pelo consumidor no momento da compra (MUCHENJE et al. 2009). Normalmente, os consumidores de carne bovina, mesmo que incorretamente, associam carnes de cores mais claras com animais mais jovens (KUSS et al. 2010). De acordo com Gomide et al. (2013), cor é o resultado da absorção e reflexão da luz polarizada

sobre os pigmentos de uma superfície ou alimento sendo que na carne os principais pigmentos associados com a cor são a mioglobina (Mb) e a hemoglobina (Hb), sendo a mioglobina o pigmento mais importante.

A variação na coloração dos músculos das carcaças é causada pela mioglobina presente no sarcoplasma (citoplasma) das fibras musculares, e depende de vários fatores como espécie, idade do animal, localização anatômica do músculo e sistemas de alimentação. A hemoglobina das células vermelhas traz o oxigênio para os capilares na superfície muscular, e a partir desse ponto o transporte do oxigênio para o interior da fibra é realizado pela mioglobina, ou seja, a mioglobina (vermelho púrpura) retém o oxigênio nos tecidos e transforma-se em oximioglobina que tem tonalidade vermelho brilhante, quando sofre oxidação vira metamioglobina com tonalidade vermelho marrom (LUCHIARI FILHO, 2000). Outras variáveis como condições pré-abate, estado de oxigenação e oxidação do músculo também interferem na coloração final da carne (ABRIL et al. 2001).

Pratt et al. (2013), em estudo com 10 diferentes raças bovinas (Simbrah, Simmental, Santa Gertrudis, Saller, Parthenais, Hotlander, Red Angus, Angus, Waygu, and Brahman) e observaram que as características intensidade de vermelho ( $a^*$ ) e intensidade de amarelo ( $b^*$ ) e luminosidade ( $L^*$ ) não só apresentam variabilidade genética, herdabilidades de  $0,29 \pm 0,115$ ;  $0,28 \pm 0,120$  e  $0,09 \pm 0,087$ , respectivamente, como também foram moderadamente correlacionadas com a maciez da carne. Tal fato indica que as características de intensidade de cor podem responder a seleção, como também auxiliam na seleção indireta de características de interesse econômico, como é o caso da maciez.

### 2.1.3 Maciez

Muitos são os efeitos relacionados à variação na maciez, dentre eles estão fatores *ante mortem* ou intrínsecos ligados à genética/raças, sexo do animal, alimentação, idade ao abate, comprimento do sarcômero, presença e quantidade de tecido conjuntivo, deposição de gordura intramuscular (marmorização) e fatores *post mortem* ou extrínsecos como estimulação elétrica, rigor mortis, temperatura de resfriamento, tempo de maturação da carcaça, além dos efeitos causados pela ação de enzimas proteolíticas nas fibras musculares (BELEW et al., 2003). Segundo Gomide et al. (2013), músculos que apresentam um feixe de fibras grande, envoltos por tecido conectivo são ditos de textura grosseira, ou seja, possuem menor maciez.

Animais zebuínos apresentam maiores concentrações calpastatina no músculo quando comparado aos taurinos o que destaca a menor maciez na carne desses animais (WHEELER et al., 1990). Tal fato é confirmado em pesquisas que demonstram que a maior concentração de calpastatina na estrutura da carne de zebuínos, contribui na redução da maciez da carne deste genótipo em relação aos taurinos (SILVEIRA et al., 2009), da mesma forma, Rübensam et al., (1998) comprovaram atividade de calpastatina elevada no músculo do gado zebuíno, o que acarreta na inibição da ação das calpaínas, diminuindo a degradação das proteínas miofibrilares durante o processo de maturação reduzindo assim a maciez. As calpaínas são enzimas naturalmente presentes nos músculos de todas as espécies animais, como o sistema enzimático responsável pela degradação das proteínas musculares (proteólise), que conduz à tenderização da carne. Tal sistema é formado pelas calpaínas I e II, ativadas pelo cálcio livre. Entretanto, estas enzimas têm sua atividade proteolítica controlada por inibidor, também naturalmente presente nos

músculos, denominado calpastatina. Esta impede que as calpaínas degradem as proteínas musculares por ocasião da estocagem das carcaças. A atividade de calpastatina nos músculos de animais explica grande parte das diferenças de maciez observadas entre diferentes espécies animais, principalmente entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*.

Estudos têm demonstrado que à medida que aumenta a proporção de sangue dos *Bos taurus indicus* nos cruzamentos, aumentam os coeficientes de dureza da carne e maior será a variabilidade nesta maciez, ressaltando que o uso de raças zebuínas (*Bos indicus*) é largamente empregado para produção de carne no Brasil e em outros países de clima tropical e subtropical (KOOHMARAIE et al., 1990; WHEELER et al., 1991; EMPRAPA, 2000).

Quando comparado à mestiços *Bos taurus*, animais zebuínos, como o Nelore, apresentam qualidade inferior de carcaça e carne, conforme determinado por escores de marmoreio e força de cisalhamento realizados por Pereira et al., (2014). Estes mesmos autores também demonstraram que existe uma variabilidade fenotípica considerável para características de carne e carcaça dentro da raça Nelore onde vários reprodutores têm uma proporção de sua progênie comparável em termos de maciez de carne aos de Angus. Esta variabilidade também foi confirmada por Baldi et al. (2013) e Ferriani et al. (2013).

Em estudo com animais da raça Nelore, Tiziotto et al. (2013), descobriram que características de qualidade da carne são principalmente influenciadas por QTLs de pequeno efeito e que nenhuma genes de grande efeito, como a CAPN1 e CAST foram detectados, indicando que a ausência destes genes nos zebus podem ser a causa da diferença de maciez entre as raças taurina e zebuína.

#### 2.1.4 Marmoreio

Outra característica importante para a qualidade de carne é o marmoreio, associado principalmente à palatabilidade e suculência. Animais de origem zebuína normalmente apresentam baixo índice de marmorização, sendo necessário o aprimoramento dessa característica (FERNANDEZ et al., 1999, MAGOLSKI et al., 2013). A suculência e o sabor da carne estão relacionados com a gordura entremeada (a marmorização), a qual aumenta com a idade e o acabamento do animal. Estas características são influenciadas pelos mesmos fatores que afetam o rendimento de carcaça do animal, isto é: a idade, o genótipo, o sexo, o uso de anabolizantes, e a alimentação (Sainz et al., 2001). A marmorização está diretamente relacionada à palatabilidade e a suculência da carne (STRONG, 2004; PLATER et al., 2003). Contudo, a carne de animais de raças zebuínas é nutricionalmente mais saudável em comparação com a carne de animais das raças taurinas, e quando consumida em quantidades moderadas não deveria trazer problemas à saúde humana (HUERTA-LEIDENZ et al., 1993 e 1996; PERRY et al., 1998; ROSSATO et al., 2010). Neste sentido, em estudo de estimação de correlações genéticas entre perfil de ácidos graxos com características de qualidade da carne em animais da raça Nelore, Feitosa et al. (2016), indicaram que a seleção de animais para aumentar o nível de gordura entremeada no músculo *Longissimus thoracis* (marmoreio) pode diminuir a qualidade alimentar e nutricional da carne de animais da raça Nelore. Isto é, a seleção para aumentar o nível de gordura entremeada pode causar a diminuição da concentração de ácidos graxos poliinsaturados e as séries ômega 3 e ômega 6, benéficos à saúde e aumentará os níveis de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, que são prejudiciais.

Riley et al. (2002), Smith et al. (2007) e Tonussi et al. (2015) relataram herdabilidades de 0.37, 0.44 e 0,28 respectivamente, para marmoreio em animais *Bos indicus*. Deve-se notar que essa característica não pode ser medida diretamente no animal a ser selecionado e, portanto, não estão sujeitos a seleção direta. Estudo realizado por Magalhães et al. (2016) realizaram análises de GWAS para as características de maciez e marmoreio, demonstraram a existência de variabilidade genética para o marmoreio ( $h^2=0.1\pm0.07$ ), onde as janelas de SNP encontradas explicaram 3,89% da variância genética aditiva para esta característica. O estudo dessas regiões no gado Nelore é o primeiro passo na identificação de mutações causais que contribuirão para a avaliação genética da raça.

## **2.2 Genômica na Qualidade da Carne**

### *2.2.1. Breve histórico*

O sequenciamento do genoma bovino trouxe a descoberta de milhares de marcadores genéticos do tipo SNP (polimorfismos de base única), além do desenvolvimento de subconjuntos SNP que podem caracterizar o genoma bovino com uma maior abrangência e a um menor custo (MATUKUMALLI et al., 2009). Nos últimos anos, o foco da comunidade científica no estudo de polimorfismos de base única (SNP) para avaliar a variação genética em bovinos tem promovido o uso da genotipagem utilizando arranjos com milhares de loci espalhados por todo o genoma (por exemplo, Illumina High-Density Bovine BeadChip com 777.000 SNP informativos). Com este tipo de arranjo é possível genotipar centenas de indivíduos para milhares de marcadores a um custo acessível. A descoberta dos CNVs no

genoma de bovinos (LIU et al., 2008; MATUKUMALLI et al., 2009; FADISTA et al., 2010), junto ao seu potencial em provocar variações em características economicamente importantes, torna-se um fator importante para a predição dos valores genéticos, pois captura os efeitos dos CNV sobre o fenótipo. As informações obtidas nos arranjos de SNPs permitem que os CNVs sejam investigados em estudos de larga escala.

### *2.2.2 Variação no número de cópias (CNVs)*

Os CNVs mostraram ser importantes em explicar a variabilidade fenotípica de características produtivas bem como a susceptibilidade a doenças (FEUK et al., 2006; ZHANG et al., 2009). São definidos como um segmento de DNA que tem 1 kb ou mais de comprimento e está presente em um número de cópias variáveis em comparação com o genoma de referência (FEUK et al., 2006). Variações genômicas estruturais são compostas principalmente de variações no número de cópias (CNV) na forma de inserções e deleções de grande escala, bem como inversões e translocações (SCHERER et al. 2007). Historicamente, estas variações genômicas (inserções, duplicações, deleções, inversões e translocações de DNA), conhecidas por estarem presente em genomas de animais, eram consideradas eventos raros e muitas vezes associadas com doenças (BRIDGES, 1936; LEJEUNE et al., 1959). Este conceito mudou em 2004, quando dois grupos de pesquisadores publicaram os primeiros mapas do genoma de cópia número variação em indivíduos aparentemente saudáveis (SEBAT et al., 2004; IAFRATE et al., 2004). As informações obtidas nos arranjos de SNPs permitem que os CNVs sejam investigados em estudos de larga escala.

Várias estratégias para testar a associação de CNVs com a variação fenotípica têm sido propostas, porém cada estratégia pode ser dividida em duas fases (BREHENY et al., 2012). Na primeira fase, chamada de teste de CNV ou fase I (CNV calling), consiste em estimar o número de cópias presentes em todos os segmentos do genoma para cada indivíduo. Já, na fase II consiste em realizar um teste de associação genética em cada segmento para o qual existe variabilidade no número de cópias. Recentemente, Breheny et al. (2012) discutiram várias abordagens estatísticas para a realização de estudos de associação genética utilizando as variações no número de cópias como marcadores. Os autores relataram que a utilização de CNVs nos estudos de associação tem maior poder de detectar associações em comparação com a utilização de marcadores únicos (SNP), especialmente quando os CNVs envolveram segmentos longos e em baixa frequência.

### *2.2.3 Metodologias aplicadas*

Existem várias técnicas para mensurar a variação no número de cópias, incluindo o conjunto de hibridização genômica comparativa e sequenciamento de próxima geração (BREHENY et al., 2012). Diversas ferramentas utilizadas para a detecção de CNV, que foram originalmente desenvolvidas para o arranjo de CGH, têm sido modificados para análises de arranjos com SNP. No entanto, esses métodos normalmente não consideram informação de BAF, que é a fonte preferida de dados utilizada para detectar CNV com dados de SNP. Inicialmente, as matrizes SNP foram projetadas para genotipar milhares de SNPs em todo o genoma simultaneamente. Suas aplicações agora se expandiram para incluir a detecção

CNV usando informações adicionais, como o sinal de hibridação da sonda em cada chip individual (XU et al., 2013). Em comparação com o método de alta resolução de arranjos comparativos genômicos de hibridização (*array CGH: array-comparative genomic hybridization*), os painéis ou arranjos com milhares de SNP é um método que detecta alterações no número de cópias ao nível de 5-10 kb, e têm a vantagem de proporcionar para os dois alelos as intensidades normalizadas (relação Log R - LRR), a relação das intensidades alélicas (frequência do alelo B - BAF) e uma melhor estimativa da perda de heterozigose (LOH), tornando a detecção CNV mais robusta. Vários algoritmos são capazes de detectar CNVs a partir da intensidade do sinal fluorescente dos arranjos de SNPs. Cicconardi et al. (2013) aplicaram os dois algoritmos mais comumente usados para a identificação de CNVs, os implementados no software QuantiSNP (COLELLA et al., 2013) e PennCNV (WANG et al., 2007), para investigar a presença de CNVs no genoma de cinco raças *Bos taurus*.

Vários mapas de CNV para bovinos foram construídos utilizando diferentes métodos (FADISTA et al., 2010; BAE et al., 2010; LIU et al., 2010; HOU et al., 2011; BICKHART et al., 2012) e técnicas para medir a variação no número de cópias, incluindo o conjunto de hibridização genômica comparativa e sequenciamento de próxima geração (BREHENY et al., 2012). Em comparação com o método de alta resolução de arranjos comparativos genômicos de hibridização (*array CGH: array-comparative genomic hybridization*), os painéis ou arranjos com milhares de SNP é um método que detecta alterações no número de cópias ao nível de 5-10 kb, e têm a vantagem de proporcionar para os dois alelos as intensidades normalizadas (relação Log R - LRR), a relação das intensidades alélicas (frequência do alelo B - BAF) e

uma melhor estimativa da perda de heterozigose (LOH), tornando a detecção CNV mais robusta.

Comparado com polimorfismos de nucleotídeo de base única (SNPs), os CNVs envolvem mais sequências genômicas e têm efeitos potencialmente maiores, incluindo mudanças na estrutura do gene e na dosagem, alternando a regulação gênica, e expondo alelos recessivos (ZHANG et al., 2009; WEISCHENFELD et al., 2013). Estudos em humanos e ratos descobriram que os CNVs capturam entre 18 a 30% da variação genética (HENRICHSEN et al., 2009). Dessa forma, os microarranjos de CNV permitem a exploração do genoma para fontes de variabilidade capazes de explicar o forte componente genético de vários fenômenos de interesse econômico além do que os SNPs explicam. Principalmente por representam mais diferenças entre indivíduos, em termos de bases totais envolvidas, e têm uma taxa de mutação por locus maior do que SNPs (LOCKE et al., 2006). Desta forma, a análise e caracterização sistemática das CNVs melhoram a compreensão da variação genética e é uma ferramenta importante para determinar o papel das CNV na herdabilidade de características complexas (LIU et al., 2013).

Com a diversidade de abordagens e opções de análise é importante para decidir sobre qual método é mais adequado para as necessidades específicas de cada experimento. Os CNVs mostram ser funcionalmente ativos em seres humanos (KADRI et al., 2012). Os mesmos são responsáveis por alterações fenotípicas, alterando a dosagem do gene e as sequências codificantes além de modificar a regulação gênica (STRANGER et al., 2007).

Alguns estudos têm identificado regiões de CNVs no genoma de bovinos, Liu et al. (2008) utilizaram três touros Holstein e identificaram 25 CNVs por meio de

arranjos comparativos genômicos de hibridização (CGH array). Recentemente, foi relatado, um levantamento sistemático mais amplo de CNV em 90 bovinos com CGH, onde foram identificados mais de 200 CNV (LIU et al., 2010). Fadista et al. (2010) informou recentemente 304 regiões de CNV em 20 animais de quatro raças bovinas utilizando arranjos comparativos genômicos de hibridização (CGH array). Além de experimentos de arranjos de CGH, novas evidências de CNV no genoma de bovinos surgiram a partir dos resultados de genotipagem, onde a partir de amostras do Consórcio HapMap bovina (mais de 500 animais de várias raças bovinas), onde foram identificadas 79 deleções candidatas (MATUKUMALLI et al., 2009). Hou et al. (2011) reanalisaram os dados de genotipagem do consórcio do Bovine HapMap e identificaram 682 regiões de CNV em 521 animais de 21 raças diferentes, cobrindo 139,8 Mb (~ 4,60%) do genoma. Um estudo recente relatou 368 regiões de CNV em 265 bovinos Hanwoo coreano utilizando dados de genotipagem baseados no BovineSNP50 (Bae et al., 2010).

#### *2.2.4 Estudos de associação com CNVs*

As CNVs mostraram ser importantes para explicar a variabilidade fenotípica em muitos animais domésticos, como vacas, cavalos, porcos, ovelhas, galinhas, coelhos e cachorros. Fontanesi et.al. (2010), trabalharam com ovinos de diferentes raças utilizando raças e identificaram regiões de CNVs em comum entre os animais e após compararem com CNVRs outras espécies (bovinos e caprinos) observaram sobreposições significativas. Ainda em estudos com ovinos, Liu et.al. (2013), analisaram os CNVs do genoma de 3 raças diferentes utilizando o Ovine SNP50

BeadChip, onde relataram novas descobertas que auxiliaram a compreensão do genoma ovino.

Fadista et al. (2010) e Sessouri et al., (2010), compararam diferentes algoritmos para detectar CNVs em bovinos e concluíram que a combinação dos métodos possibilitou a detecção mais sensível e facilitou a identificação possíveis de seus efeitos na genética bovina. Contudo, salientaram que metodologias anteriormente aplicadas no gado possuem limitações, indicando que ainda são necessários maiores estudos para a padronização dos métodos de detecção de CNVs e seus possíveis efeitos sobre características de interesse econômico. Jiang et al.,(2013), demonstraram que o uso de matriz SNP de alta densidade pode melhorar significativamente a precisão e a sensibilidade das chamadas CNV e que integrar de diferentes plataformas pode melhorar a detecção de variantes de estrutura genômica em bovinos Duan et al. (2013) e Cicconardi et al. (2013) realizaram estudos comparativos entre diferentes métodos de detecção de CNVs em bovinos e demonstraram que a avaliação das performances dos métodos de detecção de CNVs podem auxiliar os pesquisadores a escolher o melhor método e estabeleceram bases para testar a influência das CNVs em características funcionais e de produção do *Bos Taurus*.

Nos últimos anos vários estudos de associação com CNVs e características de produção e qualidade de carne em bovinos Nelore foram realizados. Silva et al. (2016) em estudo de associação de CNVs com maciez da carne de bovinos Nelore, encontraram um total de 1,155 CNVR que se sobrepuseram em 2,750 genes, que foram enriquecidos em processos envolvendo guanoserossulfato (GTP), previamente relatados por influenciar a fisiologia e morfologia do músculo

esquelético. Além disso, duas CNVRs foram identificadas próxima dos genes do metabolismo da glutathione que foi previamente associado à maciez da carne. Em outro estudo também em Nelores, Zhou et al. (2016) realizaram GWAS entre as CNVs detectadas e características de crescimento e identificaram sobreposto em uma das regiões significativas o gene KCNJ12, um candidato funcional para o desenvolvimento muscular e desempenha papéis críticos em características de musculatura. Em estudo de associação entre as regiões de variação do número de cópias (CNVR) e fenótipos de perfil de ácidos graxos, Lemos et al. (2016) utilizaram o mesmo banco de dados do presente estudo e detectaram um grande número de CNVRs e após a prospecção de genes para estas regiões foram identificados genes associados ao perfil de ácidos graxos que ajudaram a compreender o mecanismo genético que influencia o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular no gado Nelore.

### **3.Referências Bibliográficas**

STRANGER BE, et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. **Science**, v.315, p. 848–853, 2007.

ABRIL, M.; CAMPO, M. M.; ÖNENÇ, A.; SAÑUDO, C.; ALBERTÍ, P.; NEGUERUELA, A. I. Beef Colour evolution as a function of ultimate pH. **Meat Science**, v.58, p.69-78, 2001.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2015.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2016.

BAE, J.S.; CHEONG, H.S.; KIM, L.H.; NAMGUNG, S.; PARK, T.J.; CHUN, J.Y.; KIM, J.Y.; CHARISSE, F.A.; LEE, J.S.; SHIN, H.D. Identification of copy number variations and common deletion polymorphisms in cattle. **BMC Genomics**, v.11, p.232, 2010.

BALDI F, ESPIGOLAN R, OLIVEIRA HN, SOUZA FP, GORDO DG, MAGALHÃES AFB, ALBUQUERQUE LG (2013) Genetic parameter estimates for carcass and meat traits in Poll Nellore cattle. In ‘Fifty-ninth international congress of meat science and technology, 2013, Izmir’. (Elsevier: Amsterdam).

BARROS, C. M.; PEGORER, M. F.; VASCONCELOS, J. L.; EBERHARDT, B. G.; MONTEIRO, F. M. Importance of sperm genotype (indicus versus taurus) for fertility and embryonic development at elevated temperatures. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 210-218, 2006.

BELEW, J. B.; BROOKS, J. C.; MCKENNA, D. R.; SAVELL, J. W. Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. **Meat Science**, Texas, v. 64, n.4, p. 507-512, 2003.

BICKHART, D.M.; HOU, Y.; SCHROEDER, S.G.; ALKAN, C.; CARDONE, M.F.; MATUKUMALLI, L.K.; SONG, J.; SCHNABEL, R.D.; VENTURA, M.; TAYLOR, J.F.; GARCIA, J.F.; VAN TASSELL, C.P.; SONSTEGARD, T.S.; EICHLER, E.E.; LIU, G.E. Copy number variation of individual cattle genomes using next-generation sequencing. **Genome Research**, v.22, p.778-790, 2012.

BONIN, M.N.; FERRAZ, J.B.S.; ELER, J.P.; SILVA, S.L.; REZENDE, F.M.; CUCCO, D.C.; CARVALHO, M.E.; SILVA, R.C.G.; OLIVEIRA, E.C.M. Carcass and meat quality traits in lineages of Nellore breed. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.10, p.1860-1866, 2014.

BRAZ, C. U. Detecção de QTL para maciez da carne em bovinos da raça Nelore. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2016.

BREHENY, P., CHALISE, P., BATZLER, A., WANG, L., FRIDLEY, B.L. Genetic Association Studies of Copy-Number Variation: Should Assignment of Copy Number States Precede Testing? **PLoS ONE**, v.7, n.4, p.e34262, 2012.

BRIDGES CB: The Bar "gene" duplication. **Science**. v.83, n.210-11, 1936.

BURROW, H.M.; MOORE, S.S.; JOHNSTON, D.J.; BARENDSE, W.; BINDON, B.M. Quantitative and molecular genetic influences on properties of beef: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.41, p.893–919, 2001.

CARVALHO, C.B.; MADRONALL, G. S.; CORRADINEL, S.S.; RECHEL, P.M.; POZZA, M.S.S. PRADO; I.N. Evaluation of quality factors of bovine and chicken meat marinated with reduced sodium content. **Food Sci. Technol**, Campinas, v.33, n.4, p.776-783, 2013.

CASTRO, L. M.; MAGNABOSCO, C. U.; SAINZ, R. D.; FARIA, C. U.; LOPES, F. B. Quantitative genetic analysis for meat tenderness trait in Polled Nellore cattle. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, p. 393-402, 2014.

CHAMPREDONDE, M.; VITROLLES, D.; CASABIANCA, F. Y CERDAN, C. 2014. La Pampa como indicación geográfica para diferenciar carnes vacunas em Argentina y en Brasil: motivaciones y limitantes. **Agroalimentaria**, v.20, p.35-52.

CICCONARDI, F.; CHILLEMI, G.; TRAMONTANO, A.; MARCHITELLI, C.; VALENTINI, A.; AJMONE-MARSAN, P.; NARDONE, A. Massive screening of copy number population-scale variation in *Bos taurus* genome. **BMC Genomics**, v.14, n.1, p. 124, 2013.

COLELLA, S.; YAU, C.; TAYLOR, J.M.; MIRZA, G.; BUTLER, H.; CLOUSTON, P.; BASSETT, A.S.; SELLER, A.; HOLMES, C.C.; RAGOISSIS, J. QuantiSNP: an Objective Bayes Hidden-Markov Model to detect and accurately map copy number variation using SNP genotyping data. **Nucleic Acids Research**, v.35, p.25, 2013.

CUNDIFF LV (2004) Breeds and genetics. In 'Encyclopedia of animal science'. (Eds WG Pond, AW Bell) pp. 800–830. (Ithaca: Cornell)

DUAN, J.; ZHANG, J-G.; DENG, H-W., WANG, Y-P. Comparative Studies of Copy Number Variation Detection Methods for Next-Generation Sequencing Technologies. **PLoS ONE**, v.8, n.3, p.e59128, 2013.

EMBRAPA. Maturação da carne. Bagé - RS: Curso - Qualidade da carne e dos produtos cárneos, 2000a. pág. 27 a 38.

FADISTA, J.; THOMSEN, B.; HOLM, L.E.; BENDIXEN, C. Copy number variation in the bovine genome. **BMC Genomics**, v.11, p.284, 2010.

FARIA, C. U.; LÔBO, R. B.; MAGNABOSCO, C. U.; DIAS, F. J. S.; SAENZ, E. A. C. Impactos da pesquisa científica no melhoramento genético de bovinos de corte para qualidade da carne. **Pubvet**, v. 2, n. 31, 2008.

FERNANDEZ, X. et al. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat - 2. Consumer acceptability of m. Longissimus lumborum. **Meat Science**, v. 53, n. 1, p. 67–72, 1999.

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

FERRIANI, L.; ALBUQUERQUE, L.G.; BALDI, F.; VENTURINI, G.; BIGNARDI, A.B.; SILVA, J.A.V.; CHUD, T.C.S.; MUNARI, D.P.; OLIVEIRA, J.A. Parâmetros genéticos de características de carcaça e de crescimento de bovinos da raça Nelore. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, p.123–129, 2013

FEUK, L.; CARSON, A.R.; SCHERER, S.W. Structural variation in the human genome. **Natural Reviews Genetics**, v.7, p.85-97, 2006.

FREEMAN, J.L.; PERRY, G.H.; FEUK, L.; REDON, R.; MCCARROLL, S.A.; ALTSHULER, D.M.; ABURATANI, H.; JONES, K.W.; TYLER-SMITH, C.; HURLES, M.E.; CARTER, N.P.; SCHERER, S.W.; LEE, C. Copy number variation: new insights in genome diversity. **Genome Res**, v.16, p.949-961, 2006.

FERNANDES JUNIOR, G.A.; COSTA, R.B.; CAMARGO, G.M.F.; CARVALHEIRO, R.; ROSA, G.J.M.; BALDI, F.; GARCIA, D.A.; GORDO, D.G.M.; ESPIGOLAN, R.; TAKADA, L.; MAGALHAES, A.F.B.; BRESOLIN, T.; FEITOSA, F.L.B.; CHARDULO, L.A.L.; OLIVEIRA, H.N.; ALBUQUERQUE, L.G. Genome scan for postmortem carcass traits in Nellore cattle. **J. Anim. Sci.**, v.94, p. 4087-4095, 2016

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 82- 83, p. 349-360, 2004.

HENRICHSEN, C.N.; VINCKENBOSCH, N.; ZOLLNER, S.; CHAIGNAT, E.; PRADERVAND, S.; SCHUTZ, F.; RUEDI, M.; KAESMANN, H.; REYMOND, A. Segmental copy number variation shapes tissue transcriptomes. **Nat Genet**, v.41, p.424-429, 2009.

HOCQUETTE, J. F.; BOTREAU, R.; PICARD, B.; JACQUET, A.; PETHICK, D. W.; SCOLLAN, N. D. Opportunities for predicting and manipulating beef quality. **Meat Science**, v. 92, p. 197-209, 2012.

HOU, Y.; LIU, G.E.; BICKHART, D.M.; CARDONE, M.F.; WANG, K.; KIM, E.; MATUKUMALLI, L.K.; VENTURA, M.; SONG, J.; VANRADEN, P.M.; SONSTEGARD, T.S.; VAN TASSELL, C.P. Genomic characteristics of cattle copy number variations. **BMC Genomics**, v.12, p.127, 2011.

HUERTA-LEIDENZ, N.O.; CROSS, H.R.; SAVELL, J.W.; LUNT, D.K.; BAKER, J.F.; PELTON, L.S. et al. Comparison of the fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from mature Brahman and Hereford cows. **J Anim Sci**, v.71, p.625–630, 1993.

HUERTA-LEIDENZ, N.O.; CROSS, H.R.; SAVELL, J.W.; LUNT, D.K.; BAKER, J.F.; SMITH, S.B. Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue from male calves at different stages of growth. **J Anim Sci**, v.4, p.1256–1264, 1996.

IAFRATE, A.J.; FEUK, L.; RIVERA, M.N.; LISTEWNİK, M.L.; DONAHOE, P.K.; QI, Y.; SCHERER, S.W.; LEE, C: Detection of large-scale variation in the human genome. **Nat Genet**, v. 36, p.949-951, 2004.

IBEAGHA-AWEMU, E.M.; KGWATALALA, P.; IBEAGHA, A.E.; ZHAO, X. A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. **Mammalian Genome**, v.19, p.226-245, 2008.

JIANG, L.; JIANG, J.C.; YANG, J.; LIU, X.; WANG, J.Y.; WANG, H.F.; DING, X.D.; LIU, J.F.; ZHANG, Q: Genome-wide detection of copy number variations using high-density SNP genotyping platforms in Holsteins. **BMC Genomics**, v.14, p.131, 2013.

KADRI, N.K.; KOKS, P.D.; MEUWISSEN, T.H.E. Prediction of a deletion copy number variant by a dense SNP panel. **Genetics Selection Evolution**, v.44, p.7, 2012.

KOOHMARAIE, M.; WHIPPLE, G.; CROUSE, J. D. Acceleration of postmortem tenderization in lamb and brahman cross beef carcasses through infusion of calcium chloride. **Journal animal science**, v. 68, n.5, p. 1278 - 1283, 1990.

KUSS, F.; LÓPEZ, J.; RESTLE, J.; BARCELLOS, J. O. J.; MOLETTA, J. L.; LEITE, M. C. C. P. Qualidade da carne de novilhos terminados em confinamento e abatidos aos 16 ou 26 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.:924-931, 2010.

LEJEUNE, J.; GAUTIER, M.; TURPIN, R: Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children. **C R Hebd Seances Acad Sci**, v.248, p.1721-1722, 1959.

LIU, G.E.; HOU, Y.; ZHU, B.; CARDONE, M.F.; JIANG, L.; CELLAMARE, A.; MITRA, A.; ALEXANDER, L.J.; COUTINHO, L.L.; DELL'AQUILA, M.E.; GASBARRE, L.C.; LACALANDRA, G.; LI, R.W.; MATUKUMALLI, L.K.; NONNEMAN, D.; REGITANO, L.C.; SMITH, T.P.; SONG, J.; SONSTEGARD, T.S.; VAN TASSELL, C.P.; VENTURA, M.; EICHLER, E.E.; MCDANELD, T.G.; KEELE, J.W. Analysis of

copy number variations among diverse cattle breeds. **Genome Research**, v.20, p.693-703, 2010.

LIU, G.E.; VAN TASSELL, C.P.; SONSTEGARD, T.S.; LI, R.W.; ALEXANDER, L.J.; KEELE, J.W.; MATUKUMALLI, L.K.; SMITH, T.P.; GASBARRE, L.C. Detection of germline and somatic copy number variations in cattle. In *Animal Genomics for Animal Health Dev Biol.* v.132. Edited by: Pinard M-H, Gay C, Pastoret PP, Dodet B. Basel: Karger; p. 231-237, 2008.

LIU, J.; ZHANG, L.; LINGYANG, X.; HANGXING, R.; LU, ZHANG, X.; ZHANG, S.; ZHOU, X.; WEI, C.; ZHAO, F.; DU, L. Analysis of copy number variation in the sheep genome using 50K SNP BeadChip array. **BMC Genomics**, v.14, p.229, 2013.

LOCKE, D.P.; SHARP, A.J.; MCCARROLL, S.A.; MCGRATH, S.D.; NEWMAN, T.L.; CHENG, Z.; SCHWARTZ, S.; ALBERTSON, D.G.; PINKEL, D.; ALTSHULER, D.M.; et al. Linkage disequilibrium and heritability of copy-number polymorphisms within duplicated regions of the human genome. **Am. J. Hum. Genet.**, v.79, p.275-290, 2006.

LUCHIARI FILHO, A. *Pecuária da carne bovina*. São Paulo: LinBife, p.134, 2000.

MAGALHÃES, A. F. B.; CAMARGO, G. M. F.; FERNANDES, G. A.; GORDO, D. G. M.; TONUSSI, R. L.; COSTA, R. B. ; ESPIGOLAN, R.; SILVA, R. M. DE O. ; BRESOLIN, T.; DE ANDRADE, W. B. F.; TAKADA, L.; FEITOSA, F. L. B.; BALDI, F.; CARVALHEIRO, R.; CHARDULO, L. A. L.; ALBUQUERQUE, L. G. Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in Nellore Cattle. **Plos One**, v. 11, 2016.

MAGOLSKI, J. D. et al. Relationship between commercially available DNA analysis and phenotypic observations on beef quality and tenderness. **Meat Science**, v. 95, n. 3, p. 480–5, 2013.

MATUKUMALLI, L.K.; LAWLEY, C.T.; SCHNABEL, R.D.; TAYLOR, J.F.; ALLAN, M.F.; HEATON, M.P.; O'CONNELL, J.; MOORE, S.S.; SMITH, T.P.L.; SONSTEGARD, T.S. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. **PLoS One**, v.4, p. e5350, 2009.

MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; STRYDOM, P. E.; HUGO, A.; RAATS, J. G. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v.112, p.279-289, 2009.

PARMIGIANI, P.; TORRES, R. Para além da rastreabilidade. **Revista Nacional da Carne**, v.33, n.391, p.8-15, 2009.

PEREIRA, A.S.C.; BALDI, F.; SAINZ, R.D.; UTEMBERGUE, B.L.; CHIAIA, H.L.J.; MAGNABOSCO, C.U. et al. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Anim Prod Sci**, v.55, n10, p.295–1302, 2014.

PERRY, D.; NICHOLLS, P.J.; THOMPSON, J.M. The effect of sire breed on the melting point and fatty acid composition of subcutaneous fat in steers. **J Anim Sci**, v.76, p.87–95, 1998.

PINHEIRO, R.S.B.; SILVA SOBRINHO, A.G.S.; SOUZA, H.B.A. et al. Qualidade de carnes provenientes de cortes da carcaça de cordeiros e de ovinos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.9, p.1790-1796, 2009.

PLATER, W.J.; TATUM, J.D.; BELK, K.E.; CHAPMAN, P.L.; SCANGA, J.A.; SMITH, G.C.; Relationships of consumers sensory ratings, marbling score, and shear

force value to consumer acceptance of beef striploin steaks, **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.81, p.2741-2750, 2003.

PRATT, P. J.; MOSER, D. W.; THOMPSON, L. D.; JACKSON, S. P.; JOHNSON, B. J.; GARMYN, A. J. AND MILLER; M. F. The heritabilities, phenotypic correlations, and genetic correlations of lean color and palatability measures from longissimus muscle in beef cattle. **J. Anim. Sci**, v.91, p.2931–2937, 2013.

REDON, R.; ISHIKAWA, S.; FITCH, K.R.; FEUK, L.; PERRY, G.H.; ANDREWS, T.D.; FIEGLER, H. et al. Global variation in copy number in the human genome. **Nature**, v.444, p.444-454, 2006.

RILEY, D.G.; CHASE, C.C. JR.; HAMMOND, A.C.; WEST, R.L.; et al. Estimated genetic parameters for carcass traits of Brahman cattle. **J. Anim. Sci.** v.80, p.955-962, 2002.

ROSSATO, L.V.; BRESSAN, M.C.; RODRIGUES, E.C.; GAMA, L.T.; BESSA, R.J.B.; ALVES, S.P.A. Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. **Rev Bras Zootec**, v.39, n.5, p.127–1134, 2010.

RUBENSAN, J.M.; FELÍCIO, P.E. de; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo Bos indicus na atividade de calpastatina e na textura do cerne de novilhos abatidos no Sul do Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.18, n.4, p.405-409, 1998.

SAINZ, D.; ARAÚJO, F. R. C. Tipificação de Carcaças de bovinos e suínos, 1º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. In: Carne: Qualidade e Segurança para os consumidores do Novo Milênio, v.26, p.470, 2001.

SCHERER, S.W.; LEE, C.; BIRNEY, E.; ALTSHULER, D.M.; EICHLER, E.E.; CARTER, N.P.; HURLES, M.E.; FEUK, L. Challenges and standards in integrating surveys of structural variation. **Natural Genetics**, v.39, p.S7-S15, 2007.

SCOLLAN, N.; HOCQUETTE, J.F.; NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; RICHARDSON, I.; MONOLEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 17-33, 2006.

SEBAT, J.; LAKSHMI, B.; MALHOTRA, D.; TROGE, J.; LESE-MARTIN, C.; WALSH, T., et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. **Science**, v.316, p.445-449, 2007.

SEROUSSI, E.; GLICK, G.; SHIRAK, A.; YAKOBSON, E.; WELLER, J.I.; EZRA, E.; ZERON, Y. Analysis of copy loss and gain variations in Holstein cattle autosomes using BeadChip SNPs. **BMC Genomics**, v.11, p.673, 2010.

SHARP, A.J; LOCKE, D.P.; MCGRATH S.D.; CHENG, Z.; BAILEY, J.A.; VALLENTE, R.U., et al. Segmental Duplications and Copy-Number Variation in the Human Genome. **Am. J. Hum. Genet**, v.77, p.78-88, 2005.

SILVA, V.H.D.; REGITANO, L.C.D.A.; GEISTLINGER, L.; PÉRTILLE, F.; GIACHETTO, P.F.; BRASSALOTI, R.A. et al. Genome-Wide Detection of CNVs and Their Association with Meat Tenderness in Nelore Cattle. **PLoS ONE** v.11, n.6, p. e0157711, 2016.

SILVA, S.L. et al. Correlações entre características de carcaça avaliadas por ultra-som e pós-abate em novilhos Nelore, alimentados com altas proporções de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1236-1242, 2003.

SILVEIRA, M.F.; BRONDANI, I.L.; ARBOITTE M.Z.; ALVES FILHO, D.C.; RESTLE, J.; PIZZUTI, L.A.D.; LUZ, T.R.R.; RETORI, M. Composição física da carcaça e qualidade da carne de novilhos Charolês e Nelore que receberam diferentes proporções de concentrado na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.61, n.2, p.467-474, 2009.

SMITH, T.; DOMINGUE, J.D.; PASCHAL, J.C.; FRANKE, de BIDNERTD.; WHIPPLEG. Genetic parameters for growth and carcass traits of Brahman steers. **Journal of Animal Science**, v.85, p.1377–1384, 2007.

STRANGER, B.E.; FORREST, M.S.; DUNNING, M.; INGLE, C.E.; BEAZLEY, C.; THORNE, N., et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. **Science**, v.315, p.848-853, 2007.

STRONG, J. Differences on carcass grading schemes used in the USA, JAPAN and Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Brisbane, v.44, p.675-680, 2004.

TIZIOTO, P.C.; DECKER, J.E.; TAYLOR, J.F.; SCHNABEL, R.D.; MUDADU, M.A.; SILVA, F.L.; MOURÃO, G.B.; COUTINHO, L.L.; THOLON, P.; SONSTEGARD, T.S.; ROSA, A.N.; ALENCAR, M.M.; TULLIO, R.R.; MEDEIROS, S.R.; NASSU, R.T.; FEIJÓ, G.L.D.; SILVA, L.O.C.; TORRES, R.A.; SIQUEIRA, F.; HIGA, R.H.; REGITANO, L.C.A. A genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. **Physiol Genomics**, v.45, n.21, p. 1012-1020, 2013.

TONUSSI, R.L., ESPIGOLAN, R.; GORDO, D.G.M.; MAGALHÃES, A.F.B.; VENTURINI, G.C.; BALDI, F.; et al. Genetic association of growth traits with carcass and meat traits in Nellore cattle. **Genet. Mol. Res**; v.14, n.4, p.18713– 18719, 2015.

TUZUN, E.; SHARP, A.J.; BAILEY, J.A.; KAUL, R.; MORRISON, V.A.; PERTZ, L.M. et al. Fine-scale structural variation of the human genome. **Science**, v.304, p.581-584, 2004.

WANG, K.; LI, M.; HADLEY, D.; LIU, R.; GLESSNER, J.; GRANT, S.F.; HAKONARSON, H.; BUCAN, M. PennCNV: an integrated hidden Markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data. **Genome Res**; v.17, n.11, p.1665-1674, 2007

WEISCHENFELDT, J.; SYMMONS, O.; SPITZ, F.; KORBEL, J.O. Phenotypic impact of genomic structural variation: insights from and for human disease. **Nat Rev Genet**, V.14, p.125-138, 2013.

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

WHEELER, T. L.; SAVELL, J. W.; CROOS, H. R. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 12, p.4206-4220, 1990.

XU, L.; HOU, Y.; BICKHART, D M.; SONG, J.; LIU G E. Comparative Analysis of CNV Calling Algorithms: Literature Survey and a Case Study Using Bovine High-Density SNP Data. **Microarrays**, v. 2, p.171-185, 2013.

ZHANG, F.; GU, W.; HURLES, M.E.; LUPSKI, J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. **Annu Rev Genom Hum G**, v.10, p.451-81, 2009.

ZHANG, F.; GU, W.; HURLES, M.E.; LUPSKI, J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. **Annual Reviews of Genomics and Human Genetics**, v.10, p.451-481, 2009.

ZHOU, Y.; UTSUNOMIYA, Y.T.; XU, L.; HAY EL H.A.; BICKHART, D.M.; SONSTEGARD, T.S.; VANTASSELL C.P.; GARCIA J.F.; LIU G.E. Comparative analyses across cattle genders and breeds reveal the pitfalls caused by false positive and lineage-differential copy number variations. **Sci Rep**. v.6 n.6, p.29219, 2016.

## **Capítulo 2. Estudo de diferentes métodos para a detecção de regiões com variações no número de cópias (CNVRs) em uma população de bovinos Nelore.**

**Resumo:** Este estudo teve como objetivo explorar diferentes metodologias para avaliar a detecção de CNVs em uma população de bovinos da raça Nelore. Foram utilizados entre 3974 animais da raça Nelore terminados em confinamento. Para a genotipagem dos animais foi utilizado um painel com 777.962 SNP do BovineSNP BeadChip (High-Density Bovine BeadChip). Para a detecção de CNVs foram testados dois diferentes softwares, sendo eles: PennCNV que por meio de um algoritmo, baseado nos modelos ocultos de Markov identifica os CNVs, incorpora múltiplas fontes de informação a partir dos dados de cada SNP, a distância entre SNPs vizinhos e a frequência alélica de cada SNP na população. Após a detecção das CNVs, elas foram utilizadas para a determinação dos CNVRs utilizando o software CNVRuler; e o Golden Helix SVS 8.3.0, que emprega um poderoso algoritmo de segmentação chamado Método de Análise de Número de Cópia (CNAM) usando programação dinâmica para detectar CNVs herdadas e de novo em uma base por amostra (univariada) e multi-amostra (multivariada). A fim de avaliar o desempenho dos softwares, os resultados obtidos após a identificação dos CNVRs em ambos os softwares foram sobrepostos para determinar as regiões que se sobrepõem, possibilitando avaliar a eficácia de cada um deles. Para isso utilizamos software "BEDTools". Após busca através do algoritmo PennCNV, um total de 13.765 CNVs foram identificados, com comprimento médio de médio porte 185.640,68bp, com um máximo de 4.395.339bp e um mínimo de 50.001bp. e mostraram um total de 982 CNVR distribuídas em todos os 29 cromossomos da população sob estudo. Após a realização da segmentação, no software Golden Helix SVS 8.3.0 um total de 788 segmentos de CNVs foram identificados, estes foram submetidos a um controle de qualidade que exclui segmentos maiores de 5Mb e com frequência menor de 5%, restando 189 segmentos de CNV com comprimento médio de médio porte 704.786 bp, com um máximo de 4.972.890 bp e um mínimo de 775 bp. Após a sobreposição das regiões encontradas em ambos os softwares podemos observar um total de 43 regiões concordantes entre eles. A diferença metodológica entre os softwares pode ser a causa da diferença de CNVR detectados em ambos os métodos. Os grupos funcionais enriquecidos significativos foram relacionados a funções de ligações de ATP, bem como estruturas das membranas celulares e resposta do sistema imunológico. A presença de genes do tipo LOC também é bastante interessante, pois estes são genes os quais ainda não foram confirmadas sua função biológica, necessitando de mais estudos para a determinação da mesma. O estudo de diferentes algoritmos na detecção de CNVRs pode divergir dependendo das plataformas e metodologias aplicadas em cada software, como foi observado no presente estudo. A sobreposição dos mesmos nos fornece maior confiabilidade na detecção de regiões de CNVs. No presente estudo apenas foram detectadas as CNVRs, sem associa-las com fenótipos de interesse, acreditamos que o enriquecimento dos genes em regiões sobrepostas já associadas a fenótipos de interesse poderá fornecer informações úteis nos estudos de

associação, viabilizando um ponto de partida mais confiável para a validação dos resultados.

**Palavras-chave:** algoritmos, Golden Helix SVS, pennCNV sobreposição de CNVRs.

## **1.Introdução**

A descoberta das variações no número de cópias (CNV) no genoma de bovinos (LIU et al., 2008; MATUKUMALLI et al., 2009; FADISTA et al., 2010), junto ao seu potencial em identificar variações em características de interesse econômico, tornou-se uma importante ferramenta para a predição dos valores genéticos, pois captura efeitos sobre o fenótipo e possibilita explicar a variabilidade fenotípica de características produtivas bem como a susceptibilidade a doenças. Caracterizada pelo ponto de quebra do loci (pontos de início e terminação), cópias de comprimento simples e número de cópias, referindo-se a duplicações ou deleções em segmentos de DNA maiores de 1 kb (FREEMAN et al., 2006), a variação no número de cópias (CNV, do inglês Copy number variation), conquistou o interesse em estudos genômicos.

Diversas ferramentas utilizadas para a detecção de CNV, que foram originalmente desenvolvidas para os arranjos comparativos genômicos de hibridização (CGH), têm sido modificadas para análises de arranjos com SNP. Em sua maioria, os métodos não consideram informação da frequência do alelo B (BAF), que é a principal fonte de dados utilizada na detecção de CNV a partir de informações de SNP. Inicialmente, as matrizes SNP foram projetadas para genotipar milhares de SNPs em todo o genoma simultaneamente. Suas aplicações agora se expandiram para incluir a detecção de CNV usando informações adicionais, como o sinal de hibridação da sonda em cada chip individual (XU et al., 2013). Vários

mapas de CNV para bovinos foram construídos utilizando diferentes métodos (FADISTA et al., 2010; BAE et al., 2010; LIU et al., 2010; HOU et al., 2011; BICKHART et al., 2012) e técnicas para medir a variação no número de cópias, incluindo o conjunto de hibridização genômica comparativa e sequenciamento de próxima geração (BREHENY et al., 2012). Em comparação com o método de alta resolução de arranjos CGH, os painéis ou arranjos com milhares de SNP detectam alterações no número de cópias ao nível de 5 a 10 kb, e têm a vantagem de proporcionar para os dois alelos as intensidades normalizadas (relação Log R - LRR), a relação das intensidades alélicas (frequência do alelo B - BAF) e uma melhor estimativa da perda de heterozigose (LOH), tornando a detecção CNV mais robusta.

Comparado aos SNPs, os CNVs envolvem mais sequências genômicas e têm efeitos potencialmente maiores, incluindo mudanças na estrutura do gene e na dosagem, alternando a regulação gênica, e expondo alelos recessivos (ZHANG et al. 2009). Dessa forma, os microarranjos de CNV permitem a exploração do genoma para fontes de variação capazes de explicar o forte componente genético de vários fenômenos de interesse econômico além do que os SNPs explicam. Principalmente por representam mais diferenças entre indivíduos, em termos de bases totais envolvidas, e têm uma taxa de mutação por locus maior do que SNPs (LOCKE et al., 2006). As análises de estrutura populacional baseadas em CNVs humanas revelam resultados amplamente consistentes com aqueles baseados em SNP de similar número (JACKOBSSON et al., 2008). Por exemplo, com base em matrizes de genótipos híbridas, até 90% das CNVs humanas podem ser reveladas pela investigação integrada de SNPs (McCARROL et al., 2008). Desta forma, a análise e

caracterização sistemática das CNVs melhoram a compreensão da variação genética e é uma ferramenta importante para determinar o papel das CNV na herdabilidade de características complexas (LIU et al., 2013).

Para este estudo, foram abordados em detalhe os softwares PennCNV e o Golden Helix SNP & Variation Suite (SVS) (Genetic Association Software). O primeiro é um programa desenvolvido com base no “Hidden Markov Models” (HMM) de livre acesso (COLELLA et al., 2005; WANG et al., 2007) que integra diferentes fontes de informação, incluindo o LRR e o BAF em cada marcador SNP, a distância entre marcadores SNPs vizinhos e a frequência alélica dos SNPs.

Frente a diversidade de abordagens e opções de análise para detecção de CNVs é importante avaliar os métodos disponíveis a fim de verificar suas particularidades e como se adequam às necessidades específicas de cada experimento, com o objetivo de aumentar a precisão da análise e eliminar a ocorrência de CNVs falsos positivos. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo explorar diferentes softwares para avaliar diferenças na detecção de CNVs em uma população de bovinos da raça Nelore.

## **2. Material e Métodos**

### *2.1 Animais e informações de manejo*

Foram utilizados 3974 animais (1751 machos e 2223 fêmeas) da raça Nelore terminados em confinamento, com aproximadamente 24 meses de idade, provenientes de fazendas localizadas nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-

oeste, pertencentes a quatro programas de melhoramento (DeltaGen, Paint, Nelore Qualitas e Cia do Melhoramento). Os dados para as análises propostas seguiram o esquema de um teste de progênie, seguindo a estrutura já existente em programas de melhoramento em grandes populações, que permitem que a base fique estruturada em famílias de meios-irmãos.

A estação de nascimento dos bezerros se concentram de agosto a outubro e de novembro a janeiro, e os animais são desmamados em média aos sete meses de idade. Os animais são criados em sistema de pastagem, com lotação variando de 1,2 a 1,6 UA/ha, utilizando forrageiras do gênero *Brachiaria* sp e *Panicum* sp, com sal mineral à vontade. Após o sobreano, os animais que não foram selecionados para reprodutores permanecem no confinamento por um período de no mínimo 90 dias e posteriormente são destinados para o abate.

## 2.2 Genotipagem dos animais

Para a genotipagem dos animais foi utilizado um painel com 777.962 SNPs do BovineSNP BeadChip (High-Density Bovine BeadChip). Foi realizada a limpeza e o controle de qualidade dos marcadores SNPs, excluindo àqueles com posição genômica desconhecida. Ainda foram retirados marcadores que apresentaram intensidade média do “cluster” baixa.

## 2.3 Identificação de CNV

O processo de identificação dos CNVs foi realizado a partir dos dados gerados pela genotipagem dos animais pelo software GenomeStudio 1.0, o qual analisou cada SNP em particular. Os principais parâmetros utilizados para a

estimação das CNVs são: Log R Ratio (LRR) e o B *Allele Frequency* (BAF). O valor de R normalizado foi utilizado como uma representação de intensidade de sinal de cada SNP plotado. O valor de Log R Ratio então foi calculado a partir da intensidade de sinal esperada normalizada de uma amostra e intensidade observada. A frequência do alelo B (BAF) foi calculado a partir da diferença entre a posição esperada do grupo de clusters e o valor real (WINCHESTER et.al, 2009).

Para a detecção de CNVs foram avaliados dois diferentes softwares, sendo eles: PennCNV que por meio de um algoritmo, baseado nos modelos ocultos de Markov identifica os CNVs, incorpora múltiplas fontes de informação a partir dos dados de cada SNP, a distância entre SNPs vizinhos e a frequência alélica de cada SNP na população (WANG et al., 2007; WANG et al., 2008) e o Golden Helix SVS 8.3.0, que emprega um poderoso algoritmo de segmentação chamado Método de Análise de Número de Cópia (CNAM) usando programação dinâmica para detectar CNVs herdadas e de novo em uma base por amostra (univariada) e multi-amostra (multivariada).

### 2.3.1 PennCNV

Para a detecção das CNVs no PennCNV, primeiramente foi realizada a limpeza dos dados para o conteúdo de guanina citosina de 1Mb das regiões genômicas que circundam cada marcador (500kb de cada lado). As CNVs foram inferidas utilizando o modelo “Hidden Markov” através do PennCNV. Após a detecção das CNVs foram excluídas regiões contendo menos de 10 SNPs por região e aplicados filtros para controle de qualidade onde foram excluídas amostras com desvio padrão para razão log R (LRR) > 0,35; frequência do alelo B (BAF) > 0,01 e valor “waves factor” entre -0,05 e 0,05 (Liu et. al, 2013). Além disso, amostras

contendo mais de 90 CNVs e CNV com tamanho menor que 1kb e maior que 5 Mb foram excluídas.

As regiões dos CNV's (CNVRs) foram geradas pela sobreposição dos CNVs obtidos em cada tratamento e identificados em todas as amostras pelo programa CNVRuler (Kim et al., (2012). Foi adicionalmente utilizada a opção "*Gain/Loss separated regions*", que compila a região baseando-se no genótipo (ganho ou perda de número de cópias) ao invés de compor as regiões ignorando o tipo de evento. Sobreposições de CNVRs duplicações e deleções foram unidas em regiões únicas para considerar as regiões genômicas em que ambos os eventos podem ocorrer ("*mixed*" CNVRs). Para avaliar a localização das CNVR, foi utilizada a ferramenta Ensembl Biomart tool com o genoma referência UMD3.1 reference genome assembly.

### 2.3.2 SVS

Analizamos CNVs no chip Illumina BovineHD utilizando o módulo de número de cópia (CNAM) no software Helix SVS (Golden Helix SVS 8.3.0). No módulo CNAM foi lido o arquivo com valores de intensidade, onde foi realizada a normalização em intensidades pobres, dividindo a intensidade média da sonda de todos os chips como referência e criando " $\log_2\text{ratio}$ " dos números das cópias. Foram utilizadas as opções de algoritmos multivariados utilizados as segmentações com uma janela em movimento de 10.000 marcadores por janela, um máximo de 15 segmentos cada 10.000 marcadores, um mínimo de 3 marcador por segmento, um nível de significância de 0,01 para a permutação "pair-wise". A segmentação multivariada é o algoritmo utilizado para a descoberta simultânea de CNVs.

A saída do SVS, obtida após a segmentação dos CNVs, “*three states covariates*” foi utilizada para identificar os CNVs como três tipos (deleções, neutro e duplicações) em todas as amostras, para isso foi aplicado um limite comparativamente rigoroso (média do segmento 0.35).

#### *2.4 Sobreposição dos softwares*

A fim de avaliar o desempenho dos softwares, os resultados obtidos após a identificação dos CNVRs em ambos os softwares foram sobrepostos para determinar as regiões que se sobrepõe, possibilitando avaliar a eficácia de cada um deles. Para isso utilizamos software “BEDTools”, composto por múltiplas ferramentas para comparar e explorar conjuntos de dados genômicos através de tarefas fundamentais de "arquitetura genômica" (QUINLAN & HALL., 2010).

### **3. Resultados e Discussão**

Após busca realizada pelo algoritmo PennCNV, um total de 13.765 CNVs foram identificados, com comprimento médio de médio porte 185.640,68bp, com um máximo de 4.395.339bp e um mínimo de 50.001bp. Os CNVs originados do PennCNV foram utilizados para a determinação dos CNVRs utilizando o CNVRuler, e mostraram um total de 982 CNVR distribuídas em todos os 29 cromossomos da população sob estudo. Essas CNVR correspondem a aproximadamente 5,9% do comprimento total do genoma bovino (UMD\_3.1). Considerando o total de CNVRs obtidas a partir das CNVs identificadas anteriormente, 41,03% foram caracterizadas como regiões de inserção de números de cópias, 37,27% como deleção e 21,7% com ambos os eventos na mesma região (inserção e deleção). Uma descrição geral

das CNVRs encontrados por cromossomo utilizando ambos os métodos podem ser observados na Tabela 1.

Em estudos que utilizaram o PennCNV na detecção das CNVRs foram observados resultados diferentes do presente estudo Hou et al., (2011) encontraram 682 CNVRs em 539 bovinos de corte, as quais apresentaram tamanho médio de 204.9kb. Silva et al., (2016) utilizaram a mesma densidade de marcadores deste trabalho e uma população de 1.509 animais da raça Nelore, identificaram um total de 68,007 CNVs (56.239 inserções e 11.768 deleções) e utilizando o “*Java-Merging Copy Number Variants*” (JM-CNV) foram extraídos 7,319 CNVRs (2,306 inserções, 212 deleções e 4,801 “mixed”). Cicconardi et al. (2013), utilizaram o PennCNV e basearam-se no BovineSNP50 BeadChip em um estudo com cinco raças italianas diferentes de bovinos. Detectaram 1.522 amostras CNV equivalentes a 27,52% das regiões de inserção e 75,29% das regiões de deleção.

Para o software Helix SVS (Golden Helix SVS 8.3.0) foi empregado o algoritmo de segmentação chamado Método de Análise de Número de Cópia (CNAM) que aproxima regiões de variação no número de cópias encontradas em todo genoma através de segmentos localizados, com alta probabilidade, onde existirem regiões de perda de número de cópias, neutras ou ganhos nos dados. Após a realização da segmentação, um total de 788 CNVRs foram identificados, estes foram submetidos a um controle de qualidade que exclui segmentos maiores de 5Mb e com frequência menor de 5%, restando 189 segmentos de CNV com comprimento médio de médio porte 704.786 bp, com um máximo de 4.972.890 bp e um mínimo de 775 bp.

Em estudo também com animais da raça Nelore Zhou et al. (2016), onde avaliaram 2230 animais utilizando o BovineHD BeadChip para a detecção de CNVRs. Estes utilizaram o método multivariado do software Golden Helix SVS, como no presente estudo e extraíram 992,350 CNVRs que após passarem por um controle de qualidade restaram 231 CNVRs com alta confiabilidade com comprimento variando de 894 bp a 4.855.088 bp, foram selecionados para futuras análises de associação com características de produção. Xu et al., 2016, utilizaram a mesma metodologia de detecção, porém avaliaram diferentes raças bovinas onde encontraram um total de 155.700 segmentos CNV e após aplicar filtrar os CNVs com frequência acima de 1%, para eliminar possíveis falsos positivos, um total de 257 CNVs (comprimento médio de 48,4 kb) foram definidos.

Os tamanhos médios dos CNVR por cromossomos estão demonstrados na tabela 1. Nota-se que o tamanho médio dos CNVRs para o SVS (~60Kb) foi menor do que os encontrados no PennCNV (~162kb). O mesmo pôde ser observado no estudo de Xu et al. (2013), onde comparando os mesmos softwares e também utilizando dados de alta densidade bovina, observaram os CNVRs identificados no SVS (~20kb) menores que os encontrados no PennCNV (~40kb). Esses mesmos autores observaram que PennCNV e SVS dividem 24,88% ou 60 Mb em comprimento e 13,74% em contagem, esses resultados se mostraram consistentes ao serem comparado à um recente estudo com autismo humano (Matsunami et al., 2013).

Após a sobreposição das regiões encontradas em ambos os softwares podemos observar um total de 43 regiões concordantes entre eles (Figura 1). Ao contrário do que foi constatado no presente estudo, Xu et al., (2016), num estudo

com 300 indivíduos para a descoberta da CNV, incluindo Holstein, Angus, Hereford, Brown Swiss, Brahman, Nelore, N ' Dama e Sheko, obtiveram de 160 CNVR concordantes (61%), ao avaliarem o mesmo conjunto de dados utilizando o PennCNV o que indicou uma alta qualidade dos resultados obtidos pelo SVS. Esta alta concordância entre os softwares pode ser devido ao fato de que 75% das CNVs que identificamos foram bem marcadas por SNPs flanqueados que foram estimados em estudos anteriores (XU et al., 2014).

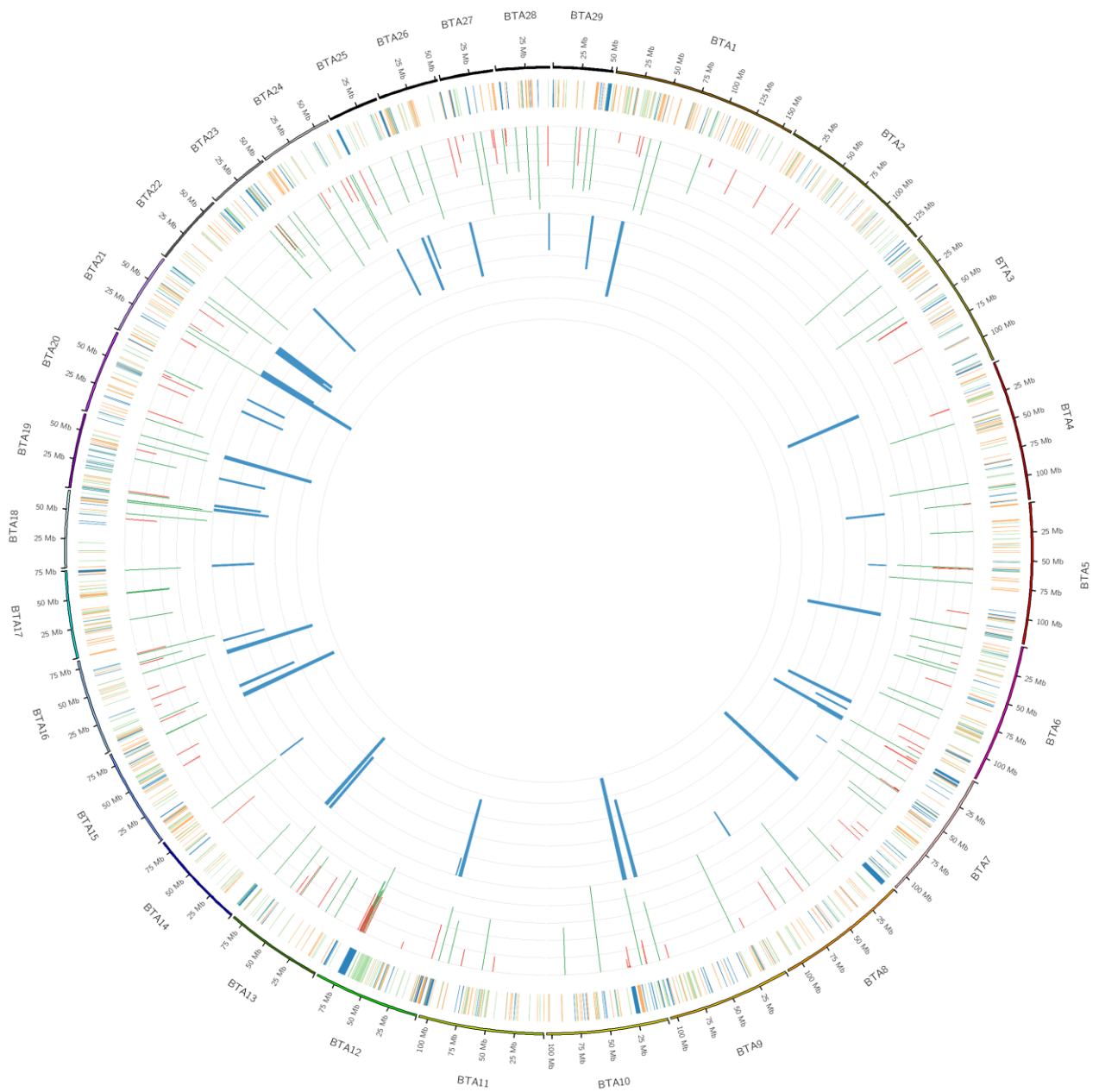


Figura 1. Mapa circular das regiões de CNVs dos cromossomos gerado pelo software Circos. De fora para dentro temos: nome do cromossomo; Localização genômica (em Megabases); Barras representando as regiões CNV (deleções em verde, inserções laranja e “mixed” em azul) para o software PennCNV; Barras representando as regiões de CNV (representado em verde os segmentos de CNVs presentes em mais de 50% da população; e em vermelho os segmentos de CNVs presentes em menos de 50% da população) para o software Golden Helix SVS; Histograma da sobreposição dos softwares de acordo com o tamanho em kb (barras em azul).

Tabela 2. Descrição do número total, comprimento médio (kb), mínimos (kb), máximos (kb) e desvio padrão (kb) das CNVRs por cromossomo detectadas nos softwares PennCNV e Golden Helix SVS.

| PennCNV |     |         |        |          |          |     |     |      | SVS |          |       |           |          |
|---------|-----|---------|--------|----------|----------|-----|-----|------|-----|----------|-------|-----------|----------|
| Crs     | N   | Media   | Min    | Max      | DP       | Dup | Del | Mix* | N   | Media    | Min   | Max       | DP       |
| 1       | 69  | 101796  | 52955  | 277327   | 51064.3  | 34  | 27  | 8    | 8   | 39512    | 2303  | 190994    | 4939     |
| 2       | 46  | 109715  | 51121  | 524936   | 84232.7  | 18  | 21  | 7    | 4   | 6448     | 1319  | 9916      | 1612     |
| 3       | 47  | 125581  | 50708  | 820615   | 139241   | 19  | 15  | 13   | 6   | 104593   | 9741  | 422401    | 17432.16 |
| 4       | 46  | 137898  | 50846  | 1397945  | 211797.5 | 23  | 14  | 9    | 5   | 6718     | 1794  | 12792     | 1343.6   |
| 5       | 44  | 165062  | 50153  | 1021765  | 164105.2 | 21  | 12  | 11   | 8   | 83316    | 11598 | 242315    | 10414.5  |
| 6       | 53  | 109602  | 50366  | 796675   | 114628.8 | 20  | 23  | 10   | 10  | 8761     | 2392  | 15879     | 876.1    |
| 7       | 43  | 210945  | 50869  | 1732447  | 305608.6 | 17  | 11  | 15   | 15  | 71359    | 4798  | 323144    | 4757.26  |
| 8       | 33  | 223100  | 50203  | 4395339  | 750686   | 14  | 14  | 5    | 6   | 13145    | 3552  | 38824     | 2190.83  |
| 9       | 45  | 150304  | 52642  | 1517953  | 225747.3 | 17  | 16  | 12   | 4   | 5428     | 774   | 10098     | 1357     |
| 10      | 35  | 275839  | 53083  | 3397927  | 608392.3 | 14  | 10  | 11   | 9   | 256036   | 2131  | 1699713   | 28448.4  |
| 11      | 39  | 184306  | 50297  | 1405109  | 260164.2 | 17  | 14  | 8    | 5   | 1281     | 3538  | 22388     | 256.2    |
| 12      | 57  | 275874  | 50101  | 4601125  | 669016   | 11  | 32  | 14   | 14  | 286684   | 1203  | 956089    | 20477.92 |
| 13      | 22  | 100099  | 50022  | 293216   | 59126.5  | 9   | 11  | 2    | 9   | 15605    | 2738  | 48409     | 1733.88  |
| 14      | 33  | 134554  | 50860  | 1335715  | 224660.7 | 12  | 16  | 5    | 3   | 8276     | 5095  | 13996     | 2758.66  |
| 15      | 55  | 150557  | 50460  | 966040   | 156949.2 | 28  | 17  | 10   | 3   | 78056    | 6887  | 160184    | 26018.66 |
| 16      | 25  | 161148  | 50062  | 708061   | 171084.4 | 7   | 14  | 4    | 9   | 10310    | 1714  | 31028     | 1031     |
| 17      | 38  | 179808  | 51214  | 1805844  | 315172.3 | 20  | 13  | 5    | 5   | 133380   | 3269  | 254709    | 33345    |
| 18      | 17  | 172950  | 52434  | 585607   | 152356.7 | 6   | 6   | 5    | 4   | 46730    | 3108  | 133254    | 11682.5  |
| 19      | 35  | 99788   | 50379  | 324601   | 59761    | 10  | 14  | 11   | 6   | 10461    | 3576  | 23719     | 1743.5   |
| 20      | 29  | 118651  | 50297  | 651775   | 120327.3 | 13  | 8   | 8    | 6   | 7004     | 1547  | 16461     | 1167.33  |
| 21      | 29  | 156565  | 50285  | 848821   | 191585.5 | 13  | 10  | 6    | 7   | 16661    | 3175  | 63468     | 2380.14  |
| 22      | 19  | 132588  | 50878  | 382147   | 95378.6  | 11  | 6   | 2    | 1   | 8542     | -     | -         | 8542     |
| 23      | 25  | 242398  | 52310  | 1485025  | 338147.7 | 8   | 9   | 7    | 8   | 19390    | 8499  | 26869     | 2423.75  |
| 24      | 15  | 114697  | 50393  | 507286   | 121844.1 | 5   | 8   | 2    | 9   | 5488     | 1631  | 10059     | 609.77   |
| 25      | 13  | 293217  | 54278  | 1785596  | 509428.1 | 5   | 5   | 3    | 3   | 18685    | 9137  | 36614     | 6228.33  |
| 26      | 23  | 120514  | 51302  | 285225   | 73486.1  | 10  | 9   | 4    | 3   | 3518     | 1353  | 5541      | 1172.66  |
| 27      | 14  | 172880  | 54803  | 744901   | 210469.3 | 7   | 4   | 3    | 6   | 8619     | 2109  | 24546     | 1436.5   |
| 28      | 17  | 158264  | 53304  | 1013682  | 229823   | 9   | 5   | 3    | 9   | 37156    | 1431  | 131179    | 4128.44  |
| 29      | 17  | 301655  | 53651  | 1464771  | 425372.3 | 7   | 4   | 6    | 4   | 7664     | 2590  | 16312     | 1916     |
| Total   | 982 | 162.898 | 50.022 | 460.1125 | 307635.5 | 403 | 366 | 213  | 189 | 60.599,6 | 774   | 1.699.713 | 13335.2  |

Dup: Duplicações; Del: Deleções; Mix: Mixed (eventos contendo duplicações e deleções);

O método utilizado pelo PennCNV, univariado, avalia cada amostra separadamente, enquanto que método multivariado, utilizado pelo SVS, avalia todas as amostras simultaneamente e detecta apenas segmentos que são iguais em todas as amostras, ou seja, faz uma avaliação populacional dos segmentos de CNVs (Apêndice 1). Tal diferença metodológica pode ser a causa da diferença de CNVR detectados em ambos os métodos, pois no SVS pode haver uma subestimação das regiões de CNV, não considerando regiões que não são comuns a todos os animais, mas que podem conter genes importantes ao associar com fenótipos.

Breheny et al. (2012), confirmaram que o método univariável, tem maior poder para detectar associações envolvendo CNVs grandes e raras, enquanto o método multivariável, tem maior poder para detectar associações envolvendo CNVs pequenas e comuns. Resultados semelhantes, o mesmo foram observados por Xu et al. (2016) onde constataram que o método multivariado tende a detectar as deleções comuns com tamanhos pequenos relativos em múltiplas amostras. Vários trabalhos recentes propuseram desenvolver métodos capazes de reunir informações simultaneamente em ambos os marcadores e amostras para estudos de detecção e associação da CNV (LI et al., 2008; YANG et al., 2008; BALADANDAYUTHAPANI et al., 2010; NOWAK et al., 2011; GLESSNER et al., 2013).

Acredita-se que a grande maioria dos CNVs na prole são herdados dos pais (LOCKE et al. 2006), portanto, a fração de CNVs inferida na prole, mas não detectada em pais (CNV-NDPs) pode ser usada como uma medida para identificar falsos-positivos e falsos-negativos, que influenciam os resultados das análises de detecção de CNVs. Em estudo, Wang et al. (2007), apontaram a importância de se usar a herança mendeliana para validação dos resultados e detecção precisa das

CNVs, pois em análise comparativa com diferentes algoritmos de detecção de CNV, estes autores indicaram que independentemente da plataforma ou critérios de avaliação, as taxas de falso-positivos e falsos-negativos são altas.

Os resultados publicados em estudos de CNVs são rapidamente atualizados, devido ao desenvolvimento de novas plataformas e ferramentas utilizadas para a detecção dos mesmo, tal fato dificulta a comparação destes. Além disso, a falta de uma abordagem padrão para coletar os dados, a falta de amostras de referência padronizadas (SCHERER et al., 2007) e dependendo de qual método de detecção foi utilizado, causa diferenças de resultados (Winchester et al., 2009; Pinto et al., 2011). As metodologias atuais, que inferem variações no número de cópias a partir de dados SNP, englobam uma série de áreas onde os erros podem ser introduzidos, com viés no momento da detecção (CASTELLANI et al., 2014; REDON et al., 2006). Uma série de fatores podem influenciar a precisão da detecção da CNV, como o ponto de interrupção, incluindo os efeitos do lote, a estratificação da população, as diferenças experimentais e a robustez do modelo estatístico (DELLINGER et al., 2010).

A descrição das regiões sobrepostas e o enriquecimento dos genes para as mesmas estão descritos na tabela 2. Os grupos funcionais enriquecidos significativos foram relacionados a funções de ligações de ATP, bem como estruturas das membranas celulares e resposta do sistema imunológico. A presença de genes do tipo LOC também é bastante interessante, pois estes são genes os quais ainda não foram confirmadas sua função biológica, necessitando de mais estudos para a determinação da mesma. Em um estudo realizado anteriormente por Lemos et al., (2016), utilizando o mesmo banco de dados do presente estudo e o

software PennCNV para a detecção dos CNVs e CNVRs, após o enriquecimento genético das regiões detectadas, foram identificados genes cujas funções estão envolvidas em processos biológicos que podem estar relacionados à adaptação ambiental da subespécie a áreas tropicais, tais como regulação da vasodilatação, resposta do sistema imunológico, morfogênese do folículo capilar. Este estudo confirmou a existência de grandes variações estruturais no genoma do gado de Nelore.

Tabela 2. Descrição das regiões sobrepostas entre os softwares PennCNV e Golden Helix SVS.

| Crs | Região              | Genes                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 31702857-35346805   | LOC785410, CADM2, LOC781699, LOC781295                                                                                                                                                                                                                          |
|     | 93730576-93819471   | LOC100335418                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 3   | 117736834-121396898 | SFPQ, ZMYM1, ZMYM6, LOC618247, DLGAP3, C3H1ORF212, GJA4, GJB3, GJB4, LOC100296560, LOC541065, HMGB4, LOC100140781, LOC786680, ZSCAN20, EFHD1, KCNJ13, GIGYF2, NGEF, INPP5D, ATG16L1, SAG, DGKH, USP40, UGT1A6, LOC528549, UGT1A1, LOC785990, LOC100138072, SPP2 |
| 4   | 118892385-120786530 | MLL3, LOC618575, LOC100295303, XRCC2, ACTR3B, LOC789764, LOC509941, DPP6                                                                                                                                                                                        |
|     | 58441130-59367842   | LOC785078, LRIG3, LOC100140875                                                                                                                                                                                                                                  |
| 5   | 117648683-121179132 | Rpl3, MAP3K7IP1, ATF4, SGSM3, MIR2439, MCHR1, SLC25A17, ST13, MIR1281, L3MBTL2, MIR2441, TOB2, POLR3H, NHP2L1, MIR33A, SEPT3, WBP2NL, NAGA, FAM109B, C5H22orf32, NDUFA6, MGC152344, CYP2D14, MIR2442, POLDIP3, CYB5R3, ARFGAP3, PACSIN2, TSPO, TTLL12           |
| 6   | 106549601-109879641 | SPARCL1, DSPP, LOC781752, LOC781835, MAN2B2, PPP2R2C, LOC617028, JAKMIP1, LOC615433, CRMP1, EVC, LOC100335423, EVC2, LOC100335445, EVC2, STK32B, MSX1, CYTL1, STX18, NSG1, ZBTB49, LYAR, TMEM128, LOC614799, WDR1                                               |
|     | 117727518-119454666 | GPI7, LOC615694, PDE6B, ATP5I, LOC100335374, LOC511117, LOC510961, PCGF3, GAK, TMEM175, DGKQ, MIR2449, FGFR1, LOC787660, SPON2, CTBP1, MAEA, LOC510550, LOC789038, SLBP, TMEM129, TACC3, FGFR3, LETM1, WHSC2, LOC615222, LOC614317, HAUS3, MXD4, ZFYVE28        |
| 7   | 6270638-10005283    | F2RL3, NWD1, TMEM38A, MED26, CHERP, CALR3, EPS15L1, AP1M1, FAM32A, RAB8A, TPM4, LOC504888, OR10H1, CYP4F2, CYP4F2, RASAL3, AKAP8, ILVBL, CD97, DDX39, PKN1, DNAJB1, TECR, NDUFB7, LPHN1, ASF1B, PRKACA, IL27RA, DCAF15, CC2D1A                                  |
| 8   | 93347240-94762004   | SEMA4D, SECISBP2, CKS2, SHC3, S1PR3, LOC100140258, LOC100295433, NXNL2, SPIN1, LOC100295460, LOC100295509                                                                                                                                                       |
| 9   | 101905518-105695468 | PARK2, MIR2482, PACRG, COX6C, LOC614126, QKI, LOC100295785, LOC100336255, TRNAC-GCA, LOC782636, LOC786589, LOC783029, MGC134132, PDE10A, T, SFT2D1, BRP44L, RPS6KA2, RNASET2, LOC100336051                                                                      |
| 10  | 6829833-11732122    | IQGAP2, F2RL2, F2R, F2RL1, LOC100139762, CRHBP, MRPL23, WDR41, OTP, TBCA, AP3B1, SCAMP1, LHFPL2, ARSB, DMGDH, LOC616683, BHMT,                                                                                                                                  |

|    |                     |                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                     | LOC100336148, HOMER1, PAPD4, LOC100335924, THBS4, SERINC5, GNPAT1, PSMC6, ERO1L, STYX, TXNDC16, PTGER2, SPG21                                                                                                                                                             |
| 11 | 103513615-107282960 | METTL11A, PTGES, TOR1A, C11H9ORF78, USP20, GPR107, NCS1, ASS1, FUBP3, EXOSC2, QRFP, AIF1L, C9ORF59, PPAPDC3, POMTUCK1, LOC784457, MED27, NTNG2, TTF1, LOC617847, DDX31, C11H9ORF9, TSC1, CEL, RALGDS, GBGT1, GBGT1, PAEP, GLT6D1                                          |
| 12 | 6351-934425         | LOC100140262, LOC789865, DIAPH3                                                                                                                                                                                                                                           |
| 13 | 81071498-84229982   | LOC781180, LOC100335875, LIG4, ABHD13, TNFSF13B, MYO16, LOC785518, COL4A1, COL4A2, RAB20, CARKD, CARS2, ING1, ANKRD10, LOC784176, ARHGEF7, LOC100295009, C12H13orf16, LOC100336309                                                                                        |
| 14 | 105303-4274764      | MIR2308, LOC618766, LRRC24, RECQL4, MFSD3, GPT, NFKBIL2, CPSF1, ADCK5, DGAT1, MAF1, SHARPIN, GPAA1, EXOSC4, MIR2309, NRBP2, PUF60, LOC100138046, GSDMD, C14H8ORF55, LYNX1, GML, CYP11B1, LY6E, LY6H, MIR151, EIF2C2, CHAC1, TRAPPC9, LOC618755                            |
|    | 83223098-84628243   | ENPP2, TAF2, DSCC1, LOC783516, DEPDC6, LOC781493, MRPL13, MTBP, SNTB1                                                                                                                                                                                                     |
| 15 | 80573351-85276403   | APLNR, SLC43A3, TIMM10, UBE2L6, SERPING1, MIR130A, YPEL4, CLP1, MED19, TMX2, SELH, VN2R414P, LPXN, LPXN, LPXN, MGC179454, GAT, GLYAT, MPEG1, STX3, MRPL16, OOSP1, MS4A7, MS4A14, MS4A5, MS4A1, MS4A13, THYN1, ACAD8, B3GAT1                                               |
| 16 | 49027846-53254900   | FBLIM1, SLC25A34, PLEKHM2, AGMAT, DNAJC16, CASP9, CELA2A, CTCR, EFHD2, FHAD1, TMEM51, LOC100138014, PDPN, PRAMEF12, LOC789197, LOC520023, LOC525100, LOC789131, LOC789103, PRDX6, SLC9A11, LOC100336249, KLHL20, CENPL, DARS2, SERPINC1, RC3H1, RABGAP1L, RABGAP1L, GPR52 |
|    | 64726807-66761708   | HMCN1, LOC100138126, PRG4, TPR, LOC507724, PDC, LOC100295013, LOC100138376, PTGS2, LOC100295047, PLA2G4A, LOC515253, KCNK2, LOC100139047, LOC100335449                                                                                                                    |
| 17 | 73097901-75148791   | IL15, NDUFC1, MGC165715, PSMD9, CAMKK2, C17H12orf24, LHX5, OAS1, RPH3A, ACADS, KCTD10, CRYBB3, SF3A1, IGLL1, GSTT1, UBE2L3, LOC515651, CLDN5, SEPT5                                                                                                                       |
| 18 | 63360454-65995826   | NDUFA3, TFPT, LENG1, TMC4, TMC4, TSEN34, RPS9, ZNF444, NLRP5, ZNF667, ZNF583, ZNF582, ZIM2, MGC157368, APEG3, PEG3, ZNF304, ZNF547, ZNF773, LOC100124497, LOC509810, ZNF154, ZNF135, ZNF274, ZNF8, A1BG, RPS5, SLC27A5, CHMP2A, UBE2M                                     |
| 19 | 81083-2331441       | LOC100336388, LOC100336372, LOC790335, LOC100138219, LOC790344, LOC100297706, LOC100138652                                                                                                                                                                                |
|    | 33661015-35920605   | PMP22, TEK3, CDRT4, FAM18B, ZNF286A, LOC281370, PIGL, ADORA2B, AKAP10, ULK2, ALDH3A1, ALDH3A2, RNF112, MFAP4, MAPK7, GRAP, SLC5A10, PRPSAP2, SHMT1, TOP3A, SMCR7, LLGL1, DRG2, ATPAF2, LRRC48, TOM1L2, SREBF1, MIR33B, PEMT                                               |
|    | 59786361-64044783   | MGC128049, COG1, LOC100336033, SSTR2, SLC39A11, LOC511212, LOC100336166, KCNJ2, KCNJ16, MAP2K6, ABCA5, ABCA10, ABCA6, ABCA9, MGC134105, ARSG, LOC100336323, LOC521099, PRKAR1A, SLC16A6, AMZ2, GNA13, RGS9, LOC100336373                                                  |
| 20 | 53790701-55972882   | LOC528493, CDH12, LOC100140239, TRNAC-GCA, LOC781899, LOC781924                                                                                                                                                                                                           |
|    | 69984426-71992748   | LOC100297493, PAPD7, SRD5A1, NSUN2, MED10, LOC782211, LOC782502, ADAMTS16                                                                                                                                                                                                 |
| 21 | 29030826-33993487   | SNRPA1, CHRNA7, IDH3A, ACSBG1, DNAJA4, CRABP1, AGPHD1, PSMA4, CHRNA5, CHRNA4, UBE2Q2, FBXO22, LOC536930, ETFA, RCN2, TSPAN3, HMG20A, ODF3L1, IMP3, SNUPN, MAN2C1, MIR631, COMMD4, PPCDC, SCAMP5, COX5A, MPI, SCAMP2, CPLX3, CSK                                           |
|    | 34014073-36858130   | CYP1A1, EDC3, CLK3, ARID3B, LOC100297414, LOC100297454, UBL7, SEMA7A, CYP11A1, CCDC33, STRA6, ISLR, ISLR2, STOML1, LOXL1, CMA1, CMA1, GZMB, LOC100125946, LOC788580, LOC788601, LOC508858, GZMH, LOC617326, CTSG, LOC786228, LOC618420, STXBP6, LOC788748, NOVA1          |

|    |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | 62494209-65712870 | BCL11B, SETD3, CCNK, CCDC85C, LOC100299504, EML1, EVL, MIR342, DEGS2, LOC614244, YY1, SLC25A29, MIR345, LOC516483, WARS, WDR25, BEGAIN                                                                                                                            |
|    | 65713487-68422661 | MIR431, MIR127, MIR432, MIR136, MIR379, MIR299, MIR380, MIR1197, MIR329B, MIR494, MIR543, MIR376C, MIR376D, MIR654, MIR376B, MIR1185, MIR381, MIR487B, MIR539, MIR382, MIR485, MIR496, MIR377, MIR409, MIR412, MIR410, DIO3, MGC152337, ANKRD9, AMN               |
|    | 68438109-71573501 | LOC100296203, DIO3, PPP2R5C, MGC152337, HSP90AA1, RAGE, LOC787175, LOC616326, C1NP, ANKRD9, RCOR1, LOC783220, TRAF3, AMN, LOC526547, LOC615559, LOC509029, MARK3, CKB, LOC783910, TRMT61A, BAG5, C14orf153, KLC1, XRCC3, ZFYVE21, PPP1R13B, MIR2284K, MP68, TDRD9 |
| 22 | 58548343-61379134 | TIMP4, SYN2, ZFYVE20, MRPS25, LOC100335258, NR2C2, C22H3ORF19, GRIP2, SLC6A6, LSM3, TMEM43, BOSTAUV1R437, CHCHD4, FBLN2, HDAC11, NUP210, ACAD9, LOC785686, CCDC48, GP9, LOC617657, CNBP, COPG, MIR2374, C22H3ORF37, RAB7A, LOC100139897, RPN1, LOC783066, EEFSEC  |
|    | 25945-2484195     | HBA, PDIA2, DECR2, C25H16ORF13, C25H16orf14, RHOT2, STUB1, FBXL16, METRN, HAGHL, RPUSD1, LMF1, TEK4, UBE2I, CCSMST1, CLCN7, HN1L, NME3, SPSB3, FAHD1, RPL3L, RPS2, SYNGR3, RAB26, TRAF7, DNASE1L2, RNPS1, MIR940, ABCA3, CCNF                                     |
| 25 | 33232229-35928367 | LOC524593, GTF2IRD2, NCF1, GTF2I, MIR2387, GTF2IRD1, CLIP2, RFC2, LAT2, LIMK1, ELN, WBSCR28, LOC100296227, LOC509616, CLDN4, CLDN3, ABHD11, LOC788141, STX1A, WBSCR22, DNAJC30, VPS37D, MLXIPL, TBL2, BCL7B, BAZ1B, FZD9, FKBP6, NSUN5, LOC518768                 |
|    | 41157925-42879707 | SDK1, MIR2390, CARD11, GNA12, LOC100336233, AMZ1, C7orf27, IQCE, LOC512271, LFNG, GRIFIN, CHST12, LOC528767, EIF3B, SNX8, NUDT1, FTSJ2, MAD1L1                                                                                                                    |
| 26 | 49018290-51663776 | MGMT, LOC525353, LOC782145, MIR2397, GLRX3, LOC786293, BNIP3, JAKMIP3, DPYSL4, STK32C, LRRC27, PWWP2B, INPP5A, LOC787001, LOC514117, LOC100335341, LOC100335356, LOC518774, GPR123, LOC536342, LOC784370                                                          |
| 28 | 44448393-46248750 | LOC513740, ANUBL1, MARCH8, ALOX5, LOC520012, LOC618139, LOC521142, LOC785231, LOC615400, LOC785164, ZNF22, C28H10ORF10, RASSF4, TMEM72, LOC100141042, CXCL12, LOC100140590, LOC784617, ZNF32, ZNF239, TFAM, AGT, COG2, LOC100141022, LOC784951                    |
| 29 | 48931332-51502868 | FGF4, FGF3, ANO1, FADD, LOC787756, LOC100297748, PPFA1, CTTN, SHANK2, LOC528168, DHCR7, NADSYN1, LOC528031, LOC618771, OSBPL5, TNFRSF10A, CARS, NAP1L4, PHLDA2, SLC22A18, CDKN1C, KCNQ1, TSPAN32, ASCL2, TH, INS, IGF2, MIR483, H19                               |

O estudo das CNV permite a exploração do genoma para fontes de variabilidade auxiliares aos SNPs, capazes de explicar o forte componente genético de vários fenômenos de interesse econômico. Várias linhas de evidência também sugerem que as CNVs podem servir como um recurso genômico extra e fornecer informações importantes sobre as origens e subestruturas das populações (BERGLUND et al., 2012; REDON et al., 2006; JAKOBSSON et al., 2008; KATO et al., 2010; CAMPBELL et al., 2011; LOU et al., 2011; NARANG et al., 2014; XU et al., 2015). Além disso, as

CNVs específicas da população são regiões candidatas sob seleção e são potencialmente responsáveis por diversos fenótipos (BERGLUND et al., 2012; BROWN et al., 2012; GAUTAM et al., 2012). Como mencionado anteriormente, presume-se que CNVs presentes na prole são herdados dos pais (LOCKE et al. 2006).

Dessa forma o presente estudo nos permitiu identificar regiões com variabilidade genética no genoma de animais da raça Nelore e que futuramente poderão auxiliar em estudos de associação com características de interesse econômico. Porém, ainda são observadas grandes variações na detecção dos CNVs realizadas através de diferentes métodos, bem como falsos positivos e falsos negativos, independentemente de como os dados são analisados, (XU et al., 2013; CARTER et al., 2007). Tendo em vista essa diferença de resultados, Winchester et al. (2009), recomendaram o uso de múltiplos algoritmos de chamada CNV em vez de apenas um, no entanto, embora essa estratégia diminua a taxa falso negativo ela aumenta a taxa de falsos positivos. Neste sentido, o desenvolvimento de métodos padronizados para a detecção de CNVs e CNVRs se faz necessário.

#### **4. Conclusão**

O estudo de diferentes algoritmos na detecção de CNVRs podem divergir dependendo das plataformas e metodologias aplicadas em cada software, como foi observado no presente estudo. Enquanto o PennCNV detectou um número maior de CNVRs e de maiores tamanhos, o SVS detectou menos segmentos com um tamanho menor, porém a sobreposição dos mesmos nos fornece maior confiabilidade na detecção de regiões de CNVs.

No presente estudo apenas foram detectadas as CNVRs, sem associa-las com fenótipos de interesse, acreditamos que o enriquecimento dos genes em regiões sobrepostas já associadas a fenótipos de interesse poderá fornecer informações úteis nos estudos de associação, viabilizando um ponto de partida mais confiável para a validação dos resultados.

## 5. Referências Bibliográficas

BAE, J.S.; CHEONG, H.S.; KIM, L.H.; NAMGUNG, S.; PARK, T.J.; CHUN, J.Y.; KIM, J.Y.; PASAJE, C.F.; LEE, J.S.; SHIN, H.D. Identification of copy number variations and common deletion polymorphisms in cattle. **BMC Genomics** 11: 232. Disponível em: < doi: 10.1186/1471-2164-11-232 > 2010.

BALADANDAYUTHAPANI, V.; JI, Y.; TALLURI, R.; NIETO-BARAJAS, L.E.; MORRIS, J.S. Bayesian random segmentation models to identify shared copy number aberrations for array CGH data. **J. Am. Stat. Assoc**, v.105, p.1358–1375. 2010.

BERGLUND J. et al. Novel origins of copy number variation in the dog genome. **Genome Biol.** v.13, n.R73, 2012.

BICKHART, D.M.; HOU, Y.; SCHROEDER, S.G.; ALKAN, C.; CARDONE, M.F.; MATUKUMALLI, L.K.; SONG, J.; SCHNABEL, R.D.; VENTURA, M.; TAYLOR, J.F.; GARCIA, J.F.; VAN TASSELL, C.P.; SONSTEGARD, T.S.; EICHLER, E.E.; LIU, G.E. Copy number variation of individual cattle genomes using next-generation sequencing. **Genome Research**, v. 22, p. 778-790, 2012.

BREHENY, P.; CHALISE, P.; BATZLER, A.; WANG, L.; FRIDLEY, B.L. Genetic Association Studies of Copy-Number Variation: Should Assignment of Copy Number States Precede Testing? **PLoS ONE**, v.7, n.4, e34262, 2012.

BROWN, K. H. et al. Extensive genetic diversity and substructuring among zebrafish strains revealed through copy number variant analysis. **Proc Natl Acad Sci USA** v.109, p. 529–534, 2012.

CAMPBELL, C. D. et al. Population-genetic properties of differentiated human copy-number polymorphisms. **Am J Hum Genet.** v.88, n.317–332, 2011.

CARTER, N.P. Methods and strategies for analyzing copy number variation using DNA microarrays. **Nat. Genet.** V.39, p.S16–S21, 2007

CASTELLANI CA, MELKA MG, WISHART AE, LOCKE MEO, AWAMLEH Z, O'REILLY RL, et al. Biological relevance of CNV calling methods using familial relatedness including monozygotic twins. **BMC Bioinformatics.**;v.15, p.114. 2014.

CICCONARDI, F.; CHILLEMI, G.; TRAMONTANO, A.; MARCHITELLI, C.; VALENTINI, A.; AJMONE-MARSAN, P.; NARDONE, A.; Massive screening of copy number population-scale variation in Bos taurus genome. **BMC Genomics** v.14, n.1, p.124, 2013.

COLELLA, S.; YAU, C.; TAYLOR, J.M.; MIRZA, G.; BUTLER, H.; CLOUSTON, P.; BASSETT, A.S.; SELLER, A.; HOLMES, C.C.; RAGOISSIS, J; QuantiSNP: an Objective Bayes Hidden-Markov Model to detect and accurately map copy number variation using SNP genotyping data. **Nucleic Acids Research**, v. 35, p. 25, 2013.

DELLINGER, A.E.; SAW, S.M.; GOH, L.K.; SEIELSTAD, M.; YOUNG, T.L.; LI, Y.J. Comparative analyses of seven algorithms for copy number variant identification from single nucleotide polymorphism arrays. **Nucleic Acids Res.**v.38 n.e105, 2010

DISKIN, S.J.; LI, M.; HOU, C.; YANG, S.; GLESSNER, J.; HAKONARSON, H.; BUCAN, M.; MARIS, J.M.; WANG, K. Adjustment of genomic waves in signal intensities from whole-genome SNP genotyping platforms. **Nucleic Acids Research** v. 36, n.e126, 2008.

FADISTA, J.; THOMSEN, B.; HOLM, L.E.; BENDIXEN, C. Copy number variation in the bovine genome. **BMC Genomics**, v.11, p. 284, 2010.

FREEMAN, J.L.; PERRY, G.H.; FEUK, L.; REDON, R.; MCCARROLL, S.A.; ALTSHULER, D.M.; ABURATANI, H.; JONES, K.W.; TYLER-SMITH, C.; HURLES, M.E.; CARTER, N.P.; SCHERER, S.W.; LEE, C. Copy number variation: new insights in genome diversity. **Genome Res**, v.16, p. 949–961, 2006.

GAUTAM, P. et al. Spectrum of large copy number variations in 26 diverse Indian populations: potential involvement in phenotypic diversity. **Hum Genet**, v.131, p.131–143, 2012.

Genetic Association Software, Genome-Wide Association (GWAS) Software for SNP, CNV, and NGS. Available online: [http://www.goldenhelix.com/SNP\\_Variation/](http://www.goldenhelix.com/SNP_Variation/) (accessed on 17 August 2016).

GLESSNER, J.T.; LI, J.; HAKONARSON, H. ParseCNV integrative copy number variation association software with quality tracking. **Nucleic Acids Res.**, v.41, n. e64, 2013

HOU, Y.; LIU, G.E.; BICKHART, D.M.; CARDONE, M.F.; WANG, K.; KIM, E.; MATUKUMALLI, L.K.; VENTURA, M.; SONG, J.; VANRADEN, P.M.; SONSTEGARD, T.S.; VAN TASSELL, C.P. Genomic characteristics of cattle copy number variations. **BMC Genomics**, v.12 p.127, 2011.

JAKOBSSON, M. et al. Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. **Nature** v.451, p. 998–1003, 2008.

Java Merging Copy Number Variants (JM-CNV): A New Algorithm for Identifying Copy Number Variant Regions (CNVR). <https://www.lmb.cnptia.embrapa.br/tools/JMCNV/JMCNVUpload>.

KATO, M. et al. Population-genetic nature of copy number variations in the human genome. **Hum Mol Genet**, v.19, n.761–773, 2010.

LEMOS, M. A. Copy number variations and single-nucleotide Polymorphisms associated with beef fatty acid profile in nellore cattle. 2017. 166 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2017.

LIU, R.; SUN, Y.; ZHAO, G.; WANG, F.; WU, D.; ZHENG, M.; CHEN, J.; ZHANG, L.; HU, Y.; WEN, J. Genome-wide association study identifies loci and candidate genes for body composition and meat quality traits in Beijing-You chickens. **PLoS ONE**, v.8, n.e61172, 2013.

LIU, G.E.; HOU, Y.; ZHU, B.; CARDONE, M.F.; JIANG, L.; CELLAMARE, A.; MITRA, A.; ALEXANDER, L.J.; COUTINHO, L.L.; DELL'AQUILA, M.E.; GASBARRE, L.C.; LACALANDRA, G.; LI, R.W.; MATUKUMALLI, L.K.; NONNEMAN, D.; REGITANO, L.C.; SMITH, T.P.; SONG, J.; SONSTEGARD, T.S.; VAN TASSELL, C.P.; VENTURA, M.; EICHLER, E.E.; MCDANELD, T.G.; KEELE, J.W. Analysis of copy number variations among diverse cattle breeds. **Genome Research**, v.20, p.693-703, 2010.

LIU, G.E.; VAN TASSELL, C.P.; SONSTEGARD, T.S.; LI, R.W.; ALEXANDER, L.J.; KEELE, J.W.; MATUKUMALLI, L.K.; SMITH, T.P.; GASBARRE, L.C. Detection of germline and somatic copy number variations in cattle. In *Animal Genomics for Animal Health Dev Biol*. Volume 132. Edited by: Pinard M-H, Gay C, Pastoret PP, Dodet B. Basel: Karegr; p. 231-237, 2008.

LOCKE, D.P.; SHARP, A.J.; MCCARROLL, S.A.; MCGRATH, S.D.; NEWMAN, T.L.; CHENG, Z.; SCHWARTZ, S.; ALBERTSON, D.G.; PINKEL, D.; ALTSHULER, D.M.; et al. Linkage disequilibrium and heritability of copy-number polymorphisms within duplicated regions of the human genome. **Am. J. Hum. Genet.**, v.79, p.275-290, 2006.

LOU, H. et al. A map of copy number variations in Chinese populations. **PLoS One**, v.6, n.e27341, 2011.

MARIONI, J.C.; THORNE, N.P.; and TAVARE, S. BioHMM: A heterogeneous hidden Markov model for segmenting array CGH data. **Bioinformatics**. v.22 p.1144–1146. 2006

MATUKUMALLI, L.K.; LAWLEY, C.T.; SCHNABEL, R.D.; TAYLOR, J.F.; ALLAN, M.F.; HEATON, M.P.; O'CONNELL, J.; MOORE, S.S.; SMITH, T.P.L.; SONSTEGARD, T.S. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. **PLoS One**. v.,4, n.e5350, 2009.

McCarroll, S. A. et al. Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation. **Nat Genet**, v.40, p.1166–1174, 2008.

Narang, A. et al. Extensive copy number variations in admixed Indian population of African ancestry: potential involvement in adaptation. **Genome Biol Evol.** v.6, p.3171–3181,2014.

NOWAK, G.; HASTIE, T.; POLLACK, J.R.; TIBSHIRANI, R. A fused lasso latent feature model for analyzing multi-sample aCGH data. **Biostatistics**, v.12, p.776–791, 2011.

PINTO, D.; DARVISHI, K.; SHI, X.H.; RAJAN, D.; RIGLER, D.; FITZGERALD, T.; LIONEL, A.C.; THIRUVAHINDRAPURAM, B.; MACDONALD, J.R.; MILLS, R.; et

al. Comprehensive assessment of array-based platforms and calling algorithms for detection of copy number variants. **Nat. Biotechnol.**, v.29, p. 512–520, 2011.

QUINLAN, A.R. AND HALL, I.M. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. **Bioinformatics**. v.26, n.6, p. 841–842, 2010

REDON, R.; ISHIKAWA, S.; FITCH, K.R.; FEUK, L.; GEORGE, H.; ANDREWS, T.D. et al. Global variation in copy number in the human genome. **Nature**, v.444, p.444–454, 2006.

RINCON, G.; WEBER, K.L.; VAN EENENNAAM, A.L.; GOLDEN, B.L.; MEDRANO, J.F: Hot topic: performance of bovine high-density genotyping platforms in Holsteins and Jerseys. **J Dairy Sci**. v.94, n.12, p.6116-6121, 2011.

SCHERER, S.W.; LEE, C.; BIRNEY, E.; ALTSHULER, D.M.; EICHLER, E.E.; CARTER, N.P.; HURLES, M.E.; FEUK, L. Challenges and standards in integrating surveys of structural variation. **Nat. Genet.** v.39, p.S7–S15, 2007.

WANG, K.; CHEN, Z.; TADESSE, M.G.; GLESSNER, J.; GRANT, S.F.A.; HAKONARSON, H.; BUCAN, M.; LI, M. Modeling genetic inheritance of copy number variations. **Nucleic Acids Research** v.36, n.e138, 2008.

WANG, K.; LI, M.; HADLEY, D.; LIU, R.; GLESSNER, J.; GRANT, S.; HAKONARSON, H.; BUCAN, M. PennCNV: an integrated hidden Markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data. **Genome Research**. v.17, p.1665-1674, 2007.

WINCHESTER, L.; YAU, C.; RAGOISSIS, J. Comparing CNV detection methods for SNP arrays. **Brief. Funct. Genomic Proteomic**, v. 8,p. 353–366, 2009.

XU, L. et al. Genome wide CNV analysis reveals additional variants associated with milk production traits in Holsteins. **BMC Genomics**, v.15, p.683, 2014.

XU, L. et al. Genomic signatures reveal new evidences for selection of important traits in domestic cattle. **Mol Biol Evol**, v.32, p.711–725, 2015.

XU, L. et al. Population-genetic properties of differentiated copy number variations in cattle. *Sci. Rep.* 6, 23161; doi: 10.1038/srep23161 (2016).

XU, L.; HOU, Y.; BICKHART, D M.; SONG, J.; LIU G E. Comparative Analysis of CNV Calling Algorithms: Literature Survey and a Case Study Using Bovine High-Density SNP Data. **Microarrays**, v.2, p. 171-185, 2013

YANG, H.C.; HSIEH, H.Y.; FANN, C.S. Kernel-based association test. **Genetics**, v.179, p. 1057–1068, 2008.

ZHANG, F.; GU, W.; HURLES, M.E.; LUPSKI, J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. **Annual Reviews of Genomics and Human Genetics**, v.10, p.451–481, 2009.

ZHOU, Y.; UTSUNOMIYA, Y.T.; XU, L.; HAY EL H.A.; BICKHART, D.M.; SONSTEGARD, T.S.; VANTASSELL C.P.; GARCIA J.F.; LIU G.E. Comparative analyses across cattle genders and breeds reveal the pitfalls caused by false positive and lineage-differential copy number variations. **Sci Rep**, v.6; n.6, p.29219, 2016.

Apendice 1. Descrição dos Segmentos de CNV detectados pelo software Golden Helix SVS, distribuídos pelos 29 cromossomos.

| Cromossomo | Posição Inicial | Posição Final | N deleção | N neutro | N inserção | %inserções | %deleções | %CNV na população |
|------------|-----------------|---------------|-----------|----------|------------|------------|-----------|-------------------|
| 1          | 12518413        | 12520767      | 660       | 3273     | 41         | 0.010      | 0.166     | 0.176             |
|            | 31686841        | 31699505      | 981       | 2936     | 57         | 0.014      | 0.247     | 0.261             |
|            | 35353203        | 35363916      | 1086      | 2883     | 5          | 0.001      | 0.273     | 0.275             |
|            | 42224589        | 42230085      | 3403      | 551      | 20         | 0.005      | 0.856     | 0.861             |
|            | 52368367        | 52371045      | 3512      | 461      | 1          | 0.000      | 0.884     | 0.884             |
|            | 93730576        | 93819471      | 2023      | 1889     | 62         | 0.016      | 0.509     | 0.525             |
|            | 105042452       | 105233446     | 583       | 3384     | 7          | 0.002      | 0.147     | 0.148             |
|            | 130623810       | 130626113     | 1373      | 2482     | 119        | 0.030      | 0.345     | 0.375             |
| 2          | 2527718         | 2535261       | 1302      | 2592     | 80         | 0.020      | 0.328     | 0.348             |
|            | 33871733        | 33881649      | 1832      | 2075     | 67         | 0.017      | 0.461     | 0.478             |
|            | 41691100        | 41692419      | 1267      | 2271     | 436        | 0.110      | 0.319     | 0.429             |
|            | 131182734       | 131189751     | 3795      | 174      | 5          | 0.001      | 0.955     | 0.956             |
| 3          | 11962808        | 11975091      | 2269      | 1600     | 105        | 0.026      | 0.571     | 0.597             |
|            | 36893363        | 36903104      | 3395      | 569      | 10         | 0.003      | 0.854     | 0.857             |
|            | 49235943        | 49262005      | 2132      | 1773     | 69         | 0.017      | 0.536     | 0.554             |
|            | 54382375        | 54522367      | 1648      | 1850     | 476        | 0.120      | 0.415     | 0.534             |
|            | 54541000        | 54963401      | 379       | 3588     | 7          | 0.002      | 0.095     | 0.097             |
|            | 83993153        | 84010235      | 1597      | 2237     | 140        | 0.035      | 0.402     | 0.437             |
| 4          | 24824291        | 24831553      | 1084      | 2657     | 233        | 0.059      | 0.273     | 0.331             |
|            | 39831417        | 39836836      | 3104      | 866      | 4          | 0.001      | 0.781     | 0.782             |
|            | 99202382        | 99215174      | 3634      | 333      | 7          | 0.002      | 0.914     | 0.916             |
|            | 118545529       | 118547323     | 2233      | 1736     | 5          | 0.001      | 0.562     | 0.563             |
|            | 118884897       | 118891222     | 516       | 3450     | 8          | 0.002      | 0.130     | 0.132             |
| 5          | 22525587        | 22563988      | 2052      | 1915     | 7          | 0.002      | 0.516     | 0.518             |
|            | 58390807        | 58430793      | 3495      | 455      | 24         | 0.006      | 0.879     | 0.886             |
|            | 59421039        | 59612173      | 1930      | 1750     | 294        | 0.074      | 0.486     | 0.560             |
|            | 72877165        | 72888763      | 3817      | 150      | 7          | 0.002      | 0.960     | 0.962             |
|            | 102471089       | 102538245     | 1165      | 2314     | 495        | 0.125      | 0.293     | 0.418             |
|            | 117281795       | 117524110     | 821       | 2998     | 155        | 0.039      | 0.207     | 0.246             |
|            | 117557538       | 117586036     | 2607      | 1271     | 96         | 0.024      | 0.656     | 0.680             |
|            | 117592372       | 117639815     | 2662      | 1229     | 83         | 0.021      | 0.670     | 0.691             |
| 6          | 12476236        | 12487757      | 2523      | 1444     | 7          | 0.002      | 0.635     | 0.637             |
|            | 20951419        | 20954662      | 2039      | 1925     | 10         | 0.003      | 0.513     | 0.516             |
|            | 28989049        | 28991441      | 500       | 3340     | 134        | 0.034      | 0.126     | 0.160             |
|            | 34295438        | 34303081      | 2439      | 1524     | 11         | 0.003      | 0.614     | 0.617             |
|            | 38198011        | 38213129      | 2982      | 972      | 20         | 0.005      | 0.750     | 0.755             |

|    |           |           |      |      |     |       |       |       |
|----|-----------|-----------|------|------|-----|-------|-------|-------|
|    | 51454167  | 51457423  | 1375 | 2361 | 238 | 0.060 | 0.346 | 0.406 |
|    | 75622213  | 75631160  | 2740 | 1212 | 22  | 0.006 | 0.689 | 0.695 |
|    | 84354117  | 84362856  | 3016 | 946  | 12  | 0.003 | 0.759 | 0.762 |
|    | 106527250 | 106543129 | 1676 | 1959 | 339 | 0.085 | 0.422 | 0.507 |
|    | 117712436 | 117723312 | 1434 | 2524 | 16  | 0.004 | 0.361 | 0.365 |
|    | 983878    | 989660    | 864  | 2871 | 239 | 0.060 | 0.217 | 0.278 |
|    | 6247269   | 6259353   | 3614 | 351  | 9   | 0.002 | 0.909 | 0.912 |
|    | 10044994  | 10137032  | 715  | 3238 | 21  | 0.005 | 0.180 | 0.185 |
|    | 11819446  | 12057433  | 1755 | 2218 | 1   | 0.000 | 0.442 | 0.442 |
|    | 18531324  | 18566035  | 960  | 2886 | 128 | 0.032 | 0.242 | 0.274 |
|    | 31662296  | 31670127  | 3512 | 461  | 1   | 0.000 | 0.884 | 0.884 |
|    | 42736530  | 43059674  | 454  | 3514 | 6   | 0.002 | 0.114 | 0.116 |
| 7  | 43077701  | 43353211  | 433  | 3535 | 6   | 0.002 | 0.109 | 0.110 |
|    | 43487164  | 43498441  | 1163 | 2450 | 361 | 0.091 | 0.293 | 0.383 |
|    | 44437375  | 44444959  | 3372 | 577  | 25  | 0.006 | 0.849 | 0.855 |
|    | 64613425  | 64618907  | 2195 | 1776 | 3   | 0.001 | 0.552 | 0.553 |
|    | 70568491  | 70601302  | 2067 | 1904 | 3   | 0.001 | 0.520 | 0.521 |
|    | 92344067  | 92348865  | 798  | 3077 | 99  | 0.025 | 0.201 | 0.226 |
|    | 99322117  | 99328261  | 881  | 3009 | 84  | 0.021 | 0.222 | 0.243 |
|    | 104000774 | 104013986 | 1464 | 2252 | 258 | 0.065 | 0.368 | 0.433 |
|    | 12459571  | 12498395  | 923  | 2852 | 199 | 0.050 | 0.232 | 0.282 |
|    | 17636212  | 17640269  | 2162 | 1798 | 14  | 0.004 | 0.544 | 0.548 |
| 8  | 54069696  | 54073248  | 3625 | 342  | 7   | 0.002 | 0.912 | 0.914 |
|    | 62888898  | 62893833  | 1445 | 2492 | 37  | 0.009 | 0.364 | 0.373 |
|    | 83242450  | 83261773  | 2086 | 1871 | 17  | 0.004 | 0.525 | 0.529 |
|    | 94778708  | 94786891  | 1624 | 2291 | 59  | 0.015 | 0.409 | 0.424 |
|    | 13985299  | 13992239  | 664  | 3111 | 199 | 0.050 | 0.167 | 0.217 |
| 9  | 24127805  | 24128579  | 3940 | 29   | 5   | 0.001 | 0.991 | 0.993 |
|    | 92776813  | 92786911  | 806  | 3119 | 49  | 0.012 | 0.203 | 0.215 |
|    | 101900677 | 101904580 | 2838 | 1134 | 2   | 0.001 | 0.714 | 0.715 |
|    | 6316756   | 6318887   | 1236 | 2442 | 296 | 0.074 | 0.311 | 0.386 |
|    | 6815725   | 6824247   | 1052 | 2576 | 346 | 0.087 | 0.265 | 0.352 |
|    | 11734321  | 11744600  | 3590 | 381  | 3   | 0.001 | 0.903 | 0.904 |
|    | 22676890  | 23160598  | 249  | 3720 | 5   | 0.001 | 0.063 | 0.064 |
| 10 | 23180741  | 23222741  | 1107 | 2853 | 14  | 0.004 | 0.279 | 0.282 |
|    | 23319458  | 25019171  | 226  | 3745 | 3   | 0.001 | 0.057 | 0.058 |
|    | 25037427  | 25087951  | 562  | 3384 | 28  | 0.007 | 0.141 | 0.148 |
|    | 51809662  | 51812789  | 3944 | 28   | 2   | 0.001 | 0.992 | 0.993 |
|    | 86515452  | 86519779  | 2253 | 1718 | 3   | 0.001 | 0.567 | 0.568 |

|    |           |           |      |      |     |       |       |       |
|----|-----------|-----------|------|------|-----|-------|-------|-------|
| 11 | 50326620  | 50330158  | 847  | 3054 | 73  | 0.018 | 0.213 | 0.232 |
|    | 60443525  | 60459331  | 2418 | 1553 | 3   | 0.001 | 0.608 | 0.609 |
|    | 81414106  | 81425393  | 923  | 2942 | 109 | 0.027 | 0.232 | 0.260 |
|    | 93900408  | 93922796  | 2080 | 1861 | 33  | 0.008 | 0.523 | 0.532 |
|    | 103495904 | 103506946 | 2614 | 1297 | 63  | 0.016 | 0.658 | 0.674 |
| 12 | 936045    | 942577    | 1730 | 2168 | 76  | 0.019 | 0.435 | 0.454 |
|    | 32054331  | 32162911  | 507  | 3456 | 11  | 0.003 | 0.128 | 0.130 |
|    | 70435829  | 70458250  | 1934 | 2014 | 26  | 0.007 | 0.487 | 0.493 |
|    | 70483913  | 71440002  | 211  | 3758 | 5   | 0.001 | 0.053 | 0.054 |
|    | 71443906  | 71613636  | 3351 | 619  | 4   | 0.001 | 0.843 | 0.844 |
|    | 72432362  | 72509035  | 480  | 3491 | 3   | 0.001 | 0.121 | 0.122 |
|    | 72511101  | 72742881  | 884  | 3082 | 8   | 0.002 | 0.222 | 0.224 |
|    | 72748544  | 72882991  | 2245 | 1605 | 124 | 0.031 | 0.565 | 0.596 |
|    | 73001857  | 73583291  | 1382 | 2587 | 5   | 0.001 | 0.348 | 0.349 |
|    | 73657824  | 73666963  | 2159 | 1581 | 234 | 0.059 | 0.543 | 0.602 |
|    | 73673865  | 74589404  | 1910 | 2061 | 3   | 0.001 | 0.481 | 0.481 |
|    | 74840021  | 75193156  | 2599 | 1280 | 95  | 0.024 | 0.654 | 0.678 |
|    | 75497057  | 75946247  | 1426 | 2457 | 91  | 0.023 | 0.359 | 0.382 |
| 13 | 77802250  | 77803453  | 1964 | 1887 | 123 | 0.031 | 0.494 | 0.525 |
|    | 9818926   | 9824937   | 2154 | 1814 | 6   | 0.002 | 0.542 | 0.544 |
|    | 20061458  | 20066288  | 2294 | 1671 | 9   | 0.002 | 0.577 | 0.580 |
|    | 28566654  | 28569392  | 1723 | 2109 | 142 | 0.036 | 0.434 | 0.469 |
|    | 48665419  | 48669600  | 2248 | 1723 | 3   | 0.001 | 0.566 | 0.566 |
|    | 49917068  | 49952176  | 1739 | 2225 | 10  | 0.003 | 0.438 | 0.440 |
|    | 53858853  | 53862891  | 1059 | 2767 | 148 | 0.037 | 0.266 | 0.304 |
|    | 53934586  | 53982995  | 675  | 3277 | 22  | 0.006 | 0.170 | 0.175 |
|    | 61575109  | 61581421  | 2442 | 1528 | 4   | 0.001 | 0.614 | 0.616 |
| 14 | 81041052  | 81069871  | 2951 | 1014 | 9   | 0.002 | 0.743 | 0.745 |
|    | 17329297  | 17343293  | 2289 | 1648 | 37  | 0.009 | 0.576 | 0.585 |
|    | 65324978  | 65330073  | 1982 | 1988 | 4   | 0.001 | 0.499 | 0.500 |
| 15 | 83215213  | 83220950  | 3713 | 259  | 2   | 0.001 | 0.934 | 0.935 |
|    | 45475858  | 45542956  | 1043 | 2917 | 14  | 0.004 | 0.262 | 0.266 |
|    | 57605765  | 57612652  | 1266 | 2704 | 4   | 0.001 | 0.319 | 0.320 |
| 16 | 80369812  | 80529996  | 2154 | 1618 | 202 | 0.051 | 0.542 | 0.593 |
|    | 5738701   | 5752883   | 1362 | 2399 | 213 | 0.054 | 0.343 | 0.396 |
|    | 8599632   | 8617289   | 2038 | 1668 | 268 | 0.067 | 0.513 | 0.580 |
|    | 21894672  | 21896386  | 527  | 3415 | 32  | 0.008 | 0.133 | 0.141 |
|    | 29186488  | 29190178  | 1786 | 2175 | 13  | 0.003 | 0.449 | 0.453 |
|    | 39558124  | 39589152  | 711  | 3230 | 33  | 0.008 | 0.179 | 0.187 |

|    |          |          |      |      |      |       |       |       |
|----|----------|----------|------|------|------|-------|-------|-------|
|    | 55669347 | 55674891 | 3034 | 934  | 6    | 0.002 | 0.763 | 0.765 |
|    | 64714161 | 64716137 | 1246 | 2680 | 48   | 0.012 | 0.314 | 0.326 |
|    | 66766563 | 66783177 | 2122 | 1840 | 12   | 0.003 | 0.534 | 0.537 |
|    | 74565071 | 74572222 | 3647 | 326  | 1    | 0.000 | 0.918 | 0.918 |
|    | 75791027 | 75794579 | 1477 | 2496 | 1    | 0.000 | 0.372 | 0.372 |
| 17 | 25056695 | 25119996 | 2066 | 1887 | 21   | 0.005 | 0.520 | 0.525 |
|    | 50746686 | 50958929 | 2058 | 1908 | 8    | 0.002 | 0.518 | 0.520 |
|    | 51115979 | 51370688 | 2065 | 1902 | 7    | 0.002 | 0.520 | 0.521 |
|    | 73090468 | 73093737 | 2610 | 1301 | 63   | 0.016 | 0.657 | 0.673 |
| 18 | 45300008 | 45321482 | 1548 | 1889 | 537  | 0.135 | 0.390 | 0.525 |
|    | 50629318 | 50632426 | 3719 | 248  | 7    | 0.002 | 0.936 | 0.938 |
|    | 61674257 | 61703341 | 3908 | 58   | 8    | 0.002 | 0.983 | 0.985 |
|    | 63226272 | 63359526 | 3455 | 511  | 8    | 0.002 | 0.869 | 0.871 |
| 19 | 2335931  | 2350364  | 1987 | 1968 | 19   | 0.005 | 0.500 | 0.505 |
|    | 3704268  | 3707844  | 1955 | 1694 | 325  | 0.082 | 0.492 | 0.574 |
|    | 35933815 | 35957534 | 2048 | 624  | 1302 | 0.328 | 0.515 | 0.843 |
|    | 45020015 | 45024091 | 1067 | 2736 | 171  | 0.043 | 0.268 | 0.312 |
|    | 51440099 | 51452600 | 3291 | 671  | 12   | 0.003 | 0.828 | 0.831 |
|    | 59777143 | 59781607 | 3296 | 677  | 1    | 0.000 | 0.829 | 0.830 |
| 20 | 9794111  | 9810572  | 2814 | 1154 | 6    | 0.002 | 0.708 | 0.710 |
|    | 17345602 | 17348392 | 1781 | 2191 | 2    | 0.001 | 0.448 | 0.449 |
|    | 44938452 | 44945599 | 1574 | 2371 | 29   | 0.007 | 0.396 | 0.403 |
|    | 53780223 | 53787522 | 1744 | 2164 | 66   | 0.017 | 0.439 | 0.455 |
|    | 55974474 | 55976021 | 584  | 3306 | 84   | 0.021 | 0.147 | 0.168 |
|    | 59385005 | 59391785 | 2014 | 1916 | 44   | 0.011 | 0.507 | 0.518 |
| 21 | 20079777 | 20143245 | 934  | 3021 | 19   | 0.005 | 0.235 | 0.240 |
|    | 29010938 | 29026728 | 3943 | 24   | 7    | 0.002 | 0.992 | 0.994 |
|    | 34002597 | 34009277 | 2253 | 1661 | 60   | 0.015 | 0.567 | 0.582 |
|    | 36862487 | 36865662 | 791  | 3167 | 16   | 0.004 | 0.199 | 0.203 |
|    | 53104988 | 53115286 | 1467 | 2492 | 15   | 0.004 | 0.369 | 0.373 |
|    | 62483422 | 62489322 | 2476 | 1494 | 4    | 0.001 | 0.623 | 0.624 |
|    | 68425532 | 68436849 | 3592 | 372  | 10   | 0.003 | 0.904 | 0.906 |
| 22 | 19456193 | 19464735 | 3772 | 196  | 6    | 0.002 | 0.949 | 0.951 |
| 23 | 18373342 | 18400211 | 2929 | 1042 | 3    | 0.001 | 0.737 | 0.738 |
|    | 25341782 | 25361041 | 818  | 3092 | 64   | 0.016 | 0.206 | 0.222 |
|    | 25417035 | 25442124 | 1553 | 2405 | 16   | 0.004 | 0.391 | 0.395 |
|    | 25846520 | 25869447 | 2026 | 1895 | 53   | 0.013 | 0.510 | 0.523 |
|    | 28448873 | 28469826 | 1529 | 2379 | 66   | 0.017 | 0.385 | 0.401 |
|    | 28828468 | 28849820 | 2036 | 1914 | 24   | 0.006 | 0.512 | 0.518 |

|    |          |          |      |      |     |       |       |       |
|----|----------|----------|------|------|-----|-------|-------|-------|
|    | 40943987 | 40952486 | 3247 | 722  | 5   | 0.001 | 0.817 | 0.818 |
|    | 47591145 | 47601319 | 2056 | 1913 | 5   | 0.001 | 0.517 | 0.519 |
|    | 21545632 | 21548736 | 3911 | 62   | 1   | 0.000 | 0.984 | 0.984 |
|    | 24432820 | 24434451 | 1031 | 2646 | 297 | 0.075 | 0.259 | 0.334 |
|    | 33291654 | 33301713 | 408  | 3565 | 1   | 0.000 | 0.103 | 0.103 |
|    | 37876869 | 37884787 | 3407 | 552  | 15  | 0.004 | 0.857 | 0.861 |
| 24 | 47313370 | 47316957 | 1252 | 2608 | 114 | 0.029 | 0.315 | 0.344 |
|    | 53324484 | 53328928 | 1355 | 2480 | 139 | 0.035 | 0.341 | 0.376 |
|    | 53416695 | 53423415 | 780  | 3182 | 12  | 0.003 | 0.196 | 0.199 |
|    | 57804336 | 57808126 | 2847 | 1124 | 3   | 0.001 | 0.716 | 0.717 |
|    | 59810309 | 59818450 | 3515 | 455  | 4   | 0.001 | 0.884 | 0.886 |
|    | 2496122  | 2532736  | 1853 | 2121 | 0   | 0.000 | 0.466 | 0.466 |
| 25 | 12747915 | 12758221 | 2497 | 1471 | 6   | 0.002 | 0.628 | 0.630 |
|    | 35930406 | 35939543 | 2328 | 1644 | 2   | 0.001 | 0.586 | 0.586 |
|    | 7783195  | 7784548  | 2241 | 1724 | 9   | 0.002 | 0.564 | 0.566 |
| 26 | 21728982 | 21734523 | 3539 | 429  | 6   | 0.002 | 0.891 | 0.892 |
|    | 49009913 | 49013573 | 1931 | 2035 | 8   | 0.002 | 0.486 | 0.488 |
|    | 1538195  | 1540304  | 1359 | 2596 | 19  | 0.005 | 0.342 | 0.347 |
|    | 9036908  | 9049535  | 454  | 3519 | 1   | 0.000 | 0.114 | 0.114 |
| 27 | 20087360 | 20095088 | 2497 | 1468 | 9   | 0.002 | 0.628 | 0.631 |
|    | 26942890 | 26967436 | 3839 | 122  | 13  | 0.003 | 0.966 | 0.969 |
|    | 37369776 | 37372012 | 973  | 2889 | 112 | 0.028 | 0.245 | 0.273 |
|    | 39059412 | 39061885 | 1670 | 2238 | 66  | 0.017 | 0.420 | 0.437 |
|    | 5302     | 11110    | 2161 | 1799 | 14  | 0.004 | 0.544 | 0.547 |
|    | 2499843  | 2544117  | 951  | 2979 | 44  | 0.011 | 0.239 | 0.250 |
|    | 2556672  | 2638563  | 782  | 3141 | 51  | 0.013 | 0.197 | 0.210 |
|    | 2665025  | 2796204  | 284  | 3686 | 4   | 0.001 | 0.071 | 0.072 |
| 28 | 2814450  | 2860512  | 538  | 3395 | 41  | 0.010 | 0.135 | 0.146 |
|    | 12770812 | 12781473 | 2119 | 1851 | 4   | 0.001 | 0.533 | 0.534 |
|    | 23410605 | 23418028 | 3376 | 593  | 5   | 0.001 | 0.850 | 0.851 |
|    | 34122288 | 34127970 | 3778 | 189  | 7   | 0.002 | 0.951 | 0.952 |
|    | 44446062 | 44447493 | 1913 | 2059 | 2   | 0.001 | 0.481 | 0.482 |
|    | 23393239 | 23395829 | 2866 | 1107 | 1   | 0.000 | 0.721 | 0.721 |
| 29 | 27057102 | 27065525 | 1851 | 2113 | 10  | 0.003 | 0.466 | 0.468 |
|    | 35732293 | 35735627 | 2945 | 1020 | 9   | 0.002 | 0.741 | 0.743 |
|    | 42342570 | 42358882 | 2863 | 1105 | 6   | 0.002 | 0.720 | 0.722 |

Ndeleção - número de amostras com deleções; Nneutro - número de amostras com ausência de deleções e inserções;  
N inserção - número de amostras com inserções

### Capítulo 3. Associação entre as variações no número de cópias no genoma de bovinos Nelore com características qualitativas e quantitativas da carne

**Resumo:** O objetivo do presente estudo foi identificar regiões no genoma de bovinos da raça Nelore que apresentam variações no número de cópias e estudar a associação genética entre os CNVs com características quantitativas e qualitativas da carne. Foram utilizados um total de 1751 animais machos da raça Nelore terminados em confinamento, com aproximadamente dois anos de idade, provenientes de fazendas localizadas nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-oeste. Após 24 horas do abate dos animais foram retiradas amostras de 2,5 cm de espessura do músculo *Longissimus thoracis* na região da 12<sup>a</sup> - 13<sup>a</sup> costelas das meias-carcaças esquerdas. Foram avaliadas as características: índice de marmoreio, área de olho de lombo, força de cisalhamento e as características de cor (intensidade de vermelho - a\*, intensidade de amarelo - b\* e luminosidade L\*). A genotipagem dos animais foi realizada utilizando um arranjo com 777,962 marcadores SNP de alta densidade (bovino BeadChip). Na formação dos grupos contemporâneos foram incluídos os animais nascidos na mesma fazenda e ano, e do mesmo grupo de manejo ao sobreano. Os grupos contemporâneos que continham menos de três observações e aqueles que desviaram  $\pm 3$  desvios-padrão da média desse grupo foram eliminados. A detecção de CNVs realizada no software GenomeStudio 1,0, onde cada SNP é analisada em particular, utilizando o algoritmo PennCNV. As regiões de CNVs (CNVRs) foram gerados pela sobreposição de CNVs identificadas em todas as amostras estudadas através do software CNVRuler. O estudo de associação foi realizado a partir de um modelo logístico, onde foram gerados dois grupos de animais com fenótipos extremos para cada característica para cada característica em estudo, sendo considerado 400 animais com a mais alta (HIGH) e 400 animais com as menores (LOW) fenótipos e receberam a pontuação 1 e 0, respectivamente. A busca dos genes foi realizada apenas nos CNVRs significativos ( $P < 0,05$ ), através do Map Viewer de genoma bovino (NCBI) no genoma UMD3.1 versão bovina e Ensembl Genome Browser. A classificação dos genes para a função biológica, a identificação das vias metabólicas e enriquecimento de genes foi realizada no site DAVID (v. 6.7) e GeneCards. Foram encontrados para as características força de cisalhamento, índice de marmorização, área de olho de lombo, a\*, b\* e L\* um total de 154, 126, 151, 310, 136 e 150 genes dentro das CNVRs, respectivamente. Como destaque, podemos citar os genes SCARA3, SCARA5, COL10A1 e COL5A1 cuja expressão pode influenciar a concentração de colágeno nas fibras musculares, causando enrijecimento do músculo e consequentemente da carne. A expressão do gene NDUF6 atua como moderador na produção de insulina, garantindo assim o fornecimento de energia necessária para o metabolismo do músculo esquelético. O gene FABP7 codifica uma proteína que pode auxiliar no processo de deposição de gordura na musculatura do animal são as proteínas de ligação de ácidos graxos (FABPs), favorecendo o aumento da maciez da carne e também o aumento do índice de marmorização. A maioria das características estudadas apresentaram CNVRs contendo genes relacionados com receptores olfativos, que recentemente tem-se relatado expressão diferencial em tecido adiposo, fígado e músculo esquelético o que sugere que estas proteínas desempenham papel no acúmulo de gordura nos músculos, influenciando assim as características de qualidade de carne aqui estudadas. Através desse estudo

podemos concluir que o estudo de CNVRs e sua associação com características de interesse podem auxiliar no processo de seleção, bem como favorecer a produção de animais dentro dos padrões exigidos pelos consumidores.

**Palavras-chave:** detecção de CNVs, marmoreio, maciez, área de olho de lombo, Nelore

## 1.Introdução

No Brasil, a raça Nelore (*Bos taurus indicus*) é a que possui maior contingente numérico (ANUALPEC, 2016), devido aos animais desta raça ter uma maior resistência a altas temperaturas, umidade e parasitas, quando comparada às raças derivadas do gado europeu (*Bos taurus taurus*) (BARROS et al., 2006; HANSEN et al., 2004). Porém, segundo Cundiff et al. (2004), apesar da maior adaptabilidade, as raças zebuínas produziram carcaças com menor maciez e menor porcentagem de gordura intramuscular do que as raças *Bos Taurus*. Neste sentido, Pereira et al. (2014) constatarem que apesar do gado Zebu possui qualidade inferior de carcaça e carne em relação aos mestiços com *Bos taurus* (Angus), existe uma considerável variação na raça Nelore para características de qualidade de carne, onde vários touros têm uma proporção de sua progênie comparável em termos de maciez de carne à progênie de touros da raça Angus.

Devido a rusticidade da raça, a criação da raça Nelore por muitos anos tem sido realizada de forma inadequada, como por exemplo manejo deficiente, má qualidade das pastagens e insumos fornecidos aos animais, além do descaso com o bem-estar dos animais. Tais fatores prejudicaram o desenvolvimento do animal e consequentemente a qualidade do produto final, reduzindo a maciez da carne nas raças zebuínas.

Contudo, a adequação ao manejo é um desafio, pois criadores de bovinos brasileiros ainda utilizam ambientes e sistemas de produção muito diversos para produzir gado que seja produtivo e lucrativo e produtos de carne que satisfaçam os requisitos do consumidor (PEREIRA et al, 2014), que estão mais conscientes em relação à própria saúde, exigindo produtos com melhores padrões de qualidade

(FERRAZ & FELÍCIO, 2010). Para os padrões internacionais de qualidade da carne, a quantidade de gordura intramuscular ou marmoreio depositada no músculo *Longissimus* é o principal determinante do valor da carcaça e preditor de palatabilidade. Além da maciez e marmoreio características como área de olho de lombo, acabamento também têm sido exploradas com intuito de atender o complexo sistema de produção de carne de qualidade.

Apesar das características de carcaça possuírem variabilidade fenotípica e genética para responder a seleção (BALDI et al. 2013; FERRIANI et al. 2013), estas têm expressão tardia e são difíceis de mensurar, o que dificulta a disponibilidade de animais jovens avaliados para características de carcaça e carne com precisão razoável. Tal variabilidade também foi constatado por Tonussi et al. (2015), no qual avaliaram as correlações entre características de carcaça e carne em bovinos Nelore, encontraram herdabilidades de 0,28 e 0,21 para marmoreio e maciez, respectivamente. O estudo realizado por Magalhães et al. (2016), no qual realizaram análises de GWAS para as características de maciez e marmoreio e demonstraram a existência de variabilidade genética baixa para maciez e marmoreio (herdabilidade  $0,12 \pm 0,07$ ,  $0,1 \pm 0,07$ , respectivamente), onde as janelas de SNP encontradas explicaram 3,89% da variância genética aditiva para estas características. O estudo dessas regiões no gado Nelore é o primeiro passo na identificação de mutações causais que contribuirão para a avaliação genética da raça. Uma possibilidade para superar essas dificuldades é a identificação de marcadores genéticos ou polimorfismos em genes que influenciam características de carcaça e carne para melhorar essas características através da seleção assistida por marcadores ou seleção genômica (GARRICK 2011).

Os CNVs mostraram ser importantes em explicar a variabilidade fenotípica de características produtivas bem como a susceptibilidade a doenças. A descoberta dos CNVs no genoma de bovinos (LIU et al., 2008; MATUKUMALLI et al., 2009; FADISTA et al., 2010) e a construção de vários mapas de CNV para bovinos utilizando diferentes métodos (Fadista et al 2010; BAE et al 2010; LIU et al 2010; HOU et al 2011b; BICKHART et al 2012), permitem que os CNVs sejam investigados em estudos de larga escala. Sendo assim, o conhecimento de como os CNVs contribui para a variação fenotípica de características de importância econômica em bovinos é pouco conhecido, quando comparado com humanos e outros organismos-modelo.

Além da utilização de SNPs, nos últimos anos vários estudos de associação com CNVs e características de produção e qualidade de carne em bovinos Nelore foram realizados. Silva et al., 2016 em estudo de associação de CNVs com maciez da carne de bovinos Nelore, encontraram um total de 1,155 CNVR que se sobrepuseram em 2,750 genes, que foram enriquecidos em processos envolvendo guanoserossulfato (GTP), previamente relatados por influenciar a fisiologia e morfologia do músculo esquelético. Além disso, duas CNVRs foram identificadas próxima dos genes do metabolismo da glutatona que foi previamente associado à maciez da carne. Em outro estudo também em bovinos Nelore, Zhou et al. (2016) realizaram GWAS entre as CNVs detectadas e características de crescimento e identificaram sobreposto em uma das regiões significativas o gene KCNJ12, um candidato funcional para o desenvolvimento muscular e desempenha papéis críticos em características de musculatura. Além destes, estudos de associação entre regiões de CNV e outros fenótipos de interesse econômico, como por exemplo perfil

de ácidos graxos da carne foram realizados por Lemos et al. (2016), que utilizou o mesmo banco de dados do presente estudo e detectaram um grande número de CNVRs e após a prospecção de genes para estas regiões foram identificados genes associados ao perfil de ácidos graxos que ajudaram a compreender o mecanismo genético que influencia o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular no gado Nelore.

Neste sentido o objetivo do presente estudo foi identificar regiões no genoma de bovinos da raça Nelore que apresentam variações no número de cópias (CNV: Copy Number Variation) e estudar a associação genética entre os CNVRs com características quantitativas e qualitativas da carne.

## **2. Materiais e Métodos**

### *2.1 Animais e informações de manejo*

Foram utilizados um total de 1751 machos inteiros da raça Nelore terminados em confinamento (mínimo 90 dias), com idade em torno de dois anos de idade. Os dados para as análises propostas seguiram o esquema de um teste de progênie, aproveitando a estrutura já existente em programas de melhoramento em grandes populações, que permitem que a base fique estruturada em famílias de meio-irmãos. Os animais foram provenientes de fazendas localizadas nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-oeste, e que integram programas de melhoramento genético Conexão Delta G Norte, Paint e Nelore Qualitas. Os objetivos principais nas

propriedades que participaram do estudo são a venda de reprodutores jovens e animais para abate.

O programa de melhoramento genético desenvolvido nas propriedades utiliza como critério de seleção, as características de crescimento, reprodutivas e de terminação. Normalmente, os animais são pesados ao nascimento, desmama (205 dias de idade) e ao sobreano (550 dias de idade), tanto à desmama como ao sobreano, os animais são avaliados visualmente recebendo notas que variam de um a cinco para conformação (C), precocidade de terminação (P), musculatura (M) e umbigo (U). Além disso, ao sobreano é realizada a mensuração do perímetro escrotal

## *2.2 Formação dos lotes e procedimento no abate*

Para a formação dos lotes de abate foram utilizados dados dos animais em relação à fazenda de nascimento, ano e época de nascimento, e manejo alimentar desde o nascimento até o abate. As carcaças dos animais selecionados foram resfriadas em câmaras frias por pelo menos 24hs *post-mortem*, quando foram retiradas amostras de 2,5 cm de espessura do músculo *Longissimus thoracis* (contra-filé) na região da 12<sup>a</sup> - 13<sup>a</sup> costelas das meias-carcaças esquerdas para a determinação do perfil de ácidos graxos.

## *2.3 Avaliação das características qualitativas e quantitativas da carne*

### *2.3.1 Índice de marmorização*

Para a determinação do índice de marmorização na amostra do músculo *Longissimus thoracis* foi utilizada escala de graduação visual, metodologia descrita pelo USDA Quality Grade (1997), com escore de 1 a 10, em que: 1 = praticamente ausente; 2 = traços; 3 = leve; 4 = pouco; 5 = modesto; 6 = moderado; 7 = levemente abundante; 8 = moderadamente abundante; 9 = abundante; e 10 = muito abundante.

### *2.3.2 Área de olho-de-lombo (AOL)*

Foi determinada pelo método do quadrante de pontos, segundo a metodologia descrita pelo United States Standards for Grades of Carcass Beef (USDA Quality Grade, 1997).

### *2.3.4 Intensidade de cor da carne*

A determinação da coloração da carne foi realizada nas amostras resfriadas de *L. thoracis* com exposição de pelo menos 35 minutos em temperatura ambiente (RT). As medidas de coloração da carne foram realizadas utilizando-se um colorímetro KONICA MINOLTA - CR 400 (Minolta Co. Ltd.), segundo metodologia proposta por Renerre (1982), onde o equipamento foi calibrado para um padrão branco no sistema CIE L a\* b\* onde foram tomadas as medidas absolutas das coordenadas de luminosidade (L), coloração vermelha (a\*), e coloração amarela (b\*). Foram realizadas ainda as leituras proporcionais das mesmas coordenadas em relação a medida padrão adotada na primeira leitura (L, a\*, b\*).

### 2.3.5 Força de Cisalhamento

Para a análise de força de cisalhamento (FC) foram utilizadas amostras de 2,54 cm de espessura do músculo *L. thoracis* com osso, obtidas entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas das meias carcaças esquerdas dos animais e resfriadas por período mínimo de 96 hs. Para a realização da análise foi adotado o procedimento padronizado e proposto por Wheeler et al. (1995), onde as amostras são assadas até atingirem temperatura interna de 71°C e para a determinação da força de cisalhamento foi utilizado um equipamento Salter Warner-Bratzler Shear Force mecânico com capacidade de 25 kg e velocidade de seccionamento de 20 cm/minuto. O corte das amostras foi realizado em cilindros de ½ polegada retirados da região central da amostra em sentido longitudinal as fibras musculares. Foram feitas de seis a oito medidas por amostra a fim de se obter maior precisão nos resultados obtidos, expressos em quilogramas (Kg).

### 2.4 Genotipagem dos animais

Os animais foram genotipados usando um arranjo com 777,962 marcadores SNP (de alta densidade bovina BeadChip). O controle de qualidade dos marcadores SNPs foram realizadas excluindo aqueles com posição genômica desconhecido. Marcadores de SNPs que apresentaram "*assignment rate of genotypes*" (Call Freq) inferior a 93% foram excluídos da análise. Os cromossomos sexuais também foram excluídos da análise, sendo utilizados apenas os autossomos.

## *2.5 Formação dos grupos contemporâneos e ajuste dos dados*

Apenas os animais do banco de dados que continham informação de informação de grupo de manejo ao sobreano, fazenda e ano de nascimento e das características foram utilizados. Na formação dos grupos contemporâneos foram incluídos os animais nascidos na mesma fazenda e ano, e do mesmo grupo de manejo ao sobreano. Os grupos contemporâneos que continham menos de três observações e aqueles que desviaram  $\pm 3$  desvios-padrão da média desse grupo foram eliminados. Também foram excluídos animais sem informação de fazenda e ano de nascimento, grupo de manejo ao sobreano e da característica em estudo. Em seguida as características ajustadas foram agrupadas utilizando apenas os animais genotipados.

## *2.6 Identificação de CNV e CNVR*

A detecção de CNVs foi conduzida utilizando os dados gerados pelo genotipagem dos animais por meio do software GenomeStudio 1,0, onde cada SNP é analisada em particular. O PennCNV é o algoritmo mais utilizado para estudos de CNV, uma vez que apresenta baixa taxa de falsos positivos, ele incorpora múltiplas fontes de informação e é baseado em um modelo de “hidden Markov” para detecção de CNV a partir dos dados de genotipagem de alta densidade.

O arquivo do modelo para correção do conteúdo de guanina-citosina (CGC) foi gerado considerando uma região genômica de 1Mb em torno de cada marcador (500 kb de cada lado). As CNVs foram inferidas utilizando o modelo “Hidden Markov” através do PennCNV. Após a detecção das CNVs foram excluídas regiões contendo

menos de 10 SNPs por região e foram aplicados filtros de qualidade onde amostras com desvio padrão para razão log R (LRR)  $> 0,35$ ; frequência do alelo B (BAF)  $> 0,01$  e valor “waves factor” entre  $-0,05$  e  $0,05$  (Liu et. al, 2013) foram excluídas. Amostras contendo mais de 90 CNVs e CNV com tamanho menor que 1kb e maior que 5 Mb foram excluídas.

Inicialmente, o estudo de associação utilizando um modelo linear, foi realizado a partir de toda a população de animais que possuíam fenótipos. Contudo, poucas regiões de CNVs significativas foram identificadas com as características de carcaça e carne. Dessa forma, optamos por realizar um modelo logístico, onde dois grupos de animais com fenótipos ajustados extremos para cada característica foram criados para cada característica, sendo considerado 400 animais com a mais alta (HIGH) e 400 animais com as menores (LOW) fenótipos para cada característica e receberam a pontuação 1 e 0, respectivamente. O software CNVRuler utiliza o teste de máxima verossimilhança (ML) (KIM et al., 2012). Os falsos positivos (FDR) foram controlados utilizando um teste de correção de comparação múltipla, onde os  $FDR < 0,01$  possuem uma associação potencialmente significativa. A análise descritiva das características estudadas para a população sem ajustes e os grupos BAIXO e ALTO estão descritas na tabela 1. As regiões de CNVs (CNVRs) associadas às características em estudo, foram gerados pela sobreposição de CNVs identificadas através do software CNVRuler (KIM et al., 2012).

### *2.7 Prospecção de genes*

A busca dos genes foi realizada apenas nos CNVRs significativos ( $P < 0,05$ ), através do Map Viewer de genoma bovino, disponível no "National Center for

Biotechnology Information" (NCBI - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) no genoma UMD3.1 versão bovina, por ser de melhor resolução para mapeamento de CNV em bovinos (HOU et al., 2012) Nesta base de dados foram identificados genes nas regiões cromossômicas que explicaram parte da variância genética aditiva das características estudadas.

A classificação dos genes para a função biológica, a identificação das vias metabólicas e enriquecimento de genes foi realizada no site "O banco de dados para anotação, visualização e descoberta integrada (DAVID) v. 6.7" (<http://david.abcc.ncifcrf.gov> /). A identificação das vias metabólicas e enriquecimento dos genes (vias Gene Ontologia e KEEG) também foi realizada no website DAVID, a partir da anotação Ensembl de genes no banco de dados.

### **3. Resultados E Discussão**

#### *3.1 Análise descritiva das características*

Pode-se observar que houve diferença significativa entre os grupos baixo e alto quanto às características relacionados à qualidade da carne produzida (Tabela 1). Animais do grupo alto produziram carne com maior área de olho de lombo, mais marmorizada, mais vermelha ( $> a^*$ ) e mais brilhante ( $> L^*$ ), no entanto, a carne produzida pelos animais do grupo baixo foi mais macia ( $< FC$ ) do que a carne produzida pelos animais do grupo alto.

Tabela1. Análise descritiva dos parâmetros área de olho de lombo (AOL – cm<sup>2</sup>), índice de marmoreio, força de cisalhamento (FC - Kgf), intensidade de vermelho (a\*), intensidade de amarelo (b\*) e luminosidade (L\*) do músculo *longissimus* para a população total (controle), grupos baixo e alto após ajustes.

| Parâmetro | Controle |       |       |      | Baixo              |       |       |      | Alto               |       |       |      |
|-----------|----------|-------|-------|------|--------------------|-------|-------|------|--------------------|-------|-------|------|
|           | Media    | Min   | Max   | DP   | Media              | Min   | Max   | DP   | Media              | Min   | Max   | DP.  |
| AOL       | 68.2     | 30.9  | 93.9  | 6.99 | 58.5 <sub>b</sub>  | 42.8  | 63.03 | 2.87 | 76.19 <sub>a</sub> | 71.33 | 93.05 | 3.03 |
| Marmoreio | 2.73     | 1.9   | 4.2   | 0.39 | 2.31 <sub>b</sub>  | 1.58  | 2.49  | 0.12 | 3.2 <sub>a</sub>   | 2.95  | 4.29  | 0.14 |
| FC        | 5.95     | 1.56  | 12.33 | 1.42 | 4.6 <sub>b</sub>   | 2.73  | 5.14  | 0.35 | 7.45 <sub>a</sub>  | 6.64  | 10.73 | 0.52 |
| a*        | 15.48    | 4.04  | 33.31 | 3.56 | 12.52 <sub>b</sub> | 6.02  | 14    | 1.02 | 18.72 <sub>a</sub> | 16.81 | 29.26 | 1.36 |
| b*        | 18.06    | 10.56 | 33.48 | 2.88 | 18.08 <sub>a</sub> | 10.84 | 25.11 | 1.44 | 18.07 <sub>a</sub> | 10.36 | 26.41 | 1.30 |
| L*        | 28.21    | 12.94 | 43.99 | 4.8  | 23.68 <sub>b</sub> | 14.11 | 26.29 | 1.92 | 32.36 <sub>a</sub> | 30.36 | 38.97 | 1.27 |

A coloração da carne pode ser influenciada por fatores como alimentação, idade do animal, atividade física durante a vida, concentração de mioglobina no músculo e pH final da carcaça (MUCHENJE *et al.* 2009). A luminosidade (L\*) da carne pode ser afetada pela capacidade do músculo em reter água intracelular (KOOHMARAIE *et al.* 2002; ANDRADE *et al.*, 2010), sendo que quanto maior a produção de exsudato, mais brilhante tende a ser a carne e maior o valor de L\*. Com o aumento ou redução do valor de a\*, a coloração avermelhada da carne aumenta ou diminui, respectivamente, e esta variável pode ser utilizada como parâmetro de controle da estabilidade da carne durante o seu armazenamento (GARCÍA-ESTEBAN *et al.* 2003). Quanto à intensidade de amarelo (b\*), conforme o valor de b\* aumenta ocorre a descoloração das amostras, enquanto que a redução do valor de b\* representa a formação de metamioglobina, que proporciona coloração marrom à carne (HUANG *et al.* 2011). Dados da literatura apontam que valores de força de cisalhamento abaixo de 5 kgf caracterizam a carne como macia (FELICIO 1997). Assim, a carne de animais pertencentes ao grupo baixo pode ser considerada macia e a carne de animais do grupo alto pode ser considerada dura.

### *3.2 Variações no número de cópias (CNVs) e regiões de variações no número de cópias (CNVRs)*

Após busca através do algoritmo PennCNV, um total de 13.765 CNVs foram identificados, com comprimento médio de médio porte 185.640,68bp, com um máximo de 4.395.339bp e um mínimo de 50.001bp. Os CNVs originados do PennCNV foram utilizados para a determinação dos CNVRs utilizando o CNVRuler, e mostraram um total de 982 CNVR distribuídas em todos os 29 cromossomos da população sob estudo. Essas CNVR correspondem a aproximadamente 5.9% do comprimento total do genoma bovino (UMD\_3.1). Considerando o total de CNVRs obtidas através de CNVs de todos os tamanhos, destas 41.03% foram caracterizadas como regiões de inserção de números de cópias, 37.27% como deleção e 21.7% com ambos os eventos na mesma região (inserção e deleção).

### *3.3 Associação de genes com as CNVRs*

Dentre os genes encontrados nos CNVRs, alguns se destacam por apresentarem funções que podem influenciar as características em estudo. O software DAVID v6.7 foi usado para procurar grupos funcionais enriquecidos e caminhos com base em nossas listas de genes.

#### *3.3.1 Força de Cisalhamento*

Para a característica força de cisalhamento, que mensura a maciez da carne, foram encontrados um total de 154 genes em 11 CNVRs distribuídos pelos cromossomos BTA 1, 2, 5, 8, 9,11, 12, 20, 23, 29, descritos da tabela. O gene

*SLC34A3* está localizado em uma CNVR associado a força de cisalhamento. Esse gene participa do metabolismo de fósforo, cálcio e sódio do músculo e mutações foram identificadas em humanos e associadas à fraqueza muscular (BERGWITZ et al 2006, LAL et al 2016). A atuação do gene no músculo e a sua participação na rigidez do tecido muscular, fazem-no um candidato para essa característica em bovinos. Mais ainda, esse gene aparece em outro CNVR significativo para cor a\*. Mostrando que esse gene é parálogo (mais de uma cópia no genoma) e de efeito pleiotrópico. Outro gene também associado à fraqueza muscular é o gene *TRDN* (triadin) expresso tanto no músculo esquelético como no cardíaco. Oddoux et al., (2009) observaram em um estudo com ratos, que os animais que não expressavam o gene Triadin, apresentavam fraqueza muscular, possivelmente devido à sua função no acoplamento excitação-contração muscular.

Os genes *SCARA3* e *SCARA5* fazem parte de uma importante família de receptores é SR, o qual é composto por uma espiral enrolada  $\alpha$ -helicoidal e uma tripla hélice do colágeno (Kodama et al., 1990). Estes genes podem estar associados às células de colágeno presente na fibra da carne e sua expressão pode indiretamente alterar a concentração de colágeno muscular e consequentemente influenciar característica em estudo.

Outro gene encontrado foi o *NDUFB6*, provavelmente, sua expressão atua como moderador na produção de insulina, garantindo assim o fornecimento de energia necessária para o metabolismo do músculo esquelético. Em estudo, Ling et al. (2007), avaliaram gêmeos jovens e idosos com e sem diabetes de miélites tipo 2 e descobriram que a expressão do gene *NDUFB6* (NADH dehydrogenase

(ubiquinone) 1 beta subcomplex, 6) no músculo esquelético diminui com a idade e o nível desse gene no músculo foi positivamente associado à absorção de glicose.

Além das fibras musculares, o tecido adiposo também faz parte da composição estrutural da carne e pode influenciar diretamente a maciez do produto final, pois a deposição de gordura entre as fibras musculares pode aumentar a maciez. Um grupo de proteínas que possivelmente auxiliam no processo de deposição de gordura na musculatura do animal são as proteínas de ligação de ácidos graxos (*FABPs*), tais como as produzidas pelo gene *FABP7* (fatty acid binding protein 7, brain), também associado à força de cisalhamento, que possuem um efeito estimulador sobre as enzimas envolvidas nos processos de metabolismo dos ácidos graxos (SHIMIZU et al., 1997). Esse gene foi associado ao peso e rendimento de peito de frango em um estudo realizado por Liu et al., (2013) onde identificaram marcadores moleculares e genes candidatos relacionados com características de composição corporal e qualidade da carne em frangos da raça Beijing-You.

Outro tecido que também pode afetar a maciez da carne, é o tecido conjuntivo, onde encontra-se presente o colágeno, o principal tipo de fibra extracelular, sendo a proteína mais abundante no organismo do animal, representando cerca de 20 a 25% do total de proteínas em mamíferos (SARCINELLI et al., 2007), e tem como uma de suas funções promover elasticidade e resistência aos músculos. Alguns dos genes encontrados, estão associados a produção dessa proteína, como o *COL10A1* (Collagen, Type X, Alpha 1) e o *COL5A1* (collagen, type V, alpha 1) localizados no BTA9 e BTA11, respectivamente. Apesar do gene em questão não estar associado com os tipos de colágenos normalmente encontrados

no músculo esquelético, acredita-se ele pode indiretamente influenciar na concentração e produção de colágeno no músculo *longissimus*.

### 3.3.2 Marmoreio

Foram encontrados um total de 126 genes em 11 CNVRs distribuídos pelos cromossomos BTA 1, 3, 4, 5, 7, 10, 11 descritos da tabela 4. Dentre os genes encontrados alguns se destacam por apresentarem funções que podem influenciar indiretamente a característica em estudo. Os genes SLC6A18 (solute carrier family 6, member 18), SLC6A19 (solute carrier family 6 (neutral amino acid transporter), member 19) pertencem a família SLC6 de proteínas, agem como transportadores específicos para neurotransmissores, aminoácidos, e osmólitos como betaína, taurina e creatina (utilizada como reserva de energia, principalmente nas células do músculo esquelético). É encontrada livre no citoplasma de células musculares e quando há estresse físico ou lesões musculares estas células a deixam extravasar. (THRALL et al., 2007; DAIROT & BRANDELLI, 2008; DEL GRANDE, 2012). Devido a esses aspectos, a creatina quinase (CK) é frequentemente usada como indicador de estresse físico/lesão muscular no período pré-abate, sendo diretamente associado ao bem-estar animal e à qualidade de carne. A mensuração dos níveis de CK sanguínea tem sido empregada na determinação do estresse físico, ou na suscetibilidade ao estresse, em suínos, bovinos, ovinos e aves (DAIROT & BRANDELLI, 2008).

### 3.3.3 Área de olho de lombo (AOL)

Da mesma forma para a característica AOL, foram encontrados um total de 151 genes em 20 CNVRs distribuídas pelos cromossomos BTA 1, 4, 5, 7, 8, 12, 15, 16, 17, 28, 29 descritos da tabela 4. Acredita-se que a expressão do gene *INS* (insulin) colabora para o fornecimento de energia para o músculo *longissimus*, pois o mesmo apresenta como função fornecer instruções para produzir o hormônio insulina, o qual é necessário para o controle dos níveis de glicose no sangue. Em estudo de associação de CNVs com características de composição do leite (porcentagem de proteína do leite e de gordura) na raça Holstein, Gao et al., 2017, identificaram através de “Gene Ontology” e “KEGG pathways analyses”, que o gene *INS* está associado com funções biológicas específicas relacionadas ao metabolismo de proteínas e lipídios, bem como vias metabólicas da insulina/IGF. Implicando em uma potencial associação com o metabolismo de lipídeos nos tecidos.

As análises de enriquecimento foram feitas com genes identificados em regiões genômicas associadas às características em estudo com o auxílio da ferramenta DAVID indicaram que o gene *COL10A1*, associado à SF e o gene *INS*, associado a REA, estão envolvidos em vias metabólicas (GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix, GO:0044421~extracellular region part, GO:0031012~extracellular matrix) envolvidas na matriz extracelular proteica, parte região extracelular e na matriz extracelular. A matriz extracelular é responsável, junto aos diferentes tipos de células, pela formação dos diferentes tipos de tecidos, órgãos, e por consequência pelos diversos sistemas. Sendo mais

abundante nos tecidos conjuntivos, porém apresentado papel de suma importância nos demais tecidos (ROBERTS et al., 2004).

Recentemente, Fernandes Júnior et al. (2016), realizaram análises de GWAS utilizando a metodologia do single-step BLUP genômico (ssGBLUP) utilizando a mesma base de dados do presente estudo, e identificaram genes associados à área de olho de lombo que estão envolvidos em processos biológicos relacionados crescimento e desenvolvimento dos animais (CDKN2A e CDKN2B) e relacionados ao crescimento e proliferação celular (SLC38A1 e SLC38A2) associados à REA. Apesar de não terem sido identificados para a presente característica genes da família SLC3 e SLC6 foram associados com a maciez e o marmoreio da carne, respectivamente, o que pode indicar participação desta família de genes na fisiologia de formação das células musculares, e com isso influenciarem as características em estudo.

#### *3.3.4. Intensidade de cor*

A intensidade de vermelho ( $a^*$ ) é um indicativo da intensidade da cor vermelha e está associado ao conteúdo de oximioglobina no músculo. A intensidade de amarelo ( $b^*$ ) indica a quantidade de amarelo e frequentemente está relacionada aos pigmentos carotenoides depositados na gordura da carne. A luminosidade ( $L^*$ ) está associada à quantidade de água no tecido e à evolução das reações bioquímicas post mortem. (ODA et al., 2004; SAÑUDO et al., 1997). Para a característica intensidade de vermelho ( $a^*$ ) foram encontrados nas CNVRs um total de 310 genes distribuídos em 16 CNVRs pelos cromossomos BTA2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,

11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, para intensidade de amarelo ( $b^*$ ) foram identificados nas CNVRs 136 gene em 13 CNVRs distribuídos pelos cromossomos BTA 2, 3, 4, 5, 6, 7, 17, 19, 29 e para luminosidade ( $L^*$ ), foram localizados nas CNVRs 150 genes em 13 CNVRs, dispostas pelos cromossomos BTA 2, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 23, 29 descritos da tabela 4. Os genes descritos a seguir são associados para simultaneamente para as características  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ .

O gene *CAPZB* (capping protein (actin filament) muscle Z-line, beta), associado às características  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L$ , codifica a subunidade beta da proteína de ligação as extremidades farpadas (*barbed-end*) dos filamentos actina, que pertence à família de proteínas F-actina de nivelamento. Este gene foi identificado em frangos como uma proteína de ligação de actina, composta por subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  (BARRON-CASELLA et al., 1995). Ao limitar as extremidades farpadas ("*barbed-end*") dos filamentos de actina, o Cap Z regula o crescimento do filamento de actina nas suas extremidades (CASELLA et al. 1986). Possivelmente, este gene auxilia a formação e desenvolvimento muscular.

Os genes *PLA2G2F* (phospholipase A2, group IIF), *PLA2G2A* (phospholipase A2, group IIA (platelets, synovial fluid)), *PLA2G2D1* (calcium-dependent phospholipase A2 PLA2G2D1), *PLA2G5* (phospholipase A2, group V), *PLA2G2D4* (calcium-dependent phospholipase A2 PLA2G2D4), foram associados à característica luminosidade ( $L^*$ ), são membros da família fosfolipase (PLA2), enzimas que realizam a clivagem de fosfolipídios da membrana celular em ácidos graxos livres e lisofosfolipídios,( VADAS et al., 1986; ARITA et al., 1989). As PLA2s apresentam um importante papel em várias funções celulares, incluindo manutenção dos fosfolipídios celulares, geração de prostaglandinas e leucotrienos, tradução de

sinais, proliferação celular e contração muscular (DENNIS, 1994). O gene PLA2G2F (phospholipase A2, group IIF) está relacionado com o metabolismo de ácidos graxos. Em estudo utilizando sistemas celulares de humanos e ratos, Murakami et al. (2002) concluiu que esse gene regula o metabolismo do ácido araquidônico e possui função de resposta inflamatória. Se confirmada a expressão desse gene no músculo pode haver indício de maior acúmulo de ácidos graxos no músculo, o que acarreta em maior deposição de gordura entremeada, consequentemente ele afeta os valores de  $a^*$  e  $b^*$ , reduzindo a intensidade de vermelho e aumentando a intensidade de amarelo na carne avaliada. A análise funcional DAVID revelou agrupamentos envolvidos nas ligações dos íons de ferro e cálcio, ligações de cátion e de metais.

### *3.3.5. Regiões relacionadas entre características*

Com exceção da característica maciez, as demais características apresentaram CNVRs contendo genes relacionados com receptores olfativos, que estão localizados no BTA7 para a característica marmorização, no BTA5 e BTA15 para a característica área de olho de lombo, no BTA 5 e BTA7 para a característica  $a^*$  no BTA 29 para a característica  $b^*$ , nos BTA7, BTA10, BTA15 e BTA29 para a característica luminosidade ( $L^*$ ). A expressão de um grande número de receptores olfativos contribui para a complexidade da capacidade do sistema olfativo para detectar e discriminar compostos odoríferos (FLEISCHER, et al., 2009). Recentemente, estes receptores têm sido detectados no trato gastro intestinal. Diversos estudos relataram a expressão diferencial da proteína no tecido adiposo, fígado e músculo esquelético de ratos propensos à obesidade e resistentes ao que

sugerem que estas proteínas desempenham um papel na susceptibilidade a obesidade (JOO et al, 2011;. KIM et al, 2011 ; WANG et al, 2011).

Receptores olfativos são quimiorreceptores e, apesar de seu papel exato no trato gastrointestinal não é compreendido, é evidente a partir destes dados que estes receptores são suscetíveis a manipulações da dieta (PRIMEAUX et al., 2012). Os grupos funcionais enriquecidos significativos relacionados com os receptores olfativos encontrados foram a atividade do receptor, via olfatória proteína receptor acoplado a sinalização de proteínas, parte integrante da membrana, receptor ligado a transdução de sinal da superfície celular, intrínseco à membrana, transdução olfatória.

Utilizando o mesmo banco de dados do presente estudo, Magalhães et al. (2016) realizaram análises de GWAS para as características de maciez e marmoreio utilizando a metodologia ssGBLUP. Os autores apresentaram os resultados de GWAS com base na proporção da variância explicada por janelas de 150 SNPs adjacentes e identificaram janelas de SNPs que continham fatores olfativos, que participavam da transformação de GDP (guanosine diphosphate) em GTP (guanosine triphosphate), que são reguladores da proteína G, e podem ser utilizados como fonte de energia dentro das células (RUSSELL et al., 2007). Os receptores olfativos também foram encontrados em estudo recente realizado por Lemos et al. (2016), que também utilizou a mesma base de dados do presente estudo na associação de CNVs e CNVRs com perfil ácidos graxos carne, endossando a importância destes genes em características de qualidade de carne, pois, outra explicação para o efeito dos receptores olfativos em características de carne é sua

ação no duodeno, onde promovem a absorção de ácidos graxos e com isso aumenta o acúmulo de gordura, como demonstrado em ratos (PRIMEAUX et al., 2013).

Além disso, receptores olfativos também são conhecidos por atuar no tecido adiposo e na diferenciação dos adipócitos, o que acarreta no acúmulo de gordura no músculo (VON DER HEYDE et al., 2014). Outros estudos também sugerem que os receptores olfativos participam da ingestão de alimentos devido à sua função conhecida sobre os neurônios olfatórios, que faz com que o animal aumente a busca e ingestão dos alimentos (LOCH et al., 2013) que consequentemente promove o ganho de peso e o acúmulo de gordura. Isso mostra a forte influência desse grupo de genes em características de carne em animais Nelore. Genes possuem vários papéis no metabolismo, tanto que os receptores olfativos primeiramente foram descritos por estarem envolvidos na percepção de odores, mas não se pode descartar a possibilidade que exerçam outras funções no organismo, como mencionado acima. Assim, estudos específicos que demonstram o verdadeiro papel desse grupo de genes no metabolismo lipídico são necessários.

É bastante interessante observar que muitas das CNVRs apresentaram genes do tipo LOC. Esses genes nada mais são do que genes incertos, ou seja, genes que ainda precisam de mais estudos para se confirmar sua existência e ação. O simples fato de esses genes estarem em regiões duplicação-deleção, pode dificultar sua validação, pois dependendo do genoma a ser sequenciado, pode um fragmento pode estar ausente ou duplicado. Todavia, o presente estudo que sinaliza CNVR significativas, reforça a presença de genes atuantes localizados nessas regiões.

As janelas de SNPs identificadas por Magalhães et al. (2016) e as CNVRs encontradas do presente estudo para as características marmoreio e maciez foram

sobrepostas (Figura 2) sendo encontradas 66 e 58 regiões semelhantes entre os dois estudos, respectivamente. As regiões sobrepostas pelo critério de avaliação utilizado no estudo de SNPs não foram as que explicaram a variância das características, porém podem significar um ponto inicial para buscar possíveis explicações biológicas na expressão dos fenótipos. A descrição dessas regiões sobrepostas e o enriquecimento dos genes para as características marmoreio e maciez estão descritos na Tabela 9 e Tabela 10, respectivamente.

Os grupos funcionais enriquecidos significativos foram relacionados funções que podem influenciar em ambas as características em estudo, tais como de ligações de ATP, diferenciação celular, manutenção e desenvolvimento do músculo esquelético, desenvolvimento do tecido adiposo e síntese de colágeno. Os genes EPHB3, FXYP1, EEF2, GJA1, ETV5, CAMK2G, HMG20B, MEOX2 encontrados nessas regiões, estão relacionados com a diferenciação celular, desenvolvimento e contração muscular. Os genes ABCF3, ATM, DDX39, FLT1, PAN3, PBK, RASGEF1C, TNFRSF6B, DAPK3, DGKG, FLT3, IPMK, MATK, MAPK9 estão relacionados com ligações de ATP. E os genes COL20A1, ECE2, ACAT1, LEP estão associados com funções relacionadas à síntese de colágeno e ao desenvolvimento do tecido adiposo. Estes genes podem colaborar na fisiologia da deposição de gordura intercalada no músculo, uma vez que os lipídios são derivados do consumo de gorduras ou da ingestão excessiva de carboidratos que são processados e armazenados sob a forma de gordura. Dessa forma a sobreposição dessas regiões em ambos estudos aumenta a confiabilidade da existência de variações estruturais influenciando a variabilidade genética da maciez e marmorização da carne e indicam

que o uso destas variações poderão futuramente auxiliar na identificação e seleção de animais superiores para estas características.

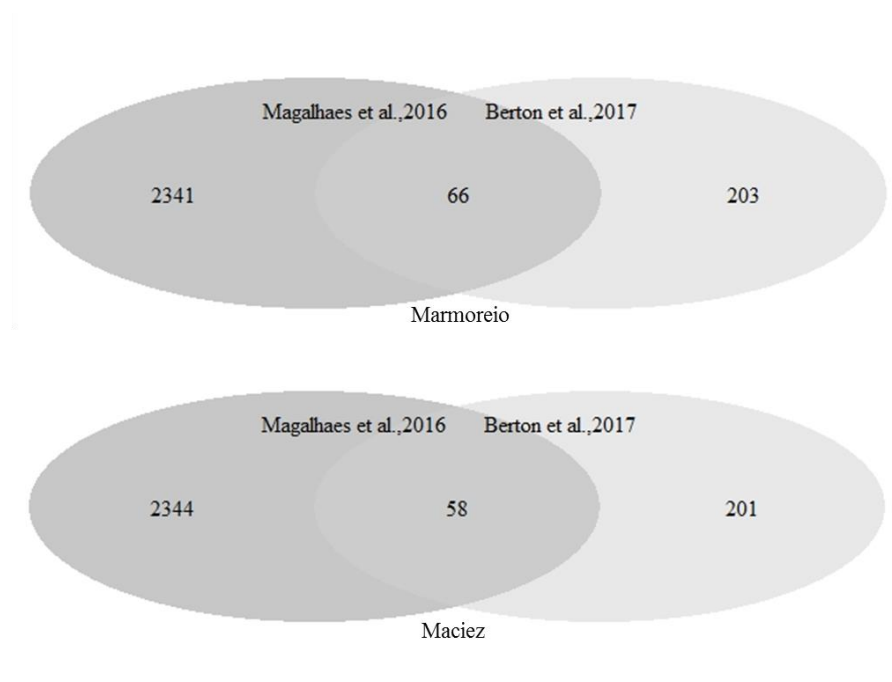


Figura 2. Sobreposições dos resultados de CNVR e janelas de SNPs obtidos no presente estudo e por Magalhães et al., 2016 para índice de marmorização e maciez, respectivamente.

A expressão tardia e a difícil mensuração de características de qualidade de carne prejudicam sua utilização como critérios de seleção, apesar delas possuírem variação fenotípica e genética para responder a seleção (PEREIRA et al., 2014; TONUSSI et al., 2015) e demonstrarem a existência de uma variação substancial na raça Nelore, onde vários touros têm uma proporção de sua progênie comparável em termos de maciez de carne touros mestiços *Bos taurus* (PEREIRA et al., 2014). Neste sentido, uma solução para superar estas dificuldades pode ser a identificação de marcadores genéticos ou polimorfismos em genes (GARRIK et al., 2011) que influenciam estas características para melhorá-las através de seleção assistida por marcadores ou seleção genômica. Comparado com SNPs, os CNVRs envolvem

mais sequências genômicas e têm efeitos potencialmente maiores, incluindo mudanças na estrutura do gene e na dosagem, alternando a regulação gênica, e expondo alelos recessivos (ZHANG et al. 2009) e consequentemente influenciam a expressão do fenótipo.

Dessa forma o estudo das CNV e CNVRs juntamente com outras ferramentas genômicas poderá auxiliar na determinação de possíveis regiões candidatas associadas às características de qualidade da carne, além de possibilitar a identificação de regiões no genoma bovino que podem participar do processo da fisiologia de desenvolvimento muscular, bem como contribuir para a identificação e seleção de animais geneticamente superiores.

#### **4. Conclusão**

O enriquecimento de genes das regiões de CNV revelaram processos biológicos que podem estar envolvidos na qualidade de carne. Várias regiões genômicas foram associadas à QTL relacionadas à deposição de gordura (FABP7) e contração muscular (SLC34A3, TRDN), matriz extracelulares (INS e COL10A1), bem como genes transportadores de creatina (SLC6A18 e SLC6A19) foram identificadas, além suas respectivas vias metabólicas. Estas devem contribuir para consolidar características que quando agregadas às informações genômicas, poderão auxiliar na seleção para características associadas à qualidade da carne de bovinos da raça Nelore .

Além disso, as CNVRs podem ser usadas como ferramenta auxiliar em futuros estudos de GWAS, cuja principal função é procurar mutações causadoras informativas, que devem auxiliar o melhor entendimento dos mecanismos de ação e

a fisiologia de características importantes. A sobreposição de CNVs com SNPs deve aumentar as chances de encontrar regiões mais confiáveis para a detecção de QTLs relacionados com características de interesse.

[illegible]

[illegible]

Tabela 4. Descrição das CNVRs significativas associadas com as características da carne e das carcaças estudadas por regressão logística e relação dos genes encontrados associados as CNVRs

| Característica | CNVR ID        | Crs                                                           | Descrição    | Início       | Fim          | Tamanho | BAIXO | G* | L*  | ALTO | G  | L*  | Valor de P |
|----------------|----------------|---------------------------------------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------|-------|----|-----|------|----|-----|------------|
| AOL            | CNVR_loss_65   | 1                                                             | Perda        | 27782968     | 28111487     | 328520  | 22    | 0  | 22  | 9    | 0  | 9   | 0.02       |
|                | CNVR_loss_26   | 1                                                             | Perda        | 11769851     | 14989060     | 3219210 | 59    | 0  | 59  | 39   | 0  | 39  | 0.03       |
|                | CNVR_loss_172  | 1                                                             | Perda        | 93730576     | 93819471     | 88896   | 222   | 0  | 222 | 193  | 0  | 193 | 0.04       |
|                | CNVR_loss_91   | 1                                                             | Perda        | 46754269     | 49508661     | 2754393 | 33    | 0  | 33  | 19   | 0  | 19  | 0.05       |
|                | CNVR_loss_79   | 1                                                             | Perda        | 36764094     | 37962776     | 1198683 | 25    | 0  | 25  | 13   | 0  | 13  | 0.05       |
|                | CNVR_loss_985  | 4                                                             | Perda        | 90360104     | 91486921     | 1126818 | 57    | 0  | 57  | 83   | 0  | 83  | 0.02       |
|                | CNVR_gain_1435 | 4                                                             | Ganho        | 83370720     | 83480472     | 109753  | 83    | 83 | 0   | 60   | 60 | 0   | 0.03       |
|                | CNVR_loss_1171 | 5                                                             | Perda        | 59421039     | 60167240     | 746202  | 242   | 0  | 242 | 212  | 0  | 212 | 0.03       |
|                | CNVR_gain_2220 | 7                                                             | Ganho        | 9873696      | 10182428     | 308733  | 92    | 92 | 0   | 57   | 57 | 0   | 0.001      |
|                | CNVR_loss_1647 | 7                                                             | Perda        | 78032478     | 79823123     | 1790646 | 28    | 0  | 28  | 14   | 0  | 14  | 0.03       |
|                | CNVR_loss_1727 | 8                                                             | Perda        | 12695628     | 13901047     | 1205420 | 29    | 0  | 29  | 14   | 0  | 14  | 0.02       |
|                | CNVR_gain_2651 | 8                                                             | Ganho        | 32516387     | 34000737     | 1484351 | 42    | 42 | 0   | 26   | 26 | 0   | 0.04       |
|                | CNVR_loss_2614 | 12                                                            | Perda        | 75462926     | 75946247     | 483322  | 105   | 0  | 105 | 144  | 0  | 144 | 0.003      |
|                | CNVR_loss_2518 | 12                                                            | Perda        | 5559123      | 9441294      | 3882172 | 54    | 0  | 54  | 30   | 0  | 30  | 0.007      |
|                | CNVR_gain_4540 | 15                                                            | Ganho        | 45470174     | 45562968     | 92795   | 92    | 92 | 0   | 68   | 68 | 0   | 0.03       |
|                | CNVR_loss_2893 | 15                                                            | Perda        | 12016909     | 13476961     | 1460053 | 29    | 0  | 29  | 15   | 0  | 15  | 0.04       |
|                | CNVR_loss_3046 | 16                                                            | Perda        | 16691955     | 18431191     | 1739237 | 29    | 0  | 29  | 15   | 0  | 15  | 0.04       |
|                | CNVR_loss_3217 | 17                                                            | Perda        | 23678088     | 24942099     | 1264012 | 22    | 0  | 22  | 8    | 0  | 8   | 0.01       |
|                | CNVR_loss_4416 | 28                                                            | Perda        | 28447018     | 29050764     | 603747  | 30    | 0  | 30  | 14   | 0  | 14  | 0.02       |
|                | CNVR_loss_4539 | 29                                                            | Perda        | 49670579     | 50361506     | 690928  | 21    | 0  | 21  | 4    | 0  | 4   | 0.002      |
| genes          |                |                                                               |              |              |              |         |       |    |     |      |    |     |            |
|                | CNVR_loss_65   | -                                                             |              |              |              |         |       |    |     |      |    |     |            |
|                | CNVR_loss_26   | LOC100847925 NCAM2                                            |              |              |              |         |       |    |     |      |    |     |            |
|                | CNVR_loss_172  | LOC100294973 LOC100847574                                     |              |              |              |         |       |    |     |      |    |     |            |
|                | CNVR_loss_91   | LOC785485 LOC781452 LOC100299050 ZPLD1 TRNAF-AAA LOC104970829 |              |              |              |         |       |    |     |      |    |     |            |
|                | CNVR_loss_79   | EPHA3 LOC101904733                                            | LOC101904787 | LOC104970810 | PROS1 ARL13B | STX19   |       |    |     |      |    |     |            |

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                | LOC104970089 NSUN3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| CNVR_loss_985  | LOC782604 TRNAR-ACG GRM8                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| CNVR_gain_1435 | LOC104972168 LOC100295719 TRGC3 LOC104972166 TRGC4                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| CNVR_loss_1171 | LOC788242 LOC788258 LOC100140889 LOC100139544 LOC788285 LOC788298 LOC788322 LOC788357<br>LOC788372 OR10A7 LOC788396 LOC788413 LOC788428 LOC788438 LOC788512 LOC100139733 LOC788524<br>LOC104972492 LOC100140668 LOC788535 LOC104972457 LOC788540 LOC788552 LOC788583 LOC100139543<br>OR9K2 LOC512340 LOC511753 LOC527216 LOC788998 |
| CNVR_gain_2220 | LOC787882 LOC100295693 LOC100295734 LOC516132 LOC512689 LOC788031 LOC100295806 LOC100301138<br>LOC100301179 LOC100295735 LOC785898 LOC789459 LOC78684 LOC512488<br>LOC100848268 LOC513101                                                                                                                                          |
| CNVR_loss_1647 | LOC104968962 LOC104968963 LOC785099 LOC104968967                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| CNVR_loss_1727 | LOC104969269 LOC104969271 LOC104969270 MIR2285M-5 LOC786692 LOC10014078                                                                                                                                                                                                                                                            |
| CNVR_gain_2651 | LOC104969273 LOC104969276                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| CNVR_loss_2614 | LOC104969318 LOC782926                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| CNVR_loss_2518 | LOC522174 LOC100296113 LOC104973640 LOC523126 LOC104969731 LOC10190681 LOC523126                                                                                                                                                                                                                                                   |
| CNVR_gain_4540 | LOC100847548                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| CNVR_loss_2893 | LOC100141157 LOC104968471 LOC101903582 LOC101905933 LOC100141168                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| CNVR_loss_3046 | LOC100138474                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| CNVR_loss_3217 | LOC782645 LOC782678 LOC782718 LOC516263 LOC782791 LOC523139                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| CNVR_loss_4416 | LOC529492 LOC104974177                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| CNVR_loss_4539 | LOC529930 LOC101907125 LOC100140427                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                | PABPC4L LOC784179 LOC104974592                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                | ASCC1 ANAPC16 DDIT4 MCU TRNAG-CCC MIR2891 MICU1 DNAJB12 LOC104969715 LOC104969716                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                | KCNQ1 TRPM5 TSSC4 CD81 CTSD TSPAN32 ASCL2 TH INS IGF2 MIR483 H19 MRPL23 TNNT3 PRR33 LSP1                                                                                                                                                                                                                                           |
|                | TNNI2 SYT8 LOC101902361 LOC101902537 LOC104976310 LOC101902793 LOC104976309                                                                                                                                                                                                                                                        |



---

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CNVR_loss_1011 | PDE1C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| CNVR_loss_858  | COPS9 OTOS ANKMY1 LOC511497 CAPN10 GPR35 GPC1 MIR149 AQP12B KIF1A AGXT C3H2orf54 CROCC2<br>MTERF4 PASK PPP1R7 HDLBP SEPT2 FARP2 STK25 BOK THAP4 ATG4B DTYMK ING5 D2HGDH GAL3ST2<br>NEU4 PDCD1 RTP5                                                                                                                                              |
| CNVR_loss_1284 | LOC788242 LOC788258 LOC100140889 LOC100139544 LOC788285 LOC788298 LOC788322<br>LOC100138400 LOC788357 LOC788372 OR10A7 LOC788396 LOC788413 LOC788428 LOC788438<br>LOC788512 LOC100139733 LOC788502 LOC788490 LOC788524 LOC104972492 LOC100140668<br>LOC788535 LOC104972457 LOC788540 LOC788552 LOC100137966 LOC788569 LOC788583<br>LOC100139543 |
| CNVR_gain_1314 | ADGRL3 LOC104968895 LOC100140587 LOC101904414 LOC785233 LOC104968896 LOC104968896 LOC782855<br>LOC101904777 TECRL                                                                                                                                                                                                                               |
| CNVR_loss_2741 | LOC100847339 LOC101902112                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| CNVR_gain_1098 | TOM1 HMOX1 MCM5 RASD2 MB RBFOX2 MYH9TXN2 FOXRED2 EIF3D CACNG2 PVALB NCF4<br>CSF2RB TST KCTD17 TMPRSS6 RAC2 CYTH4 ELFN2 MFNG CARD10 USP18 ALG10 SYT10<br>PKP2 YARS2 DNM1L KIAA1551 AMN1                                                                                                                                                          |
| CNVR_loss_2573 | LOC100847903 LOC101907748 LOC784779 LRRTM4                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| CNVR_gain_3496 | NTRK3 MRPL46 MRPS11 DET1 ACAN HAPLN3 MFGE8 ABHD2 RLBP1 FANCI POLG<br>RHCG TICRR KIF7 PLIN1 ANPEPAP3S2 ZNF710 IDH2 GDPGP1 VPS33B PRC1 RCCD1<br>UNC45A MAN2A2 FES FURIN BLM CRT3 IQGAP1                                                                                                                                                           |
| CNVR_gain_572  | SH2D5 KIF17 DDOST CDA PLA2G2F PLA2G2D4 PLA2G2D1 PLA2G5 PLA2G2A OTUD3 CAPZB UBR4 ALDH4A1<br>TAS1R2 LOC536229 ACTL8 ARHGEF10L PADI6 PADI1 PADI2 SDHB MFAP2 CROCC NECAP2 SZRD1 FBXO42<br>ARHGEF19 EPHA2 FAM131C CLCNKA                                                                                                                             |
| CNVR_loss_1210 | LOC784883                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| CNVR_loss_2005 | ZCCHC7                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| CNVR_loss_3555 | IGLL1 VPRED3 SMARCB1 MIF SUSD2 GGT5 ADORA2A VPRED1 TOP3B PPM1F MAPK1 CCDC116 UBE2L3<br>TMEM191C SERPIND1 PI4KA P2RX6 CCDC74B MED15 KLHL22 DGCR2 SLC25A1 CDC45 CLDN5 TXNRD2 COMT<br>TANGO2 TRMT2A RTN4R                                                                                                                                          |
| CNVR_loss_3948 | IRX4 LOC104975301 NDUFS6 MRPL36 LOC104975297 LOC101907943 LPCAT1<br>SLC6A3 CLPTM1L TERT SLC6A18 SLC6A19 SLC12A7 LOC104975298 NKD2 TRIP13 BRD9 LOC101910077 TPPP<br>LOC104975299 LOC617224 CEP72 SLC9A3 EXOC3 LOC529500 IGCGAMMA PDCD6 SDHA CCDC127 LRRC14B                                                                                      |

---



---

|                |                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CNVR_loss_954  | LOC784883                                                                                                                                                                                                       |
| CNVR_loss_1292 | LOC104968943 CPEB2                                                                                                                                                                                              |
| CNVR_loss_1233 | LOC100141023 LOC101903089      LOC101902242 TRNAC-GCA ADGRL3                                                                                                                                                    |
| CNVR_loss_1322 | LOC101905208                                                                                                                                                                                                    |
| CNVR_loss_2646 | -                                                                                                                                                                                                               |
| CNVR_gain_4868 | PCDH10 PRAME TRNAC-GCA LOC786811 LOC101908157 LOC100138665 LOC101902151 LOC100336402                                                                                                                            |
| CNVR_loss_3214 | PCTP TMEM100 LOC528282 LOC781415 LOC616574    LOC100138217 LOC104974983 LOC781298 LOC513767<br>LOC100298860 LOC100298821 LOC100139255                                                                           |
|                | OR8D4 OR4D5 OR10S1 VWA5A OR8G2 TMEM225 OR8D2 OR8G5 LOC787455 LOC100299320 LOC100299628                                                                                                                          |
| CNVR_loss_4242 | LOC100301071 LOC782288 LOC782366 LOC782329 LOC100301320 LOC100300342 LOC100301231 LOC781828<br>LOC781509 LOC531816 LOC782297 LOC788607 LOC782191 LOC787625 LOC787694 LOC782009 LOC788554 LOC788573<br>LOC782221 |

---



---

|                |                                                                                          |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| CNVR_loss_2028 | LOC104973136                                                                             |
| CNVR_gain_3544 | SLC10A6 PTPN13                                                                           |
| CNVR_gain_3900 | LOC104973593 LOC101902172 LOC788820                                                      |
| CNVR_loss_2560 | SIRPB1                                                                                   |
|                | FAM160A2 OR52B2 OR52L1 OR56A1 OR56A3 OR56A4 OR52E8 OR52E6 OR52N2 OR52N5 OR56B4           |
| CNVR_loss_2848 | LOC616948 TRIM34 TRIM6 OR52B6 OR52H1 UBQLN3 OR52D1 OR51I2 OR51I1 OR51Q1 OR51M1 HBE1      |
|                | HBE4 HBB HBE2 OR51S1 HBG OR51F2 OR51V1                                                   |
| CNVR_loss_2998 | FMO1 FMO2 LOC517828 FMO3 TRNAE-UUC MROH9 LOC104974426 LOC104974425                       |
| CNVR_loss_3879 | BOLA-DQA2 BOLA-DQB BOLA-DQA5 LOC100848815 LOC100851058                                   |
|                | LOC781277 LOC509323 LOC100139052 OR8D2 LOC782375 TRNAV-CAC LOC516940 LOC782297 LOC782257 |
|                | LOC782221 LOC782191 LOC787625 LOC100141288 LOC510984 LOC787694 LOC514864 LOC101903186    |
| CNVR_loss_4442 | LOC513062 LOC782009 LOC526276 LOC616755 OR8G5 LOC781842 LOC100301297 LOC788544 LOC788554 |
|                | LOC788620 LOC788590 LOC788607 LOC788573                                                  |

---

Tabela 8. Vias de enriquecimento do software DAVID para as características de qualidade de carne

| <b>Categoria</b> | <b>Termo</b>                                       | <b>contagem</b> | <b>%</b> | <b>Valor P</b> | <b>FDR</b> |
|------------------|----------------------------------------------------|-----------------|----------|----------------|------------|
| GOTERM_MF_FAT    | olfactory receptor activity                        | 23              | 0.81043  | 1.28E-05       | 0.01631    |
| GOTERM_BP_FAT    | protein coupled receptor protein signaling pathway | 29              | 1.021846 | 1.16E-04       | 0.17456    |
| GOTERM_CC_FAT    | integral to membrane                               | 50              | 1.761804 | 0.003457       | 4.08719    |
| GOTERM_BP_FAT    | cell surface receptor linked signal transduction   | 29              | 1.021846 | 0.004038       | 5.93413    |
| GOTERM_CC_FAT    | intrinsic to membrane                              | 50              | 1.761804 | 0.007236       | 8.37784    |
| KEGG_PATHWAY     | Olfactory transduction                             | 14              | 0.493305 | 0.018563       | 17.2285    |
| SP_PIR_KEYWORDS  | iron                                               | 8               | 0.26738  | 0.018308       |            |
| GOTERM_MF_FAT    | GO:0005506~iron ion binding                        | 9               | 0.300802 | 0.058569       |            |
| GOTERM_MF_FAT    | GO:0005509~calcium ion binding                     | 15              | 0.501337 | 0.092141       |            |
| SP_PIR_KEYWORDS  | metal-binding                                      | 16              | 0.534759 | 0.70717        |            |
| GOTERM_MF_FAT    | GO:0043169~cation binding                          | 37              | 1.236631 | 0.921263       |            |
| GOTERM_MF_FAT    | GO:0043167~ion binding                             | 37              | 1.236631 | 0.931722       |            |
| GOTERM_MF_FAT    | GO:0046872~metal ion binding                       | 36              | 1.203209 | 0.93481        |            |
| GOTERM_MF_FAT    | GO:0046914~transition metal ion binding            | 19              | 0.635027 | 0.997286       |            |
| SP_PIR_KEYWORDS  | disulfide bond                                     | 17              | 0.599013 | 0.006121       |            |
| UP_SEQ_FEATURE   | disulfide bond                                     | 16              | 0.563777 | 0.014081       |            |
| UP_SEQ_FEATURE   | topological domain:Extracellular                   | 11              | 0.387597 | 0.054718       |            |
| SP_PIR_KEYWORDS  | glycoprotein                                       | 17              | 0.599013 | 0.06085        |            |
| UP_SEQ_FEATURE   | glycosylation site:N-linked (GlcNAc...)            | 16              | 0.563777 | 0.084629       |            |
| UP_SEQ_FEATURE   | topological domain:Cytoplasmic                     | 13              | 0.458069 | 0.095388       |            |
| SP_PIR_KEYWORDS  | signal                                             | 15              | 0.528541 | 0.104593       |            |
| UP_SEQ_FEATURE   | signal peptide                                     | 15              | 0.528541 | 0.144123       |            |
| UP_SEQ_FEATURE   | transmembrane region                               | 18              | 0.634249 | 0.164331       |            |
| SP_PIR_KEYWORDS  | membrane                                           | 24              | 0.845666 | 0.255148       |            |
| SP_PIR_KEYWORDS  | transmembrane                                      | 20              | 0.704722 | 0.303933       |            |
| GOTERM_CC_FAT    | GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix      | 3               | 0.105708 | 0.589329       |            |
| GOTERM_CC_FAT    | GO:0044421~extracellular region part               | 6               | 0.211416 | 0.59261        |            |
| GOTERM_CC_FAT    | GO:0031012~extracellular matrix                    | 3               | 0.105708 | 0.637627       |            |
| GOTERM_CC_FAT    | GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix      | 3               | 0.105708 | 0.589329       |            |

Tabela 9. Descrição das regiões em comum da sobreposição entre Magalhães et al., 2016 e o presente estudo para a característica marmoreio.

| Crs | Região            | Gene                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 15227870-16148811 | NCAM2, LOC100139499                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|     | 82754736-85151862 | DGKG, ETV5, TRA2B, IGF2BP2, SENP2, LOC100295203, TMEM41A, MAP3K13, EHHADH, LOC100140254, MAGEF1, EPHB3, LOC524771, LOC616415, LOC530421, CHRD, THPO, CLCN2, MGC139309, EIF4GI, PSMD2, ECE2, CAMK2N2, ALG3, MIR1224, VWA5B2, ABCF3, AP2MQ, LOC532114, ABCC5                                                                             |
|     | 2193551-3155241   | LOC100297110, LOC789213, LOC100300660                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 2   | 67831637-68592121 | LYPD1, GPR39                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|     | 53535295-54794901 | LOC613677, ZEB2, GTDC1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|     | 41492630-42442434 | LOC100138296                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 3   | 54032224-55218518 | LOC785783, EVI5, GF11, RPAP2, GLM, C3Horf146, BTBD8, LOC530756, EPX4, BRDT, TGFBR3                                                                                                                                                                                                                                                     |
|     | 6410925-7038714   | LOC790151, LOC100296032, NUF2, RGS5                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 4   | 95348592-96068730 | LRRC4, SND1, MIR129-1, LEP, RBM28, LOC100335204, LOC537848, IMPDH1, HIG2, LOC540061, NYD-SP18, CALU, OPN1SW, TRNAP-AGG, CCDC136, MIR2422, ATP6V1F, KCP                                                                                                                                                                                 |
|     | 64514718-65585165 | NPSR1, BMPER, MIR1914C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|     | 25266637-26437730 | LOC100294909, LOC617841, SOSTDC1, MGC165762, ANKMY2, BZW2, TSPAN13, AGR2                                                                                                                                                                                                                                                               |
|     | 38635777-40069042 | LOC100335478, LOC517284, CACNA2D1                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|     | 24562717-25259183 | TMEM195, MEOX2, LOC100294868                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 5   | 57408490-59699120 | LOC512953, SLC16A7, LOC100297784, LOC785078, LRIG3, LOC100140875                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 7   | 11756307-12501226 | LOC786833, LOC786858, LOC786879, LOC511678, LOC526508, LOC512624, LOC787008, LOC787041, LOC787084, ZNF317, LOC509267, LOC539237, LOC787178, LOC787196, LOC617738, LOC783471, LOC511642, LOC618690, LOC781002, LOC615841, LOC514861, LOC787319, LOC530825, LOC509510, LOC787383, LOC787403, LOC787423, LOC787445, LOC784013, LOC783968, |
|     | 18399907-19447025 | FSD1, CDC94, EBI3, ANKRD24, SIRT6, CREB3L3, MAP2K2, ZBTB7A, PIAS4, MIR1434, EEF2, DAPK3, MIR2456, ITGB1BP3, ATCAY, MATK, RAX2, MRPL54, APBA3, TJP3, TBXA2R, HMG20B, MGC137027, FZR1, FZR1, DOHH, NFIC, NCLN, GNA11, AES                                                                                                                |
|     | 6441223-8172034   | F2RL3, LOC520505, NWD1, TMEM38A, MED26, CHERP, CALR3, EPS15L1, AP1M1, FAM32A, CIB3, RAB8A, TPM4, LOC509640, LOC509641, LOC787503, LOC504888, LOC787604, LOC787619, LOC787690, LOC787743, LOC787851, LOC509410, LOC100295734, LOC100295770, LOC100299615, LOC512689, LOC788042, LOC617305, LOC788080                                    |
|     | 5800362-6843520   | LOC100296331, OCEL1, USE1, MYO9B, HAUS8, CPAMD8, F2RL3, LOC520505, NWD1, TMEM38A, MGC128199                                                                                                                                                                                                                                            |
|     | 91552841-92563414 | LOC100139380, LOC507513, ARRDC3                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

|    |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | 742259-1335370    | TRNAH-AUG, GFPT2, MAPK9, RASGEF1C, MIR340, RNF130                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|    | 8751871-10583530  | PGLYRP2, RASAL3, AKAP8L, AKAP8, EPHX3, ILVBL, CD97, DDX39, PKN1, DNAJB1, TECR, NDUFB7, LPHN1, ASF1B, PRKACA, IL27RA, DCAF15, CC2D1A, LOC614692, MIR181D, MIR181C, LOC539805, LOC100335487, MIR23A, MIR27A, MIR24-2, LOC614800, MRI1, CCDC130, CACNA1A                                                                                                      |
|    | 12055781-12968107 | LOC100295380, LOC100139644                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 8  | 9601215-12893610  | KIF13B, LOC100295263, HMBOX1, INTS9, EXTL3, FZD3, FBXO16, ZNF395, PNOC, LOC782824, LOC100295020, ELP3, LOC515679, SCARA5, PBK, ESCO2, CCDC25, SCARA3, LOC513469, CLU, TMEM215, NDUFB6, MIR2469, TOPORS, DDX58, ACO1, LOC100295380, LOC100139644                                                                                                            |
|    | 61304626-62065384 | LOC785500, MGC134066, LOC615254, DNAJB5, LOC100137826, VCP, FANCG, PNN, PIGO, STOML2, KIAA1539, UNC13B                                                                                                                                                                                                                                                     |
|    | 30638895-31589773 | LOC100295223, GJA1, LOC100295149, LOC518886, LOC507211                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 9  | 16916512-17771650 | HTR1B, TRNAA-UGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | 15260879-15874796 | MYO6, LOC100139877, IMPG1, LOC784235, LOC782026                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 10 | 26760095-27407589 | LOC784940, LOC784974, LOC513582, LOC787306, LOC787290, LOC100140617, LOC787247, LOC100139257, LOC787228, LOC787208, LOC787189, LOC523062, LOC787150, LOC100139489, LOC100140382, LOC781758, LOC781713, LOC781677, LOC100300401, LOC616851, LOC100335950, LOC785793, LOC785723, LOC785683, LOC785647, LOC785623, LOC504388, LOC785145, LOC515694, LOC785050 |
|    | 16873477-17759740 | LOC530070, LOC781787, LOC100336359, LOC784708                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 11 | 93205044-94202912 | LOC100295369                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|    | 50124199-50918248 | VPS24, KDM3A, REEP1, MRPL35, IMMT, PTCDD3, POLR1A, LOC100296977, ST3GAL5                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 12 | 31112988-32255991 | MTUS2, SLC46A3, POMP, FLT1, MIR2300A, MIR2300B, PAN3, PAN3, LOC790037, FLT3, PRHOXNB, CDX2, PDX1                                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | 6351-1280101      | LOC100140262, LOC789865, DIAPH3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 13 | 53932232-55296451 | LOC100140952, SIRPB1, LOC788903, GINS1, PCMTD2, RGS19, TCEA2, SOX18, PRPF6, DNAJC5, TPD52L2, C13H20orf135, LOC511523, ZGPAT, ARFRP1, TNFRSF6B, RTEL1, STMN3, C13H20orf195, SRMS, PPDPF, EEF1A2, COL20A1, ARFGAP3, YTHDF1, MIR124B, SLC17A9, C13H20ORF11, DIDO1, OGFR                                                                                       |
|    | 53000433-53903677 | LOC506470, LOC788746, IDH3B, NOP56, TMC2, SNRPB, LOC100295172, TGM6, TGM3, LOC100295269, LOC615595, STK35, LOC785870, SIRPA, LOC519798                                                                                                                                                                                                                     |
| 14 | 17087861-17758419 | LOC100295372, LOC100295407, LOC100139328, LOC522769, LOC100295526, HAS2                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 15 | 45029771-45699893 | LOC782386, LOC782439, LOC100140999, ZNF215, LOC513635, LOC504498, LOC617571, LOC617297, LOC783518, LOC510100, LOC616273, MRPL17, LOC783920                                                                                                                                                                                                                 |
|    | 16704475-17701534 | CUL5, ACAT1, NPAT, ATM, LOC613764, LOC781807, LOC782967, KDELC2, EXPH5                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

|    |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | 45029771-45699893 | LOC782386, LOC782439, LOC100140999, ZNF215, LOC513635, LOC504498, LOC617571, LOC617297, LOC783518, LOC510100, LOC616273, MRPL17, LOC783920                                                                                                                                                                                     |
|    | 2187378-3452647   | LOC100140955, LOC100140270, PDGFD, DDI1                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|    | 38666942-39683469 | AGTRAP, LOC506110, MAD2L2, FBXO6, FBXO44, FBXO2, PTCHD2, UBIAD1, ANGPTL7, MTOR, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, LOC100336317                                                                                                                                                                                                      |
| 16 | 4875954-6435518   | LOC786421, LOC783947, LOC100336058, LOC781856, LOC786393, LOC100295278, LOC100295318                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | 38666942-39683469 | AGTRAP, LOC506110, MAD2L2, FBXO6, FBXO44, FBXO2, PTCHD2, UBIAD1, ANGPTL7, MTOR, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, LOC100336317                                                                                                                                                                                                      |
|    | 50443999-52220638 | GLT1D1, LOC100140533, TRNAE-UUC, SLC15A4, LOC512602, LOC615486                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | 8777753-9602795   | TRNAC-GCA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 17 | 72583703-73459411 | MTMR3, HORMAD2, LIF, OSM, GATSL3, TBC1D10A, SF3A1, CCDC157, RNF215, SEC14L2, MTP18, SEC14L3, SEC14L4, LOC619125, GAL3ST1, PES1, TCN2, SLC35E4, DUSP18, C17H5orf52, OSBP2, MORC2, SMTN, SELM, INPP5JPLA2G3, RNF185                                                                                                              |
|    | 6532351-7548352   | PET112L, LOC528939, LOC100336077, LOC530739, SH3D19, RPS3A, LOC100336104, LRBA                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | 22639102-23588174 | MDK, LOC100138672                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 18 | 60319267-61973813 | LOC788871, ZNF208, LOC100336208, LOC100138191, LOC100140452, LOC100138887, LOC788405, ZNF679, ZNF331, LOC504861, MGC139164, MIR292, LOC504704, LOC615600, LOC515600, MGC157082, LOC511982, LOC617141, MGC138914, LOC510904, LOC514552, LOC525820, LOC618873, LOC618739, LOC518964, LOC789400, LOC788745, SLC2A14, MYADM, PRKCG |
|    | 44576869-45562740 | PDCD2L, UBA2, LOC100297544, LOC100138304, LOC100298523, LOC100138048, LOC785756, ZNF181, ZNF599, LOC789043, LOC789050, LOC519314, LOC100297240, GRAMD1A, SCN1B, HPN, FXYD3, LGI4, FXYD1, FXYD7, FXYD5, TMEM162, LSR, USF2, HAMP, MAG, CD22, FFAR3, LOC618169, FFAR2                                                            |
| 20 | 46339973-47581612 | LOC504862, LOC100140691, LOC521159                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 21 | 52718158-53903359 | LOC785161, LOC785228                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 26 | 242079-1451194    | LOC100335765, LOC100295343, LOC784788, LOC100138850, LOC784751, LOC784714, LOC784683, LOC515520, LOC528560, LOC784465, LOC100137736, LOC784401, LOC100139953, UBE2D1, ALR2, LOC100335659, CISD1, IPMK, LOC785329, LOC785441                                                                                                    |
| 28 | 28150634-29175408 | CCDC109A, OIT3, PLA2G12B, LOC784165, P4HA1, NUDT13, ECD, FAM149B1, DNAJC9, MRPS16, TTC18, ANXA7, ZMYND17, PPP3CB, LOC100336042, LOC100137950, MYOZ1, SEC24C, FUT11, CHCHD1, MGC159954, NDST2, CAMK2G                                                                                                                           |
|    | 1822073-3126559   | LOC783687, GALNT2, LOC616498, DISC1                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

Tabela 10. Descrição das regiões em comum da sobreposição entre Magalhães et al., 2016 e o presente estudo para a característica maciez.

| Crs | Região            | Gene                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | 15227870-16148811 | NCAM2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|     | 82754736-85151862 | DGKG, ETV5, TRA2B, IGF2BP2, SENP2, LOC100295203, TMEM41A, MAP3K13, EHHADH, LOC100140254, MAGEF1, EPHB3, LOC524771, LOC616415, LOC530421, THPO, CLCN2, MGC139309, EIF4GI, PSMD2, ECE2, CAMK2N2, ALG3, MIR1224, VWA5B2, ABCF3, AP2M1, LOC532114, ABCC5                                                                                  |
| 2   | 2193551-3155241   | LOC100297110, LOC789213, LOC100300660                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|     | 67831637-68592121 | LYPD1, GPR39                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|     | 53535295-54794901 | LOC613677, ZEB2, GTDC1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|     | 41492630-42442434 | LOC100138296                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 3   | 54032224-55218518 | LOC785783, EVI5, GFI1, RPAP2, GLMN, C3H1orf146, BTBD8, LOC530756, EPHX4, BRDT, TGFBR3                                                                                                                                                                                                                                                 |
|     | 6410925-7038714   | LOC790151, LOC100296032, NUF2, RGS5                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 4   | 95348592-96068730 | LRRC4, SND1, MIR129-1, LEP, RBM28, LOC100335204, LOC537848, IMPDH1, HIG2, LOC540061, NYD-SP18, CALU, OPN1SW, TRNAP-AGG, CCDC136, MIR2422, ATP6V1F, KCP                                                                                                                                                                                |
|     | 64514718-65585165 | NPSR1, BMPER, MIR1814C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|     | 25266637-26437730 | LOC100294909, LOC617841, SOSTDC1, MGC165762, ANKMY2, BZW2, TSPAN13, AGR2                                                                                                                                                                                                                                                              |
|     | 38635777-40069042 | LOC100335478, LOC517284, CACNA2D1                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|     | 24562717-25259183 | TMEM195, MEOX2, LOC100294868                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 5   | 57408490-59699120 | LOC512953, SLC16A7, LOC100297784, LOC785078, LRIG3, LOC100140875                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 7   | 11756307-12501226 | LOC786833, LOC786858, LOC786879, LOC511678, LOC526508, LOC512624, LOC787008, LOC787041, LOC787084, ZNF317, LOC509267, LOC539237, LOC787178, LOC787196, LOC617738, LOC783471, LOC511642, LOC618690, LOC781002, LOC615841, LOC514861, LOC787319, LOC530825, LOC509510, LOC787383, LOC787403, LOC787423, LOC787445, LOC784013, LOC783968 |
|     | 18399907-19447025 | FSD1, CCDC94, EBI3, ANKRD24, SIRT6, CREB3L3, MAP2K2, ZBTB7A, PIAS4, MIR1434, EEF2, DAPK3, MIR2456, ITGB1BP3, ATCAY, MATK, RAX2, MRPL54, APBA3, TJP3, TBXA2R, HMG20B, MGC137027, FZR1, FZR1, DOHH, NFIC, NCLN, GNA11, AES                                                                                                              |
|     | 6441223-8172034   | F2RL3, LOC520505, NWD1, TMEM38A, MED26, CHERP, CALR3, EPS15L1, AP1M1, FAM32A, CIB3, RAB8A, TPM4, LOC509640, LOC509641, LOC787503, LOC504888, LOC787604, LOC787619, LOC787690, LOC787743, LOC787851, LOC509410, LOC100295734, LOC100295770, LOC100299615, LOC512689, LOC788042, LOC617305, LOC788080                                   |
|     | 5800362-6843520   | LOC100296331, OCEL1, USE1, MYO9B, HAUS8, CPAMD8, F2RL3, LOC520505, NWD1, TMEM38A, MGC128199                                                                                                                                                                                                                                           |
|     | 91552841-92563414 | LOC100139380, LOC507513, ARDC3                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|     |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|    |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | 742259-1335370    | TRNAH-AUG, GFPT2, MAPK9, RASGEF1C, MIR340, RNF130                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|    | 8751871-10583530  | PGLYRP2, RASAL3, AKAP8L, AKAP8, EPHX3, ILVBL, CD97, DDX39, PKN1, DNAJB1, TECR, NDUFB7, LPHN1, ASF1B, PRKACA, IL27RA, DCAF15, CC2D1A, LOC614692, MIR181D, MIR181C, LOC539805, LOC100335487, MIR23A, MIR27A, MIR24-2, LOC614800, MRI1, CCDC130, CACNA1A                                                                                                      |
|    | 12055781-12968107 | LOC100295380, LOC100139644                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 8  | 9601215-12893610  | KIF13B, LOC100295263, HMBOX1, INTS9, EXTL3, FZD3, FBXO16, ZNF395, PNOC, LOC782824, LOC100295020, ELP3, LOC515679, SCARA5, PBK, ESCO2, CCDC25, SCARA3, LOC513469, CLU, TMEM215, NDUFB6, MIR2469, TOPORS, DDX58, ACO1, LOC100295380, LOC100139644                                                                                                            |
|    | 61304626-62065384 | LOC785500, MGC134066, LOC615254, DNAJB5, LOC100137826, VCP, FANCG, PNN, PIGO, STOML2, KIAA1539, UNC13B                                                                                                                                                                                                                                                     |
|    | 30638895-31589773 | LOC100295223, GJA1, LOC100295149, LOC518886, LOC507211                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 9  | 16916512-17771650 | HTR1B, TRNAA-UGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | 15260879-15874796 | MYO6, LOC100139877, IMPG1, LOC784235, LOC782026                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 10 | 26760095-27407589 | LOC784940, LOC784974, LOC513582, LOC787306, LOC787290, LOC100140617, LOC787247, LOC100139257, LOC787228, LOC787208, LOC787189, LOC523062, LOC787150, LOC100139489, LOC100140382, LOC781758, LOC781713, LOC781677, LOC100300401, LOC616851, LOC100335950, LOC785793, LOC785723, LOC785683, LOC785647, LOC785623, LOC504388, LOC785145, LOC515694, LOC785050 |
|    | 16873477-17759740 | LOC530070, LOC781787, LOC100336359, LOC784708                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 11 | 93205044-94202912 | LOC100295369                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|    | 50124199-50918248 | VPS24, KDM3A, REEP1, MRPL35, IMMT, PTCDD3, POLR1A, LOC100296977, ST3GAL5                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 12 | 31112988-32255991 | MTUS2, SLC46A3, POMP, FLT1, MIR2300A, MIR2300B, PAN3, PAN3, LOC790037, FLT3, PRHOXNB, CDX2, PDX1                                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | 6351-1280101      | LOC100140262, LOC789865, DIAPH3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 13 | 53932232-55296451 | LOC100140952, SIRPB1, LOC788903, GINS1, PCMTD2, RGS19, TCEA2, SOX18, PRPF6, DNAJC5, TPD52L2, C13H20orf135, LOC511523, ZGPAT, ARFRP1, TNFRSF6B, RTEL1, TMN3, C13H20orf195, SRMS, PPDPF, EEF1A2, COL20A1, ARFGAP3, YTHDF1, MIR124B, SLC17A9, C13H20ORF11, DIDO1, OGFR                                                                                        |
|    | 53000433-53903677 | LOC506470, LOC788746, IDH3B, NOP56, TMC2, SNRPB, LOC100295172, TGM6, TGM3, LOC100295269, LOC615595, STK35, LOC785870, SIRPA, LOC519798                                                                                                                                                                                                                     |
|    | 12164914-12882915 | xxxx                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 14 | 17087861-17758419 | LOC100295372, LOC100295407, LOC100139328, LOC522769, LOC100295526, HAS2                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 15 | 45029771-45699893 | LOC782386, LOC782439, LOC100140999, ZNF215, LOC513635, LOC504498, LOC617571, LOC617297, LOC783518, LOC510100, LOC616273, MRPL17, LOC783920                                                                                                                                                                                                                 |
|    | 16704475-17701534 | CUL5, ACAT1, NPAT, ATM, LOC613764, LOC781807, LOC782967, KDELC2, EXPH5                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|    | 45029771-45699893 | LOC782386, LOC782439, LOC100140999, ZNF215, LOC513635, LOC504498, LOC617571, LOC617297,                                                                                                                                                                                                                                                                    |

|    |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                   | LOC783518, LOC510100, LOC616273, MRPL17, LOC783920                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|    | 2187378-3452647   | LOC100140955, LOC100140270, PDGFD, DDI1                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|    | 38666942-39683469 | AGTRAP, LOC506110, MAD2L2, FBXO6, FBXO44, FBXO2, PTCHD2, UBIAD1, ANGPTL7, MTOR, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, LOC100336317                                                                                                                                                                                                      |
| 16 | 4875954-6435518   | LOC786421, LOC783947, LOC100336058, LOC781856, LOC786393, LOC100295278, LOC100295318                                                                                                                                                                                                                                           |
|    | 38666942-39683469 | AGTRAP, LOC506110, MAD2L2, FBXO6, FBXO44, FBXO2, PTCHD2, UBIAD1, ANGPTL7, MTOR, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, LOC100336317                                                                                                                                                                                                      |
|    | 50443999-52220638 | GLT1D1, LOC100140533, TRNAE-UUC, SLC15A4, LOC512602, LOC615486                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | 8777753-9602795   | TRNAC-GCA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 17 | 72583703-73459411 | MTMR3, HORMAD2, LIF, OSM, GATSL3, TBC1D10A, SF3A1, CCDC157, RNF215, SEC14L2, MTP18, SEC14L3, SEC14L4, LOC619125, GAL3ST1, PES1, TCN2, SLC35E4, DUSP18, C17H5orf52, OSBP2, MORC2, SMTN, SELM, INPP5J, PLA2G3, RNF185                                                                                                            |
|    | 6532351-7548352   | PET112L, LOC528939, LOC100336077, LOC530739, SH3D19, RPS3A, LOC100336104, LRBA                                                                                                                                                                                                                                                 |
|    | 22639102-23588174 | MDK, LOC100138672                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 18 | 60319267-61973813 | LOC788871, ZNF208, LOC100336208, LOC100138191, LOC100140452, LOC100138887, LOC788405, ZNF679, ZNF331, LOC504861, MGC139164, MIR292, LOC504704, LOC615600, LOC515600, MGC157082, LOC511982, LOC617141, MGC138914, LOC510904, LOC514552, LOC525820, LOC618873, LOC618739, LOC518964, LOC789400, LOC788745, SLC2A14, MYADM, PRKCG |
|    | 44576869-45562740 | PDCD2L, UBA2, LOC100297544, LOC100138304, LOC100298523, LOC100138048, LOC785756, ZNF181, ZNF599, LOC789043, LOC789050, LOC519314, LOC100297240, GRAMD1A, SCN1B, HPN, FXYD3, LGI4, FXYD1, FXYD7, FXYD5, TMEM162, LSR, USF2, HAMP, MAG, CD22, FFAR3, LOC618169, FFAR2                                                            |
| 20 | 46339973-47581612 | LOC504862, LOC100140691, LOC521159                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 21 | 52718158-53903359 | LOC785161, LOC785228                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 26 | 242079-1451194    | LOC100335765, LOC100295343, LOC784788, LOC100138850, LOC784751, LOC784714, LOC784683, LOC515520, LOC528560, LOC784465, LOC100137736, LOC784401, LOC100139953, UBE2D1, ALR2, LOC100335659, CISD1, IPMK, LOC785329, LOC785441                                                                                                    |
| 28 | 28150634-29175408 | CCDC109A, OIT3, PLA2G12B, LOC784165, P4HA1, NUDT13, ECD, FAM149B1, DNAJC9, MRPS16, TTC18, ANXA7, ZMYND17, PPP3CB, LOC100336042, LOC100137950, MYOZ1, SEC24C, FUT11, CHCHD1, MGC159954, NDST2, CAMK2G                                                                                                                           |
|    | 1822073-3126559   | LOC783687, GALNT2, LOC616498, DISC1                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

## **5.Referências Bibliográficas**

- ABRIL, M.; CAMPO, M. M.; ÖNENÇ, A.; SAÑUDO, C.; ALBERTÍ, P.; NEGUERUELA, A. I. 2001. Beef Colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*, 58:69-78.
- ADAN RA, TIESJEMA B, HILLEBRAND JJ, LA FLEUR SE, KAS MJ, DE KROM M. The MC4 receptor and control of appetite. *Br J Pharmacol* 2006;149(7):815-27.
- ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2015.
- ARITA, H., NAKANO,T., HANASAKI, K. Thromboxane A2: Its generation and role in platelet activation. *Prog. Lipid Res.* Vol. 28, pp. 273-301, 1989.BAE, J.S., CHEONG, H.S., KIM, L.H., NAMGUNG, S., PARK, T.J., CHUN, J.Y., KIM, J.Y., CHARISSE, F.A., LEE, J.S., SHIN, H.D. Identification of copy number variations and common deletion polymorphisms in cattle. *BMC Genomics*, 11:232, 2010.
- BELEW, J. B.; BROOKS, J. C.; MCKENNA, D. R.; SAVELL, J. W. Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Science*, Texas, v. 64, n.4, p. 507-512, 2003.
- BERGWITZ C., ROSLIN N.M., TIEDER M., LOREDO-OSTI J.C., BASTEPE M., ABU-ZAHRA H., FRAPPIER D., BURKETT K., CARPENTER T.O., ANDERSON D., GARABEDIAN M., SERMET I., FUJIWARA T.M., MORGAN K., TENENHOUSE H.S., JUPPNER H. SLC34A3 mutations in patients with hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria predict a key role for the sodium-phosphate cotransporter NaPi-IIc in maintaining phosphate homeostasis. *Am. J. Hum. Genet.* 2006;78:179–192. doi: 10.1086/499409.
- BICKHART, D.M., HOU, Y., SCHROEDER, S.G., ALKAN, C., CARDONE, M.F., MATUKUMALLI, L.K., SONG, J., SCHNABEL, R.D., VENTURA, M., TAYLOR, J.F., GARCIA, J.F., VAN TASSELL, C.P., SONSTEGARD, T.S., EICHLER,

- E.E., LIU, G.E. Copy number variation of individual cattle genomes using next-generation sequencing. *Genome Research*, 22:778–790, 2012.
- BRAUN T, VOLAND P, KUNZ L, PRINZ C, GRATZL M. Enterochromaffin cells of the human gut: sensors for spices and odorants. *Gastroenterology*. 2007;132:1890–1901.
- BREHENY, P., CHALISE, P., BATZLER, A., WANG, L., FRIDLEY, B.L. Genetic Association Studies of Copy-Number Variation: Should Assignment of Copy Number States Precede Testing? *PLoS ONE*, 7:4, e34262, 2012.
- BRIDGES CB: The Bar "gene" duplication. *Science*. 83:210-11. 1936.
- CABRAL NETO, O. Características da carcaça, dos cortes comerciais e da carne de bovinos Sindi e bubalinos Mediterrâneos terminados em confinamento. 2005. 44f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- CARVALHO, C.B., MADRONALL, G. S., CORRADINEL, S.S., RECHEL, P.M., POZZA, M.S.S. PRADO, I.N. (2013) Evaluation of quality factors of bovine and chicken meat marinated with reduced sodium content. *Food Sci. Technol*, Campinas, 33(4): 776-783.
- CASELLA J. F., MAACK D. J., LIN S. (1986) *J. Biol. Chem.* 261, 10915–10921.
- CICCONARDI F, CHILLEMI G, TRAMONTANO A., MARCHITELLI, C., VALENTINI, A., AJMONE-MARSAN, P., NARDONE, A. Massive screening of copy number population-scale variation in *Bos taurus* genome. *BMC Genomics* 14 (1): 124. 2013.
- CHAMPREDONDE, M.; VITROLLES, D.; CASABIANCA, F. Y CERDAN, C. 2014. La Pampa como indicación geográfica para diferenciar carnes vacunas em Argentina y en Brasil: motivaciones y limitantes. *Agroalimentaria*, 20: 35-52.
- CHENG, H. C.; ZHANG F. W.; DENG, C. Y.; JIANG, C. D.; XIONG, Y. Z.; LI F. E. AND M. G. LEI. 2007. ASCL2 gene expression analysis and its association with carcass traits in pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20:1485-1489.

- COLELLA, S., YAU, C., TAYLOR, J.M., MIRZA, G., BUTLER, H., CLOUSTON, P., BASSETT, A.S., SELLER, A., HOLMES, C.C., RAGOISSIS, J. QuantiSNP: an Objective Bayes Hidden-Markov Model to detect and accurately map copy number variation using SNP genotyping data. *Nucleic Acids Research*, 35:25, 2013.
- COLL AP, LORAIN TUNG YC. Pro-opiomelanocortin (POMC)-derived peptides and the regulation of energy homeostasis. *Mol Cell Endocrinol* 2009;300(1-2):147-51.
- DAVIS, W., JR., BOYD, J. T., ILE, K. E., TEW, K. D. Human ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) positively regulates low-density lipoprotein receptor expression and negatively regulates cholesterol esterification in Chinese hamster ovary cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1683: 89-100, 2004.
- DAIROT, D. J.; BRANDELLI, A. Implications of skeletal muscle creatine kinase to meat quality. *Journal of Animal and Feed Sciences*, v.17, n.3, p.285-294, 2008.
- DEL GRANDE, CLÁUDIO LEANDRO. Fatores associados à injúria muscular em bovinos abatidos e suas relações com enzimas séricas e qualidade da carcaça. 2012. xiii, 66 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/94607>>.
- DENNIS, E. A. Diversity of Group Types, Regulation, and Function of Phospholipase A2. *J. Bio. Chem.* Vol. 269, pp.13057-13060, 1994
- DUAN J, ZHANG J-G, DENG H-W, WANG Y-P. (2013). Comparative Studies of Copy Number Variation Detection Methods for Next-Generation Sequencing Technologies. *PLoS ONE* 8(3): e59128. doi:10.1371/journal.pone.0059128
- EMBRAPA. Maturação da carne. Bagé – RS: Curso – Qualidade da carne e dos produtos cárneos, 2000a. pág. 27 a 38.

- FARIA, C. U.; LÔBO, R. B.; MAGNABOSCO, C. U.; DIAS, F. J. S.; SAENZ, E. A. C. Impactos da pesquisa científica no melhoramento genético de bovinos de corte para qualidade da carne. Pubvet, V. 2, N. 31, Ed. 42, Art. 383, ISSN 1982-1263, 2008.
- FADISTA, J., THOMSEN, B., HOLM, L.E., BENDIXEN, C. Copy number variation in the bovine genome. BMC Genomics, 11:284, 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO [2015]. Live animals. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>> Acesso em: 24/02/2016.
- FEUK, L., CARSON, A.R., SCHERER, S.W. Structural variation in the human genome. Natural Reviews Genetics, 7:85-97, 2006.
- FLEISCHER J, BREER H, STROTMANN J. Mammalian olfactory receptors. Front Cell Neurosci. 2009:3.
- FREEMAN JL, PERRY GH, FEUK L, REDON R, MCCARROLL SA, ALTSHULER DM, ABURATANI H, JONES KW, TYLER-SMITH C, HURLES ME, CARTER NP, SCHERER SW, LEE C. (2006) Copy number variation: new insights in genome diversity. Genome Res 16: 949–961.
- GOODYEAR, L.J. et al. Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma membrane of red and white skeletal muscle. Am. J. Physiol . 261: 556-61, 1991.
- HE, J., LIU, HUIHUI., WU, CHANGWEN. Identification of SCARA3, SCARA5 and MARCO of class A scavenger receptor-like family in *Pseudosciaena crocea*. Fish & Shellfish Immunology 41 (2014) 238–249.
- HENRICHSEN, C.N., VINCKENBOSCH, N., ZOLLNER, S., CHAIGNAT, E., PRADERVAND, S., SCHUTZ, F., RUEDI, M., KAESMANN, H., REYMOND, A. Segmental copy number variation shapes tissue transcriptomes. Nat Genet 41:424–429, 2009.

- HILLEBRAND JJ, KAS MJ, ADAN RA. To eat or not to eat; regulation by the melanocortin system. *Physiol Behav* 2006;89(1):97-102.
- HOCQUETTE, J., RENAND, G., LEVÉZIEL, H., PICARD, B., CASSAR-MALEK, I. The potencial benefits of genetics and genomics to improve beef quality – a review. *Animal Science Papers and Reports, Warsaw*, v.24, n.3, p.173-189, 2006.
- HOCQUETTE, J. F., Botreau, R., Picard, B., Jacquet, A., Pethick, D. W., Scollan, N. D. Opportunities for predicting and manipulating beef quality. *Meat Science*, v. 92, p. 197-209, 2012. PMID:22554471.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.007>
- HOGGARD N, JOHNSTONE AM, FABER P, ET AL. Plasma concentrations of alpha-MSH, AgRP and leptin in lean and obese men and their relationship to differing states of energy balance perturbation. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61(1):31-9.
- HORSEFIELD, R; YANKOVSKAYA, V; SEXTON, G; WHITTINGHAM, W; SHIOMI, K; OMURA, S; BYRNE, B; CECCHINI, G; IWATA, S (2006). "Structural and computational analysis of the quinone-binding site of complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase): a mechanism of electron transfer and proton conduction during ubiquinone reduction." *The Journal of Biological Chemistry* 281 (11): 7309–16.
- HOU, Y., LIU, G.E., BICKHART, D.M., CARDONE, M.F., WANG, K., KIM, E., MATUKUMALLI, L.K., VENTURA, M., SONG, J., VANRADEN, P.M., SONSTEGARD, T.S., VAN TASSELL, C.P. Genomic characteristics of cattle copy number variations. *BMC Genomics*, 12:127, 2011.
- HOU, Y., LIU, G.E. , BICKHART, D.M., MATUKUMALLI, L.K., LI, C., SONG, J., GASBARRE, L.C., VAN TASSELL, C.P., SONSTEGARD, T.S. Genomic regions showing copy number variations associate with resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes in Angus cattle. *Functional Integrative Genomics*, 12:81–92, 2012.

- IAFRATE AJ, FEUK L, RIVERA MN, LISTEWNIK ML, DONAHOE PK, QI Y, SCHERER SW, LEE C: Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet* 2004, 36:949-951.
- IBEAGHA-AWEMU EM, KGWATALALA P, IBEAGHA AE, ZHAO X. A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *Mammalian Genome*, 19:226–245. 2008.
- IGARASI, M.S., ARRIGONI, M.B., HADLICH, J.C., SILVEIRA, A.C., MARTINS, L., OLIVEIRA, H.N. Características de carcaça e parâmetros de qualidade de carne de bovinos jovens alimentados com grãos úmidos de milho ou sorgo. *R. Bras. Zootec.*, v.37, n.3, p.520-528, 2008.
- Instituto Brasileira de geografia e Estatística - IBGE. Disponível em: < [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201501\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201501_publ_completa.pdf) >. Acesso em fev/2016.
- JOO JI, YUN JW. Gene expression profiling of adipose tissues in obesity susceptible and resistant rats under a high fat diet. *Cell Physiol Biochem*. 2011; 27:327–340.
- KADOWAKI T, YAMAUCHI T, KUBOTA N (2008) The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett* 582: 74–80.
- KADRI, N.K., KOKS, P.D., MEUWISSEN, T.H.E. Prediction of a deletion copy number variant by a dense SNP panel. *Genetics Selection Evolution*, 44:7, 2012.
- KAMINSKI, W. E., PIEHLER, A., PULLMANN, K., PORSCHE-OZCURREMEZ, M., DUONG, C., BARED, G. M., BUCHLER, C., SCHMITZ, G. Complete coding sequence, promoter region, and genomic structure of the human ABCA2 gene and evidence for sterol-dependent regulation in macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281: 249-258, 2001.

- KATSUKI A, SUMIDA Y, MURASHIMA S, ET AL. Elevated plasma levels of alpha-melanocyte stimulating hormone (alpha-MSH) are correlated with insulin resistance in obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24(10):1260-4.
- KIDD M, MODLIN IM, GUSTAFSSON BI, DROZDOV I, HAUSO O, PFRAGNER R. Luminal regulation of normal and neoplastic human EC cell serotonin release is mediated by bile salts, amines, tastants, and olfactants. *Am J Physiol Neuroreg Mot.* 2008; 295: G260–G272.
- KIM DH, CHOI JW, JOO JI, ET AL. Changes in expression of skeletal muscle proteins between obesity-prone and obesity-resistant rats induced by a high fat diet. *J Proteome Res.* 2011; 10:1281–1292.
- KLIP, A.; PAQUET, M.R. Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care* . v. 13, p. 228-43, 1990.
- KOOHMARAIE, M., WHIPPLE, G. CROUSE, J. D. Acceleration of postmortem tenderization in lamb and brahman cross beef carcasses through infusion of calcium chloride. *Journa animal science*, v. 68, n.5, p. 1278 – 1283, 1990.
- KOTAKA M., GOVER S., VANDEPUTTE-RUTTEN L., AU S.W., LAM V.M., ADAMS M.J. Structural studies of glucose-6-phosphate and NADP<sup>+</sup> binding to human glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr.* 61:495-504(2005).
- KUSS, F.; LÓPEZ, J.; RESTLE, J.; BARCELLOS, J. O. J.; MOLETTA, J. L.; LEITE, M. C. C. P. 2010. Qualidade da carne de novilhos terminados em confinamento e abatidos aos 16 ou 26 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(4):924-931.
- LAI, W., JOHNSON, M., KUCHERLAPATI, R., PARK, P. Comparative analysis of algorithms for identifying amplifications and deletions in array cgh data. *Bioinformatics* 21: 3763–3770, 2005.
- LAL D, NEUBAUER BA, TOLIAT MR, ALTMÜLLER J, THIELE H, NÜRNBERG P, KAMRATH C, SCHÄNZER A, SANDER T, HAHN A, NOTHNAGEL M. Increased probability of co-occurrence of two rare diseases in consanguineous

families and resolution of a complex phenotype by next generation sequencing. PLoS ONE 2016; 11: e0146040

LEJEUNE J, GAUTIER M, TURPIN R: Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children. C R Hebd Seances Acad Sci. 248:1721-1722, 1959.

LIU, G.E., VAN TASSELL, C.P., SONSTEGARD, T.S., LI, R.W., ALEXANDER, L.J., KEELE, J.W., MATUKUMALLI, L.K., SMITH, T.P., GASBARRE, L.C. Detection of germline and somatic copy number variations in cattle. In Animal Genomics for Animal Health Dev Biol. Volume 132. Edited by: Pinard M-H, Gay C, Pastoret PP, Dodet B. Basel: Karegr; 231-237, 2008.

LIU, G.E., HOU, Y., ZHU, B., CARDONE, M.F., JIANG, L., CELLAMARE, A., MITRA, A., ALEXANDER, L.J., COUTINHO, L.L., DELL'AQUILA, M.E., GASBARRE, L.C., LACALANDRA, G., LI, R.W., MATUKUMALLI, L.K., NONNEMAN, D., REGITANO, L.C., SMITH, T.P., SONG, J., SONSTEGARD, T.S., VAN TASSELL, C.P., VENTURA, M., EICHLER, E.E., MCDANELD, T.G., KEELE, J.W. Analysis of copy number variations among diverse cattle breeds. Genome Research, 20:693-703, 2010.

LIU R., SUN Y., ZHAO G., WANG F., WU D., ZHENG M., CHEN J., ZHANG L., HU Y., WEN J. (2013) Genome-wide association study identifies loci and candidate genes for body composition and meat quality traits in Beijing-You chickens. PLoS ONE, 8, e61172.

LUCHIARI FILHO, A perspectiva da bovinocultura de corte no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE GADO DE CORTE, 1998, Campinas. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1998. p.1-10.

LUSCHER-FIRZLAFF, J., GAWLISTA, I., VERVOORTS, J., KAPELLE, K., BRAUNSCHWEIG, T., WALSEMANN, G., RODGARKIA-SCHAMBERGER, C., SCHUCHLAUTZ, H., DRESCHERS, S., KREMMER, E., LILISCHKIS, R., CERNI, C., WELLMANN, A., LUSCHER, B. The human trithorax protein HASH2 functions as an oncoprotein. Cancer Res. 68: 749-758, 2008.

- MAYSONNAVE, G.S., VAZ, F.N., PASCOAL, L.L., PACHECO, P.S., MELLO, R. DE O., MACHADO, G.K. E NARDINO, T.A.C. Quality perception of beef with brand in the south of Brazil. *Arch. Zootec.* 63 (244): 633-644. 2014.
- MATUKUMALLI, L.K., LAWLEY, C.T., SCHNABEL, R.D., TAYLOR, J.F., ALLAN, M.F., HEATON, M.P., O'CONNELL, J., MOORE, S.S., SMITH, T.P.L., SONSTEGARD, T.S. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS One* 2009, 4:e5350.
- MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; STRYDOM, P. E.; HUGO, A.; RAATS, J. G. 2009. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, 112:279–289.
- MAPA - Ministério da agricultura e abastecimento. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno> >. Acesso em fev/2016.
- MARENNE, G., RODRÍGUEZ-SANTIAGO, B., CLOSAS, M.G., PE´REZ-JURADO, L., ROTHMAN, RICO, D., PITA, G., PISANO, D.G., KOGEVINAS, M., SILVERMAN, D.T., VALENCIA, A., REAL, F.X., CHANOCK, S.J., GÉNIN, E., MALATS, N. Assessment of copy number variation using the illumina infinium 1m snp-array: a comparison of methodological approaches in the spanish bladder cancer/epicuro study. *Human Mutation* 32: 240–248, 2011.
- MURAKAMI, M., YOSHIHARA, K., SHIMBARA, S., LAMBEAU, G., GELB, M. H., SINGER, A. G., SAWADA, M., INAGAKI, N., NAGAI, H., ISHIHARA, M., ISHIKAWA, Y., ISHII, T., KUDO, I. Cellular arachidonate-releasing function and inflammation-associated expression of group IIF secretory phospholipase A(2). *J. Biol. Chem.* 277: 19145-19155, 2002.
- ODA, S.H.I.; BRESSAN, M.C.; MIGUEL, G.Z. Efeito do método de abate e do sexo sobre a qualidade da carne de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.24, p.341-346, 2004.
- ODDOUX, S., BROCARD, J., SCHWEITZER, A., SZENTESI, P., GIANNESINI, B., BROCARD, J., FAURE, J., PERNET-GALLAY, K., BENDAHAN, D., LUNARDI,

- J., CSERNOCH, L., MARTY, I. Triadin deletion induces impaired skeletal muscle function. *J. Biol. Chem.* 284: 34918-34929, 2009.
- OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA, M.A.A.F. *Bovinocultura de Corte: desafios e tecnologias*. 1. ed. Salvador: EDUFBA, 2007, 511p .
- OJALA, J. Structural and functional studies of class A scavenger receptors MARCO (SCARA2) and SCARA5. *Karolinska Institutet* (2013), pp. 1–20.
- PAZ, C.C.P. de; LUCHIARI FILHO, A. Melhoramento genético e diferenças de raças com relação à qualidade da carne bovina. *Pecuária de Corte*, n. 101, p. 58-63, 2000.
- PINTO, D., DARVISHI, K., SHI, X., RAJAN, D., RIGLER, D., Fitzgerald, T., Lionel, A.C., Thiruvahindrapuram, B., MacDonald, J.R., Prasad, A., Noonan, K., Susan Gribble, Prigmore, E., Donahoe, P.K., Smith, R.S., Park, J.H., Hurles, M.E., Carter, N.P. Lee, C., Scherer, S.W., Feuk, L. Comprehensive assessment of arraybased platforms and calling algorithms for detection of copy number variants. *Nature Biotechnology* 29: 512–520, 2011.
- PLATER, WJ, TATUM JD, BELK KE, CHAPMAN PL, SCANGA JA, SMITH GC. Relationships of consumers sensory ratings, marbling score, and shear force value to consumer acceptance of beef striploin steaks, *J. Anim. Sci.* Champaign, v.81, p.2741-2750, 2003.
- PLÜDDEMANN, A., NEYEN, C., GORDON, S. Macrophage scavenger receptors and host-derived ligands *Methods*, 43 (2007), pp. 207–217.
- PRIMEAUX SD, BRAYMER HD, BRAY GA. High Fat Diet Differentially Regulates the Expression of Olfactory Receptors in the Duodenum of Obesity-Prone and Obesity-Resistant Rats. *Dig Dis Sci.* 2013; 58:72–76.
- PORTO NETO LR, JONSSON NN, D’OCCHIO MJ, BARENDSE W. 2011. Molecular genetic approaches for identifying the basis of variation in resistance to tick infestation in cattle. *Vet Parasitol* 180: 165–172.

- REDON R, ISHIKAWA S, FITCH KR, FEUK L, PERRY GH, ANDREWS TD, FIEGLER H, SHAPERO MH, CARSON AR, CHEN W et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006, 444:444–454.
- RICHARDSON , J.M. et al. Differential regulation of glucose transport activity and expression in red and white skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* v. 266, p.12690-94, 1991
- SAMAMA P, RUMENNIK L, GRIPPO JF. The melanocortin receptor MCR4 controls fat consumption *Regul Pept* 2003;113(1-3):85-8.
- SAÑUDO, C.; CAMPOS, M.M; SIERRA, I. Breed effect on carcass and meat quality of suckling lambs. *Meat Science*, v.46, n.4, p.357-365, 1997.
- SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. F.; SILVA, L. C. Estrutura da carne. *Boletim Técnico, Espírito Santo*, 2007, 14p.
- SCOLLAN, N., HOCQUETTE, J.F., NUERNBERG, K., DANNENBERGER, D., RICHARDSON, I., MONOLEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*, v. 74, n. 1, p. 17-33, 2006. PMID:22062713. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.002>
- SCHERER, S.W., LEE, C., BIRNEY, E., ALTSHULER, D.M., EICHLER, E.E., CARTER, N.P. HURLES, M.E., FEUK, L. Challenges and standards in integrating surveys of structural variation. *Natural Genetics*, 39: S7–S15, 2007.
- SEBAT, J., LAKSHMI, B., MALHOTRA, D., TROGE, J., LESE-MARTIN, C., WALSH, T., YAMROM, B., YOON, S., KRASNITZ, A., KENDALL, J., LEOTTA, A., PAI, D., ZHANG, R., LEE, Y.H., HICKS, J., SPENCE, S.J., LEE, A.T., PUURA, K., LEHTIMÄKI, T., LEDBETTER, D., GREGERSEN, P.K., BREGMAN, J., SUTCLIFFE, J.S., JOBANPUTRA, V., CHUNG, W., WARBURTON, D., KING, M.C., SKUSE, D., GESCHWIND, D.H., GILLIAM, T.C., YE, K., WIGLER, M. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 316: 445–449, 2007.

- SHIMIZU, F., WATANABE, T. K., SHINOMIYA, H., NAKAMURA, Y., FUJIWARA, T. Isolation and expression of a cDNA for human brain fatty acid-binding protein (B-FABP). *Biochim. Biophys. Acta* 1354: 24-28, 1997.
- SILVEIRA, M.F.; BRONDANI, I.L.; ARBOITTE M.Z.; ALVES FILHO, D.C.; RESTLE, J.; PIZZUTI, L.A.D.; LUZ, T.R.R. ; RETORI, M. Composição física da carcaça e qualidade da carne de novilhos Charolês e Nelore que receberam diferentes proporções de concentrado na dieta. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Belo Horizonte, v.61, n.2, p.467-474, 2009.
- STEINER, D. F and OYER, P. E. The biosynthesis of insulin and a probable precursor of insulin by a human islet cell adenoma. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 57: 473-480, 1967.
- STRANGER, B.E., FORREST, M.S., DUNNING, M., INGLE, C.E., BEAZLEY, C., THORNE, N., REDON, R., BIRD, C.P., DE GRASSI, A., LEE, C., TYLER-SMITH, C., CARTER, N., SCHERER, S.W., TAVARÉ, S., DELOUKAS, P., HURLES, M.E., DERMITZAKIS, E.T. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science* 315:848–853, 2007.
- STRONG, J. Differences on carcass grading schemes used in the USA, JAPAN and Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Brisbane, v.44, p.675-680, 2004.
- TARRANT, J. M., GROOM, J., METCALF, D., LI, R., BOROBOKAS, B., WRIGHT, M. D., TARLINTON, D., ROBB, L. The absence of Tssc6, a member of the tetraspanin superfamily, does not affect lymphoid development but enhances in vitro T-cell proliferative responses. *Molec. Cell. Biol.* 22: 5006-5018, 2002.
- THRALL, M. A. et al. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 1. ed. São Paulo: Rocca, 2007. 582 p.
- TOLLESON, C., CLAASSEN, D. The function of tyrosine hydroxylase in the normal and parkinsonian brain. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 11: 381-386, 2012.

- TUZUN E, SHARP AJ, BAILEY JA, KAUL R, MORRISON VA, PERTZ LM, HAUGEN E, HAYDEN H, ALBERTSON D, PINKEL D, OLSON MV, EICHLER EE. Fine-scale structural variation of the human genome. *Science* 2004, 304:581–584.
- VADAS P, PRUZANSKI W. Role of secretory phospholipases A2 in the pathobiology of disease. *Lab Invest.* 1986 Oct;55(4):391-404.
- WANG X, CHOI JW, JOO JI, et al. Differential expression of liver proteins between obesity-prone and obesity-resistant rats in response to high fat diet. *Br J Nutr.* 2011; 106:612–626.
- WANG Y.P., ZHOU L.S., ZHAO Y.Z., WANG S.W., CHEN L.L., LIU L.X., LING Z.Q., HU F.J., SUN Y.P., ZHANG J.Y., YANG C., YANG Y., XIONG Y., GUAN K.L., YE D. Regulation of G6PD acetylation by KAT9/SIRT2 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress. *EMBO J.* 33:1304-1320(2014)
- WEISCHENFELDT J, SYMMONS O, SPITZ F, KORBEL JO. 2013. Phenotypic impact of genomic structural variation: insights from and for human disease. *Nat Rev Genet.* 14:125–138.
- ZHANG, F., GU, W., HURLES, M.E., LUPSKI, J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annual Reviews of Genomics and Human Genetics*, 10:451–481, 2009.
- ANDRADE PL, BRESSAN MC, GAMA LT, GONÇALVES TM, LADEIRA MM, RAMOS EM (2010) Qualidade da carne maturada de bovinos Red Norte e Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 1791–1800. doi:10.1590/ S1516-35982010000800023
- GARCÍA-ESTEBAN M, ANSORENA D, GIMENO O, ASTIASARAN I (2003) Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. *Meat Science* 63, 287–292. doi:10.1016/S0309-1740(02)00084-0
- FELÍCIO PE (1997) Fatores que influenciam na qualidade da carne bovina. In 'Produção de novilho de corte'. (Eds AM Peixoto, JC Moura, VP Faria) pp.

79–97. (FEALQ – Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz: Piracicaba, Brazil)

HUANG H, WILLIAMS SK, SIMS CA, SIMMONE A (2011) Sodium metasilicate affects antimicrobial, sensory, physical, and chemical characteristics of fresh commercial chicken breast meat stored at 4\_C for 9 days. *Poultry Science* 90, 1124–1133. doi:10.3382/ps.2010-01227

KOOHMARAIE M, KENT MP, SHACKELFORD SD, VEISETH E, WHEELER TL (2002) Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science* 62, 345–352. doi:10.1016/S0309-1740(02)00127-4