

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

**Ferramentas genômicas no melhoramento genético de
características de importância econômica direta em
bovinos da raça Nelore**

Proponente: Profª. Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque

Jaboticabal-SP
2010

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

**Ferramentas genômicas no melhoramento genético de
características de importância econômica direta em
bovinos da raça Nelore**

Proponente: Prof. Dra. Lúcia Galvão de Albuquerque

EQUIPE

Prof. Dra Lucia Galvão de Albuquerque – Coordenador
Dr. Henrique Nunes de Oliveira
Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante
Dr. Humberto Tonhati
Dr. Jesus Aparecido Ferro
Dr. Fernando F. Cardoso
Dr. Flavio S. Schenkel
Dr. Luis Artur Loyola Chardulo
Dr. Ricardo da Fonseca
Dr. Guilherme Jordão de Magalhães Rosa
Dr. José Fernando Garcia
Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey
Dr. Fabio Pablos de Souza
Dra. Renata Helena Branco
Dra. Sarah Figueiredo Martins Bonilha
Dra. Joslaine Noely dos S. Gonçalves Cyrillo
Zoot. Daniel Biluca
Dr. Ben Hayes

Jaboticabal-SP
2010

INSTITUIÇÕES E EMPRESAS ENVOLVIDAS

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal

Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP - Botucatu

Faculdade de Zootecnia – UNESP – Dracena

Faculdade de Odontologia – UNESP - Araçatuba

Instituto de Zootecnia – Sertãozinho

EMBRAPA Pecuária Sul – Bagé

College of Agriculture and Life Science – University of Madison – Wisconsin

Department of Animal and Poultry Science - University of Guelph - Guelph, Canada

Conexão Delta G - Norte

GenSys Consultores Associados

Grupo Bertin

ÍNDICE

1. PROJETO DE PESQUISA.....	6
1.1 Título: Ferramentas genômicas no melhoramento genético de características de importância econômica direta em bovinos da raça Nelore.....	6
1.2 Sumário.....	6
2. RESEARCH PROJECT	8
2.1 Title: Genomic tools for the genetic improvement of traits of direct economic importance in Nelore cattle.....	8
2.2 Summary.....	8
3. BENEFÍCIO SOCIAL E TECNOLÓGICO	10
4. ENUNCIADO DO PROBLEMA	12
4.1 Objetivos.....	19
4.2 Objetivos específicos.....	19
5. RESULTADOS ESPERADOS	21
6. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
6.1 Informações gerais sobre local, animais e fases experimentais.....	21
6.2 Painel de SNP e Genotipagem	23
6.3 Estudo 1: Análise genética quantitativa de características de carcaça, carne e eficiência alimentar e outras características de importância econômica e associações entre elas.....	24
6.3.1 Descrição das características a serem estudadas	25
6.3.2 Análises genético-quantitativas.....	31
6.4 Estudo 2: Estudo de associação de polimorfismos de base única (SNP) com características de importância econômica em bovinos da raça Nelore.....	33
6.5 Estudo 3: Estudo da expressão de genes associados às características da qualidade de carne e eficiência alimentar	36
6.5.1 Amostras	38
6.5.2 Extração de RNA e síntese de cDNA.....	39
6.5.3 Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (qPCR).....	39
6.5.4 Análise estatística dos dados.....	40
6.5.5 Identificação e quantificação das isoformas de <i>MyHC</i>	40

6.6 Estudo 4: Desenvolvimento e implementação de algoritmos para simulação de informações moleculares e avaliação genética utilizando informações de marcadores SNPs	41
6.7 Estudo 5: Seleção genômica para características de carcaça e carne e eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore.....	46
6.8.1 Estudar o efeito de diferentes distribuições <i>a priori</i> para os efeitos do QTL sobre as avaliações genéticas a partir de dados genômicos.....	47
6.8.2 Avaliar diferentes modelos para avaliação genética considerando a inclusão ou não da informação dos poligenes e de dados genômicos	49
6.8.3 Comparar os resultados das avaliações genéticas convencionais com aqueles provenientes das análises genômicas usando simulação e dados reais	51
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
8. APRESENTAÇÃO DOS MEMBROS DA EQUIPE E PROGRAMA DE ATIVIDADES	69

1. PROJETO DE PESQUISA

1.1 Título: Ferramentas genômicas no melhoramento genético de características de importância econômica direta em bovinos da raça Nelore

1.2 Sumário

A pecuária brasileira é uma atividade que apresenta extrema importância socioeconômica no Brasil e no mundo. No mercado internacional da carne, existe uma tendência para a valorização de produtos cárneos diferenciados (produtos com maior valor agregado), em termos de propriedades organolépticas da carne e consequências de seu consumo sobre a saúde humana. Além disto, existe uma preocupação crescente pelo impacto ambiental da produção pecuária e pela competição por alimentos, grãos e suplementos, que são utilizados tanto pela população humana como pelos bovinos. Neste cenário mundial, visando tornar a atividade pecuária economicamente rentável e sustentável, ganham importância as características associadas à qualidade da carcaça e carne, bem como as características indicadoras de eficiência alimentar. Atualmente, as características da carcaça e carne, assim como as associadas à eficiência alimentar, não têm sido consideradas nos programas de avaliação genética em virtude do alto custo e dificuldade de mensuração. No país, existem algumas instituições de pesquisa que vêm coletando informações fenotípicas para estas características, principalmente para carcaça e carne. Entretanto, trabalhos de quantitativa, com estimativas de parâmetros genéticos para estas características são raros. Além disto, dada à dificuldade de coleta de dados, em geral, as amostras são pequenas e há necessidade de um maior número de estimativas destes parâmetros antes que estas características possam ser utilizadas para seleção. Os importantes avanços nas técnicas de genética molecular, com o desenvolvimento de um painel de marcadores de polimorfismos de base única (SNP's) de alta densidade, permitirão ganhos genéticos significativos, sobretudo em características de alto custo e de difícil mensuração, como é o caso das características de carcaça e carne bem como da eficiência de conversão alimentar. Cabe ressaltar que os efeitos dos SNPs são estimados e Procura-se com este projeto criar um banco de dados de características de qualidade de carcaça e carne e de eficiência alimentar, bem como utilizar uma base de dados de características de importância econômica que, normalmente, são contempladas em programas de melhoramento genético de gado de corte, como as características de crescimento e reprodutivas, para a detecção de

polimorfismos de DNA associados a estas características e desenvolvimento de métodos e softwares visando seleção genômica. Para alcançar este objetivo serão desenvolvidos os seguintes tópicos no projeto:

- a) Análise genética quantitativa de características de carcaça, carne e eficiência alimentar e suas associações com outras características de importância econômica.
- b) Estudo de associação de polimorfismos de base única (SNP) com características de importância econômica em bovinos da raça Nelore
- c) Estudo da expressão de genes associados às características da qualidade de carne e eficiência alimentar.
- d) Desenvolvimento e implementação de algoritmos para simulação de informações moleculares e avaliação genética utilizando marcadores SNPs.
- e) Seleção genômica para características de carcaça e carne e eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore

2. RESEARCH PROJECT

2.1 Title: Genomic tools for the genetic improvement of traits of direct economic importance in Nelore cattle

2.2 Summary

Beef cattle production is an important socioeconomic activity for Brazil and the World. To date, in the world meat market, there is a tendency to value differentiated meat products (i.e., value added-products), in terms of meat organoleptic traits and consequences of meat consumption on human health. Also, there is a growing concern about the impact of livestock production systems on the environment and the competition between humans and livestock species for the same sources of food like grains and supplements. In this world scenario, in order to increase profitability of beef cattle production maintaining sustainability, traits associated to carcass and meat quality, as well as to feed conversion would be relevant. Until now, meat and carcass traits and those associated with feed conversion have not been considered in beef cattle breeding programs, probably because of the high costs and difficulties for recording these traits. Recently, there are some Brazilian research institutions that have collected records for these traits, mainly carcass and meat traits. However, studies in the genetic quantitative area reporting genetic parameter estimates for these traits are rare. Moreover, in general, the samples are small since is not to easy obtain these traits under field conditions (no experimental data). Thus, before including traits associated to carcass and meat quality, as well as feed conversion, in beef cattle breeding programs, it is necessary to have genetic parameter estimates for these traits obtained from various different samples. Important advances in molecular genetic techniques, as the high density SNP panel, will allow significant genetic gains, mainly, for traits that are costly and difficulty to measure, as is the case of carcass, meat and feed conversion traits. However, methodologies that allow to the inclusion of genomic data in Brazilian beef cattle genetic evaluation are still necessary. The objectives of this project are to build a dataset with carcass, meat and feed conversion traits, as well as to use data from others economic important traits that are normally recorded in beef cattle breeding programs, as growth and reproductive traits; to search for DNA polymorphisms associated to these traits; and to develop methodologies and software to apply genomic selection. To achieve these objectives the following topics will be developed in the project:

- a) Quantitative genetic analyses of carcass, meat and feed conversion traits and their associations with others traits of economic importance;
- b) Association studies between single nucleotide polymorphisms (SNP) and economic important traits in Nelore cattle;
- c) Expression studies of genes associated to carcass, meat and feed conversion traits;
- d) Development and implementation of an algorithm to simulate molecular data to perform genetic evaluation using SNP's;
- f) Genomic selection for carcass, meat and feed conversion traits in Nelore cattle.

3. BENEFÍCIO SOCIAL E TECNOLÓGICO

Nos últimos anos, após o sequenciamento do genoma humano e de várias espécies de animais domésticos, uma quantidade significativa de trabalhos sobre a aplicação de dados genômicos em diversas áreas tem sido publicada no mundo. Atualmente, está disponível uma série de ferramentas que permitem obter informações genômicas em larga escala em várias espécies de animais domésticos. Apesar dos grandes avanços nas técnicas de biologia molecular que possibilitam a genotipagem dos animais, ainda estão sendo desenvolvidas as metodologias que permitam a aplicação dos dados genômicos em programas de melhoramento genético. É, portanto, primordial conhecer o genótipo de animais da raça Nelore, em termos dos marcadores SNP presentes nos chips de alta densidade, e desenvolver as metodologias para a aplicação dos resultados nas condições de produção de carne do Brasil, particularmente, tanto devido às diferenças genéticas como ambientais (clima e manejo) de nossos rebanhos com os de outros países de clima temperado, onde essas informações genômicas vêm sendo obtidas e utilizadas nas avaliações genéticas. Além disto, este projeto possibilitará a formação de uma base de dados de características de eficiência alimentar, carcaça e carne para bovinos da raça Nelore, com um número considerável de informações o que, juntamente com estudos desenvolvidos em outros centros de pesquisa nacionais, deverá contribuir para aumentar o conhecimento sobre os mecanismos genéticos envolvidos na expressão dessas características na raça Nelore. Este projeto também permitirá a formação, capacitação e especialização de alunos e professores que será importante para futuras pesquisas e para o ensino em cursos de pós-graduação ao qual estamos vinculados: 1) Genética e Melhoramento Animal da FCAV-UNESP e FMVZ-UNESP; 2) Genética, da FMRP-USP e 3) Produção Animal Sustentável do Instituto de Zootecnia. Finalmente, os resultados do presente projeto fornecerão ferramentas e metodologias que auxiliarão no melhoramento de características que influenciam a eficiência de utilização dos alimentos, diminuindo os custos de produção de carne, e aumentando a qualidade do produto final. Isto permitirá agregar valor ao produto e atendimento de nichos de mercado com possibilidade de maior remuneração ao produtor de carne. Os resultados da seleção para essas características podem ser rapidamente disseminados no rebanho comercial considerando que os mesmos fazem uso da técnica de inseminação artificial. Essas características são de difícil mensuração pelos criadores, e ainda não são consideradas nos programas de melhoramento genético de gado de corte no Brasil. Para este tipo de

características é que se indica o uso da chamada seleção genômica, considerando painéis densos de SNP's, área do conhecimento que está sendo desenvolvida no momento. Portanto, cabe aos centros de pesquisa e às agências de fomento de pesquisa o papel de liderar e financiar projetos como esse em que se propõe explorar a fronteira do conhecimento.

4. ENUNCIADO DO PROBLEMA

Os estudos internacionais de mercado indicam que a produção mundial, o consumo, importações e exportações de carnes vermelhas no mundo e, em particular, a carne bovina, manterão uma tendência crescente nos próximos anos (FAO, 2008), com o correspondente aumento nos preços do produto (Platero, 2008). O crescimento econômico registrado especialmente em países do sudeste asiático, acompanhado do incremento no poder aquisitivo da população, tem estimulado notavelmente a demanda de carne bovina. Esta situação é válida tanto para os mercados consumidores de produtos de alto valor agregado, como para aqueles que demandam produtos de menor valor ou de países com alguma restrição sanitária (Platero, 2008). Além disso, nos últimos anos, o consumo interno de carne bovina, que corresponde a 80% da produção brasileira, tem-se fortalecido como consequência da melhora no poder aquisitivo da população, maior proporção da população na faixa de classe média, mudando os hábitos e exigências do consumidor brasileiro (Abiec, 2008; De Zen; Menezes; Carvalho, 2008).

Buainain e Batalha (2007), em um informe publicado em conjunto pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Instituto Interamericano de Cooperação para Agricultura (IICA), ressaltam que os principais fatores críticos para o sucesso da cadeia produtiva de carne bovina brasileira são: a identificação do mercado e correspondente caracterização da demanda; a adequação da oferta a esses mercados e a superação das barreiras comerciais e relativas à segurança do alimento. De acordo com estes autores, esforços devem ser dirigidos para incentivar o crescimento da produção não apenas quantitativo, mas também da qualidade do produto ofertado. Do ponto de vista da cadeia, deve ser realizado um grande esforço em oferecer diversidade de produtos cárneos e desta forma obter preços diferenciados. A combinação de fatores genéticos e de manejo adequados pode permitir ao Brasil incrementar a produção de carnes diferenciadas segundo as diversas demandas dos vários mercados importadores (Buainain; Batalha, 2007).

Nas últimas duas décadas, vários programas de avaliação genética para bovinos de corte têm sido estabelecidos para o melhoramento de características de importância econômica, como as de crescimento, reprodutivas e morfológicas (Alencar, 2002). As características morfológicas, como CPM (conformação, precocidade e musculatura), avaliadas por meio de escores visuais são incluídas nos programas de melhoramento

genético de bovinos de corte, com o objetivo de melhorar características de carcaça e carne. Segundo trabalhos realizados no Brasil, estas características devem responder à seleção (Van Mellis et al. 2003; Koury Filho, 2005; Faria et al. 2008). Além disso, vários trabalhos têm sido realizados associando as características de escores visuais com as demais características de importância econômica, como as de crescimento (Koury Filho, 2005; Faria et al. 2008) e as de carcaça obtidas por ultrassom (Yokoo et al. 2009). Entretanto, no Brasil, ainda são escassos os estudos que associem as medidas de escores visuais, tomadas no animal *in vivo*, com as características da carcaça (Ferriani, 2006) e, sobretudo com as características da carne, medidas no *post mortem*.

A partir dos resultados obtidos no Programa de Utilização de Gemoplasma (GPU) realizado no Meat Animal Research Center (MARC), onde foram avaliadas diferentes raças bovinas de corte para várias características de importância econômica, Cundiff (2004) destacou que, apesar das raças zebuínas (Nelore e Brahman) e suas cruzas (Brangus) demonstrarem uma maior adaptação ao meio e resistência a parasitas, produzem carcaças com menor proporção de gordura, menor maciez da carne e menor percentagem de gordura intramuscular que os *Bos taurus*. Segundo Cundiff et al. (1993), uma carcaça de qualidade deve apresentar quantidade de gordura suficiente para garantir sua preservação e características desejáveis para o consumo. De acordo com Boleman et al. (1998), para as condições do mercado americano, dentre os fatores que definem a qualidade da carcaça, destacam-se o rendimento de cortes cárneos, a percentagem de gordura (subcutânea e intramuscular) na carcaça e a maciez da carne.

A carne produzida no Brasil a partir de raças zebuínas possui características organolépticas que não são bem aceitas nos mercados mais exigentes (Buainain; Batalha, 2007). A falta de uniformidade em idade dos animais ao abate, a cobertura de gordura subcutânea em padrões não desejáveis e a marmorização da carne em quantidades não satisfatórias, têm grande influência na maciez, coloração e palatabilidade do produto final. Desta maneira, as variações de qualidade da carne bovina são conseqüências, principalmente, da falta de padronização dos sistemas de produção, da genética dos rebanhos e da inabilidade em identificar as carcaças com quantidade e qualidade de carne desejada (Shackelford et al. 1991), o que parece válido até os dias atuais no Brasil.

Apesar de sua relevância, o melhoramento genético para as características de carcaça e de carne não tem sido praticado, especialmente, devido à dificuldade em

mensurá-las em animais vivos. Em alguns poucos programas de melhoramento, avaliações genéticas para espessura de gordura e área de olho do lombo têm sido disponibilizadas, mas seleção para as mesmas ainda é limitada. Por serem de expressão tardia, e/ou por exigirem o abate dos animais, ou ainda devido ao custo de mensuração, é praticamente impossível ter animais jovens avaliados para características de carcaça e carne com acurácia razoável. Além disso, na maioria dos trabalhos internacionais em que se quantificou a magnitude da variação genética dentro de raças para essas características utilizaram-se bovinos de raças *Bos taurus* mantidos em condições de clima temperado (Koots et al. 1994; Marshall, 1994; Burrow et al. 2001). No Brasil, são escassos os trabalhos realizados com animais *Bos indicus* para características da carcaça e da carne. Dentre estes podemos citar os de Cyrillo et al. (2004) e Yokoo et al. (2009) que estimaram parâmetros genéticos para características de carcaça medidas por ultrassonografia, em bovinos Nelore, verificando que a área de olho do lombo e espessura de gordura apresentam estimativas de herdabilidade de moderadas a altas, devendo responder à seleção individual. A disponibilidade de parâmetros genéticos para características tanto de carcaça como de carne permitirá a elaboração de índices de seleção e a quantificação do impacto econômico no sistema de produção.

Várias pesquisas têm indicado que as margens da atividade pecuária de corte estão diminuindo para o produtor. Aumentos significativos nos custos de produção, principalmente fertilizantes e alimentos, estão entre as principais causas, uma vez que os custos de alimentação do rebanho representam a maior parte do custo de produção. Nos programas de avaliação genética para bovinos de corte os critérios de seleção para características associadas à produção têm sido o destaque, entretanto, pouca atenção é colocada sobre as características associadas aos custos de produção, como o consumo de alimento, principalmente pela dificuldade de mensuração do mesmo. Na seleção de bovinos de corte são necessárias estratégias para aumentar a eficiência alimentar, mas sem prejudicar características de desempenho ou aquelas associadas à qualidade do produto (carne). A eficiência alimentar, definida como conversão alimentar (kg consumo/kg ganho) é uma medida com várias limitações, uma vez que apresenta alta correlação com o ganho de peso e peso à idade adulta (Arthur et al. 2001a). Por outro lado, o consumo alimentar residual (CAR), sugerido por Koch et al. (1963) como um indicador de eficiência alimentar, é uma medida da diferença entre o consumo observado e o consumo necessário para atender às exigências de manutenção e

crescimento dos animais e apresenta a vantagem de não estar correlacionado ao peso adulto ou ao ganho de peso (Archer et al. 1998; Herd; Bishop, 2000; Arthur; Renand; Krauss, 2001b). A seleção para baixo CAR é mais relevante quando são considerados não só os impactos econômicos diretos da redução do consumo de alimentos, como também os efeitos do impacto ambiental da produção de carne pela redução da produção do metano proveniente da fermentação entérica dos ruminantes. Nkrumah et al. (2006) relataram diferenças significativas em emissão de metano entre animais de baixo e alto CAR, sendo que os primeiros (mais eficientes) produziram 28% menos metano que os menos eficientes (alto CAR).

Informação disponível para bovinos de corte mostra que a eficiência de conversão alimentar, avaliada através do CAR após desmama, apresenta estimativa de herdabilidade moderada e que a seleção para menor CAR resulta em animais com menor consumo de alimento para um mesmo nível de produção, em relação a animais selecionados para maior consumo alimentar residual (Arthur; Herd, 2008). As estimativas de herdabilidade obtidas em *Bos taurus* para as características de consumo e eficiência alimentar variam de 0,15 a 0,78, sendo de 0,16 a 0,39 para CAR, sugerindo suficiente variabilidade genética em animais jovens para obter resposta à seleção para a eficiência de utilização de alimentos (Arthur; Herd, 2008). Entretanto, a maior dificuldade na obtenção de medidas de eficiência alimentar em bovinos, avaliada através do consumo alimentar residual, reside no alto custo para sua mensuração em nível comercial, limitando sua inclusão nos programas de melhoramento de gado de corte.

A seleção assistida por marcadores (SAM) é recomendada com o objetivo de aumentar o ganho genético anual para as características de importância econômica em várias espécies animais (Dekkers, 2004). Este tipo de seleção utiliza a informação molecular obtida a partir dos marcadores em conjunto com os dados de produção fenotípicos e de pedigree para a seleção dos animais. Meuwissen e Goddard (1996) mostraram, a partir de dados simulados, que a SAM é especialmente útil para aquelas características de baixa herdabilidade, com alto custo de mensuração, medidas tardiamente na vida do animal ou após a seleção. Portanto, a SAM fornece uma possibilidade de melhorar características de mensuração difícil e/ou de alto custo, como as características da carcaça e carne e aquelas associadas à eficiência alimentar. Neste sentido, estudos em andamento em diversos países como Canadá, Estados Unidos e

Austrália, têm identificado uma série de marcadores moleculares para várias medidas de eficiência alimentar em bovinos *Bos taurus* (Sherman et al. 2008; Moore; Mujibi; Sherman, 2009) e para as características da carcaça e carne (Keele et al. 1999; Stone et al. 1999; Burrow et al. 2001; Casas et al. 2000; MacNeil; Grosz, 2002; Kim et al. 2003; Casas et al. 2005; Corva et al. 2007), assim como para outras características de importância econômica (Rocha et al. 1992, Unanian et al. 2000; Casas et al. 2000; Casas et al. 2003; Kim et al. 2003;). No Brasil, trabalhos utilizando diferentes tipos de marcadores moleculares em várias raças bovinas de corte e leite, têm localizado genes de efeito maior para características de crescimento (Tambasco et al., 2003; Carrijo et al., 2008), características da carcaça (Ferraz et al., 2009) e de resistência a carrapatos (Machado et al., 2010).

Várias companhias privadas vêm comercializando desde algum tempo diversos marcadores (GeneSTAR®; IGENITY®) para características indicadoras da qualidade da carne (maciez e o marmoreio) e eficiência alimentar em bovinos. Entretanto, até agora uma problemática da SAM é que somente uma proporção pequena da variância genética total é capturada pelos marcadores moleculares, limitando o progresso ou ganho genético (Solberg et al. 2008). Além disto, uma das maiores dificuldades tem sido a incorporação, nos programas de avaliação genética, dos dados proveniente dos marcadores moleculares em conjunto com a informação dos poligenes, visando a predição dos valores genéticos por meio do BLUP (*Best Linear Unbiased Predictor* ou Melhor preditor Linear não Viesado) para as características de importância econômica.

Recentemente, iniciou-se a comercialização do Illumina Infinium® BovineSNP50 BeadChip que contém, aproximadamente, 54.000 marcadores de polimorfismos de base única (SNP) espalhados pelo genoma bovino, com um espaçamento médio entre marcadores de 51,5 Kb (Van Tassell et al. 2008). Os SNP são a forma de variação mais abundante de polimorfismos de DNA em todo o genoma e têm se tornado preferencial sobre outros tipos de marcadores moleculares uma vez que apresentam menores taxas relativas de mutação e são de fácil genotipagem (Romualdi et al. 2002; Youngerman; Saxton; Pighetti, 2004). Os SNP são comumente utilizados para a detecção e localização de QTL para características complexas (Hayes et al. 2006). Até o final do ano de 2009, a Illumina deverá liberar um chip para bovinos com cerca de 300.000 SNP.

Em várias espécies de animais domésticos, o estudo dos milhares de polimorfismos SNP espalhados ao longo do genoma, conhecido como análise genômica, tem possibilitado: a elucidação da estrutura genética de diferentes populações (Kijas et al. 2009; McKay et al. 2008; Gibbs; Taylor; Van Tassell, 2009); estimar o grau de diversidade e divergência genética entre e dentro de populações (Zenger et al. 2006); determinar a relação entre a perda de alelos e o aumento da consangüinidade devido à seleção (Muir et al. 2008); além de identificar e localizar regiões no genoma sujeitas à seleção (Hayes et al. 2006; Prasad et al. 2008; Sonstegard et al. 2009; Barendse et al. 2009; MacEachern et al. 2009;) e associá-las com características de importância econômica (Barendse et al. 2007; Hayes et al. 2009b; Sherman; Nkrumah; Moore, 2009).

Hoje, o valor genético dos animais pode ser obtido a partir de dados genômicos (Bennewitz; Solberg; Meuwissen, 2009; Calus; Roos; Veerkamp, 2009). Visando superar as limitações da SAM, Meuwissen, Hayes e Goddard (2001) propuseram a utilização da chamada seleção assistida por marcadores considerando todo o genoma (Genome-wide marker assisted selection ou seleção genômica). Esse tipo de seleção considera um conjunto muito denso de marcadores cobrindo todo o genoma o que, potencialmente, explica toda a variância genética, assumindo-se que os marcadores estejam em desequilíbrio de ligação com os QTLs de forma que os efeitos sejam válidos para a população. De acordo com Dekkers (2007), Muir (2007) e Meuwissen (2007) a seleção genômica comparada à tradicional, baseada no BLUP, fornece 1) predições dos valores genéticos com maior acurácia, principalmente para as características que se expressam em um único sexo e/ou sejam de baixa herdabilidade, 2) menor incremento na consangüinidade, além de 3) antecipar o processo de seleção no caso de características mensuradas tardiamente na vida do animal ou de mensuração difícil e de alto custo. Schrooten et al. (2005) relataram aumento no progresso genético entre 19 a 31% em comparação com o teste de progênie, quando os marcadores moleculares explicaram 50% da variância genotípica. Recentemente, em vários países como Estados Unidos, Canadá, Nova Zelândia e Holanda, os valores genéticos de touros para produção de leite vêm sendo preditos a partir de informações genômicas (Hayes et al., 2009b).

No Brasil, a disponibilidade de dados sobre eficiência alimentar, qualidade de carne e o genoma total ainda é pequena, mas algumas instituições e empresas privadas

já iniciaram a coleta desse tipo de informação. Uma vantagem em nosso país é o grande número de animais e a possibilidade de obtenção de informações fenotípicas para várias características de importância econômica, a um custo menor em relação a outros países, o que é necessário para a validação e utilização dos chips disponíveis no mercado. O presente projeto fornece uma oportunidade ímpar de identificar e estudar aquelas regiões do genoma com presença de QTLs ou marcadores para as características econômicas, especialmente aquelas de difícil mensuração, em bovinos da raça Nelore; fornecer informações sobre a associação entre o genótipo e o fenótipo, assim como, prever os valores genéticos dos animais a partir de dados genômicos. Por último, os resultados deste estudo fornecerão subsídios que irão auxiliar na personalização de um painel para bovinos da raça Nelore em condições tropicais.

Vários grupos como EMBRAPA (CPPSE e CPAC), USP–Pirassununga em parceria com a Merial, Grupo Qualitas, Genoa e possivelmente outros mais, estão preocupados com esta questão e têm investido esforços em coletar dados fenotípicos tanto de características de carne e carcaça como de consumo alimentar. Todos estes grupos devem investir também em genotipagem destes animais. Se cada um destes grupos tiver dados fenotípicos e genotipagem de 2000 animais (o que é bastante otimista, já que a USP tem dados fenotípicos de aproximadamente 600 animais e a EMBRAPA pretende coletar em torno de 800 animais), estaremos amostrando um total de 12.000 animais. A população de Nelore no Brasil é imensa, a ABCZ fornece registro definitivo para aproximadamente 200.000 animais ao ano, sem contar animais Nelore cara limpa que fazem parte de programas de melhoramento com CEIP. Devemos reconhecer que nossa amostra total será muito pequena. É importante que tenhamos várias amostras de origens diversas, como naturalmente está ocorrendo, já que cada grupo está trabalhando com animais de programas de melhoramento diferentes. No nosso caso, os animais que vamos utilizar são parte de uma população cara limpa, submetida a um programa de melhoramento genético com critérios de seleção definidos e sob forte intensidade de seleção. A Conexão Delta G- Norte produz uma grande quantidade de touros (2.000/ano), com certificado de identificação e produção (CEIP), que são utilizados como reprodutores. Este grupo detém uma fatia significativa do mercado de reprodutores voltados para a produção de carne. Desta forma, esta amostra é representativa de uma faixa importante população de Nelore usada para produção. Na parte de conversão alimentar vamos utilizar animais que fazem parte de um programa

de seleção para crescimento, com a manutenção de uma população controle. Embora o programa seja realizado com um número limitado de animais, esta população tem diversas características vantajosas para o nosso estudo: 1) touros selecionados no IZ têm sido utilizados em muitos rebanhos, tendo um impacto significativo no melhoramento de gado de corte; 2) como é um experimento todos os dados são muito bem controlados; 3) mantêm uma população controle que pode servir de base para comparação.

4.1 Objetivos

O objetivo geral deste projeto é criar um banco de dados de características de qualidade de carcaça e carne e de eficiência alimentar, bem como utilizar uma base de dados de características de importância econômica que, normalmente, são contempladas em programas de melhoramento genético de gado de corte, como as características de crescimento e reprodutivas, para a detecção de polimorfismos de DNA associados a estas características e desenvolvimento de métodos e softwares visando seleção genômica.

4.2 Objetivos específicos

1. Montar um banco de dados de características associadas à qualidade de carcaça e de carne e características indicadoras da eficiência de conversão alimentar;
2. Comparar diferentes medidas de eficiência alimentar em bovinos confinados;
3. Estimar parâmetros genéticos para as características de carcaça e carne mensuradas após o abate do animal, para consumo alimentar residual (CAR) e outras características de importância econômica; assim como associações genéticas entre elas.
4. Verificar se as características de escores visuais utilizadas como critério de seleção nos programas de melhoramento são indicadoras eficientes das características de carcaça, tanto em termos genéticos como fenotípicos;
5. Verificar a distribuição de frequências dos polimorfismos e análise de desequilíbrio de ligação no genoma de bovinos da raça Nelore;
6. Estudar a associação de polimorfismos com características de carne e carcaça e de eficiência alimentar no genoma bovino;

7. Estimar os efeitos dos SNPs sobre as características da carcaça e carne e as associadas à eficiência alimentar;
8. Desenvolver e validar painéis de SNPs específicos para cada conjunto de características;
9. Verificar os padrões de expressão de genes envolvidos no metabolismo oxidativo, anabolismo de lipídios, “turnover” de proteína e estrutura muscular e associá-los ao consumo alimentar residual e ou à qualidade da carne;
10. Desenvolver um conjunto de rotinas e procedimentos que viabilizem a simulação de dados de SNPs e marcadores SNPs para estudos na área de genômica;
11. Comparar metodologias de avaliação genética utilizando informações moleculares sob diferentes cenários via simulação;
12. Estudar o efeito de diferentes distribuições *a priori* (BayesA – assumindo distribuição normal; BayesB – assumindo ponto de massa em zero e Bayesiana de Lasso – assumindo distribuição exponencial dupla para os efeitos genéticos) para os efeitos do QTL sobre as avaliações genéticas a partir de dados genômicos;
13. Comparar os resultados das avaliações genéticas convencionais com aqueles provenientes das análises genômicas usando simulação e dados reais;

Para alcançar os objetivos propostos pelo Projeto Temático uma série de estudos deverá ser realizada, especificada como a seguir:

- **Estudo 1:** Análise genética quantitativa de características de carcaça, carne e eficiência alimentar e outras características de importância econômica e associações entre elas.
- **Estudo 2:** Estudo de associação de polimorfismos de base única (SNP) com características de importância econômica em bovinos da raça Nelore.
- **Estudo 3:** Estudo da expressão de genes associados às características da qualidade de carne e eficiência alimentar.
- **Estudo 4:** Desenvolvimento e implementação de algoritmos para simulação de informações moleculares e avaliação genética utilizando marcadores SNPs.
- **Estudo 5:** Seleção genômica para características de carcaça e carne e eficiência

alimentar em bovinos da raça Nelore.

5. RESULTADOS ESPERADOS

Os resultados do presente projeto irão permitir:

- Disponibilizar uma base de dados com registros genealógicos e de desempenho para características associadas à qualidade de carcaça e de carne e características indicadoras da eficiência de conversão alimentar, que permitirá o desenvolvimento de ferramentas para o melhoramento genético das mesmas. Esta base também poderá ser utilizada em outras pesquisas, inclusive de outras áreas de conhecimento.
- Criar painéis de SNP's específicos para características associadas à qualidade de carcaça e de carne e características indicadoras da eficiência de conversão alimentar em bovinos da raça Nelore, que poderá ser utilizado para seleção genômica;
- Desenvolver metodologias estatísticas para a utilização de dados genômicos no melhoramento animal;
- Desenvolver um Software de domínio público que viabilize a simulação de dados de SNPs para estudos na área de genômica e avaliação genética;
- Serão elaboradas em torno de 6 teses, 10 dissertações e 15 iniciação científica por estudantes pertencentes aos centros de estudos envolvidos no projeto;
- Serão produzidos em torno de 30 trabalhos científicos a serem publicados em periódicos de alto impacto na área.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Informações gerais sobre local, animais e fases experimentais

Para os estudos de qualidade de carne e carcaça, serão utilizados dados de animais provenientes de fazendas que integram o programa de melhoramento genético da Conexão Delta G. O programa de melhoramento genético da Conexão Delta G começou em 1993 para a raça Nelore, contando hoje com aproximadamente 200.000 cabeças e 110.000 vacas com escrituração zootécnica, em 5 estados. A avaliação dos animais é realizada para várias características de importância econômica como, pesos em várias idades, escores visuais para características morfológicas como a conformação

da carcaça, sua musculosidade e precocidade. Essa avaliação é feita na fazenda por técnicos treinados. O banco de dados fenotípicos e de genealogia completos com as informações constantes dos arquivos zootécnicos da Conexão delta G será disponibilizado.

Nos estudos de características da carcaça e carne, serão utilizados 2.000 animais machos da raça Nelore terminados em confinamento com idade próxima a dois anos, filhos de cerca de 100 touros, provenientes de seis rebanhos, todos com informações de desempenho e genealogia disponíveis. Esclarecemos que amostras de carne de 300 animais já foram obtidas no ano de 2009. Os dados para as análises propostas seguirão o esquema de um teste de progênie, aproveitando a estrutura já existente no programa de melhoramento da Conexão Delta G, que permite que a base fique estruturada em famílias de meio-irmãos. Esta estratégia permitirá também a avaliação genética dos touros, pais dos animais abatidos. As características de carcaça a serem estudadas após o abate dos animais são: (1) peso de carcaça, (2) escores visuais de conformação e grau de acabamento de gordura da carcaça, (3) Área de olho-de-lombo, (4) Espessura de gordura subcutânea. As características da carne a serem avaliadas são: (1) Índice de marmorização, (2) Coloração da carne (3) Força de cisalhamento, (4) Percentagem de lipídeos por extração química (5) pH e comprimento do sarcômetro. Estas características serão associadas com as características morfológicas, como CPM (conformação, precocidade e musculatura), avaliadas por meio de escores visuais, e outras características de importância econômica, como pesos em várias idades.

Para os estudos de eficiência alimentar serão utilizados animais da raça Nelore do Centro de Pesquisa em Pecuária de Corte do Instituto de Zootecnia, em Sertãozinho-SP. Neste centro de Pesquisa iniciou-se em 1976 um experimento de seleção com zebuínos Nelore a fim de verificar a resposta à seleção para peso corporal. Para isto, foram criadas três linhas de seleção para peso ao sobreano, sendo duas selecionadas segundo maior diferencial de seleção para peso ao sobreano (NeS e NeT) e outra selecionada para diferencial nulo ou próximo de zero, linha controle (NeC). Nas linhas selecionadas para maior crescimento ao sobreano (Nelore Seleção-NeS e Nelore Tradicional-NeT), 7 a 8% dos machos e 50 a 70% das fêmeas são selecionados com base no maior desempenho individual do peso padronizado aos 378 dias de idade (P378, machos) e aos 550 dias de idade (P550, fêmeas) dentro do grupo de contemporâneos (linha seleção x ano de nascimento), em esquema de seleção direcional. Na linha

controle (NeC) a seleção é estabilizadora, em que os machos e fêmeas são selecionados para P378 e P550 próximo da média do grupo de contemporâneos. O rebanho Nelore atual é constituído por 360 matrizes, sendo 80, 120 e 160 matrizes nos rebanhos NeC, NeS e NeT, respectivamente, os quais possuem uma produção média de 60, 90 e 120 bezerros por ano (Razook; Mercadante, 2007). A média dos valores genéticos para peso ao sobreano dos animais nascidos nos últimos quatro anos (2004 a 2007), representantes de 5,5 gerações de seleção para crescimento é 0,2 kg, 49,5 kg e 55,3 kg em NeC, NeS e NeT, respectivamente.

Serão utilizados 780 animais sendo: 1) as progênies das linhas Nelore Seleção e Controle (300 animais), nascidas de 2004 e 2005 (fêmeas) e 2006 a 2008 (machos) que já tiveram o consumo individual mensurado e as características de eficiência alimentar identificadas (Branco et al. 2006a, 2006b, 2008, 2009); 2) progênies (machos) nascidas de 2010 a 2013 das três linhas descritas acima, 120 animais/ano, totalizando 480 animais. Sem a utilização do sistema de controle individual de consumo o número de animais que poderia ser mensurado por ano, para estas características, cairia para a metade.

O consumo alimentar individual diário será medido após o desmame, em testes de 112 dias de duração, precedidos de 56 dias de adaptação à dieta e ao local. Os animais serão pesados duas vezes por semana. Ao finalizar o período de teste, serão abatidos 15 animais com consumo alimentar residual extremos (alto e baixo) durante 2 anos, totalizando 60 animais, para a determinação da expressão de genes associados às características indicadoras de eficiência alimentar (estudo 4). Já para o estudo 2, serão aproveitados os dados de genotipagem dos animais seleção e controle que fazem parte do estudo anterior, e a amostragem será complementada com mais 200 animais dos dois rebanhos (Nec e NeS).

6.2 Painel de SNP e Genotipagem

Um painel de aproximadamente 800.000 SNP do BovineSNP BeadChip (High-Density Bovine BeadChip) será utilizado para genotipar os animais. Este produto estará disponível no mercado a partir de julho de 2010. Este painel tem sido testado ou provado em 20 raças de bovinos de corte e leite. Será avaliado o comportamento e desempenho do painel de genotipagem (BovineSNP BeadChip). Por mais informações

consultar:<http://investor.illumina.com/phoenix.zhtml?c=121127&p=irolnewsArticle&ID=1372234&highlight=> ou entrar em contato com Sr. Wilson Braulio (Inside Sales Representative) email: wbraulio@illumina.com.

Espera-se que este Chip seja mais informativo para a raça Nelore que o anterior, de 54.000 SNP, uma vez que o mesmo inclui uma amostra maior de genes de raças Zebus.

6.3 Estudo 1: Análise genética quantitativa de características de carcaça, carne e eficiência alimentar e outras características de importância econômica e associações entre elas

No Brasil, historicamente, os objetivos de seleção para gado de corte têm sido priorizados sobre características ligadas direta ou indiretamente à quantidade e peso dos animais comercializados. As características da carcaça e carne e aquelas associadas à eficiência alimentar não tem sido incluídas nos programas de melhoramento genético em razão da dificuldade para obtê-las e a suposição que estas características possuem uma menor importância econômica relativa em comparação com as características de crescimento e reprodutivas.

Recentemente, várias indústrias e centros de pesquisa de gado de corte no mundo, têm sinalizado a necessidade da melhoria de características da carcaça, como cobertura de gordura e quantidade de carne comestível; e da carne, como maciez, palatabilidade, composição lipídica, relacionados à saúde humana; bem como de características associadas à eficiência alimentar, em função da crescente preocupação pelo esgotamento dos recursos naturais e diminuição do impacto ambiental da atividade pecuária. Paralelamente, a competição da carne bovina com outros tipos de carnes, como suínos e aves, tem forçado os produtores e a indústria da carne bovina a buscar novos métodos e formas de incrementar a eficiência e valorização dos produtos cárneos.

Um banco de dados de características que são de difícil mensuração, como é o caso das características de qualidade da carne, carcaça e eficiência alimentar, irá possibilitar a estimação de parâmetros genéticos para estas características bem como a sua associação com outras de importância econômica. Estes resultados não estão disponíveis no Brasil para animais da raça Nelore e permitirão o desenvolvimento de estratégias para o melhoramento genético destas características.

Este estudo visa atender aos seguintes objetivos:

- Montar um banco de dados de características de qualidade de carcaça e de carne mensuradas após o abate do animal associado à base de dados de um programa de melhoramento genético da raça Nelore; e estimar parâmetros genéticos para estas e outras características de importância econômica;
- Verificar se as características de escores visuais utilizadas como critério de seleção nos programas de melhoramento são indicadoras eficientes das características de carcaça, tanto em termos genéticos como fenotípicos;
- Estudar as relações genéticas entre as características da carcaça e carne, assim como das mesmas com outras características de importância econômica em bovinos de corte;
- Montar um banco de dados de características indicadoras da eficiência de conversão alimentar
- Comparar diferentes medidas de eficiência alimentar em bovinos em confinamento
- Verificar o efeito da seleção para crescimento sobre a eficiência alimentar
- Estimar parâmetros genéticos para consumo alimentar residual (CAR), assim como a sua associação genética com outras características de importância econômica

6.3.1 Descrição das características a serem estudadas

6.3.1.1 Características da carcaça e carne

Os animais selecionados deverão ser abatidos em planta frigorífica comercial com acompanhamento técnico especializado para a avaliação das seguintes características de carcaça: (1) peso de carcaça, (2) escores visuais de conformação e grau de acabamento de gordura da carcaça

As carcaças dos animais selecionados serão resfriadas em câmaras frias por pelo menos 24hs *postmortem*, quando serão retiradas amostras de 2,5cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi* (contra-filé) na região da 12^a - 13^a costelas das meias-carcaças esquerdas. As amostras de carnes não serão maturadas, apenas serão resfriadas por período de 98hs após o abate a fim de se evitar as possíveis variações individuais de estabelecimento do rigor mortis nas carcaças. Devido as diferentes distancias que os animais percorrerão ate o abate, bem como pelas diferenças de manejo pré-abate das

plantas frigoríficas recomenda-se, em avaliações de qualidade, submeter as carnes por período de 98 a 120hs sob resfriamento, quando então devem ser congeladas para a retirada das amostras do *L. dorsi*. Serão obtidas as seguintes medidas:

- a) **Índice de marmorização:** Para a determinação do índice de marmorização na amostra do músculo *Longissimus dorsi* será 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.
- b) **Área de olho-de-lombo:** Determinada pelo método do quadrante de pontos, segundo a metodologia descrita pelo United States Standards for Grades of Carcass Beef (USDA *Quality Grade*, 1997).
- c) **Espessura de gordura subcutânea:** A medida da espessura de gordura subcutânea será feita com paquímetro e os valores dados em milímetros, seguindo a metodologia usada pelo USDA *Quality Grade* (1997).
- d) **Coloração da carne:** A determinação da coloração da carne será realizada nas amostras resfriadas de *L. dorsi* com exposição de pelo menos 35 minutos em temperatura ambiente (RT). As medidas de coloração da carne serão realizadas utilizando-se um colorímetro KONICA MINOLTA - CR 400 (*Minolta Co. Ltd.*), segundo metodologia proposta por Renerre (1982), onde o equipamento será calibrado para um padrão branco no sistema $CIE L^* a^* b^*$ onde serão tomadas as medidas absolutas das coordenadas de luminosidade (L^*), coloração vermelha (a^*), e coloração amarela (b^*). Serão realizadas ainda as leituras proporcionais das mesmas coordenadas em relação a medida padrão adotada na primeira leitura (ΔL^* , Δa^* , Δb^*). Os dados das leituras absolutas e proporcionais serão analisados pelo programa *OnColor - CyberChrome Color Systems 5,2* (*CyberChrome, Inc. Company* - 2005) para a determinação das variações da coloração da carne durante o processo de maturação das amostras.
- e) **Análise da Força de Cisalhamento:** Para a análise de força de cisalhamento (FC) serão utilizadas amostras de 2,54 cm de espessura do músculo *L. dorsi* com osso, obtidas entre a 12ª e 13ª costelas das meias carcaças esquerdas dos

animais ($n = 24$) e resfriadas por período mínimo de 96hs. Para a realização do ensaio será adotado o procedimento padronizado e proposto por Wheeler *et al.* (1995), onde as amostras serão assadas até atingirem temperatura interna de 71°C. Para a determinação da força de cisalhamento será utilizado um equipamento Salter *Warner-Bratzler Shear Force* mecânico com capacidade de 25 kg e velocidade de seccionamento de 20 cm/minuto. O *shearing* será realizado em cilindros de ½ polegada retirados da região central da amostra em sentido longitudinal as fibras musculares. Serão feitas de seis a oito medidas por amostra a fim de se obter maior precisão nos resultados obtidos, que serão expressos em quilogramas (Kg).

- f) **Perdas por cozimento:** Durante o cozimento das amostras para análise da força de cisalhamento serão colhidos os dados necessários para cálculo dos valores de perdas por evaporação, gotejamento e totais. As perdas serão obtidas pela pesagem das bandejas de cozimento, com e sem as amostras. As pesagens serão realizadas antes e após o cozimento das amostras, sendo que, a relação percentual de perda de peso das bandejas com as amostras será relacionada às perdas por evaporação, e o acréscimo de peso das bandejas após o cozimento e sem as amostras representará as perdas por gotejamento que acrescidas às perdas por evaporação resultarão nas perdas totais de cozimento.
- g) **Determinação do índice de fragmentação miofibrilar (MFI):** A determinação do índice de fragmentação miofibrilar (MFI) será realizada conforme metodologia descrita por Culler *et al.* (1978) e adaptada no Laboratório de Bioquímica da Carne do Departamento de Química e Bioquímica - IB - UNESP, Botucatu, SP. Serão utilizadas amostras do músculo *L. dorsi* na região da 12^a e 13^a costelas resfriadas por pelo menos 96hs. Serão utilizadas 3 g do músculo em questão, livres de gordura e de tecido conjuntivo. As amostras serão homogeneizadas em *Ultra-turrax* com haste de cisalhamento (Marconi - MA102/E) a 18000 rpm em 30 mL de tampão de índice de fragmentação miofibrilar (TMFI) à 2°C (100mM KCl, 20mM de fosfato de potássio pH 7, 1mM EDTA, 1mM MgCl₂ e 1mM NaN₃, em pH 7,0) duas vezes por 30 segundos com mesmo intervalo em gelo. Após a homogeneização as amostras deverão ser centrifugadas a 1000Xg por 15

minutos à 2°C e o sobrenadante será descartado. O *pellet* deverá ser ressuspendido em 30 mL de TMFI à 2°C e homogeneizado com bastão de vidro. As amostras serão centrifugadas a 1000Xg por 15 minutos à 2°C e o sobrenadante será novamente descartado. O *pellet* será então ressuspendido em 7,5 mL de TMFI à 2°C e submetido ao *Vortex* até a amostra tornar-se bastante homogênea para ser filtrada em filtro de polietileno com malha de 1 mm aproximadamente. Ao filtrado serão adicionados 7,5 mL de TMFI à 2°C para a lavagem do tubo de centrifuga e auxiliar na filtragem. Será feita quantificação de proteínas miofibrilares totais pelo método do Macro Biureto (Gornall *et al.*, 1949). Para a determinação do MFI as amostras serão preparadas com o TMFI para um volume final de 8 mL e concentração de proteína 0,5 mg/mL. As amostras serão homogeneizadas por agitação vigorosa e então será feita a leitura em absorbância no comprimento de onda de 540 nm em espectrofotômetro. O aparelho deverá ser zerado tendo como o branco a solução TMFI. O valor de MFI será obtido pelo seguinte cálculo:

$$MFI = Absorbância \times 200$$

- h) Extração de lipídeos:** A quantificação de lipídeos totais seguirá a metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959), a qual demonstra eficácia na extração de todos os grupos de lipídeos encontrados em amostras frescas de alimentos. Serão utilizadas amostras de carne crua e moída e com pesos conhecidos aproximados a 3,0g. Estas amostras serão transferidas para erlenmeyer de 250 mL, onde serão adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. Após homogenização das amostras, com bastão de vidro para que as mesmas obtenham o maior contato possível com os reagentes utilizados, os erlenmeyers serão colocados em mesa agitadora horizontal por 30 minutos. Em seguida serão adicionados 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução aquosa de sulfato de sódio 1,5%. As amostras serão agitadas por mais dois minutos e transferidas para tubos *falcon* de 50 mL e centrifugados a 1000Xg por dois minutos em temperatura ambiente (RT). Após a centrifugação será descartada a camada sobrenadante e o restante será filtrado em papel filtro, com o intuito de separar os fragmentos de amostra de carne da solução contendo os lipídeos que foram extraídos dessas amostras. As amostras serão filtradas em provetas graduadas de 25 mL e terão

o valor do filtrado anotado, pois o volume de lipídeos extraído é utilizado nos cálculos da quantidade de lipídeos totais. Serão medidos 5 mL do filtrado e transferido para becker de 50 mL previamente pesado, os beckers utilizados serão secos em estufa e esfriados em dessecador por pelo menos 24hs para serem pesados em seguida. O becker contendo amostra será colocado em estufa a 110°C até evaporação total do solvente, depois será resfriado em dessecador (O/N) e pesado. As diferenças do peso inicial do becker (sem amostra) e peso final (com amostra e após evaporação do solvente), determinam a quantidade percentual de lipídeos nas amostras.

- i) **pH e Comprimento do sarcômero:** A determinação do pH será feita nas carcaças ao final do período de resfriamento e no momento da determinação da força de cisalhamento. Não serão realizadas medições de pH durante o processo de resfriamento, uma vez que é um trabalho bastante difícil em se tratando de plantas frigoríficas comerciais e é recomendado principalmente quando se estuda as relações entre as características do animal/carcaça e as variações no processo de resfriamento das mesmas. Em nosso caso teremos o cuidado de verificar os possíveis efeitos negativos do processo de resfriamento nas características de qualidade de carne, através da determinação do pH final e do índice de fragmentação miofibrilar (MFI), que associado aos valores de força de cisalhamento sinalizam problemas desta natureza. Carnes com pouca maciez observada pela análise de força de cisalhamento, mas com valores de MFI acima de 70 denotam problemas de crio-encurtamento do sarcômero no processo de resfriamento das carcaças (Morales et al., 2006). Nestes casos uma análise do comprimento do sarcômero (Silva et al., 1999) será realizada para confirmação do efeito, com posterior descarte da amostra do ensaio experimental.

6.3.1.2 Características de eficiência alimentar

Os animais serão desmamados aos 210 dias em média, permanecerão 56 dias em baias coletivas com a dieta experimental, 28 dias de adaptação às baias individuais e 84 dias de avaliação do consumo alimentar individual em instalações que permitam esse

tipo de mensuração. As pesagens serão realizadas sem jejum prévio, duas vezes por semana, pela manhã antes do fornecimento da dieta, com a finalidade de aumentar a acurácia da estimação do peso e do ganho em peso e diminuir o viés devido ao enchimento do trato digestório (Lawrence; Fowler, 2002). Nessas ocasiões será obtida também a altura na garupa.

Serão realizadas medidas de ultra-sonografia como ferramenta para a predição de área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea na costela (EGC) e na garupa (EGG). As medidas de ultra-sonografia serão realizadas em duas ocasiões: no início e no final do período de 84 dias de avaliação do consumo alimentar individual. Para a coleta de imagens o óleo vegetal será utilizado como acoplante acústico. Os animais serão contidos, terão a pele limpa e preparada e as imagens serão coletadas. O sítio anatômico para medidas de AOL e EGC será entre as 12^a e 13^a costelas, e para EGG na junção dos músculos *Gluteos medium* e *Biceps femorais*. O equipamento utilizado será o ultra-som veterinário PIEMEDICAL – *Aquila*, com *probe* de 17 cm. As imagens obtidas serão gravadas para posterior leitura utilizando o programa EVieW[®] (Piemedical Inc.). A dieta será formulada à base de feno de *Brachiaria brizantha* (44,9% MS), milho grão moído (31,9% MS), farelo de algodão (21,5% MS) e sal mineral (1,7% MS, sendo que cada kg do produto tem 180g Ca, 90g P, 10g Mg, 13g S, 93g Na, 145g Cl, 17mg Se, 1000mg Cu, 826mg Fe, 4000mg Zn, 1500mg Mn, 150mg I, 80mg Co, 900mg Fl). A disponibilidade de nutrientes é representativa da encontrada em pastagens de média qualidade. As concentrações de energia metabolizável (EM) e líquida das dietas serão calculadas, após análises químicas, utilizando o *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* versão 5.0 (Fox et al. 2004). Também serão obtidas amostras de fezes, pelo período de 7 dias, para cálculo da digestibilidade estimada a partir de marcadores internos de fibra em detergente neutro indigerível (FDNi), conforme metodologia descrita por Cochran et al. (1986). Amostras mensais da dieta oferecida estarão disponíveis para a obtenção da energia metabolizável (EM, Mcal), que será usada para ajustar os dados de consumo alimentar individual obtidos em anos diferentes (Arthur et al. 2001c), assim como as amostras de sangue para a extração de DNA e genotipagem.

Os animais serão colocados em um piquete equipado com 10 dispositivos ou cochos de consumo do GrowSafe Systems. Cada evento de alimentação e consumo individual será registrado usando o software “GrowSafe Data Acquisition”. Além disso,

características do comportamento alimentar, tais como: tempo despendido em ingestão, ruminação, assim como contagem de visitas ao cocho serão colhidas para a determinação do tempo de alimentação (min/dia); tempo para consumo de 1kg de matéria seca (min/kg de MS); tempo de ruminação (min/dia); tempo para ruminação de 1kg de matéria seca (min/kg de MS); tempo total de mastigação (min/dia); número de visitas ao cocho; tempo de alimentação por visita ao cocho (Lancaster et al. 2009; Polizel Neto et al. 2009) serão também coletadas pelo sistema.

Amostras dos ingredientes da dieta serão coletadas semanalmente e comporão, pela porcentagem, única amostra no final de cada período experimental de 28 dias. As amostras de alimentos e sobras serão secas em estufa de ventilação forçada durante 72h a 55°C (AOAC, 1995) para posteriores análises químicas realizadas em laboratório independente.

Para minimizar as variações no consumo de matéria seca (CMS) durante os períodos experimentais devido a diferenças em EM das dietas, o CMS será padronizado para uma concentração estipulada de EM (Mcal/kg de MS). O CMS observado será multiplicado pela concentração energética da dieta do ano em questão e dividido pela concentração estipulada (Herd; Bishop, 2000; Arthur et al. 2001c).

Os coeficientes de regressão linear dos registros mensais (4 primeiros anos) ou semanais (restante dos anos) do peso corporal no tempo (em dias) serão usados para calcular o ganho médio diário (GMD), o peso final (PF) e o peso médio metabólico (PMM) para cada animal. A eficiência alimentar será calculada pela razão entre CMS e GMD. O consumo alimentar residual será calculado como a diferença entre o CMS observado (após padronização para a concentração de EM na dieta) e o predito a partir de equação de regressão múltipla, considerando o GMD e o PMM como covariáveis, assim como as medidas de carcaça obtidas por ultrassonografia, quando significativas.

6.3.2 Análises genético-quantitativas

Serão realizadas análises de consistência para cada uma das características estudadas e serão testados diferentes modelos em relação aos efeitos fixos a serem considerados. Para estimação dos componentes de variância, os efeitos fixos serão agrupados para formação de grupo de contemporâneos de acordo com a característica e o conjunto de dados. O modelo a ser utilizado para a estimação dos componentes de variância incluirá o efeito aleatório genético direto, o efeito fixo do GC além de outros

efeitos, dependendo da característica. A importância de efeitos como idade e/ou peso do animal bem como número de dias em confinamento serão testados. O modelo a ser utilizado pode ser representado em notação matricial como:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{e}$$

em que \mathbf{y} é o vetor das observações; $\boldsymbol{\beta}$ é o vetor de efeitos fixos desconhecidos; \mathbf{a} é o vetor de efeitos aleatórios desconhecidos que representam os valores genéticos aditivos de cada animal; \mathbf{e} é o vetor de efeitos aleatórios residuais desconhecidos; e \mathbf{X} e \mathbf{Z} são as matrizes de incidência, que relacionam as observações aos efeitos fixos e aleatórios genéticos, respectivamente.

As pressuposições acerca da distribuição de \mathbf{y} , \mathbf{a} e \mathbf{e} podem ser descritas como:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{y} \\ \mathbf{a} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} \sim \mathbf{N} \left\{ \begin{bmatrix} \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} \\ \mathbf{0} \\ \mathbf{0} \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \mathbf{ZGZ}' + \mathbf{R} & \mathbf{ZG} & \mathbf{R} \\ \mathbf{GZ}' & \mathbf{G} & \boldsymbol{\Phi} \\ \mathbf{R} & \boldsymbol{\Phi} & \mathbf{R} \end{bmatrix} \right\},$$

em que \mathbf{G} é a matriz de variâncias e covariâncias do vetor de efeitos aleatórios \mathbf{a} ; \mathbf{R} é a matriz de variâncias e covariâncias residuais.

As matrizes \mathbf{G} e \mathbf{R} são descritas como: $\mathbf{G} = \mathbf{A} \otimes \mathbf{G}_0$, em que \mathbf{A} é a matriz que indica o grau de parentesco entre os indivíduos; \mathbf{G}_0 é a matriz de variâncias e covariâncias genéticas aditivas entre as características que compõem as observações; \otimes é o operador produto direto; $\mathbf{R} = \mathbf{I} \otimes \mathbf{R}_0$, em que \mathbf{I} é a matriz identidade de ordem igual à dimensão linha de \mathbf{y} ; \mathbf{R}_0 é a matriz de variâncias e covariâncias residuais entre as características que compõem as observações; $\mathbf{0}$ é o vetor nulo e $\boldsymbol{\Phi}$ é a matriz nula.

As estimativas dos componentes de (co)variâncias e parâmetros genéticos serão obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita livre de derivada utilizando-se o programa computacional Wombat (Meyer, 2006).

6.4 Estudo 2: Estudo de associação de polimorfismos de base única (SNP) com características de importância econômica em bovinos da raça Nelore

Tanto em gado de corte como gado de leite, a maioria das características de interesse econômico é determinada pela combinação dos efeitos ambientais e a ação de vários genes. Neste sentido, o modelo infinitesimal pressupõe que as características estão determinadas por um número infinito de genes com ação aditiva, em que cada gene tem um efeito infinitesimal (Fischer, 1918). Este modelo tem sido muito útil para o melhoramento animal sendo a base da teoria para a estimação dos valores genéticos (Henderson, 1984).

Nas últimas décadas, vários genes têm sido identificados que afetam ou influenciam as características de importância econômica, chamados genes de efeito maior (*quantitative trait loci*: QTL), porque explicam uma determinada fração da variação fenotípica da característica (Anderson, 2001). Para a identificação e mapeamento de QTL é utilizado o desequilíbrio de ligação (LD), uma vez que aproveita a associação existente na população entre o marcador e o QTL. Esta associação é consequência da proximidade física que existe entre o gene e o marcador (Ardlie; Kruglyak; Seielstad, 2002). Recentemente, Dekkers et al. (2006) compararam uma série de estratégias e metodologias para detectar e mapear QTL em populações de animais domésticos.

A principal limitação nos estudos de associação é a necessidade de um número suficientemente grande de marcadores para aumentar a chance de identificar marcadores em desequilíbrio com QTL's. Até a poucos anos atrás, o escasso número assim como o alto custo dos marcadores limitava sua implementação, sendo que delineamentos experimentais específicos eram desenvolvidos para reduzir o impacto do pequeno número de marcadores sobre o poder dos testes estatísticos (Daetwyler et al. 2008). Atualmente, o desenvolvimento de um painel que identifica um grande número de SNPs do genoma bovino deverá permitir avanços significativos nos estudos de localização e associação de genes que afetam as características de importância econômica. Com o desenvolvimento deste painel uma maior proporção do genoma bovino é coberta, com um número suficiente de marcadores, incrementando o LD entre os marcadores e, conseqüentemente, as chances de encontrar QTL's associados às características produtivas.

Apesar da vantagem da utilização de um conjunto denso de marcadores para a identificação de QTL's, a estimação dos efeitos de um grande número de marcadores pode trazer problemas computacionais e estatísticos (Long et al. 2007). Em diversos estudos (Long et al. 2007; González-Recio et al. 2008; Sherman; Nkrumah; Moore, 2009) têm se proposto alternativas visando diminuir o número de SNP's e, dessa forma, incluir nas análises somente aqueles mais informativos. Isto permitirá reduzir o custo do painel de SNP's bem como diminuir a complexidade das análises, entretanto, a perda de informação e os resultados obtidos com um painel personalizado devem ser avaliados. Neste sentido, é necessário o desenvolvimento do presente estudo visando determinar o grau de LD em bovinos da raça Nelore utilizando um painel de SNPs de alta de densidade para, subsequentemente, verificar a presença de QTL's e sua associação com características de importância econômica, bem como a personalizar painéis de SNP's para as características em estudo.

Este estudo visa atender aos seguintes objetivos:

- Verificar a distribuição de frequências dos polimorfismos e análise de desequilíbrio de ligação no genoma de bovinos da raça Nelore;
- Estudar a associação de polimorfismos com características de carne e carcaça e de eficiência alimentar no genoma bovino;
- Estimar os efeitos dos SNPs sobre estas características;
- Desenvolver painéis de SNPs específicos para cada conjunto de características.

Para este estudo serão utilizadas as informações das características obtidas no estudo 1. A diversidade genética será avaliada por meio da diversidade de alelos (número de alelos) (Kalinowski, 2004), proporção de loci polimórficos e proporção de alelos em baixa frequência (MAF: minor frequency alleles) e a heterozigose. A heterozigose, tanto observada (H_o) como a esperada em equilíbrio Hardy-Weinberg (H_e) serão calculadas. O equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada SNP será avaliado por um teste exato de probabilidade, assumindo uma distribuição qui-quadrado e nível de significância de $P < 0,05$.

Os SNP's com desvios significativos do equilíbrio Hardy-Weinberg serão excluídos da análise, assim como SNP's com baixa frequência (*minor frequency alleles*: MAF) e aqueles que estejam genotipados em menos de 50% da população.

Várias medidas de LD têm sido descritas na literatura (Leowontin, 1964; Hill; Robertson, 1968; Hill, 1981; Valdar et al. 2006), sendo que o quadrado das correlações entre as frequências alélicas dos loci, denominado r^2 (Hill; Robertson, 1968) é mais apropriado pelo fato de apresentar melhores propriedades estatísticas e facilidade de interpretação (Hayes, 2009a). O r^2 pode ser calculado da seguinte forma:

$$r^2 = \frac{(\text{freq.}AB * \text{freq.}ab - \text{freq.}Ab * \text{freq.}aB)^2}{(\text{freq.}A * \text{freq.}a * \text{freq.}B * \text{freq.}b)}$$

Onde *freq.A*, *freq.a*, *freq.B*, *freq.b* são as frequência dos alelos *A*, *a*, *B* e *b*, respectivamente, e *freq.AB*, *freq.ab*, *freq.Ab* e *freq.aB*, são as frequência dos genótipos *AB*, *ab*, *aB* e *Ab*, na população, respectivamente. Para a obtenção do parâmetro r^2 para cada par de SNP e em cada cromossomo serão testados e utilizados diferentes softwares disponíveis para a estimação do LD, como por exemplo, o Haploview (Barrett et al. 2005).

De acordo com Hayes (2009a), o poder do teste no estudo de associação depende do desequilíbrio de ligação entre o marcador e o QTL, da proporção da variância fenotípica explicada pelo QTL, do número de registros fenotípicos, bem como da frequência dos alelos. Na análise de associação, para estimar o efeito de cada SNP's será utilizado um modelo linear misto no programa SAS (*Statistical Analysis System v.9.1 (SAS)*). O modelo incluirá o efeito aleatório do touro e o efeito fixo de grupo de contemporâneos, bem como a covariable idade do animal, conforme definido no estudo 1 para cada característica. A estimativa de cada SNP será incluída no modelo como a regressão do fenótipo sobre o número de cópias de um alelo do marcador.

Os valores de significância de *P* serão determinados utilizando 30.000 permutações, conforme proposto por Churchill e Doerge (1994). A taxa de falso-positivos (*FP*) será calculada utilizando a seguinte formula: $FP = -mP(i)/i$, onde *m* é o total de número de testes, *P(i)* é o valor de *P* na classe *i* quando os valor de *P* obtidos são ordenados de menor a maior (Benjamini; Hochberg, 1995; Weller et al. 1998). Além disto, será monitorado o número de falso-positivos em relação ao número de resultados positivos (Fernando et al. 2004). A partir destes resultados, será verificada a relação entre o valor de F dos marcadores e o r^2 , conforme proposto por Hayes (2009a).

Para o desenvolvimento do painel personalizado de SNP, aqueles SNP's que apresentem um efeito significativo sobre as características estudadas serão re-analisados considerando um modelo multivariado utilizando o procedimento *stepwise* para seleção dos SNPs com maior nível significância ou mais informativos, conforme proposto por Sherman, Nkrumah e Moore (2009). Além disso, serão estudadas várias metodologias visando diminuir a multicolinearidade existente entre os SNP's numa análise multivariada (Sherman; Nkrumah; Moore, 2009).

Serão identificados os SNPs que afetam de forma significativa mais de uma característica (pleiotropia) ao mesmo tempo. Estes resultados irão auxiliar as análises no estudo 5, uma vez que será verificada a possibilidade de reduzir o número de SNP a serem considerados na estimação dos valores genômicos para cada característica. No estudo 5, serão avaliados os resultados obtidos com a utilização dos SNP's mais informativos.

6.5 Estudo 3: Estudo da expressão de genes associados às características da qualidade de carne e eficiência alimentar

Nos últimos anos, têm-se realizado estudos dos mecanismos que atuam ou controlam a expressão gênica (Cassar-Malek et al., 2008). O conhecimento do padrão de expressão de genes em tecidos ou órgãos específicos, com funções importantes para o metabolismo animal, poderia ajudar a identificar ou elucidar marcadores moleculares potenciais que influenciam as características de importância econômica em bovinos. A presença de polimorfismos e/ou QTLs pode contribuir para a expressão diferencial de um gene ou na alteração da funcionalidade da proteína que está sendo codificada (Haley et al., 2006). O estudo conjunto da expressão gênica com a análise ampla do genoma (análise estrutural) é denominado genômica funcional. Para isto, o primeiro passo é o estudo da expressão de vários genes que afetam as características de carcaça e carne bem como a conversão alimentar, para posteriormente verificar como as variações estruturais (polimorfismos SNP) afetam esta expressão.

Dentre as funções biológicas das **calpaínas** incluem-se a regulação de processos biológicos do ciclo celular, migração celular, sinalização intracelular e apoptose (Choi; Kim, 1997; Huttenlocher et al. 1997; Dourdin et al. 2001). A calpastatina, por sua vez, tem ação moduladora das calpaínas. O sistema calpaína-calpastatina possui uma forte influência sobre a maciez da carne. As calpaínas têm como função a degradação da fibra muscular no *potsmortem*, conferindo maciez à carne, enquanto a calpastatina atua

impedindo ou reduzindo essa proteólise degradativa da fibra (Byun; Zhou; Hickford, 2008).

A gordura intramuscular também é um fator de grande influência na qualidade da carne que junto ao pH e às fibras musculares, atuam na maciez no *postmortem*. O gene do diacilglicerol aciltransferase 1 (*DGATI*) está envolvido com a síntese de triglicerídeos presentes na gordura intramuscular (Thaller et al. 2003). Outro gene que parece estar relacionado à gordura intramuscular é o gene da **tireoglobulina** (Barendse; Vaiman; Kemp, 1997; Mariante et al. 2008).

Análises bioquímicas mostraram que a **leptina** diminui a taxa de creatina quinase (CK), a atividade miogênica e a cadeia pesada da proteína miosina (MHC), sendo também um gene candidato para qualidade da carne (Taiyong et al. 2008). Outro fator atualmente relevante no estudo da qualidade da carne é a ação da miosina (*MyHC*). Em bovinos da raça Blonde d'Aquitaine (*Bos taurus*), Picard (1999) observou a presença, bem como quantificou a expressão gênica, das três isoformas de *MyHC* (I, IIa, e IIb) em músculos *Semitendinosus* e *Longissimus thoracis*. A terceira isoforma (IIx) tem sido identificada em muitas espécies.

Alguns estudos (Bottje et al. 2002; Kolath et al. 2006) tem postulado que variações no aproveitamento do alimento podem ser devido às diferenças originadas a nível da função mitocondrial. É conhecido que cerca de 90 % da energia requerida pelas células são provenientes das mitocôndrias. A mitocôndria contém seu próprio sistema genético, entretanto, é estabelecido que a maior parte das moléculas que atuam no seu funcionamento são codificadas pelo genoma nuclear.

O gene nuclear **TFAM** codifica uma proteína que regula o processo inicial da transcrição e da replicação do DNA mitocondrial (mtDNA), e está relacionado com a biogênese mitocondrial (Jiang et al. 2005). Desse modo, é possível que a expressão diferencial do gene *TFAM* esteja relacionada com as diferenças nos valores de consumo alimentar residual entre animais sobre o mesmo tipo de manejo nutricional.

As proteínas desacopladoras (Uncoupled Proteins - UCP) UCP2 e UCP3 localizam-se na membrana interna da mitocôndria e têm função de translocação dos prótons e elétrons do espaço intermembranas para a matriz mitocondrial, dissipando o gradiente de prótons através da membrana interna da mitocôndria. Alguns trabalhos relatam a associação entre os genes **UCP2** e **UCP3** e eficiência alimentar (Boschini; Garcia Júnior, 2005). Por último, o “Peroxisome proliferative activated receptor gamma

coativador1A” (PPARGC1A), também conhecido como **PGC-1**, possui papel chave para o processo transcricional da termogênese adaptativa atuando tanto na expressão dos genes UCP2, e UCP3, como na respiração e biogênese mitocondrial (Knutti; Kralli, 2001). Desta forma, assim como o genes **UCP2**, **UCP3**, e **TFAM**, o **PGC-1** é um forte candidato a possuir expressão gênica diferencial em tecido muscular de animais com valores de consumo alimentar residual diferentes sob o mesmo regime alimentar.

Os objetivos que o presente estudo visa atingir são:

- Relacionar a qualidade da carne proveniente de tecido muscular com a expressão gênica da **μ-calpaína**, **m-calpaína**, **calpastatina**, **diacilglicerol acyltransferase 1** (DGTA1), **leptina** e **tireoglobulina** em bovinos Nelore (*Bos indicus*) comparados a animais da raça Canchim (5/8 Charolês, 3/8 Nelore);
- Identificar e quantificar os tipos de fibras musculares esqueléticas a partir das isoformas da *MyHC* no tecido muscular esquelético de bovinos Nelore (*Bos indicus*) de diferentes taxas de crescimento, como possível ferramenta de seleção e predição da maciez da carne no *postmortem*.
- Relacionar o consumo alimentar residual com a expressão gênica muscular dos genes **TFAM**, **UCP2**, **UCP3**, e **PGC-1** em bovinos Nelore (*Bos indicus*) sob regime de confinamento.
- Estudar a influência dos polimorfismos SNP (polimorfismos funcionais) sobre a expressão de vários genes de interesse.

6.5.1 Amostras

Para atingir estes objetivos serão realizados três ensaios independentes. Para os dois primeiros ensaios que envolvem a qualidade da carne, serão utilizadas amostras provenientes de 40 animais pertencentes a fazendas da Conexão Delta G. Para o terceiro ensaio as amostras serão coletadas de 40 animais provenientes do Instituto de Zootecnia, avaliados quanto ao consumo alimentar. Serão ainda utilizadas, no primeiro ensaio, para fins de comparação, amostras provenientes de animais da raça Canchim e no segundo, amostras provenientes de animais da raça Piemontês, que servirão de modelo biológico de crescimento hipertrófico acelerado do músculo esquelético, para a identificação das possíveis isoformas.

6.5.2 Extração de RNA e síntese de cDNA

As amostras de tecidos muscular superficial serão coletadas imediatamente após o abate do animal. Será coletado cerca de 2g de tecido muscular que será posteriormente dividido em sub-amostras de 250 mg. As amostras serão então embrulhadas em papel alumínio, identificadas, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Posteriormente as amostras serão estocadas em freezer -80° C até o momento de extração do RNA.

A extração de RNA bem como a síntese de cDNA será realizada no Laboratório do Prof. Dr. Jesus Aparecido Ferro do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP- Jaboticabal. As amostras de RNA total serão obtidas pela utilização de Trizol e do Kit Purelink RNA Mini Kit (Invitrogen) seguindo as especificações do fabricante. Para a reação de transcrição reversa (RT) será utilizado o Kit Superscript III First-Strand Synthesis Super Mix (Invitrogen) seguindo as especificações do fabricante.

6.5.3 Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (qPCR)

Para a avaliação quantitativa da expressão gênica será utilizado o Laboratório II da Biologia do Músculo Estriado do departamento de Morfologia – Instituto de Biociências – UNESP/Botucatu. Segundo o método desenvolvido por Vandesompele et al. (2002), para normalização dos resultados, os valores obtidos serão corrigidos pelo fator de normalização gerado através da expressão de três possíveis genes de referências, gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (**GAPDH**), hipoxantina-guanina fospforribosiltransferase (**HPRT**) e TATA binding box protein (**TBP**). Os primers para os genes alvos analisados serão obtidos através dos softwares *Primer Express*[®] (*Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA*), e para os genes de referência, através do software Primer3, disponível no endereço eletrônico <http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>, a partir de seqüências publicadas no GenBank (www.pubmed.com) e sintetizados pela Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA, EUA). A PCR em Tempo Real será realizada pela utilização do *Power SYBR*[®] *Green PCR Master Mix* (*Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA*) no Sistema *Real Time PCR 7300* (*Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA*).

6.5.4 Análise estatística dos dados

Todas as análises estatísticas serão realizadas utilizando-se os programas computacionais *Statistical Analysis System v.9.1 (SAS)* e *Pedigrem* (Vazquez et al., 2009). Os dados de qualidade de carne, crescimento, consumo alimentar residual, quantidade e proporção dos tipos de proteínas serão submetidos à análise de variância através do procedimento GLM, utilizando-se o teste F para verificação da significância. Os valores residuais destas análises serão utilizados para estabelecimento das correlações entre as características pelo procedimento CORR.

Para comparação dos dados de expressão gênica entre os grupos genéticos será utilizado o método descrito por Steibel et al. (2009) que é mais flexível que o método 2 (delta-delta) Ct descrito por Livak e Schmittgen (2001). Para análise da associação entre os dados de expressão gênica, tipos proteicos e dados de qualidade de carne e crescimento, serão aplicados os métodos descritos por Yuan et al. (2006), mais adequados para esta análise.

Para determinar as correlações entre cada polimorfismo SNP com o nível de expressão de cada gene estudado será utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon. A avaliação da associação dos polimorfismos SNP com o nível de RNAm será realizada através do pacote “Hapassoc” do programa R (Burket et al., 2004). Além disso, serão testados outros pacotes como o Rcnat, desenvolvido em linguagem R, que permite estudar em forma conjunta polimorfismos SNP de alta densidade e os níveis de expressão gênica (Merk et al., 2007).

6.5.5 Identificação e quantificação das isoformas de *MyHC*

Para a quantificação das proteínas do tecido muscular esquelético serão utilizadas amostras do músculo *L. dorsi* de cada animal (n=90). As proteínas miofibrilares serão extraídas e separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio (*SDS-PAGE*), segundo metodologia descrita por Claeys et al. (1995) e modificada por Chardulo (2000). Serão analisadas as bandas referentes às proteínas actina, miosina, troponina I e o padrão BSA para a obtenção dos traçados densitométricos das amostras aplicadas nas canaletas.

Para a identificação e quantificação das isoformas da *MyHC* serão utilizadas as técnicas tradicionais de eletroforese em *SDS-PAGE*, em condição redutora combinada com reações denaturantes em gel de poliacrilamida vertical, utilizando-se o

procedimento proposto por Picard et al. (1995) e modificado por Carani et al. (2006), Para tanto serão usados cerca de 200mg de músculo *L.dorsi* congelado. Em ambos os casos, a leitura das bandas será realizada em equipamento de foto-documentação VDS (*Pharmacia - Biotech*) e no Software analisador de imagens *Image Master 1D Prime & Elite*, sendo as imagens editadas pelo Software *Adobe Photopoint 5.0*.

Para comparação dos dados de quantidades de proteína miofibrilar em relação as taxas de crescimento, será realizada análise de variância utilizando-se o procedimento PROC GLM do pacote estatístico SAS (2002). A significância será testada pelo teste “F”. Para estudo das relações entre as isoformas da *MyHC* com as características de qualidade de carne serão calculados do coeficientes de correlação pelo procedimento PROC CORR do pacote estatístico SAS (2002). Para verificação do efeito de tamanho sobre as características será utilizado o teste “F”. A comparação das médias de acordo com os métodos será realizada pelo teste de Student-Neuman-Keuls. Será também utilizado o procedimento GLM do sistema de análises estatísticas SAS (SAS, 2002), para realização destas análises.

6.6 Estudo 4: Desenvolvimento e implementação de algoritmos para simulação de informações moleculares e avaliação genética utilizando informações de marcadores SNPs

A descoberta do polimorfismo de um único nucleotídeo (SNPs) permitiu aos pesquisadores estabelecer uma forte relação entre a expressão de características economicamente importantes e regiões específicas do genoma de um indivíduo. Quando encontrados em regiões muito próximas ou até mesmo constituindo um loco que possui efeito diferenciado na expressão de uma dada característica, os SNPs podem ser considerados marcas fiéis aos mesmos.

Schaeffer (2006) expõe que pesquisas são necessárias para identificar SNPs informativos e softwares devem ser escritos para construção de haplótipos dos genótipos SNPs. Desta forma, mapas densos de marcadores SNPs conduzirão as avaliações genéticas a níveis de acurácia mais altos (Kolbehdari; Schaeffer; Robinson, 2006).

Diferentes métodos de avaliação genética (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001; Muir, 2007) que utilizam informações de SNPs foram desenvolvidos, entretanto,

difficultades ainda precisam ser superadas para a aplicação massiva das informações de SNPs na avaliação genética animal. Não existe informação clara sobre o desempenho dos diversos métodos em diferentes situações, o que pode ser superado pelo uso de simulação. Tal falta é exposto por Schaeffer (2006), que conclui que as vantagens de se utilizar avaliação genética com informações de SNPs, por meio das metodologias de seleção genômica, oferece inúmeros benefícios, mas que ainda precisa ser provada e que um projeto de simulação de dados poderia esclarecer esses benefícios.

A simulação de dados de marcadores moleculares permitirá uma participação ampla da comunidade científica de diversos países, uma vez que os custos com genotipagem serão inexistentes. Além disso, será possível a avaliação do desempenho das diferentes metodologias em diferentes cenários, auxiliando os estudos analíticos na formulação de conclusões objetivas sobre quais condições cada metodologia fornece a melhor solução. Dessa forma, um simulador que viabilize a geração de dados de SNPs e dados fenotípicos é de grande importância às pesquisas na área de genômica aplicada ao melhoramento genético animal.

Procura-se com o seguinte estudo:

1. Desenvolver um conjunto de rotinas e procedimentos que viabilizem a simulação de dados de SNPs e marcadores microssatélites para estudos na área de genômica;
2. Comparar metodologias de avaliação genética utilizando informações moleculares sob diferentes cenários via simulação.

As rotinas e procedimentos serão desenvolvidos utilizando-se a linguagem de programação C++. Todo o trabalho será realizado sob o sistema operacional Linux, para o qual o software vai ser desenvolvido. Serão utilizados para codificação e construção do binário o editor de texto GNU Emacs (<http://www.gnu.org/software/emacs/>) e o compilador g++ (<http://gcc.gnu.org/>), respectivamente. Ambos são Softwares-Livres licenciados sob a GPL (<http://www.gnu.org/copyleft/gpl.html>). O software LZ5, no qual as rotinas produzidas serão incorporadas também irá utilizar a mesma licença e será distribuído gratuitamente, inicialmente via site próprio e posteriormente, também via sites especializados como o Sourceforge (<http://sourceforge.net/>).

Utilizando as novas rotinas e procedimentos, será executada uma simulação para comparação de metodologias de avaliação genética. As metodologias comparadas serão:

1. Ausência de seleção (Referência);
2. Equações de Modelos Mistos (Henderson, 1973) sem utilização de informações moleculares ;
3. Metodologia sugerida por Fernando e Grossman (1989) utilizando marcadores microssatélites;
4. Equações de Modelos Mistos em que a matriz de parentesco é construída de acordo com as informações de marcadores microssatélites.
5. Equações de Modelos Mistos em que a matriz de parentesco é construída de acordo com as informações de marcadores SNPs (Muir, 2007);
6. Equações de Modelos Mistos como sugerido em Meuwissen, Hayes e Goddard (2001);
7. Método Bayes B como sugerido em Meuwissen, Hayes e Goddard (2001) (MB).

O objetivo da simulação é analisar o ganho devido a utilização de vários tipos de informações nas avaliações genéticas para comparação do efeito relativo da utilização dos SNPs, portanto, é interessante a comparação de metodologias que considerem microssatélites como marcadores.

O segundo fator a ser considerado é a herdabilidade, em que dois valores serão utilizados: baixa (0,1) e alta (0,5). Dessa forma, 14 populações serão geradas (combinação dos 7 níveis do fator Metodologia com os 2 níveis do fator Herdabilidade), as quais evoluirão por meio de 10 gerações (Tabela 1). A cada geração, 2% dos machos e 30% das fêmeas serão selecionados por uma das metodologias apresentadas para serem os pais da próxima geração (Figura 1). Para cada combinação o processo de evolução será replicado 100 vezes.

Os critérios utilizados para a comparação das metodologias serão:

1. Ganho genético por geração;
2. Ganho genético ao final de 10 gerações;
3. Redução da variabilidade genética;
4. Coeficiente médio de endogamia da população.

O desenvolvimento da simulação proposta é baseada nas rotinas de geração de marcadores, sejam esses microssatélites ou SNPs. Sendo assim, os dois procedimentos fundamentais para desenvolvimento e implementação dessas rotinas seguem.

A geração de marcadores microssatélites baseia-se no seguinte algoritmo:

1. Determine o número de marcadores de acordo com o valor explicitamente fornecido pelo usuário ou implicitamente pela distância entre marcadores dentro de cada cromossomo;
2. Gere os dados de posição com qualquer procedimento de Monte Carlo;
3. Gere os dados de configuração alélica por qualquer procedimento de Monte Carlo;
4. O desequilíbrio de ligação com Qtls deve ser criado automaticamente dentro de famílias. Uma vez que os marcadores microssatélites são separados por grandes distâncias não se espera desequilíbrio à nível de população (Fernando; Grossman, 1989; Lynch; Walsh, 1998).

A geração de marcadores SNPs segue o seguinte algoritmo básico:

1. Determine o número de marcadores de acordo com o valor explicitamente fornecido pelo usuário ou implicitamente pela distância entre marcadores dentro de cada cromossomo;
2. Gere os dados de posição com qualquer procedimento de Monte Carlo;
3. Gere os dados de configuração alélica por qualquer procedimento de Monte Carlo;
4. Gere desequilíbrio entre SNPs e Qtls e SNPs segundo algoritmo apresentado em Meuwissen, Hayes e Goddard. (2001).

As rotinas desenvolvidas serão incorporadas ao simulador de dados LZ5. Sendo assim, vários cenários de simulação poderão ser criados pelo aproveitamento de outras capacidades já existentes nesse software.

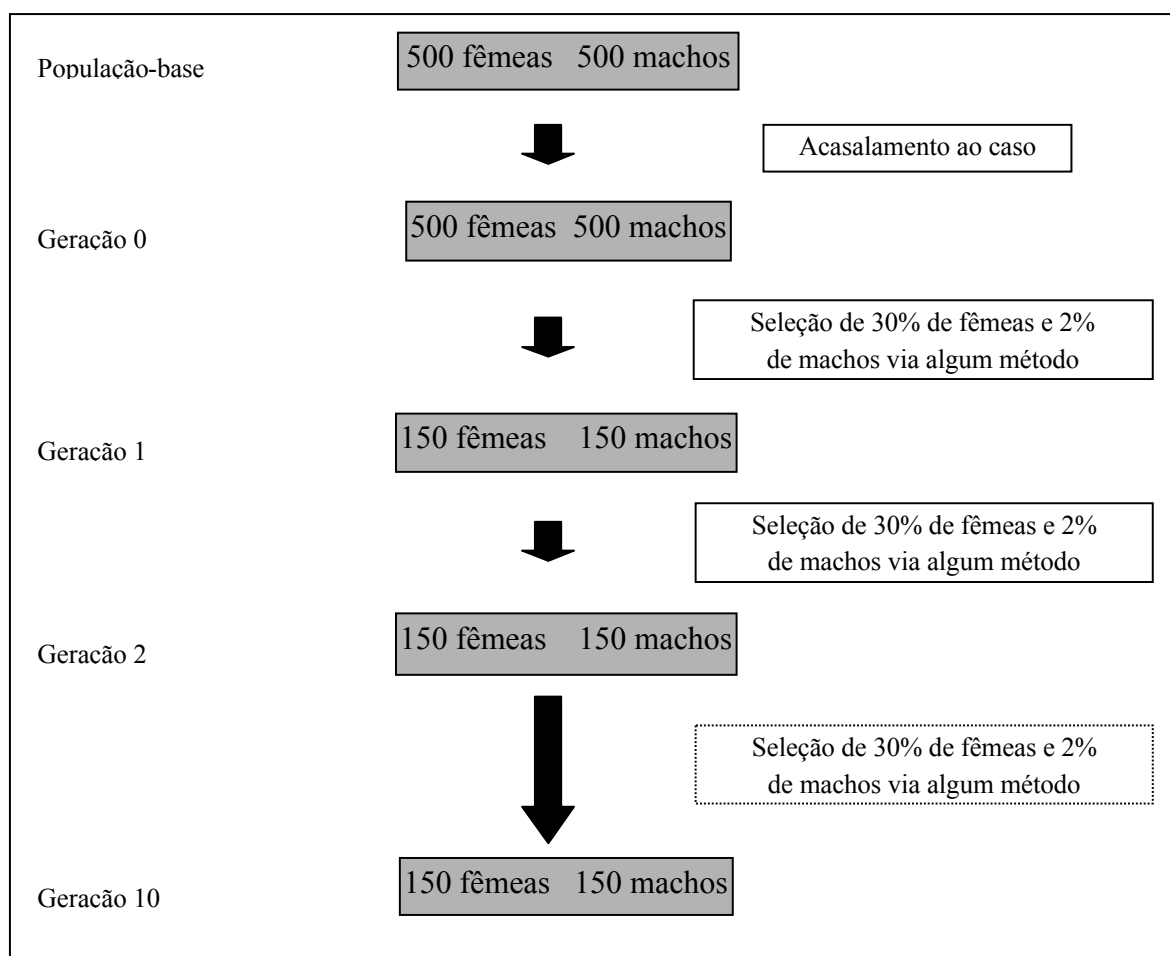


Figura 1. Sequência de procedimentos a ser seguido durante a simulação das populações.

Tabela 1. Combinação dos fatores metodologia e herdabilidade para a formação das populações. O tipo de marcador simulado e utilizado nas avaliações genéticas se encontra entre parênteses, ao lado do código que identifica uma combinação específica dos fatores.

0.1						
AS	EMM	MAS	MPM	MPS	EMMM	MB
P1 (--)	P2 (--)	P3(MST)	P4(MST)	P5(SNP)	P6(SNP)	P7(SNP)
0.5						
AS	EMM	MAS	MPM	MPS	EMMM	MB
P8 (--)	P9 (--)	P10(MST)	P11(MST)	P12(SNP)	P13(SNP)	P14(SNP)

-- = ausência de marcadores; ^{MST} = marcadores microssatélites; ^{SNP} = marcadores SNPs; ^{AS} = Ausência de seleção; ^{EMM} = Equações de Modelos Mistos de Henderson; ^{MAS} = Seleção Assistida por Marcadores; ^{MPM} = Equações de Modelos Mistos com a matriz de parentesco construída utilizando-se a informação de marcadores microssatélites; ^{MPS} = Equações de Modelos Mistos com a matriz de parentesco construída utilizando-se a informação de marcadores SNPs; ^{EMMM} = Equações de Modelos Mistos modificada segundo Meuwissen et al. (2001); ^{MB} = Método B.

6.7 Estudo 5: Seleção genômica para características de carcaça e carne e eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore

Segundo Schaeffer (2006), para características que dependem de um teste de progênie para sua avaliação genética, a aplicação de seleção genômica poderá diminuir consideravelmente os custos de seleção, uma vez que encurtará o intervalo de gerações e incrementará a acurácia de seleção sobretudo a idades jovens. A seleção genômica é realizada com base nos valores genômicos preditos a partir de marcadores de alta densidade espalhados em todo o genoma (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001). Normalmente, para a estimação dos valores genômicos é utilizada uma população de referência na qual os animais possuem registros fenotípicos das características e informações genotípicas (Calus; Veerkamp, 2007). Posteriormente, as estimativas dos efeitos dos marcadores são utilizadas para prever os valores genômicos de animais de outra população (por exemplo, candidatos à seleção) com informação genotípica, mas que não possuem dados fenotípicos (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001). A acurácia de predição dos valores genômicos é condicionada à quantidade de informação fenotípica na população referência, densidade e tipo de marcadores utilizados (SNPs ou haplótipos), herdabilidade da característica e metodologia utilizada para a estimação dos efeitos dos marcadores (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001; Muir, 2007; Solberg et al. 2008; Hassen et al. 2009).

Atualmente, uma série de diferentes metodologias está sendo proposta para estimar os efeitos de cada marcador (QTL) associado a características de importância econômica. O método dos quadrados mínimos foi o primeiro a ser com tal propósito, entretanto, apresenta uma série de limitantes que inviabilizam sua utilização (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001). Para superar estes problemas, várias alternativas estão descritas na literatura tais como, técnicas de “ridge regression” (Whittaker; Thompson; Visscher, 2000), *Best Linear Unbiased Predictor* - BLUP (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001) e inferência Bayesiana utilizando vários tipos de distribuições *a priori* para os efeitos e variâncias dos QTL's (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001; Xu, 2003; Yi; Xu, 2008). Em termos gerais, os modelos hierárquicos ou bayesianos foram os que resultaram em maiores acurácias na estimação dos efeitos dos QTL's. Entretanto, Hayes (2009a) demonstrou que a metodologia e distribuição mais adequada para a estimação dos efeitos dos QTL's é condicionada à característica que está sendo

considerada, uma vez que o número de QTL's assim como a proporção da variância genética que é explicada pelos marcadores varia em função da característica.

Em situações nas quais os SNPs não cobrem completamente o genoma, isto é os SNPs disponíveis não são capazes de explicar todos os QTLs sub-estimando parte de variância, pode existir uma perda na acurácia de seleção (Calus; Veerkamp, 2007). Para incrementar a acurácia de predição dos valores genéticos, Haley e Visscher (1998) sugeriram considerar a informação dos marcadores moleculares em conjunto com a informação dos poligenes, considerando assim aquela fração da variância genética que não é levada em conta pelos marcadores. No mesmo sentido, Calus e Veerkamp (2007) mostraram, a partir de dados simulados, que no caso de características de baixa herdabilidade e com um baixo desequilíbrio de ligação entre os marcadores ($r^2 \sim 0,10$), a acurácia de seleção aumentou quando a informação dos marcadores e dos poligenes foi considerada em conjunto. Entretanto, Legarra et al. (2008), a partir de dados reais e utilizando uma maior quantidade de marcadores do que os autores acima citados, não encontraram vantagem em termos de acurácia em combinar as informações dos poligenes e dos marcadores. Tais resultados indicam que à medida que o número de marcadores aumenta, existe uma maior abrangência do genoma e a vantagem (maior acurácia) de incluir a informação dos poligenes diminui.

Este estudo visa atender aos seguintes objetivos:

- Estudar o efeito de diferentes distribuições *a priori* (BayesA – assumindo distribuição t de Student; BayesB – assumindo ponto de massa em zero, e Lasso Bayesiano – assumindo distribuição exponencial dupla) para os efeitos do QTL sobre as avaliações genéticas a partir de dados genômicos;
- Comparar diferentes modelos para avaliação genética considerando a inclusão ou não da informação dos poligenes e de dados genômicos;
- Avaliar modelos para a predição dos valores genômicos a partir de um painel de SNPs personalizado para a raça Nelore.

6.8.1 Estudar o efeito de diferentes distribuições *a priori* para os efeitos do QTL sobre as avaliações genéticas a partir de dados genômicos

Serão utilizadas as informações fenotípicas das características da carcaça e carne, assim como eficiência alimentar obtidas no estudo 1. Os dados genômicos obtidos no

estudo 3 serão analisados considerando diferentes distribuições *a priori* para os efeitos genéticos e variâncias dos SNPs. Com os resultados desse estudo pretende-se determinar qual a distribuição mais apropriada para se utilizar quando são consideradas informações genômicas nas análises de bovinos, visando a utilização de informações genômicas na predição de valores genéticos para maximizar a acurácia das estimativas.

Além disso, visando personalizar um painel de SNPs para a raça Nelore para cada característica, serão realizadas análises considerando os SNPs identificados a partir da análise multivariada no estudo 3, de forma a reduzir a dimensionalidade da análise e custos de genotipagem considerando apenas os SNPs mais informativos (Long et al. 2007; González-Recio et al. 2008; Sherman; Nkrumah; Moore, 2009). Estes resultados serão comparados com os obtidos considerando todo o painel de SNPs para avaliar a possível perda de informação.

As informações genômicas serão analisadas considerando quatro diferentes metodologias: BLUP (assume distribuição normal com variância única para todos os efeitos), BayesA (assumindo distribuição condicional normal, com uma distribuição qui-quadrado escalonada invertida para as variâncias); BayesB (assumindo ponto de massa em zero) e Lasso Bayesiano (assumindo distribuição exponencial dupla para os efeitos genéticos).

Com a utilização do Método Bayesiano BayesA, os dados são modelados em dois níveis: primeiro em nível dos dados e, segundo em nível das variâncias de cada segmento cromossômico. O modelo utilizado neste método é o mesmo empregado na estimação BLUP, exceto que as variâncias de cada segmento são consideradas diferentes.

A distribuição *a priori* das variâncias dos efeitos genéticos é uma Qui-quadrado invertida, $\chi^{-2}(v, S)$, onde S é o parâmetro de escala e v é o número de graus de liberdade. Segundo Meuwissen, Hayes e Goddard (2001), o valor médio de cada efeito pode ser amostrado de uma distribuição normal:

$$N[\mathbf{1}'_n y - \mathbf{1}'_n Xg; \sigma_e^2 / n],$$

onde X é a matriz para todos os segmentos (ou marcadores), g é o vetor dos efeitos dos segmentos; σ_e^2 é a variância dos resíduos, a qual possui uma distribuição *a priori*

$X^{-2}(-2, 0)$. Finalmente, os efeitos dos segmentos g_{ij} são amostrados a partir de uma distribuição normal.

$$N\left[X'_{ij}y - X'_{ij}Xg_{ij=0} - X'_{ij}1_n\mu; \sigma_e^2 / (X'_{ij}X_{ij} + \lambda_i)\right],$$

onde X'_{ij} é a coluna de X do efeito g_{ij} ; $g_{ij=0}$ é igual a g , exceto que o efeito do g_{ij} é fixado em zero e $\lambda_i = \sigma_e^2 / \sigma_{gi}^2$.

O método bayesiano BayesB utiliza uma distribuição a priori com uma alta densidade, π , quando $\sigma_{gi}^2=0$, assumindo uma distribuição Qui-quadrado invertida para $\sigma_{gi}^2>0$ (Meuwissen; Hayes; Goddard, 2001), isto é, a distribuição *a priori* é:

$$\sigma_{gi}^2=0 \text{ com probabilidade } \pi,$$

$$\sigma_{gi}^2 \sim X^{-2}(v, S) \text{ com probabilidade } (1-\pi),$$

Onde $v=4,234$ e $S=0,0429$ são a média e variância de σ_{gi}^2 uma vez que $\sigma_{gi}^2>0$.

O método Lasso Bayesiano assume uma distribuição a priori exponencial dupla para os efeitos genéticos (Hastie; Tibshirani; Friedman, 2001). Segundo Yi e Xu (2008) este método minimiza a soma de quadrados dos resíduos limitando a soma dos valores absolutos dos coeficientes de regressão, $t \geq \sum |\beta_j|$ para $t \geq 0$, se a resposta e os preditores estão padronizados. Esse tipo especial de restrição permite que alguns coeficientes de regressão sejam exatamente zero. Cabe ressaltar que com a utilização do modelo LASSO o grau de restrição nos coeficientes de regressão (efeitos dos SNP's) é estimado a partir de informações do conjunto de dados, sem necessidade de pré-determinação do grau de restrição nos parâmetros.

6.8.2 Avaliar diferentes modelos para avaliação genética considerando a inclusão ou não da informação dos poligenes e de dados genômicos

Uma vez determinada a melhor distribuição para as variâncias e efeitos dos SNPs, serão considerados diferentes modelos para a predição dos valores genômicos considerando ou não a informação dos poligenes e/ou SNPs.

Modelo 1 - modelo poligênico básico:

Este modelo é comumente aplicado nos programas de avaliação genética para a maioria das características de importância econômica e não leva em consideração a informação dos marcadores. Este modelo pode ser representado em notação matricial da seguinte forma:

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

onde \mathbf{y} é o vetor das observações; \mathbf{b} é o vetor dos efeitos ambientais (incluindo a média); \mathbf{u} é o vetor dos efeitos poligênicos aditivos; \mathbf{X} e \mathbf{Z} são as matrizes de incidência correspondentes. Assume-se que os resíduos são independentes e apresentam uma distribuição, $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_e^2)$. Os efeitos aleatórios \mathbf{u} apresentaram uma distribuição *a priori*, $\mathbf{u} \sim N(0, \mathbf{G}\sigma_e^2)$.

Modelo 2 - modelo com efeitos dos marcadores:

Em um determinado locus existem dois alelos possíveis para SNP (1, 2), e existem 3 possíveis genótipos: “11,” “12,” e “22”. Arbitrariamente será designado com o valor $+1/2 a_j$ para o alelo 1 e o valor de $-1/2 a_j$ para o alelo 2, de acordo com a parametrização clássica na qual a_j é a metade da diferença entre dois homozigotos (Lynch; Walsh, 1998). O modelo a ser utilizado pode ser representado na notação matricial da seguinte forma:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Wa} + \mathbf{e},$$

onde \mathbf{y} é o vetor das observações; \mathbf{b} é o vetor dos efeitos ambientais (incluindo a média); \mathbf{a} é o vetor dos efeitos dos marcadores e, \mathbf{X} e \mathbf{W} são as correspondentes matrizes de incidência. É assumido que os resíduos são independentes e apresentam uma distribuição, $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_e^2)$. Para \mathbf{a} serão testadas diferentes distribuições *a priori* para cada uma das características conforme apresentado no item anterior.

Modelo 3 - modelo com efeitos dos marcadores e o componente poligênico:

Um extensão do modelo anterior incluindo o efeito dos poligenes pode ser representado da seguinte forma:

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

O componente poligênico \mathbf{u} representa aqueles genes que não são considerados nos marcadores, com distribuição como descrita no modelo 1.

6.8.3 Comparar os resultados das avaliações genéticas convencionais com aqueles provenientes das análises genômicas usando simulação e dados reais

Para as características estudadas, as predições dos valores genéticos obtidos no modelo 1, assim como os valores genômicos preditos a partir dos modelos 2 e 3 serão comparados por meio da mudança na classificação dos touros (correlações de Spearman entre os valores genéticos preditos nos diferentes modelos). Os valores genômicos (GEBV), serão preditos a partir dos efeitos dos SNP estimados utilizando a seguinte formula:

$$\text{GEBV} = \sum_i^n W_i \hat{a}_i$$

onde n é o número de segmentos de cromossomos ao longo do genoma, X_i é uma matriz com os alelos de cada animal para cada segmento i , e \hat{g} é o vetor dos efeitos dos SNPs para cada segmento i .

Para a validação dos resultados será utilizada a metodologia de validação cruzada (*cross-validation*). O conjunto de dados disponível será particionado aleatoriamente em um conjunto de estimação (usado para se estimarem os parâmetros do modelo) e um conjunto de validação (usado para testar ou validar o modelo). A recomendação é dividir o conjunto de dados de um quinto a um décimo do total e repetir o processo umas 10 vezes de forma aleatória (Legarra et al. 2008).

Além disto, uma vez que os dados apresentam uma estrutura de famílias de meios irmãos, será realizada validação cruzada entre famílias. Será estimada a

correlação de Pearson entre os valores preditos, na validação, e os observados no conjunto de dados total. A partir desta correlação será obtida a acurácia de predição conforme descrito por Legarra et al. (2008). Estes resultados também serão comparados com os obtidos a partir do painel personalizado obtido no estudo 3.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, M. M. Critérios de seleção e a moderna pecuária bovina de corte Brasileira. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 4, 2002. Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande: SBMA, 2002. CD-ROM. ISSN 978-85-61971-00-7, 2002. CD-ROM.

ANDERSON, L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. **Natural Review Genetics**, v. 2, p.130–138, 2001.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16th edition. Arlington, VA, USA: Association of Analytical Communities, 1995.

ARDLIE, K. G.; KRUGLYAK, L.; SEIELSTAD, M. Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. **Natural Review Genetics**, v.3, p.299–309, 2002.

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

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

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

ARTHUR, P. F.; ARCHER, J. A.; HERD, R. M.; MELVILLE, G. J. Response to selection for net feed intake in beef cattle. In: PROCEEDINGS OF THE ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF ANIMAL BREEDING AND GENETICS, 14., 2001, Queenstown, New Zealand. **Proceedings...** Queenstown: Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics, 2001c. v.14, p.135-138.

ABIEC - Associação Brasileira da Indústria Exportadora de Carne Bovina. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/estatisticas.htm>> Acesso em: 28/07/2008.

- ARCHER, J. A.; ARTHUR, P. F.; HERD, R. M.; RICHARDSON, E. C. Genetic variation in feed efficiency and its component traits. In: WORLD CONGRESS GENETIC APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 6., 1998, Armidale, Australia. **Proceedings...** Armidale, Australia, 1998. v.25, p.81–84.
- BARENDSE, W.; HARRISON, B. E.; BUNCH, R. J.; THOMAS, M. B.; TURNER, L. B. Genome wide signatures of positive selection: The comparison of independent samples and the identification of regions associated to traits. **BMC Genomics**. v.10, p.178, 2009.
- BARENDSE, W.; REVERTER, A.; BUNCH, R. J.; HARRISON, B. E.; BARRIS, W.; THOMAS, M. B. A validated whole-genome association study of efficient food conversion in cattle. **Genetics**, v.176, p.1893-1905, 2007.
- BARENDSE, W. J.; VAIMAN, D.; KEMP, S. J. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. **Mammalian Genome**, v.8, p.29-36, 1997.
- BARRETT, J. C.; FRY, B.; MALLER, J.; DALY, M. J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v.21, n.2, p.263-265, 2005.
- BENNEWITZ, J.; SOLBERG, T.; MEUWISSEN, T. Genomic breeding value estimation using nonparametric additive regression models. **Genetics Selection Evolution**, v. 41:20, 2009.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B**, v.57, n.1, p.289–300, 1995.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification, **Canadian Journal.Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911–917, 1959.
- BOLEMAN, S. L.; BOLEMAN, S. J.; MORGAN, W. W.; HALE, D. S.; GRIFFIN, D. B.; SAVELL, J. W.; AMES, R. P.; SMITH, M. T.; TATUM, J. D.; FIELD, T. G.; SMITH, G. C.; GARDNER, B. A.; MORGAN, J. B.; NORTHCUTT, S. L.; DOLEZAL, H. G.; GILL, D. R.; RAY, F. K. National Beef Quality Audit-1995: survey of producer-related defects and carcass quality and quantity attributes. **Journal Animal Science**, v.76, p.96-103, 1998.

BOSCHINI, R. P.; GARCIA JÚNIOR, J. R. UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise. **Revista de Nutrição**, v.18, p.753-764, 2005.

BOTTJE, W.; TANG, Z. X.; IQBAL, M.; CAWTHON, D.; OKIMOTO, R.; WING, T.; COOPER, M. Association of Mitochondrial Function with Feed Efficiency within a Single Genetic Line of Male Broilers. **Poultry Science**, v.81, p.546-555, 2002.

BRANCO, R. H.; FIGUEIREDO, S. F. M.; RAZOOK, A. G.; CORVINO, T. L. S.; POLIZEL NETO, A.; FIGUEIREDO, L. A. Consumo alimentar residual de machos Nelore selecionados para peso pós-desmame. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.CD-ROM. ISSN 1983-4357, 2009. CD-ROM.

BRANCO, R. H.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A.; LANNA, D. P. D.; TROVO, J. B. F.; BONILHA, S. F. M.; BONILHA NETO, L. M. Avaliação do consumo alimentar residual de fêmeas Nelore submetidas a seleção para peso pós-desmame. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: SBZ, 2008. CD-ROM. ISSN 1983-4357, 2008. CD-ROM.

BRANCO, R. H.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G.; LANNA, D. P. D.; FIGUEIREDO, L. A.; PACKER, I. U.; TROVO, J. B. F.; RUGGIERI, A. C.; BONILHA NETO, L. M.; CALEGARE, L. N. P. Performance, feed efficiency, residual feed intake and carcass characteristics of Nelore heifers selected for growth. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006a, Belo Horizonte. **Procceding...** Belo Horizonte: 8th WCGALP, 2006a. CD-ROM.

BRANCO, R. H.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A.; CYRILLO, J. N. S. G.; LANNA, D. P. D.; TROVO, J. B. F.; PACKER, I. U.; BONILHA NETO, L. M.; CALEGARE, L. N. P. Eficiência e Consumo Alimentar Residual de Fêmeas Nelore Submetidas à Seleção para Peso Pós-Desmame. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006b, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006b. CD-ROM. ISSN 1983-4357, 2007. CD-ROM.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeia Produtiva da Carne Bovina**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007. 86p. (Serie de Agronegocios, v.8).

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**, p.41, p. 893-919, 2001.

BURKETT, K.; MCNENEY, B; GRAHAM, J. A note on inference of trait associations with SNP haplotypes and other attributes in generalized linear models. *Humman Heredity*, v.57: p.200–206, 2004.

BYUN, S. O.; ZHOU, H.; HICKFORD, J. G. H. Haplotypic diversity within the ovine calpastatin (CAST) gene. *Molecular Biotechnology*, v.41, p.133-137, 2009.

CALUS, M. P. L.; ROOS, S. P. W.; VEERKAMP, R. F. Estimating genomic breeding values from the QTL-MAS workshop data using a single SNP and haplotype/IBD approach. **BMC Proceedings**, v.3, S01 - S10, 2009.

CALUS, M. P. L.; VEERKAMP, R. F. Accuracy of breeding value when using and ignoring the polygenic effect in genomic breeding value estimation with a marker density of one SNP per cM. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, p. 362-368, 2007.

CARANI, F. R.; MOREIRA, P. S. A.; CARVALHO, R. F.; PADOVANI, C. R.; CHARDULO, L. A. C.; SILVA, M. D. P. Histochemistry and growth characteristics of bovine *semitendinosus* muscle exposed to recombinant bovine somatotropin (rbST). **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v.23, n.2, p.263-270, 2006.

CARRIJO, S. M.; ALENCAR, M. M.; TORAL, F. L. B.; REGITANO, L. C. A. Association of pit1 genotypes with growth traits in canchim cattle. **Scientia Agricola**, v.65, n.2, p.116-121, 2008.

CASAS, E.; WHITE, S. N.; RILEY, D. G.; SMITH, T. P. L.; BRENNEMAN, R. A.; OLSON, T. A.; JOHNSON, D. D.; COLEMAN, S. W.; BENNETT, G. L.; CHASE, C. C. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass traits in *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v.83, p.13-19, 2005.

CASAS, E.; SHACKELFORD, S. D.; KEELE, J. W.; KOOHMARAIE, M.; SMITH, T. P.; STONE, R. T. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2976-2983, 2003.

CASAS, E.; SHACKELFORD, S. D.; KEELE, J. W.; STONE, R. T.; KAPPES, S. M.; KOOHMARAIE, M. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. **Journal of Animal Science**, v. 78, p.560-569, 2000.

CHARDULO, L. A. L. **Desempenho, níveis plasmáticos de hormônios, expressão e quantificação de proteínas musculares, características de carcaça e qualidade de carne de bovinos inteiros jovens de cinco diferentes grupos genéticos submetidos a confinamento**. 2000. 101 f. Tese – FCAV, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Jaboticabal, 2000.

CHOI, M. H.; KIM, H. D. Synthesis and biological evaluation of 9-[2-fluoro-4-hydroxy-3-hydroxymethyl-2-butenyl]adenine and its related compounds as open-chain analogues of neplanocin A. **Archives of Pharmacal Research**, v.20, n.5, p.501 – 506, 1997.

CHURCHILL, G. A.; DOERGE, R. W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v.138, p.963-971, 1994.

CLAEYS, E.; UYTTERHAEGEN, L.; BUTS, B.; DEMEYER, D. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. **Meat Science**, v.39, n.2, p.177-193, 1995.

CORVA, P.; SORIA, L.; SCHOR, A.; VILLARREAL, E.; CENCI, M. P.; MOTTER, M.; MEZZADRA, C.; MELUCCI, L.; MIQUEL, C.; PAVÁN, E.; DEPETRIS, G.; SANTINI, F.; NAÓN, J. G. Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in Bos taurus beef cattle from Argentina. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, n.4, p.1064-1069, 2007.

COCHRAN, R. C.; ADAMS, D. C.; WALLACE, J. D.; GALYEAN, M. L. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.65, p.1476-1483, 1986.

CUNDIFF, L. V. Breeds and Genetics. In: POND, W. G.; BELL, A. W. (Ed.) Encyclopedia of Animal Science. Ithaca: Cornell, 2004. 800 p.

CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M.; GREGORY, K. E.; CROUSE, J. D.; DIKEMAN, M. E. Characteristics of diverse breeds in cycle IV of the cattle germplasm evaluation. **Beef Research Progress Report**, v.71, p.57-60, 1993.

CYRILLO, J. N. S. G.; ALENCAR, M. M. A.; RAZOOK, A. G.; MERCADANTE, M. E. Z.; FIGUEIREDO, L. A. Modelagem e estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos para pesos do nascimento à seleção (378 dias) de machos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1405-1415, 2004.

DAETWYLER, H. D.; SCHENKEL, F. S.; SARGOLZAEI, M.; ROBINSON, J. A. B. A Genome Scan to Detect Quantitative Trait Loci for Economically Important Traits in Holstein Cattle Using Two Methods and a Dense Single Nucleotide Polymorphism Map. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.3225–3236, 2008.

DEKKERS, J. C. M. Marker-assisted selection for commercial crossbred performance. **Journal of Animal Science**, v.85, n.9, p.2104-2114, 2007.

DEKKERS, J. C. M.; ZHAO, H. H.; FERNANDO, R. L. Linkage disequilibrium mapping of QTL in livestock. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Procceding...** Belo Horizonte: 8th WCGALP, 2006. CD-ROM.

DEKKERS, J. C. M. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. **Journal of Animal Science**, v.82, p.313-328, 2004.

DE ZEN, S.; MENEZES, S. M.; CARVALHO, T. B. Perspectivas de consumo de carne bovina no Brasil. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL - SOBER, 46., 2008, Rio Branco. **Anais...** Brasília: SOBER, 2008. CD-ROM.

DOURDIN, N.; BHATT, A. K.; DUTT, P.; GREER, P. A.; ARTHUR, J. S.; ELCE, J. S.; HUTTENLOCHER, A. Reduced cell migration and disruption of the actin cytoskeleton in calpain-deficient embryonic fibroblasts. **Journal of Biological Chemistry**, v.276, n.51, p.48382-8, 2001.

FAO Food and Agriculture Organization. Food Outlook - Global Market Analysis: **Global information and early warning system on food and agriculture**. Rome: FAO, p.1-98, 2008.

FARIA, C. U.; MAGNABOSCO, C. U.; ALBUQUERQUE, L. G.; REYES, A.; BEZERRA, L. A. F.; LÔBO, R. B. Análise genética para escores de avaliação visual com modelos bayesianos de limiar e linear. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.835-841, 2008.

FERNANDO, R. L.; NETTLETON, D.; SOUTHEY, B. R.; DEKKERS, J. C. M.; ROTHSCCHILD, M. F.; SOLLER, M. Controlling the proportion of false positives in multiple dependent tests. **Genetics**, v.166, p.611–619, 2004.

FERNANDO, R.L.; GROSSMAN, M. Marker assisted selection using best linear unbiased prediction. **Genetics Selection Evolution**, v. 21, p.467-477, 1989.

FERRAZ, J.B.S.; PINTO, L.F.B.; MEIRELLES, F.V.; ELLER, J.P.; REZENDE, F.M.; OLIVEIRA, E.C.M.; ALMEIDA, H.B.; WOODWARD, B.; NKURUMAH, D. Association of single nucleotide polymorphisms with carcass traits in Nelore cattle. **Genetic and Molecular Research**, v.8, p.1360-1366, 2009.

FERRIANI, L. **Estimativas de herdabilidade das características de carcaça e crescimento e de suas correlações genéticas em animais da raça Nelore**. 2006. 42 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – FCAV, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Jaboticabal, 2006.

FISCHER, R. A. The correlation between relatives: the supposition of mendelain inheritance. **Philosophical Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, v.52, p.399-433, 1918.

FOX, D. G.; TEDESCHI, L. O.; TYLUTKI, T. P.; RUSSELL, J. B.; VAN AMBURGH, M. E.; CHASE, L. E.; PELL, A. N.; OVERTON, T. R. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science and Technology**, v.112, p.29–78, 2004.

GONZALES-RECIO, O.; GIANOLA, D.; LONG, N.; WEIGEL, K. A.; ROSA, G. J. M.; AVENDANO, S. Nonparametric methods for incorporating genomic information into genetic evaluations: an application to mortality in broilers. **Genetics**, v.178, p.2305-2313, 2008.

GIBBS, R. A.; TAYLOR, J. F.; VAN TASSELL, C. P. Genome-Wide Survey of SNP Variation Uncovers the Genetic Structure of Cattle Breeds. **Science**, v.324, n.5926, p.528-532, 2009.

HALEY, C. S.; VISSCHER P. M. Strategies to Utilize Marker-Quantitative Trait Loci Associations. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.2, p.85-97, 1998.

HASSEN, A.; AVENDANO, S.; HILL, W. G.; FERNANDO, R. L.; LAMONT, S. J.; DEKKERS, J. C. M. The effect of heritability estimates on high-density single

nucleotide polymorphism analyses with related animals. **Journal of Animal Science**, v.87, p.868-875, 2009.

HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; FRIEDMAN, J. H. **The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction**. New York: Springer- Verlag, 2001.

HAYES, B. J. **Whole Genome Association and Genomic Selection**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2009a, 120p (Course Notes).

HAYES, B. J.; BOWMAN, P. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; GODDARD, M. E. Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.433–443, 2009b.

HAYES, B. J.; LIEN, S.; NILSEN, H.; OLSEN, H. G.; BERG, P.; MACEACHERN, S.; POTTER, S.; MEUWISWSEN, T. E. The origin of selection signatures on bovine chromosome 6. **Animal Genetics**, v.39, p.105-101, 2006.

HENDERSON, C. R. **Applications of linear models in animal breeding**. Guelph: Can. Catal. Publ. Data, University of Guelph, Canada, 1984.

HENDERSON, C. R. Sire evaluation and genetic trends. In: Animal breeding genetics symposium in honor of Dr. J.I. Lush, 1973, Champaign. **Proceedings...** Champaign: ASAS/ADSA, 1973. p.10-41.

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

HILL, W. G. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. **Genetics Research.**, v.38, p.209–216, 1981.

HILL, W. G.; ROBERTSON, A. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v.38, p.226-231, 1968.

HUTTENLOCHER, A.; PALECEK, S. P.; LU, Q.; ZHANG, W.; MELLGREN, R. L.; LAUFFENBURGER, D. A.; GINSBERG, M. H.; HORWITZ, A. F. Regulation of cell migration by the calcium-dependent protease calpain. **Journal of Biological Chemistry**, v.272, p.32719 - 32722, 1997.

JIANG, Z.; KUNEJ, T.; MICHAIL, J. J.; GASKINS, C. T.; REEVES, J. J.; BUSBOOM, J. R.; DOVE, P.; WRIGHT, R. W. Significant associations of the mitochondrial transcription factor A promoter polymorphisms with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. **Biochemical and biophysical research communications**, v.334, p.516-523, 2005.

KALINOWSKI, S. Counting Alleles with Rarefaction: Private Alleles and Hierarchical Sampling Designs. **Conservation Genetics**, v.5, p.539-543, 2004.

KEELE, J. W.; SHACKELFORD, S. D.; KAPPES, S. M.; KOOHMARAIE, M.; STONE, R. T. A region on bovine chromosome 15 influences beef longissimus tenderness in steers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1364–1371, 1999.

KIJAS, J. W.; TOWNLEY, D.; DALRYMPLE, B. P.; HEATON, M. P.; MADDOX, J. F.; MCGRATH, A.; WILSON, P.; INGERSOLL, R. G.; MCCULLOCH, R.; MCWILLIAM, S.; TANG, D.; MCEWAN, J.; COCKETT, N. V.; ODDY, H.; NICHOLAS, F. W.; RAADSMA, H. A. A Genome Wide Survey of SNP Variation Reveals the Genetic Structure of Sheep Breeds. **PLoS ONE**, v.4, n.3, e4668. doi:10.1371/journal.pone.0004668, 2009.

KIM, J. J.; FARNIR, F.; SAVELL, J.; TAYLOR, J. F. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1933–1942, 2003.

KNUTTI, D.; KRALLI, A. PGC-1, a versatile coactivator. **Trends Endocrinol Metab.**, v.12, p.360-365, 2001.

KOCH, R. M.; SWIGER, D.; CHAMBERS, D.; GREGORY, K. E. Efficiency of feed use in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.22, p.486–494, 1963.

KOLATH, W. H.; KERLEY, M. S.; GOLDEN, J. W.; KEISLER, D. H. The relationship between mitochondrial function and residual feed intake in Angus steers. **Journal of Animal Science**, v.84, p.861-865, 2006.

KOLBEHDARI, D.; SCHAEFFER, L. R.; ROBINSON, J. A. B. Estimation of genome wide haplotype effects in half-sibs designs. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, p.356-361, 2006.

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

KOURY FILHO, W. **Análise genética e fenotípica de escores visuais e sua relação com características produtivas e reprodutivas em um rebanho da raça Nelore**. 2005. 80 f. Tese Doutorado - FCAV, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Jaboticabal, 2005.

LANCASTER, P. A.; CARSTENS, G. E.; RIBEIRO, F. R. B.; TEDESCHI, L. O.; CREWS, D. H. Characterization of feed efficiency traits and relationships with feeding behavior and ultrasound carcass traits in growing bulls. **Journal of Animal Science**, v.87, p.1528-1539, 2009.

LAWRENCE, T. L. J.; FOWLER, V. R. **Growth of Farm Animals**. New York, USA: CABI Publishing., 347p., 2002.

LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIÉ, C.; MANFREDI, E.; ELSSEN, J. M. Performance of genomic selection in mice. **Genetics**, v.180, p.611–618, 2008.

LEWONTIN, R. C. The interaction of selection and linkage: General considerations; heterotic models. **Genetics**, v.49, p.49–67, 1964.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **Methods**, v.25, p.402–408, 2001.

LONG, N.; GIANOLA, D.; ROSA, G. J. M.; WEIGEL, K.; AVENDAÑO, S. Machine learning classification procedure for selecting SNPs in genomic selection: application to early mortality in broilers. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, n.6, p.377–389, 2007.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and Analysis of Quantitative Traits**. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc, 1998.

MACEACHERN, S.; HAYES, B.; MC EWAN, J.; GODDARD, M. An examination of positive selection and changing effective population size in Angus and Holstein cattle populations (*Bos taurus*) using a high density SNP genotyping platform and the

contribution of ancient polymorphism to genomic diversity in Domestic cattle. **BMC Genomics**, v.10, 181, p.1-19, 2009.

MACNEIL, M. D.; GROSZ, M. D. Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford \times composite double backcross populations. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2316–2324, 2002.

MACHADO, M.A.; AZEVEDO, A.L.S.; TEODORO, R.L.; PIRES, M.F.A.; PEIXOTO, M.G.; FREITAS, C.; PRATA, M.C.; FURLONG, J.; VINICIUS, M.; SILVA, G.B.; GUIMARAES E.F. ; REGITANO, L.C.A. ; COUTINHO, L.L.; GASPARIN, G.; VERNEQUE, R.S. Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle (Bos taurus x Bos indicus). **BMC Genomics**, v.11, p.280, 2010.

MARIANTE, A. S.; EGITO, A. A.; ALBUQUERQUE, M. A. S.; PAIVA, S. R.; RAMOS, A. F. Managing genetic diversity and society needs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.127-136, 2008.

MARSHALL, D. M. Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2745–2755, 1994.

MCKAY, S. D.; SCHNABEL, R. D.; MURDOCH, B. M.; MATUKUMALLI, L. K.; AERTS, J.; COPPIETERS, W.; CREWS, D.; NETO, E. D.; GILL, C. A.; GAO, C.; MANNEN, H.; WANG, Z.; VAN TASSELL, C. P.; WILLIAMS, J. L.; TAYLOR, J. F.; MOORE, S. S. An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. **BMC Genetics**. v.9, 37, Special section, p.1-9, 2008.

MERK, S.; KLEIN, H.; HAFERLACH, C.; DUGAS, M. Visualization and combined analysis of SNP and gene expression data with Rcnat. Critical Assessment of MicroarrayDataAnalyses. In: http://camda.bioinfo.cipf.es/camda07/agenda/pdfs/submission_19.pdf

MEYER, K. (2006) “WOMBAT” – Digging deep for quantitative genetic analyses by restricted maximum likelihood. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte. **Proceeding...** Belo Horizonte: 8th WCGALP, 2006. CD-ROM.

MEUWISSEN, T. H. E. Genomic selection: marker assisted selection on genome-wide scale. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, p.321-322, 2007.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. **Genetics**, v.157, p.1819-1829, 2001.

MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. **Genetics Selection Evolution**, v.28, p.161-176, 1996.

MOORE, S. S.; MUJIBI F, D.; SHERMAN, E. L. Molecular basis for residual feed intake in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.87, p.41-47, 2009.

MUIR, W. M.; WONG, G. K.; ZHANG, Y.; WANG, J.; GROENEN, M. A. M.; CROOIJMANS, R. P. M. A.; MEGENS, H. J.; ZHANG, H.; OKIMOTO, R.; VEREIJKEN, A.; JUNGERIUS, A.; ALBERS, G. A. A.; LAWLEY, C. T.; DELANY, M. E.; MACEACHERNE, S.; CHENG, H. H. Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, p.17312-17317, 2008.

MUIR, W. M. Comparison of genomic and traditional BLUP – estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.124, p.342-355, 2007.

NKRUMAH, J. D.; OKINE, E. K.; MATHISON, G. W.; SCHMID, K.; LI, C.; BASARAB, J. A.; PRICE, M. A.; WANG, Z.; MOORE S. S. Relationship of residual feed intake with metabolic rate, methane production and energy partitioning in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.84, p.145–153, 2006.

PLATERO, R. V. Situação y perspectivas del Mercado Internacional de la Carne. Congresso Internacional da Pecuária de Corte. Porto Alegre, RS, 20-21 de Novembro de 2008. Disponível em: < <http://www.emater.tcche.br/site/area/seminarios.php> > Acesso em: 31/07/2009.

PICARD, B. Electrophoretic separation of bovine muscle myosin heavy chain isoforms. **Meat Science**, v.53, p.1-7, 1999.

PICARD, B.; GAGNIERE, H.; ROBELIN, J.; PONS, F.; GEAY, Y. Presence of an unidentified myosin isoform in certain bovine foetal muscles. **Meat Science**, v.41, p.315 – 324, 1995.

POLIZEL NETO, A.; BRANCO, R. H.; BONILHA, S. F. M.; CORVINO, T. L. S.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A. Relações do consumo alimentar residual e o comportamento ingestivo de bovinos Nelore selecionados para peso pós desmame. In:

REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009. CD-ROM. ISSN 1983-4357, 2009. CD-ROM.

PRASAD, A.; SCHNABEL, R. D.; MCKAY, S. D.; MURDOCH, B.; STOTHARD, P.; KOLBEHDARI, D.; WANG, Z.; TAYLOR, J. F.; MOORE, S. S. Linkage disequilibrium and signatures of selection on chromosomes 19 and 29 in beef and dairy cattle. **Animal Genetics**, v.39, p.597-605, 2008.

RAZOOK, A. G.; MERCADANTE, M. E. Z. Ganhos de produtividade com o uso de touros provados. In: MOURA, J. C.; FARIA, V. P. **Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte**. Piracicaba: Fealq, 2007. p. 93-114.

ROCHA, J. L.; BAKER, J. F.; WOMACK, J. E.; SANDERS, J. O.; TAYLOR, J. F. Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and quantitative traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3360–3370, 1992.

ROMUALDI, C.; BALDING, D.; NASIDZE, I. S.; RISCH, G.; ROBICHAUX, M.; SHERRY, S. T.; STONEKING, M.; BATZER, M. A.; BARBUJANI, G. Patterns of Human Diversity, within and among Continents, Inferred from biallelic DNA Polymorphisms. **Genome Research**, v.12, p.602-612, 2002.

SAS Institute. SAS/STAT 2002: version 9.0 Cary: SAS Institute Inc., 2002.

SCHAEFFER, L. R. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.123, p.218-223, 2006.

SCHROOTEN, C.; BOVENHUIS, H.; VAN ARENDONK, J. A. M.; BIJMA, P. Genetic Progress in Multistage Dairy Cattle Breeding Schemes Using Genetic Markers. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1569–1581, 2005.

SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M. F.; CROUSE, J. D.; REAGAN, J. O. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal Animal Science**, v.69, p.171, 1991.

SHERMAN, E. L.; NKRUMAH, J. D.; MOORE, S. S. Whole Genome SNP associations with feed intake and feed efficiency in beef cattle. **Journal Animal Science** first published on September 11, 2009 as doi:10.2527/jas.2008-1759.

SHERMAN, E. L.; NKRUMAH, J. D.; MURDOCH, B. M.; MOORE, S. S. Identification of polymorphisms influencing feed intake and efficiency in beef cattle. **Animal Genetics**, v.39, p.225–231, 2008.

SOLBERG, T. R.; SONESSON, A. K.; WOOLLIAMS, J. A.; MEUWISSEN, T. H. E. Genomic selection using different marker types and densities. **Journal Animal Science**, v.86, p.2447-2454, 2008.

SONSTEGARD, T. S.; MA, L.; COLE, J. B.; WIGGANS, G. R.; CROOKER, B. A.; VAN TASSELL, C. P.; MARIANI, B. D. D.; DA, Y. Genome Signature Of Artificial Selection For High Milk Yield in Holstein Cattle. In: PLANT & ANIMAL GENOMES CONFERENCE, 17., 2009. San Diego, CA. **Proceedings...** San Diego: Neuveden, 2009, p474.

STEIBEL, J. P., POLETO, R., COUSSENS, P. M. and ROSA, G. J. M. A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. **Genomics**, 94, 146–152, 2009.

STONE, R. T.; KEELE, J. W.; SHACKELFORD, S. D.; KAPPES, S. M.; KOOHMARAIE, M. A primary screen of the bovine genome for quantitative trait loci affecting carcass and growth traits. **Journal Animal Science**, v.77, p.1379–1384, 1999.

TAMBASCO, D. D.; PAZ, C. C. P.; TAMBASCO-STUDART, M.; PEREIRA, A. P.; ALENCAR, M. M.; FREITAS, A. R.; COUTINHO, L. L.; PACKER, I. U.; REGITANO, L. C. A. Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.120, p.51–56, 2003.

TAIYONG, Y. U.; GUIFEN, L.; LIJIE, Z.; JIANGWEI, W.; HAOWEI, Z.; GONGSHE, Y. Leptin promoters proliferations and inhibits differentiation the porcine skeletal myoblasts. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.72, n.1, pp.13-21, 2008.

THALLER, G.; KÜHN, C.; WINTER, A.; EWALD, G.; BELLMANN, O.; WEGNER, J.; ZÜHLKE, H.; FRIES, R. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Animal Genetics*, v.34, p.354-357, 2003.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Official United States standards for grades of carcasses beef**. Washington, D.C.: Agricultural Marketing Service, 1997.

UNANIAN, M. M.; BARRETO, C. C.; FREITAS, A. R.; CORDEIRO, C. M. T.; JOSAHKIAN, L. A. Associação do polimorfismo do gene do hormônio de crescimento com a característica peso em bovinos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1380–1386, 2000.

VALDAR, W.; SOLBERG, L. C.; GAUGUIER, D.; BURNETT, S.; KLENERMAN, P.; COOKSON, W. O.; TAYLOR, M. S.; RAWLINS, J. N.; MOTT, R.; FLINT, J. Genome-wide genetic association of complex traits in heterogeneous stock mice. **Nature Genetics**, v.38, n.8, p.879-887, 2006.

VANDESOMPELE, J.; DE PRETER, K.; PATTYN, F.; POPPE, B.; ROY, N. V.; DE PAEPE, A.; SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, v.18, 3(7):research0034, 2002.

VAN MELLIS, M. H.; ELER, J. P.; SILVA, J. A. V.; FERRAZ, J. B. S. Estimação de parâmetros genéticos em bovinos de corte utilizando os métodos de máxima verossimilhança restrita e R. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1624-1632, 2003.

VAN TASSELL, C. P.; SMITH, T. P. L.; MATUKUMALLI, L. K.; TAYLOR, J. F.; SCHNABEL, R. D.; LAWLEY, C. T.; HAUDENSCHILD, C. D.; MOORE, S. S.; WARREN, W. C.; SONSTEGARD, T. S. SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. **Nature Methods**, v.5, p.247-252, 2008.

VAZQUEZ, A. I., BATES, D. M., ROSA, G. J. M., GIANOLA, D. and WEIGE, K. A. Technical Note: An R package for fitting generalized linear mixed models in animal breeding. **Journal of Animal Science**. Published on line Oct 9 2009. In: <http://jas.fass.org/cgi/content/abstract/jas.2009-1952v1>.

WELLER, J. I.; SONG, J. Z.; HEYEN, D. W.; LEWIN, H. A.; RON, M. A new approach to the problem of multiple comparisons in the genetic dissection of complex traits. **Genetics**, v.150, p.1699-1706, 1998.

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.

WHITTAKER, J. C.; THOMPSON, R.; VISSCHER, P. M. Marker-assisted selection using ridge regression. **Genetics Research**, v.75, p.249-252, 2000.

XU, S. Estimating polygenic effects using markers of the entire genome. **Genetics**, v.163, p.789–801, 2003.

YI, N.; XU, S. Bayesian LASSO for Quantitative Trait Loci Mapping. **Genetics**, v.179, p.1045-1055, 2008.

YOKOO, M. J. I.; WERNECK, J. N.; PEREIRA, M. C.; ALBUQUERQUE, L. G.; KOURY FILHO, W.; SAINZ, R. D.; LÔBO, R. B.; ARAUJO, F. R. C. Correlações genéticas entre escores visuais e características de carcaça medidas por ultrassom em bovinos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.197-202, 2009.

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

YUAN, J. S.; REED, A.; CHEN, F.; STEWART JR, C. N. Statistical analysis of real-time PCR data. **BMC Bioinformatics**, v.7:85, 2006.

ZENGER, K. R.; KHATKAR, M. S.; CAVANAGH, J. A. L.; HAWKEN, R. J.; RAADSMA, H. W. Genome-wide genetic diversity of Holstein Friesian cattle reveals new insights into Australian and global population variability, including impact of selection. **Animal Genetics**, v.38, p.7-14, 2006.

8. APRESENTAÇÃO DOS MEMBROS DA EQUIPE E PROGRAMA DE ATIVIDADES

1. Pesquisador Responsável

Dra. Lucia Galvão de Albuquerque. - Professora Adjunto do Departamento de Genética e Melhoramento Animal, FCAV, Unesp – Jaboticabal

Coordenação geral do projeto, tomada de decisões referentes à aplicação de recursos financeiros, organização dos trabalhos da equipe envolvida no projeto, planejamento de execução dos trabalhos, responsabilidade pelo processo seletivo de pessoal a ser agregado ao projeto, confecção de relatórios e artigos científicos e de prestação de contas e co-responsabilidade na execução de todas as pesquisas propostas.

2. Pesquisadores Principais

Dr. Henrique Nunes de Oliveira - Professor Adjunto do Departamento de Genética e Melhoramento Animal, FCAV, Unesp – Jaboticabal

Coordenação da execução das atividades e co-responsabilidade na execução e confecção dos relatórios e artigos científicos dos trabalhos nas áreas de genética quantitativa e genômica.

Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante – Pesquisador – Instituto de Zootecnia – Sertãozinho

Coordenação da execução das atividades e co-responsabilidade na execução e confecção dos relatórios e artigos científicos dos trabalhos nas áreas de genética quantitativa e genômica.

3. Pesquisadores Associados

3.1. Pesquisadores da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal

Departamento de Genética e Melhoramento Animal

Dr. Humberto Tonhati - Professor Adjunto Doutor

Contribuirá de forma geral no desenvolvimento dos trabalhos, com participação na discussão dos dados e confecção de artigos e relatórios.

Dr. Fernando Sebastián Baldi Rey, – Pós-doutorando

Atuará na execução dos trabalhos na área de genética quantitativa e genômica, auxiliando na coleta de dados, análises estatísticas, confecção de artigos e relatórios científicos.

Dr. Fabio Pablos de Souza - Pós-doutorando

Atuará na execução das análises laboratoriais na área de genética molecular e genômica funcional, bem como na confecção de artigos e relatórios científicos nesta área.

Departamento de Tecnologia

Dr. Jesus Aparecido Ferro

Responsável pelas análises laboratoriais na área de genética molecular e genômica funcional, bem como na confecção de artigos e relatórios científicos nesta área.

3.2. Pesquisadores do Instituto de Biociências da Unesp – Botucatu

Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências

Dr. Luiz Artur Loyola Chardulo - Professor Assistente Doutor

Responsável pelas análises físico-químicas da carne, participação em trabalhos de genômica funcional e qualidade de carne e carcaça, colaboração na confecção de artigos e relatórios científicos.

3.3. Pesquisadores da Faculdade de Zootecnia, Unesp - Dracena

Dr. Ricardo da Fonseca - Professor Assistente Doutor

Responsável pelo desenvolvimento de softwares e métodos para análise de dados e seleção genômica, colaboração na confecção de artigos e relatórios científicos.

3.4. Pesquisadores do Instituto de Zootecnia, Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Centro de Pesquisa em Pecuária de Corte.

Dra. Renata Helena Branco – Pesquisador Científico III

Co-responsável pelos experimentos de eficiência alimentar, atuando na coleta de dados, análises bromatológicas da dieta, colaboração na confecção de artigos e relatórios científicos.

Dra. Sarah Figueiredo Martins Bonilha – Pesquisador Científico II

Co-responsável pelos experimentos de eficiência alimentar, atuando na coleta de dados, análises bromatológicas da dieta, colaboração na confecção de artigos e relatórios científicos.

Dra. Joslaine Noely dos S. Gonçalves Cyrillo – Pesquisador Científico V

Condução do experimento de seleção do Instituto de Zootecnia, participação em coleta de dados, análises estatísticas e colaboração na confecção de artigos e relatórios científicos.

3.5 Pesquisador da Universidade de Wisconsin – Madison, USA

Department of Dairy Science

Dr. Guilherme Jordão de Magalhães Rosa

Auxiliará na discussão dos trabalhos, desenvolvimento de métodos estatísticos de maneira geral além de colaborar na confecção de artigos e relatórios científicos. Este pesquisador deverá atuar, mais especificamente, no desenvolvimento e comparação de modelos de avaliação genética utilizando dados genômicos (Estudo 5). Além disto, deverá receber os pesquisadores e estudantes para realização de treinamentos na área do projeto.

3.6 Pesquisador da Faculdade de Odontologia, UNESP – Araçatuba

Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular Animal

Dr. José Fernando Garcia

Será co-responsável pelas análises laboratoriais na área de genética molecular e genômica funcional, bem como na confecção de artigos e relatórios científicos nesta área.

3.7 Pesquisador da EMBRAPA Pecuária Sul – Bagé

Dr. Fernando Flores Cardoso

Deverá contribuir com discussões dos trabalhos em geral, principalmente na parte de validação dos resultados. Será o pesquisador de contato com os projetos desenvolvidos pela EMBRAPA, uma vez que o mesmo, juntamente com o Prof. Henrique Nunes de Oliveira, participa das duas equipes. Além disto, deverá receber estudantes para realização de treinamentos na área do projeto.

3.8 Pesquisador da University of Guelph, - Guelph, Canada

Department of Animal and Poultry Science

Dr. Flavio S. Schenkel

Este pesquisador tem grande experiência no desenvolvimento de metodologias estatísticas aplicadas ao melhoramento animal e, ultimamente, tem atuado na avaliação genética de bovinos leiteiros no Canadá, utilizando dados genômicos. Os métodos de seleção genômica que vêm sendo utilizados foram e estão sendo desenvolvidos primeiramente em gado de leite. Além disto, o referido pesquisador tem um conhecimento profundo do nosso sistema de produção de gado de corte, tendo trabalho por vários anos em assessoria de programas de melhoramento no Brasil.

3.9 Alunos Regulares de Pós-graduação e Graduação Envolvidos no Projeto

MSc. Arione Augusti Boligon: Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal/ Departamento de Genética e Melhoramento Animal.

Daniel Mansan Gordo: Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal/ Departamento de Genética e Melhoramento Animal.

Eduardo Paulino Castan: Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal/ Departamento de Genética e Melhoramento Animal.

Tiago Roque Pinheiro: Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal Sustentável – Instituto de Zootecnia.

Ana Cecília Del Claro: Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal Sustentável – Instituto de Zootecnia.

Elaine Magnani: Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal Sustentável – Instituto de Zootecnia

Juliana Giusti: Aluna de graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/ UNESP – Campus de Botucatu.

Inaê Cristina Regatieri: Aluna de graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal

Rafael Espigolan: Aluno de graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal.

Adam Taiti Harth Utsunomyia: Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Campus de Jaboticabal/ Departamento de Genética e Melhoramento Animal.

Michel Marques Farah: Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

Vitor Verniz: Aluno de graduação do curso de Zootecnia – UNESP – Campus de Dracena.

Nátali Isabela Pierin Picollo: Aluna de graduação do curso de Zootecnia – UNESP – Campus de Dracena.

Estes deverão participar das várias etapas do projeto, desenvolvendo pesquisas específicas que serão parte de seus trabalhos de conclusão da graduação ou dissertações e teses.

3.10 Consultor

Dr. Ben Hayes, – Animal Genetics and Genomics, Department of Primary Industries Research Victoria Attwood, Melbourne, Australia.

Este pesquisador é altamente reconhecido na área e participa da equipe que iniciou os trabalhos com seleção genômica, publicando diversos trabalhos científicos importantes nesta área. Irá contribuir no planejamento e análises estatísticas dos trabalhos. Além disto, irá oferecer cursos e receber pesquisadores e alunos para treinamentos específicos.

3.11 Apoio técnico

Zoot. Daniel Biluca - Gerente executivo da Conexão Delta G Norte. Fornecerá apoio nas atividades de coordenação e logística para a colheita dos dados (abate) nas fazendas, bem como nas outras atividades do projeto vinculadas à Conexão Delta G.

MSc. Lucas Ferriani - Coordenador e técnico de compra - frigorífico Bertin. – Lins. Fornecerá apoio nas atividades de coordenação e logística para a colheita e entrega das peças de carne.