

LUCIANO SILVA SENA

**ESTUDO GENÔMICO APLICADO AO MELHORAMENTO GENÉTICO DE OVINOS
SANTA INÊS PARA CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA**

TERESINA-PI

2019

LUCIANO SILVA SENA

**ESTUDO GENÔMICO APLICADO AO MELHORAMENTO GENÉTICO DE OVINOS
SANTA INÊS PARA CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal da Universidade Federal do
Piauí como requisito para obtenção do título de
Doutor em Ciência Animal
Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Brito

TERESINA-PI

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processos Técnicos

S474e Sena, Luciano Silva.
Estudo genômico aplicado ao melhoramento genético de ovinos Santa Inês para características de carcaça / Luciano Silva Sena. -- 2019.
125 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Pós-Graduação em Ciência Animal, Teresina, 2019.

“Orientador: Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento.”

“Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Brito.”

1. Ovinocultura - Avaliação genética. 2. *Longissimus dorsi*. 3. *single-step* GBLUP. 4. *single-step* GWAS. I. Sarmiento, José Lindenberg Rocha. II. Brito, Luiz Fernando. III. Título.

CDD 636.3

**ESTUDO GENÔMICO APLICADO AO MELHORAMENTO GENÉTICO DE
OVINOS SANTA INÊS PARA CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA**

LUCIANO SILVA SENA

Tese aprovada em: 12/03/2019

Banca Examinadora:



Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento (Presidente) / DZO/CCA/UFPI




Prof. Dr. Fábio Barros Britto (Interno) / CCN/UFPI



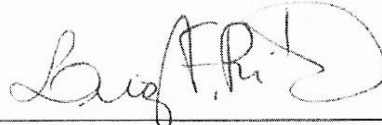
Prof. Dr. José Elivalto Guimarães Campelo / DZO/CCA/UFPI



Prof. Dr. Luiz Antonio Silva Figueiredo Filho (Externo) / IFMA



Prof. Dr. Natanael Pereira da Silva Santos (Interno) / CPCE/UFPI



Prof. Dr. Luiz Brito (Externo) / PURDUE UNIVERSITY

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA/UFPI), pela oportunidade de realizar o curso, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo. No âmbito do PPGCA, agradeço mais especificamente ao professor José Lindenberg Rocha Sarmento, pelo incentivo, orientação e amizade.

Agradeço ao professor Antônio de Sousa Júnior, pelas contribuições para este trabalho e intermédio com ovinocultores dos estados do Piauí e Maranhão, aos quais também sou grato pela contribuição para a obtenção dos dados fenotípicos utilizados neste trabalho.

Meu muito obrigado às instituições de pesquisa e órgãos financiadores (CNPq, UFPI, INCT-CA e FAPEMA) que possibilitaram a aquisição dos dados moleculares e materiais para a concretização da proposta sugerida para este trabalho.

A cada um dos (ex) integrantes do Grupo de Estudos em Genética e Melhoramento Animal (GEMA – UFPI), manifesto minha mais sincera gratidão pelas contribuições dadas para o êxito deste trabalho.

Agradeço pelo apoio do professor Luiz Fernando Brito, por suas valiosas contribuições na co-orientação do presente trabalho e pelo incentivo durante o curso.

Agradeço aos professores Fabio Barros Britto, José Elivalto Guimarães Campelo, Natanael Pereira da Silva Santos e Luiz Antônio Silva Figueiredo Filho, por disponibilizarem sua presença na banca examinadora da defesa de tese, assim como por suas valiosas colaborações ao longo da vida acadêmica.

Agradeço bastante ao apoio de **minha família e amigos**, os quais foram essenciais durante a caminhada e **aos quais dedico esta conquista**.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a concretização desta tese. Saibam que tiveram/têm sua importância e que o reconhecimento da minha parte está além das palavras escritas aqui.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS!

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS OU SÍMBOLOS	viii
RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Importância e principais desafios da ovinocultura de corte.....	13
2.2 Melhoramento genético de características de carcaça em ovinos.....	15
2.3 Principais aplicações da genômica na produção animal	17
2.4 Principais metodologias para análises de dados genômicos	21
3. REFERÊNCIAS.....	25
CAPÍTULO I - Avaliação genética de ovinos adaptados ao clima tropical para características de carcaça com inclusão de informação genômica	34
1. Introdução	38
2. Material e métodos.....	39
3. Resultados	45
4. Discussão	49
5. Conclusão.....	56
Referências.....	56
CAPÍTULO II - Estudo de associação genômica ampla para características de carcaça em ovinos criados em clima tropical	61
1. Introdução	64
2. Material e métodos.....	65
3. Resultados.....	73
4. Discussão	76
5. Conclusões	86
Referências.....	86
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
ANEXOS	112

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPITULO I

- Figura 1. Valores genéticos obtidos com BLUP tradicional (eixo x) e *single-step* GBLUP (eixo y), e correlação de ordem de Spearman (r) para área de olho (AOL), escore de marmoreio de olho de lombo (MOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e circunferência da perna (PER) mensuradas *in vivo* em ovinos da raça Santa Inês..... 48

CAPITULO II

- Figura 1. Dois primeiros componentes principais (PC1: eixo x = 3,85%; PC2: eixo y = 3,35%) da matriz de parentesco genômico para os animais genotipados..... 95
- Figura 2. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) no maior (OAR1) e no menor (OAR24) cromossomos autossômicos..... 95
- Figura 3. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para área de olho de lombo (AOL) obtida por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês..... 96
- Figura 4. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para marmoreio de olho de lombo (MOL) obtido por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês..... 96
- Figura 5. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para espessura de gordura subcutânea (EGS) obtida por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês..... 97
- Figura 6. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para circunferência da perna (PER) em ovinos Santa Inês..... 97

ANEXOS

- Figura suplementar S1. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) em diferentes cromossomos autossômicos (OAR2 a OAR7)..... 118
- Figura suplementar S2. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) em diferentes cromossomos autossômicos (OAR8 a OAR13)..... 119
- Figura suplementar S3. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) em diferentes cromossomos autossômicos (OAR14 a OAR19)..... 120
- Figura suplementar S4. Distribuição de estimativas de r^2 em função da distância entre pares de SNPs (Mpb) em diferentes cromossomos (OAR20, OAR21, OAR22, OAR23, OAR25 e OAR26)..... 121

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1. Estatística descritiva para características de carcaça mensuradas <i>in vivo</i> em ovinos Santa Inês.....	45
Tabela 2. Estimativas de componentes de variância e herdabilidade para características de carcaça em ovinos Santa Inês com uso de diferentes matrizes de parentesco.....	46
Tabela 3. Estimativas de correlação genética entre características de carcaça mensuradas <i>in vivo</i> em ovinos Santa Inês com uso de diferentes matrizes de parentesco.....	47
Tabela 4. Estimativas de acurácia média para valores genéticos de ovinos Santa Inês avaliados para características de carcaça com uso de diferentes matrizes de parentesco.....	47

CAPÍTULO II

Tabela 1. Estatística descritiva e estimativas de parâmetros genéticos para características de carcaça mensuradas <i>in vivo</i> em ovinos Santa Inês.....	98
Tabela 2. Análises descritivas de desequilíbrio de ligação (LD, r^2) entre pares de SNPs por cromossomo autossômico da espécie <i>Ovis aries</i> (OAR).....	99
Tabela 3. Regiões genômicas associadas à área de olho de lombo mensurada por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.....	101
Tabela 4. Regiões genômicas associadas a marmoreio de olho de lombo mensurado por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.....	103
Tabela 5. Regiões genômicas associadas à espessura de gordura subcutânea mensurada por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.....	105
Tabela 6. Regiões genômicas associadas à circunferência da perna mensurada <i>in vivo</i> em ovinos Santa Inês.....	106
Tabela 7. Termos de ontologia gênica (GO) para processos biológicos significativamente ($P < 0,01$) relacionados às características em estudo....	107
Tabela 8. Análise de anotação de termos de ontologia gênica (GO) enriquecida ($P < 0,01$) a partir do conjunto de genes identificados previamente.....	108
Tabela 9. Vias KEGG significativamente enriquecidas ($P < 0,05$) para as características em estudo a partir da plataforma DAVID.....	109
Tabela 10. Principais vias KEGG significativamente enriquecidas ($P < 0,05$) a partir do conjunto de genes previamente identificado.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS OU SÍMBOLOS

AOL	Área de Olho de Lombo
ARCO	Associação Brasileira de Criadores de Ovinos
cm²	Centímetro quadrado
EGS	Espessura de Gordura Subcutânea
BLUP	<i>Best Linear Unbiased Predictor</i> (Melhor Preditor Linear Não Viesado)
°C	Escala de temperatura Celcius (Grau Celsius)
DAVID	<i>Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery</i> (Base de dados para Anotação, Visualização e Descoberta Integrada)
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
DP	Desvio Padrão
DPP	Desvio Padrão <i>a posteriori</i>
EBV	<i>Estimated Breeding Value</i> (Valor Genético Estimado)
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i> (Ácido Etilenodiaminotetracético)
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FDR	<i>False Discovery Rate</i> (Taxa de Falsa Descoberta)
GBLUP	<i>Genomic BLUP</i> (BLUP Genômico)
GEBV	<i>Genomic Estimated Breeding Value</i> (Valor Genético Genômico Estimado)
GWAS	<i>Genome-Wide Association Studies</i> (Estudos de Associação Genômica Ampla)
h²	Estimativa de herdabilidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kb	Kilobases (mil pares de base)
LASSO	<i>Least Absolute Shrinkage and Selection Operator</i> (Operador de Encolhimento Menos Absoluto e Seleção)
LD	<i>Linkage Disequilibrium</i> (Desequilíbrio de Ligação)
MAF	<i>Minor Allele Frequency</i> (frequência do alelo menos frequente)
MLM	Modelos Lineares Mistos
Mpb/Mb	Mega pares de base (um milhão de pares de base)
MHz	Megahertz
mm	Milímetro

NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i> (Centro Nacional de Informação Biotecnológica)
MOL	Marmoreio de Olho de Lombo
OAR	Símbolo que indica cromossomo da espécie ovina (<i>Ovis aries</i>)
pb	Pares de base
PER	Circunferência/Perímetro da Perna
QTL	<i>Quantitative Trait Loci</i> (<i>Loci</i> de Características Quantitativas)
r²	Estimativa de desequilíbrio de ligação
REML	<i>Restricted Maximum Likelihood</i> (Máxima Verossimilhança Restrita)
RRBLUP	<i>Random Regression using BLUP</i> (Regressão Aleatória via BLUP)
SheepQTLdb	<i>Sheep Quantitative Trait Locus (QTL) Database</i> (Base de Dados de Locus de Característica Quantitativa de Ovinos)
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)
ssGBLUP	<i>Single-step Genomic BLUP</i> (BLUP Genômico em Passo Único)
ssGWAS	<i>Single-step Genome Wide Association Studies</i> (Estudos de Associação Genômica Ampla em Passo Único)
StepLMM	<i>Stepwise Linear Regression Mixed Model</i> (Modelo Misto de Regressão Linear Passo a Passo)
UTR	Ultrassom em Tempo Real

RESUMO

SENA, Luciano Silva. **Estudo genômico aplicado ao melhoramento genético de ovinos Santa Inês para características de carcaça**. 2019. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2019.

A avaliação de carcaça *in vivo* aliada a utilização de dados genômicos podem favorecer a resposta à seleção e permitir a identificação de variantes causais associadas a características de importância econômica, em ovinos. Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da utilização de diferentes matrizes de parentesco (**A** e **H**) sobre a estimação de parâmetros genéticos e acurácia de valores genéticos (genômicos) preditos ((G)EBVs) para características de carcaça e qualidade de carne mensuradas *in vivo* em ovinos Santa Inês, assim como identificar regiões genômicas e vias metabólicas associadas às características em estudo. Foram utilizadas informações de área de olho de lombo (AOL, n = 977), marmoreio do olho de lombo (MOL, n = 890), espessura de gordura subcutânea (EGS, n = 894) e circunferência da perna (PER, n = 882), juntamente com dados de pedigree de 1.637 indivíduos. Destes, 389 indivíduos foram genotipados com o painel Ovine SNP50 BeadChip. No Capítulo 1, foram estimados parâmetros genéticos e acurácia de (G)EBVs para as características em estudo, com uso das matrizes de parentesco **A** e **H**, por meio dos métodos BLUP e ssGBLUP, em análises uni e multicaracterísticas. As maiores estimativas de herdabilidade foram obtidas quando foi utilizada informação genômica. As correlações genéticas entre as características avaliadas foram todas positivas e variaram de baixa a alta magnitude. As maiores acurácias foram obtidas com uso do método ssGBLUP. No capítulo 2, foi utilizada a metodologia ssGWAS para identificar regiões cromossômicas associadas às características em estudo. Foram identificadas 18, 22, 20 e 16 janelas de 10 SNPs adjacentes que explicaram pelo menos 1,00% da variância genética aditiva para AOL, MOL, EGS e PER, respectivamente. Nessas regiões foram encontrados genes conhecidamente associados ao desenvolvimento muscular e deposição de gordura, assim como genes com funções ainda desconhecidas. Os resultados indicaram que a inclusão de informações genômicas será favorável para a avaliação genética de ovinos Santa Inês para características de carcaça e qualidade de carne mensuradas *in vivo*. As regiões genômicas identificadas poderão auxiliar no entendimento da arquitetura genética das características em estudo e contribuir para a seleção de ovinos Santa Inês com maior rendimento de carcaça e melhor qualidade de carne.

Palavras-chave: avaliação genética; *Longissimus dorsi*; ovinocultura; *single-step* GBLUP; *single-step* GWAS

ABSTRACT

SENA, Luciano Silva. **Genomic study applied to genetic improvement of Santa Inês sheep for carcass traits.** 2019. Thesis (Doctor of Philosophy in Animal Science) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2019.

Carcass evaluation in live animals along with the use of genomic information can increase response to selection and allow the identification of causal variants for economically important traits in sheep. In this study we aimed to evaluate the effect of using different relationship matrices (**A** and **H**) on the estimation of genetic parameters and accuracy of (genomic) breeding values ((G)EBVs) for carcass and meat quality traits measured *in vivo* in Santa Inês sheep, as well as to identify genomic regions and metabolic pathways associated with the traits in study. Information of loin eye area (LEA, n = 977), marbling score of loin eye (MLE, n = 890), subcutaneous fat thickness (SFT, n = 894), and leg circumference (LEC, n = 882) were used. There were 1,637 animals in the numerator relationship matrix, of which 389 were genotyped with the OvineSNP50 BeadChip (Illumina, Inc.). In Chapter 1, genetic parameters and accuracy of (G)EBVs were estimated using the relationship matrices **A** and **H**, with BLUP and single-step genomic BLUP (ssGBLUP) procedures, in single- and multi-trait analyses. The highest heritability estimates were obtained using genomic information in all the scenarios. The genetic correlations among the evaluated traits were positive and ranged from low to high magnitude. For all traits and scenarios, the highest accuracy estimates were achieved when using ssGBLUP. In chapter 2, the single-step GWAS methodology (ssGWAS) was used to identify genomic regions associated with the traits in study. A total of 18, 22, 20 and 16 windows of 10 adjacent SNPs explaining a minimum of 1.0% of the additive genetic variance for LEA, MLE, SFT and LEC, respectively, were identified. Some genes previously described as associated to muscle development and fat deposition, as well as other genes with unknown function were found in these regions. The results indicated that the use of genomic information will favor the genetic evaluation of Santa Inês sheep for carcass and meat quality traits measured *in vivo*. The genomic regions found in this study harbor genes that may help to understand the genetic architecture of the evaluated traits. This could help in the selection process of Santa Inês sheep for improved carcass traits, thus providing consumers with better meat products.

Keywords: genetic evaluation; *Longissimus dorsi*; sheep farming; single-step GBLUP; single-step GWAS

1 INTRODUÇÃO GERAL

A raça Santa Inês apresenta atributos de destaque para produção de carne, no entanto, variáveis como rendimento de carcaça e cortes nobres não têm sido usados como critérios de seleção, devido à dificuldade de mensuração, principalmente em larga escala (MEIRA et al., 2019). Para melhorar a qualidade de carcaça e o rendimento de cortes nobres é importante a utilização de ferramentas que possibilitem avaliar estes critérios sem a necessidade de abate dos animais, para possibilitar a utilização destas informações no processo seletivo de animais geneticamente superiores.

A tecnologia de ultrassonografia em tempo real representa uma ferramenta eficiente para avaliar a composição de carcaça, com potencial para coletar no animal vivo medidas altamente correlacionadas com os valores obtidos diretamente na carcaça (EMENHEISER et al., 2010). O perímetro (circunferência) da perna é outra medida que também tem sido utilizada como indicativo de rendimento de carcaça, pois a perna é uma região considerada como corte nobre em ovinos (JAFARI; HASHEMI, 2014; ARAÚJO et al., 2015; BAKHSHALIZADEH et al., 2016). Devido à importância da composição da carcaça para a ovinocultura de corte, a coleta eficiente de fenótipos representativos, aliada ao emprego de métodos que utilizam informação genômica, pode contribuir positivamente no processo de seleção e acelerar mudanças na quantidade e qualidade de carne produzida ao longo das gerações.

Dados fenotípicos de carcaça podem ser associados com dados genômicos obtidos diretamente de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) identificados com a aplicação de estudos de associação genômica ampla (GWAS), de modo a permitirem a identificação de genes ou QTL (*loci* de características quantitativas) associados ao desenvolvimento de carcaça. Aliado a isso, a aplicação da seleção genômica ampla auxiliará na seleção de animais geneticamente superiores pela predição de seu mérito genético genômico (GEBV).

Comparada ao melhoramento genético tradicional, a inclusão de informação genômica aumenta consideravelmente a resposta à seleção, pois permite a seleção de animais jovens, ou que ainda não dispõem de informações fenotípicas (RUPP et al., 2016). Além disso, o uso de informação genômica possibilita a redução de custos de um programa de melhoramento genético, devido ao aumento da acurácia e diminuição de intervalo de geração (SCHAEFFER, 2006).

Ainda são escassos os trabalhos que incluem informação genômica na avaliação genética de ovinos para características de carcaça, principalmente em relação à raça Santa Inês. Portanto, com esta pesquisa objetivou-se avaliar o efeito da utilização de diferentes matrizes de parentesco (**A** e **H**) sobre a estimação de parâmetros genéticos e acurácia de valores genéticos preditos para características de carcaça e qualidade de carne mensuradas *in vivo* em ovinos da raça Santa Inês, assim como identificar regiões genômicas e vias metabólicas associadas às características em estudo.

A Tese está estruturada com base nas normas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPI estabelecidas na Resolução 001/03-CCMCA. A estrutura é apresentada da seguinte forma: Parte introdutória, constituída pela Introdução geral e Revisão de Literatura, em que consta a descrição da proposta geral do trabalho e tópicos de grande relevância pertinentes ao tema da pesquisa; Capítulo I, referente ao artigo “Avaliação genética de ovinos adaptados ao clima tropical para características de carcaça com inclusão de informação genômica”, elaborado com base nas normas da revista *Small Ruminant Research* (ISSN 0921-4488); e Capítulo II, constituído pelo artigo “Estudo de associação genômica ampla para características de carcaça em ovinos criados em clima tropical”, elaborado com base nas normas da revista *Livestock Science* (ISSN 1871-1413). Ao final, são apresentadas as Considerações Finais, em que são mostrados os principais aspectos inerentes à aplicação e relevância desta pesquisa, assim como sugestões para sua continuação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância e principais desafios da ovinocultura de corte

A produção mundial de carnes resultou em aproximadamente 336,4 milhões de toneladas em 2018, das quais 15,25 milhões foram correspondentes à carne ovina (FAO, 2019). Neste contexto, a produção de carne ovina no Brasil aumentou 2,1% em 2017, em relação a 2016. De acordo com o IBGE (2017, 2018), o contingente de ovinos criados no Brasil é de quase 18 milhões, dos quais aproximadamente 64,0% são destinados à produção de carne na região Nordeste, onde houve aumento de 15,94% no rebanho ovino, entre 2006 e 2017.

Apesar dos números expressivos na produção de ovinos de corte, estimativas da OECD/FAO (2018) indicam que o consumo *per capita* de carne ovina no Brasil nos últimos anos correspondeu em média a aproximadamente 0,6 kg/pessoa/ano. Este valor é

irrisório, se comparado ao consumo *per capita* anual estimado para as carnes de aves (43,9 kg), bovina (37,1 kg) e suína (14,8 kg), de acordo com os dados da OECD/FAO (2018). Esta disparidade é resultado do empenho observado nas últimas décadas nestas cadeias produtivas mais eficientes, por meio da estruturação, tecnificação e ampliação de suas receitas (ALVES et al., 2014).

No Brasil, a produção de ovinos ainda apresenta baixo nível de organização da cadeia produtiva, com reflexos nos índices de produtividade, na qualidade dos produtos, na falta de regularidade da oferta e, principalmente, na informalidade da comercialização da produção. Consequentemente, o agronegócio da ovinocultura, em comparação a outras cadeias produtivas mais organizadas, ainda tem espaço para melhorar substancialmente a competitividade no setor de produção de proteína animal (LOBO, 2019), inclusive frente a mercados de países como China, Austrália e Nova Zelândia, que avançaram bastante no melhoramento genético de características de produção em ovinos (MORTIMER et al., 2010, 2014, 2017; ROWE, 2010; AUVRAY et al., 2014; BRITO et al., 2017a, b).

2.1.1 Raça Santa Inês no contexto do melhoramento genético de ovinos no Brasil

No Nordeste brasileiro, a criação de ovinos deslanados é uma fonte importante de proteína animal, que também tem despertado o interesse de fazendeiros com elevado poder aquisitivo, por ter se mostrado uma opção viável e lucrativa. Neste sentido, tem se destacado a criação de animais de raças adaptadas às condições de clima tropical, como os ovinos da raça Santa Inês, que são caracterizados pela manutenção ou perda mínima de produção durante estresse calórico, alta eficiência produtiva, resistência a doenças, longevidade e baixas taxas de mortalidade (MCMANUS et al., 2011).

Dentre as raças ovinas deslanadas criadas no Brasil, a Santa Inês apresenta maior porte (PAIVA et al., 2003), com peso adulto médio de 60 a 90 kg para fêmeas e 80 a 120 kg para machos, de acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Ovinos (ARCO, 2018). No entanto, ainda não há algum programa efetivo de melhoramento genético para características produtivas que favoreçam a competitividade da raça Santa Inês com raças ovinas exóticas que têm sido melhoradas geneticamente por muitos anos (REGO NETO et al., 2018; LOBO, 2019). Assim, é necessária atenção à manutenção de características favoráveis à adaptação e seleção para o aumento do potencial genético para outras características de importância econômica da raça Santa Inês.

O padrão racial da raça Santa Inês definido pela ARCO é amplo e sujeito a interpretação, o que torna esta raça vulnerável à perda de características associadas com rusticidade e adaptação em detrimento de ganhos obtidos por meio de cruzamentos com raças exóticas (MCMANUS; PAIVA; ARAÚJO, 2010). Isto pode levar à criação de diferentes ecótipos registrados em todo o Brasil e à seleção de cada tipo com base em aspectos políticos e socioeconômicos, ao invés de quesitos técnicos e científicos.

A avaliação genética de ovinos Santa Inês tem sido realizada com base apenas em informações fenotípicas e de pedigree (SOUSA et al., 1999; SARMENTO et al., 2006, 2010, 2011; CARVALHO et al., 2014; FIGUEIREDO FILHO et al., 2016; SENA et al., 2016). Ainda são poucos os estudos com utilização de informação genômica em ovinos Santa Inês (BIAGIOTTI, 2016; BERTON et al., 2017; REGO NETO, 2017; AMORIM et al., 2018; ALVARENGA et al., 2018; MEIRA et al., 2019; ROVADOSCKI et al., 2018; SANTOS, 2018). Os resultados desses estudos já têm dado importante contribuição para o melhor entendimento da arquitetura genética de diferentes características de interesse comercial em ovinos de corte, assim como para a seleção mais eficiente de animais para diferentes características.

2.2 Melhoramento genético de características de carcaça em ovinos

O melhoramento genético da qualidade da carcaça tem sido auxiliado pela utilização da tecnologia de ultrassonografia em tempo real (UTR), que consiste em um método não invasivo e eficiente para avaliação *in vivo* da composição de carcaça de animais de diferentes espécies destinados à produção de carne (FERNANDES; WILTON; TOSH, 2004; SOUZA et al., 2016). A utilização de UTR para avaliação eficiente de carcaça depende de que a posição anatômica de cada medida seja de fácil localização e identificada de forma consistente por diferentes avaliadores, para que a posição reflita verdadeiramente a composição da carcaça (CEMAL et al., 2007).

As regiões anatômicas mais utilizadas para a mensuração por ultrassonografia *in vivo* são a 12^a (HEGARTY et al., 2006) ou 13^a costela (SILVA et al., 2007; GRILL et al., 2015), ou a região entre 12^a e 13^a costelas (BEDHIAF ROMDHANI; DJEMALI, 2006; TEIXEIRA et al., 2006). Como 12^a e 13^a são as últimas vértebras lombares em ruminantes, sua localização é fácil. Além disso, essas costelas são maiores e mais grossas em relação a outras vértebras intercostais, o que simplifica a mensuração de profundidade de gordura a área de olho de lombo (CEMAL et al., 2007).

Área do músculo *Longissimus dorsi* (olho de lombo), gordura intramuscular (marmoreio) e espessura de gordura subcutânea são alguns dos mais importantes indicadores de desenvolvimento muscular e deposição de gordura coletados com utilização de UTR. Estas medidas são úteis para quantificar a parte consumível do produto, influenciam em sua qualidade e sabor, e permitem a identificação de animais superiores em qualidade e rendimento de carcaça (SOUZA et al., 2016). Além disso, medidas como o perímetro (circunferência) da perna têm sido incluídas em estudos para avaliação de carcaça *in vivo* em pequenos ruminantes (GOMES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; ESTEVES et al., 2018), pois a perna é considerada um corte nobre nesses animais (ARAÚJO et al., 2015).

Para se obter progresso genético nas características de carcaça em espécies exploradas na pecuária de corte, além da coleta eficiente de dados, o conhecimento dos parâmetros genéticos é crucial para a definição de objetivos de seleção e identificação de critérios de seleção para uso em programas de melhoramento genético, assim como para previsão dos resultados prováveis desses programas (BRITO et al., 2017b).

Estudos sobre estimação de parâmetros genéticos para características que avaliam diretamente a qualidade de carcaça (área de olho de lombo, espessura de gordura e marmoreio, por exemplo) em bovinos de corte (YOKOO et al., 2008; LIMA NETO et al., 2009), ovinos de corte (SENA et al., 2016; BRITO et al., 2017b; FIGUEIREDO FILHO et al., 2016, 2017) e caprinos de corte (FIGUEIREDO FILHO et al., 2018) mostraram a existência de variabilidade genética suficiente para se obter progresso genético por meio da seleção para tais características. No entanto, estimativas de herdabilidade para espessura de gordura e área de olho de lombo em ovinos ainda se mostram conflitantes na literatura, devido a fatores como quantidade de animais avaliados, raça, idade, sexo e fatores ambientais (SOUZA et al., 2016).

A área de olho de lombo mensurada *in vivo* tem sido relatada como uma característica importante na seleção para a melhoria de carcaça em animais destinados à produção de carne, pois as estimativas de herdabilidade (h^2) para esta característica variam de baixa a alta magnitude. Em bovinos de corte, por exemplo, Gordo et al. (2016) obtiveram h^2 de $0,13 \pm 0,09$ (com uso da matriz de parentesco tradicional) e h^2 igual a $0,29 \pm 0,06$ (com inclusão de informação genômica nas análises), enquanto Bhuiyan et al. (2017) relataram h^2 de $0,45 \pm 0,13$, para área de olho de lombo mensurada com UTR. Em ovinos, são apresentadas estimativas como $0,12 \pm 0,02$ (SAFARI; FOGARTI; GILMOUR, 2005), $0,20$ (SENA et al., 2016), $0,31$

(FIGUEIREDO FILHO et al., 2016) e $0,07 \pm 0,03$ (KIYA et al., 2019), para área de olho de lombo mensurada com UTR.

Para espessura de gordura mensurada com uso de UTR, em ovinos de diferentes raças, há relatos de estimativas de h^2 variando de baixa a moderada magnitude, por exemplo, $0,10 \pm 0,05$ (KIYA et al., 2019), 0,11 (FIGUEIREDO FILHO et al., 2016), $0,15 \pm 0,03$ (MORTIMER et al., 2010), $0,26 \pm 0,02$ (SAFARI; FOGARTI; GILMOUR, 2005) e $0,28 \pm 0,03$ (BRITO et al., 2017b).

Para escore de marmoreio e percentual de gordura intramuscular, em ovinos, são relatadas estimativas de herdabilidade que variam de moderada a alta magnitude. Johnson et al. (2015) e Brito et al. (2017b) relataram estimativas de herdabilidade de $0,40 \pm 0,06$ e $0,30 \pm 0,03$, respectivamente, para a característica marmoreio (mensurada na carcaça após o abate), em ovinos de diferentes raças. Em avaliação de marmoreio na região do músculo *Longissimus dorsi*, com uso de UTR, Figueiredo Filho et al. (2017) obtiveram herdabilidade de 0,66, em ovinos da raça Santa Inês.

O perímetro da perna, apesar de ter sido incluído em vários estudos para avaliação de carcaça em pequenos ruminantes (GOMES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015; ESTEVES et al., 2018), ainda apresenta poucas informações sobre parâmetros genéticos, sendo que nenhuma delas é na raça ovina Santa Inês. Jafari e Hashemi (2014) relataram herdabilidade de 0,02 para circunferência da perna, em ovinos da raça Makuie. Na raça ovina Moghani, Bakhshalizadeh et al. (2016) e Hossein-Zadeh e Ghahremani (2018) relatam estimativas de 0,12 a 0,37 e $0,07 \pm 0,02$, respectivamente. Em caprinos, Waheed e Khan (2011) relataram h^2 de 0,04, na raça Beetal, enquanto Figueiredo Filho et al. (2018) relataram h^2 de 0,41, na raça Anglo-Nubiana.

Na grande maioria dos estudos para avaliação genética de ovinos, até há pouco mais de uma década, eram utilizadas apenas informações fenotípicas e de parentesco com base apenas no pedigree. Recentemente, a seleção de ovinos de corte para características de carcaça tem sido beneficiada com a inclusão de informação genômica (DAETWYLER et al., 2012; BRITO et al., 2017a).

2.3 Principais aplicações da genômica na produção animal

Os marcadores genéticos (principalmente microssatélites) disponíveis até o final da década de 1990 para execução da seleção assistida por marcadores não apresentavam

boa distribuição pelo genoma e tinham baixa associação com os genes alvo. Isto resultava em pouco ganho para a maioria das características de interesse pecuário, que são governadas por muitos genes (SIMIANER, 2016).

O surgimento da Seleção Genômica e dos Estudos de Associação Genômica Ampla abriram novas oportunidades para programas de melhoramento genético animal, com destaque para características de difícil mensuração, como as características de carcaça. Em relação à espécie ovina, o sucesso dessas técnicas se deve, principalmente, ao sequenciamento do genoma ovino e ao desenvolvimento de painéis de SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) pelo *International Sheep Genomics Consortium* em parceria com empresas como Illumina e Affymetrix (MRODE et al., 2018).

O painel OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc.), lançado no mercado em 2009, tem sido a plataforma mais amplamente utilizada em estudos que envolvem informação genômica em ovinos de diversas raças (AUVRAY et al., 2014; BALOCHE et al., 2014; MATIKA et al., 2016; MASTRANGELO et al., 2017; YAN et al., 2017; DI GERLANDO et al., 2019), inclusive da raça Santa Inês (BIAGIOTTI, 2016; REGO NETO, 2017; ALVARENGA et al., 2018; ROVADOSCKI et al., 2018; SANTOS, 2018). O painel OvineSNP50 apresenta 54.241 SNPs igualmente espaçados no genoma ovino, com média de um marcador a cada 46 kb, o que proporciona densidade de SNPs mais que suficiente para estudos de associação genômica ampla e seleção genômica ampla, entre outras aplicações com uso de informação genômica (Illumina Inc., 2019; www.illumina.com).

2.3.1 Seleção Genômica Ampla

Em 2001, foi implementada a Seleção Genômica Ampla (*Genome Wide Selection* – GWS), ou apenas Seleção Genômica (GS), que é mais holística, em relação às técnicas de seleção assistida por marcadores que foram predominantemente utilizadas até meados da primeira década do século XXI (BERRY et al., 2017). Em resumo, a GWS permite a avaliação genética com uso de dados genotípicos oriundos de painéis densos de SNPs, para estimar os efeitos destes marcadores a partir de uma população de animais com informação fenotípica e genotípica (população de referência ou treinamento) e, em seguida, predizer valores genéticos de candidatos à seleção com base em seus genótipos (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2001).

Os painéis de SNPs geralmente utilizados para GWS e Estudos de Associação Genômica Ampla contêm apenas uma amostra dos polimorfismos presentes no genoma da espécie em estudo. Assim, análises genômicas dependem do desequilíbrio de ligação (LD) entre os SNPs presentes no painel e as mutações causais (*loci* de características quantitativas – QTL), de modo que a GWS atua pela seleção de animais para milhares de marcadores aleatórios simultaneamente, assumindo que a maioria das mutações causais está em LD com tais marcadores (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2016).

A seleção genômica tem contribuído para a melhoria da produção animal, principalmente, devido ao aumento de acurácia de predição de valor genético (genômico) ((G)EBV), diminuição de custos com testes de progênie e à redução do intervalo de geração (JONAS; DE KONING, 2015). Os bovinos leiteiros têm sido os mais beneficiados com a aplicação dessa tecnologia, devido aos maiores efetivos das populações de referência e a alta acurácia dos fenótipos de fêmeas oriundas de testes de progênie realizados para a maioria dos touros nas populações de referência (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2016). A acurácia de GEBV normalmente é estimada pela predição observada (real). No entanto, com a utilização de dados reais, a predição de acurácia também tem sido realizada eficientemente de forma teórica, assumindo que a predição é baseada em uma população de referência para os mesmos marcadores de DNA, que estejam ligados a QTLs (VAN DER WERF et al., 2014).

A acurácia de predição de GEBVs em bovinos leiteiros é superior a 0,80 para características de produção e 0,70 para fertilidade, longevidade, entre outras características. Em geral, para bovinos de corte esses valores são menores, com ganhos em acurácia variando de 0,30 a 0,38 (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2016). Em ovinos, há estimativas de ganhos em acurácia com uso de informação genômica que variam de 0,05 a 0,27, para diferentes características (DAETWYLER et al., 2012; AUVRAY et al., 2014; BALOCHE et al., 2014). Carillier, Larroque e Robert-Granié (2014) relataram acurácias entre 0,06 e 0,14 para diferentes características em caprinos leiteiros. Em aves, Liu et al. (2014) relataram ganho de 0,197 em acurácia com uso de informação genômica.

Em relação ao intervalo de geração, em bovinos leiteiros houve redução de 5 a 6 anos, em programas de melhoramento tradicional, para 1,5 anos, em programas que aplicam seleção genômica (PRYCE; DAETWYLER, 2012). No melhoramento genético de suínos, o uso de informação genômica pode resultar em diminuição de aproximadamente 25% no intervalo de geração (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD,

2016). Em pequenos ruminantes, a redução no intervalo de geração com uso de informação genômica é proporcionalmente menor do que em bovinos (MRODE et al., 2018). Na avaliação genética de ovinos com inclusão de informação genômica, Pickering et al. (2013) relataram redução de intervalo de geração de 2 anos para 1 ano.

A inclusão de informação genômica em um programa de melhoramento genético tem potencial de redução de custos em mais de 90%, em bovinos leiteiros (SCHAEFFER, 2006). Por outro lado, Shumbusho et al. (2016) relataram menor diminuição relativa de custos em programas de melhoramento de caprinos e ovinos, em comparação ao observado em bovinos. Estes autores alertaram para a necessidade da otimização na escolha de reprodutores, para que sejam atingidos ganhos econômicos com o uso da seleção genômica em pequenos ruminantes.

2.3.2 Estudos de Associação Genômica Ampla

Devido ao sucesso da aplicação da técnica denominada de Estudos de Associação Genômica Ampla (*Genome Wide Association Studies* – GWAS) em análises de doenças humanas, a abordagem foi expandida ao campo da genética e melhoramento de animais domésticos, conforme as sequências genômicas de diferentes espécies pecuárias foram disponibilizadas e grande número de SNPs foi descoberto (SCHERER; CHRISTENSEN, 2016).

A metodologia GWAS consiste em realizar uma análise de associação utilizando variações existentes (principalmente SNPs) em todo o genoma, juntamente com informações de fenótipo e pedigree, para identificar genes e QTLs que são importantes para características de interesse, assim como os mecanismos genéticos responsáveis pela expressão dessas características (ZHANG et al., 2012). A identificação e descrição de regiões genômicas, genes e processos biológicos que afetam características produtivas são importantes, pois essa informação pode ser utilizada em futuros estudos de mapeamento fino, principalmente em busca por mutações causais informativas (SILVA et al., 2019). Em comparação às estratégias tradicionais de mapeamento de QTL, a GWAS apresenta como principais vantagens o poder de detecção de variantes causais com pequenos efeitos e a definição de regiões genômicas mais restritas que abrigam variantes causais (HIRSCHHORN et al., 2005).

Em trabalhos com aplicação de GWAS em ovinos, foram encontrados, por exemplo, SNPs e QTLs associados a características de composição de carcaça, em

estudo com avaliação *in vivo* com uso de tomografia computadorizada (MATIKA et al., 2016), genes candidatos ligados a atividades do sistema imune (BERTON et al., 2017), um conjunto funcional de genes significativamente associados ao metabolismo lipídico e desenvolvimento adiposo (XU et al., 2017), além de regiões candidatas relacionadas a crescimento, reprodução, lactação e adaptabilidade (AMORIM et al., 2018).

Há inúmeros outros exemplos de resultados importantes com aplicação de GWAS, em diferentes espécies animais e vegetais, que mostram a contribuição que esta técnica tem proporcionado para a agropecuária. No entanto, Zhang et al. (2012) relataram que há várias inconsistências entre resultados de estudos utilizando GWAS para a mesma característica e na mesma espécie, o que pode ser principalmente atribuído ao tamanho da população utilizada, densidade dos painéis de marcadores, estrutura genética populacional, modelos estatísticos e detecção de falsos positivos.

2.4 Principais metodologias para análises de dados genômicos

As técnicas de Estudos de Associação Genômica Ampla apresentam eficiência para identificação de QTLs, enquanto que a Seleção Genômica Ampla, com uso de SNPs de distribuição densa no genoma, pode proporcionar maiores acurácias de predição de valores genéticos para indivíduos, em relação ao método BLUP tradicional. GWAS e GWS abordam diferentes aspectos de características quantitativas, mas, enquanto modelos estatísticos, ambas as metodologias são similares em suas descrições dos mecanismos genéticos que regulam as características quantitativas (LI et al., 2017).

2.4.1 Critérios para controle de qualidade de dados genômicos

Uma das principais etapas para minimizar possíveis erros em Estudos de Associação ou Seleção Genômica Ampla é o controle de qualidade (CQ) dos dados (SHARMA et al., 2015). Para controle de qualidade de SNPs, são principalmente utilizados critérios como taxa de genotipagem (*Call rate*), frequência do alelo menos frequente (*Minor Allele Frequency* – MAF) e desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) (BERTON et al., 2017; AMORIM et al., 2018; ROVADOSCKI et al., 2018). SNPs localizados em regiões genômicas desconhecidas sempre são eliminados e, dependendo do estudo, cromossomos sexuais também são excluídos. Em relação ao CQ

para amostras, o *Call rate* é um dos critérios mais utilizados em estudos com uso de dados genômicos em ovinos (ALVARENGA et al., 2018; ROVADOSCKI et al., 2018).

O *Call rate* de SNPs e amostras é um bom indicador da qualidade de leitura dos genótipos, que é utilizado para determinar o percentual de SNPs que foram lidos eficientemente. Pelo critério do *Call rate* são excluídos os SNPs que não foram genotipados em uma dada proporção das amostras (por exemplo, 95%), ou amostras cuja quantidade de SNPs genotipados não atingiu uma proporção mínima (por exemplo, 90%). Na literatura, são encontrados trabalhos que consideram nas análises apenas SNPs com *Call rate* variando de 0,80 a 0,98 e *Call rate* das amostras de 0,90 a 0,98 (MOSER et al., 2009; UTSUNOMIYA et al., 2013; ROVADOSCKI et al., 2018).

O critério da MAF é utilizado como filtro para a exclusão de SNPs raros na população (ZIEGLER; KÖNIG; THOMPSON, 2008). Normalmente, são mantidos nas análises apenas SNPs com MAF acima de 0,01 a 0,05 (DAETWYLER et al., 2012; XU et al., 2017; BERTON et al., 2017; ROVADOSCKI et al., 2018).

O teste de HWE é utilizado como um passo final no CQ para buscar evidências de problemas com os dados genômicos, por meio da relação entre as frequências alélicas e genotípicas (TURNER et al., 2011). O princípio geral do HWE é que as frequências alélicas e genotípicas em uma população grande e com acasalamento aleatório, permanecem constantes entre as gerações (ZIEGLER; KÖNIG; THOMPSON, 2008). Desvios observados em relação ao HWE podem evidenciar erros no processo de genotipagem e, portanto, podem-se excluir os marcadores que desviam do HWE (WIGGANS et al., 2009). Para cada marcador, o desvio do HWE é calculado utilizando o teste de qui-quadrado e a exclusão dos SNPs é feita com base em p-valores, que normalmente variam de 0,05 a 1×10^{-15} (DAETWYLER et al., 2012; XU et al., 2017).

Aliado ao controle de qualidade dos dados genômicos, os modelos lineares mistos (MLM) têm sido eficazes para evitar a detecção de falsos positivos em GWAS (KORTE et al., 2012). Os MLM têm o potencial para corrigirem o efeito de estrutura populacional, pela aplicação de uma correção específica para esta estrutura, baseada na quantificação da covariância fenotípica oriunda do parentesco entre indivíduos. Além disso, os MLM possibilitam maior poder de detecção em estudos sem estrutura amostral, pelo condicionamento implícito a *loci* associados que não sejam necessariamente o *locus* candidato (YANG et al., 2014). Contudo, a falta de conhecimento estatístico adequado para aplicação dessas técnicas tem sido um dos

principais problemas, pois apenas se realizada cuidadosamente a GWAS pode levar a resultados significativos e valiosos (SHARMA et al., 2015).

2.4.2 Principais métodos utilizados para seleção genômica

Algumas das principais abordagens propostas para a predição de valores genéticos com base em dados genômicos são a Melhor Predição Linear Não-Viesada Genômica (conhecida como regressão de cumeieira, GBLUP, ou RRBLUP), Penalização Bayesiana ou *Bayesian shrinkage* (por exemplo, BayesA) e diferentes modelos de seleção como LASSO Bayesiano (BayesL), BayesB, BayesC π e BayesC. As principais diferenças entre esses modelos são as pressuposições em relação à distribuição dos efeitos dos marcadores genéticos (MEHRBAN et al., 2017). Os modelos GBLUP (ou procedimentos equivalentes ao RRBLUP) assumem que todos os efeitos dos SNPs possuem a mesma distribuição normal, de modo que todos tenham efeitos pequenos (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2001). Por outro lado, as abordagens Bayesianas permitem que as variâncias dos efeitos dos SNPs sejam diferentes entre si.

Na presença de genes ou QTLs de efeito maior, a utilização de modelos bayesianos resulta em predições genômicas mais acuradas e persistentes, em relação ao GBLUP, especialmente para bancos de dados pequenos (WOLC et al., 2016; MEHRBAN et al., 2017). Contudo, os métodos Bayesianos podem apresentar desvantagens como: redução de acurácia, por ignorar os SNPs com efeitos pequenos (SU et al., 2010); necessidade de definições *a priori* (MEHRBAN et al., 2017); e execução de múltiplas etapas para estimação de valores genéticos para populações em que há animais não genotipados (MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2016).

Os métodos descritos acima são conhecidos como *multi-step*, pois não podem ser aplicados diretamente nos casos em que nem todos os indivíduos com informação fenotípica sejam genotipados e vice-versa. Isso torna necessária a utilização de projeções dos fenótipos de indivíduos aparentados com aqueles que foram genotipados, ou seja, pseudo-fenótipos (LEGARRA et al., 2014).

Devido aos problemas inerentes à execução dos métodos descritos anteriormente, principalmente para situações em que há pouca quantidade de animais na população de treinamento, surgiu a necessidade de um procedimento unificado para a predição genômica (LEGARRA et al., 2014). Neste sentido, Legarra, Aguilar e Misztal (2009), Misztal, Legarra e Aguilar (2009), Aguilar et al. (2010) e Christensen e Lund (2010)

desenvolveram a teoria básica para o método BLUP Genômico em Passo Único (*Single-step Genomic BLUP* – ssGBLUP). O método ssGBLUP combina a matriz de parentesco baseada no pedigree (**A**) com a matriz de parentesco genômico (**G**) em uma matriz híbrida (**H**), para prever os valores genéticos genômicos (GEBVs) dos animais utilizando informações de fenótipo, pedigree e genômica, simultaneamente, para animais com ou sem informação genotípica.

Vários estudos já mostraram que o ssGBLUP é computacionalmente eficiente e acurado para fins de avaliação genômica (por exemplo, AGUILAR et al., 2010; CHEN et al., 2011; TSURUTA et al., 2011; CHRISTENSEN et al., 2012). A informação extra de animais não genotipados, a capacidade de explicar a pré-seleção e a independência de pseudo-fenótipos são parcialmente responsáveis por ganhos em acurácia em relação a outros métodos genômicos (LEGARRA et al., 2014). O método ssGBLUP é o mais apropriado para a obtenção de GEBVs confiáveis e não viesados, quando há falta de pedigree para animais genotipados (TONUSSI et al., 2017).

O método ssGBLUP se tornou aceito mundialmente e tem sido considerado como o mais abrangente para a seleção genômica. De acordo com Misztal (2016), isto se deve, em parte, a sua simplicidade (e acurácia) e, em parte, à ausência de problemas com desregressão quando animais genotipados têm diferentes quantidades de informações disponíveis (por exemplo, machos e fêmeas).

2.4.3 Principais métodos aplicados a estudos de associação genômica ampla

Vários métodos baseados em modelos de único *locus* em combinação com matriz de parentesco genético realizado foram desenvolvidos para execução de análises de GWAS. No entanto, modelos que consideram múltiplos *loci* têm sido mais utilizados, já que as características quantitativas são controladas por vários *loci* (LI et al., 2017). Os métodos GBLUP e Bayesianos utilizados para seleção genômica mencionados anteriormente também têm sido amplamente aplicados em análises de GWAS, pois possibilitam a estimação dos efeitos de SNPs (ZHANG et al., 2016).

Outros métodos que também têm sido comumente aplicados a análises de GWAS são: *Reversible Jump Markov Chain Monte Carlo* (método MCMC com saltos reversos) (LEE et al., 2008); LASSO Bayesiano para GWAS (GLASSO) (LI et al., 2011); LASSO-LMM (LASSO de modelo linear misto) (RAKITSCH et al., 2013); modelo misto de *loci* múltiplos (MLMM) (SEGURA et al., 2013); StepLMM (modelo misto de

regressão linear passo a passo) (LI et al., 2017). O modelo StepLMM pode ser usado simultaneamente para GWS e GWAS.

O método ssGBLUP, além de ser amplamente utilizado para seleção genômica, também tem sido aplicado na implementação de estudos de associação genômica ampla, por meio de uma adaptação também conhecida como *single-step* GWAS (ssGWAS), proposta por Wang et al. (2012). Este método, semelhante ao que é aplicado na seleção genômica, utiliza simultaneamente todas as informações disponíveis (fenótipos, pedigree e SNPs), por meio de um processo que combina as matrizes **A** e **G**, com posterior resolução dos sistemas de equações dos modelos mistos e predição dos GEBVs de todos os animais disponíveis. Daí, os GEBVs são convertidos para efeitos de marcadores (SNPs) e pesos dos marcadores, que então são utilizados em um processo iterativo para atualizar as soluções (WANG et al., 2012; WANG et al., 2014).

Com aplicação do ssGWAS, são estimados todos os efeitos (fixos e aleatórios) simultaneamente e há a possibilidade de incorporar na análise todos os animais, independentemente de apresentarem informação genotípica e/ou fenotípica. De acordo com Fragomeni et al. (2014), com este método podem ser evitadas soluções espúrias para os efeitos dos SNPs devido à amostragem, ao contrário dos métodos bayesianos, que podem trazer este problema, por serem dependentes da escolha da *priori*.

3. REFERÊNCIAS

AGUILAR, I. et al. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 743-752, 2010.

ALVARENGA, A. B. et al. Linkage disequilibrium in Brazilian Santa Inês breed, *Ovis aries*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 8851, p. 1-11, 2018.

ALVES, L. G. C. et al. Produção de carne ovina com foco no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 2399-2415, 2014.

AMORIM, S. T. et al. Genomic study for maternal related traits in Santa Inês sheep breed. **Livestock Science**, v. 217, p. 76–84, 2018.

ARAÚJO, R. P. et al. Medidas corporais e da carcaça de ovinos suplementados com diferentes níveis de sal forrageiro de faveleira. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE OVINOS – ARCO, 2018. **Padrões raciais**. Disponível em: <<http://www.arcoovinos.com.br/index.php/mn-srgo/mn-padroesraciais/40-santa-ines/>> Acesso em: 17 de Junho de 2018).

AUVRAY, B. et al. Genomic prediction of breeding values in the New Zealand sheep industry using a 50K SNP chip. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 10, p. 4375–4389, 2014.

BAKHSHALIZADEH, S. et al. Estimation of genetic parameters and genetic trends for biometric traits in Moghani sheep breed. **Small Ruminant Research**, v. 134, p. 79-83, 2016.

BALOCHE, G. et al. Assessment of accuracy of genomic prediction for French Lacaune dairy sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1107-1116, 2014.

BEDHIAF ROMDHANI, S.; DJEMALI, M. Estimation of sheep carcass traits by ultrasound technology. **Livestock Production Science**, v. 101, p. 294-299, 2006.

BERRY, D. P. et al. Animal breeding strategies can improve meat quality attributes within entire populations. **Meat Science**, v. 132, p. 6-18, 2017.

BERTON, M. P. et al. Genomic regions and pathways associated with gastrointestinal parasites resistance in Santa Inês breed adapted to tropical climate. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n. 73, p. 1-16, 2017.

BHUIYAN, M. S. A. et al. Genetic parameters of carcass and meat quality traits in different muscles (longissimus dorsi and semimembranosus) of Hanwoo (Korean cattle). **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 3359-3369, 2017.

BIAGIOTTI, D. **Associação e seleção genômica ampla em ovinos Santa Inês para características relacionadas a resistência à endoparasitas**. Teresina: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, 73 p. Tese de Doutorado, 2016.

BRITO, L. F. et al. Prediction of genomic breeding values for growth, carcass and meat quality traits in a multi-breed sheep population using a HD SNP chip. **BMC Genetics**, v. 18, n. 7, 2017a.

BRITO, L. F. et al. Genetic parameters for various growth, carcass and meat quality traits in a New Zealand sheep population. **Small Ruminant Research**, v. 154, p. 81–91, 2017b.

CARILLIER, C.; LARROQUE, H.; ROBERT-GRANIÉ, C. Comparison of joint versus purebred genomic evaluation in the French multi-breed dairy goat population. **Genetic Selection Evolution**, v. 46, n. 67, p. 1-10, 2014.

CARVALHO, G. C. et al. Estimaco de parâmetros genéticos de ovinos da raça Santa Inês utilizando modelos uni e bicaracterística. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, p. 111-116, 2014.

CEMAL, I. et al. Ultrasound measurements of eye muscle properties and backfat thickness in Kivircik lambs. **Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 1, p. 89-94, 2007.

- CHEN, C. et al. Genome-wide marker-assisted selection combining all pedigree phenotypic information with genotypic data in one step: An example using broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 23-28, 2011.
- CHRISTENSEN, O. F.; LUND, M. S. Genomic prediction when some animals are not genotyped. **Genetics Selection Evolution**, v. 42, n. 2, p. 1-8, 2010.
- CHRISTENSEN, O. F. et al. Single-step methods for genomic evaluation in pigs. **Animal**, v. 6, n. 10, p. 1565-1571, 2012.
- DAETWYLER, H. D. et al. Accuracy of pedigree and genomic predictions of carcass and novel meat quality traits in multi-breed sheep data assessed by cross-validation. **Genetics Selection Evolution**, v. 44, n. 33, p. 1-11, 2012.
- DI GERLANDO, R. et al. Genome-wide association study between CNVs and milk production traits in Valle del Belice sheep. **PLoS One**, v. 14, n. 4, p. 1-13, 2019.
- EMENHEISER, J. C. et al. Validation of live animal ultrasonic measurements of body composition in market lambs. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2932-2939, 2010.
- ESTEVEZ, G. I. et al. Carcass and cut traits in nulliparous and lambing female sheep of different ages and genetic groups. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 40, p. 1-7, 2018.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Meat Market Review**. Rome, 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ca3880en/ca3880en.pdf>>. Acesso em: 17 de abril de 2019.
- FERNANDES, T. L.; WILTON, J. W.; TOSH, J. J. Estimates of genetic parameters for ultrasound measured carcass traits in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 361-365, 2004.
- FIGUEIREDO FILHO, L. A. S. et al. Genetic parameters for carcass traits and body size in sheep for meat production. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, n. 1, p. 215-218, 2016.
- FIGUEIREDO FILHO, L. A. S. et al. Estimate of genetic parameters for carcass traits and visual scores in meat sheep using Bayesian inference via threshold and linear models. **Ciência Rural**, v. 47, n. 3, p. 1-6, 2017.
- FIGUEIREDO FILHO, L. A. S. et al. Genetic parameters for marbling and body score in Anglonubian goats using Bayesian inference via threshold and linear models. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 31, n. 9, p. 1407-1414, 2018.
- FRAGOMENI, B. O. et al. Changes in variance explained by top SNP windows over generations for three traits in broiler chicken. **Frontiers in Genetics**, v. 5, n. 332, 2014.
- GOMES, H. F. B. et al. Common factors method to predict the carcass composition tissue in kid goats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 3, p. 193-203, 2013.

GORDO, D. G. M. et al. Genetic parameter estimates for carcass traits and visual scores including or not genomic information. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 1821–1826, 2016.

GRILL, L. et al. Evaluation of ultrasound scanning to predict carcass composition of Austrian meat sheep. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 2-3, p. 260-268, 2015.

HEGARTY, R. S. et al. Effects of available nutrition and sire breeding values for growth and muscling on the development of crossbred lambs. 1: Growth and carcass characteristics. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 57, p. 593-603, 2006.

HIRSCHHORN, J. N.; DALY, M.J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. **Nature Reviews**, v. 6, p. 95-108, 2005.

HOSSEIN-ZADEH, N.G.; GHAREMANI, D. Bayesian estimates of genetic parameters and genetic trends for morphometric traits and their relationship with yearling weight in Moghani sheep. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, p. 586-592, 2018.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário : resultados preliminares**. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3093/agro_2017_resultados_preliminares.pdf>. Acesso em: 12 de maio de 2018.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/6d3123bbf5f78aa3492c41003c7a38f6.pdf>. Acesso em: 28 de setembro de 2018.

JAFARI, S.; JASHEMI, A. Estimation of genetic parameters for body measurements and their association with yearling live weight in the Makuie sheep breed. **South African Journal of Animal Science**, v. 44, n. 2, p. 140-147, 2014.

JOHNSON, P. L. et al. Brief communication: genetic parameters for meat traits assessed in the Headwaters New Zealand Progeny Test. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 75, p. 111-113, 2015.

JONAS, E.; DE KONING, D. J. Genomic selection needs to be carefully assessed to meet specific requirements in livestock breeding programs. **Frontiers in genetics**, v. 6, n. 49, p. 1-8, 2015.

KIYA, C. K. et al. Estimates of the genetic parameters of a Dorper flock in Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 171, p. 57-62, 2019.

KORTE, A. et al. A mixed-model approach for genome-wide association studies of correlated traits in structured populations. **Nature Genetics**, v. 44, p. 1066-1071, 2012.

LEE, S. H. et al. Predicting unobserved phenotypes for complex traits from whole-genome SNP data. **Plos Genetics**, v. 4, n. 10, p. 1-11, 2008.

- LEGARRA, A.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4656-4663, 2009.
- LEGARRA, A. et al. Single step, a general approach for genomic selection. **Livestock Science**, v. 166, p. 54-65, 2014.
- LI, H. et al. An efficient unified model for genome-wide association studies and genomic selection. **Genetics Selection Evolution**, v. 49, n. 64, p. 1-8, 2017.
- LI, J. et al. The Bayesian lasso for genome-wide association studies. **Bioinformatics**, v. 27, p. 516–523, 2011.
- LIMA NETO, H. R. et al. Parâmetros genéticos para características de carcaça avaliadas por ultrassonografia em bovinos da raça Guzerá. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 251-258, 2009.
- LIU, T. et al. Accuracy of genomic prediction for growth and carcass traits in Chinese triple-yellow chickens. **BMC Genetics**, v. 15, n. 110, p. 1-8, 2014.
- LOBO, R.N.B. Opportunities for investment into small ruminant breeding programmes in Brazil. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 136, n.5, p. 313-318, 2019.
- MASTRANGELO, S. et al. Genome-wide analysis in endangered populations: a case study in Barbaresca sheep. **Animal**, v.11, n. 7, p. 1107-1116, 2017.
- MATIKA, O. et al. Genome-wide association reveals QTL for growth, bone and in vivo carcass traits as assessed by computed tomography in Scottish Blackface lambs. **Genetics Selection Evolution**, v. 48, n. 11, 2016.
- MCMANUS, C.; PAIVA, S. R.; ARAÚJO, R. O. Genetics and breeding of sheep in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 236-246, 2010.
- MCMANUS, C. et al. The challenge of sheep farming in the tropics: aspects related to heat tolerance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 107-120, 2011.
- MEHRBAN, H. et al. Predictive performance of genomic selection methods for carcass traits in Hanwoo beef cattle: impacts of the genetic architecture. **Genetics Selection Evolution**, v. 49, n.1, p. 1-13, 2017.
- MEIRA, A. N. et al. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and IGF type-1 (IGF1) genes associated with carcass traits in Santa Ines sheep. **Animal**, v. 6, p. 1-9, 2019.
- MEUWISSEN, T.; HAYES, B. J.; GODDARD M. E. Prediction of total genetic values using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, p. 1819-1829, 2001.
- MEUWISSEN, T.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. **Animal Frontiers**, v.6, n.1, p. 6-14, 2016.

- MISZTAL, I.; LEGARRA, A.; AGUILAR, I. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4648–4655, 2009.
- MISZTAL, I. Is genomic selection now a mature technology? **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 133, p. 81–82, 2016.
- MORTIMER, S. I. et al. Preliminary estimates of genetic parameters for carcass and meat quality traits in Australian sheep. **Animal Production Science**, v. 50, p. 1135-1144, 2010.
- MORTIMER, S. I. et al. Genetic parameters for meat quality traits of Australian lamb meat. **Meat Science**, v. 96, n. 2, p. 1016-1024, 2014.
- MORTIMER, S. I. et al. Genetic parameters for wool traits, live weight, and ultrasound carcass traits in Merino sheep. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 5, p. 1879-1891, 2017.
- MOSER, G. et al. A comparison of five methods to predict genomic breeding values of dairy bulls from genome-wide SNP markers. **Genetics Selection Evolution**, v. 41, n. 56, p. 1-16, 2009.
- MRODE, R. et al. Invited review: Genomic selection for small ruminants in developed countries: how applicable for the rest of the world? **Animal**, v. 12, n. 7, p. 1333-1340, 2018.
- OECD/FAO - ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Agricultural Outlook 2018-2027**, OECD Publishing, Paris/FAO, Rome, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2018-en>. Acesso em: 26 de abril de 2019.
- OLIVEIRA, E. R. et al. Características de carcaça e de carne de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes genótipos de cynodon. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2563-2578, 2014.
- PAIVA, S. R. et al. Caracterização Genética da Raça Santa Inês. In: 2nd International Symposium on sheep and goat production, 2003, João Pessoa. Segundo Sincorte. **Anais...** João Pessoa: Empresa Estadual de Pesquisa agropecuária da Paraíba, v. 1, p. 487-499, 2003.
- PICKERING, N. K. et al. The impact of genomic selection on genetic gain in the New Zealand sheep dual purpose selection index. **Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics**, v. 20, p. 175-178, 2013.
- PRYCE, J. E.; DAETWYLER, H. D. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research. **Animal Production Science**, v. 52, p. 107–114, 2012.

RAKITSCH, B. et al. A lasso multi-marker mixed model for association mapping with population structure correction. **Bioinformatics**, v. 29, p. 206–214, 2013.

REGO NETO, A. **Estrutura genética e associação genômica ampla para características de tamanho corporal em ovinos da raça Santa Inês**. Teresina: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, 89 p. Tese de Doutorado, 2017.

REGO NETO, A. et al. Population genetic structure of Santa Inês sheep in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 3, p. 503-508, 2018.

ROVADOSCKI, G. A. et al. Estimates of genomic heritability and genome-wide association study for fatty acids profile in Santa Inês sheep. **BMC Genomics**, v. 19, n. 375, p. 1-14, 2018.

ROWE, J. B. The Australian sheep industry - undergoing transformation. **Animal Production Science**, v. 50, p. 991–997, 2010.

RUPP, R. et al. Genomic application in sheep and goat breeding. **Animal Frontiers**, v. 6, n. 1, p. 39-44, 2016.

SAFARI, E.; FOGARTY, N. M.; GILMOUR, A. R. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. **Livestock Production Science**, v. 92, p. 271-289, 2005.

SANTOS, G. V. **Estudo genômico aplicado ao melhoramento genético de ovinos tropicais para resistência à endoparasitas**. Teresina: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, 90 p. Tese de Doutorado, 2018.

SARMENTO, J. L. R. et al. Avaliação genética de características de crescimento de ovinos Santa Inês utilizando modelos de regressão aleatória. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 1, p. 68-77, 2006.

SARMENTO, J. L. R. et al. Modelos de regressão aleatória na avaliação genética do crescimento de ovinos da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1723-1732, 2010.

SARMENTO, J. L. R. et al. Efeito materno sobre a curva de crescimento de ovinos Santa Inês por meio de modelos de regressão aleatória. **Comunicata Scientiae**, v. 2, n. 2, p. 113-121, 2011.

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

SCHERER, A.; CHRISTENSEN, G.B. Concepts and relevance of genome-wide association studies. **Science Progress**, v. 99, n. 1, p. 59-67, 2016.

SEGURA, V. et al. An efficient multi-locus mixed-model approach for genome-wide association studies in structured populations. **Nature Genetics**, v. 44, p. 825–830, 2013.

SENA, L. S. et al. Genetic parameters for carcass traits and body size of meat sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 2477-2486, 2016.

SHARMA, A. et al. Stories and Challenges of Genome Wide Association Studies in Livestock — A Review. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v. 28, n. 10, p. 1371-1379, 2015.

SHUMBUSHO, F. et al. Economic evaluation of genomic selection in small ruminants: a sheep meat breeding program. **Animal**, v. 10, n. 6, p. 1033–1041, 2016.

SILVA, S. R. et al. Sheep carcass composition estimated from *Longissimus thoracis et lumborum* muscle volume measured by *in vivo* real-time ultrasonography. **Meat Science**, v. 76, p. 708–714, 2007.

SILVA, R.P. et al. Genomic regions and enrichment analyses associated with carcass composition indicator traits in Nellore cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 136, p. 118-133, 2019.

SIMIANER, H. Genomic and other revolutions – why some technologies are quickly adopted and others are not. **Animal Frontiers**, v. 6, n. 1, p. 53-58, 2016.

SOUSA, W. H. et al. Estimativas de componentes de (co) variância e herdabilidade direta e materna de pesos corporais em ovinos da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1252-1262, 1999.

SOUZA, S. F. et al. Aplicação da ultrassonografia para avaliação de condição corporal e acabamento de carcaça em pequenos ruminantes. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 19, n. 3, p. 34-42, 2016.

SU, G. et al. Preliminary investigation on reliability of genomic estimated breeding values in the Danish Holstein population. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1175-1183, 2010.

TEIXEIRA, A. et al. In vivo estimation of lamb carcass composition by real-time ultrasonography. **Meat Science**, v. 74, p. 289-295, 2006.

TONUSSI, R. L. et al. Application of single step genomic BLUP under different uncertain paternity scenarios using simulated data. **PLoS One**, v. 12, n. 9, 2017.

TSURUTA, S. et al. Multiple trait genomic evaluation of linear type traits using genomic and phenotypic data in US Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 4198-4204, 2011.

TURNER, S. et al. Quality Control Procedures for Genome Wide Association Studies. **Current Protocols in Human Genetics**, v. 68, n. 1, p. 1-24, 2011.

UTSUNOMIYA, Y. T. et al. Genome-wide association study for birth weight in Nellore cattle points to previously described orthologous genes affecting human and bovine height. **BMC Genetics**, v. 14, n. 52, p. 1-12, 2013.

VAN DER WERF, J. H. J. et al. Genomic selection in sheep breeding programs. 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, 2014, Vancouver. *Anais do décimo WCGALP*. **Anais...** Vancouver: American Society of Animal Science, p. 351, 2014.

WANG, H. et al. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research (Cambridge)**, v. 94, n. 2, p. 73-83, 2012.

WANG, H. et al. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. **Frontiers in Genetics**, v. 94, p. 73–83, 2014.

WAHEED, A., KHAN, M.S. Genetic parameters of body measurements and their association with milk production in Beetal goats. **Advances in Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 34-42, 2011.

WIGGANS, G. R. et al. Selection of single-nucleotide polymorphisms and quality of genotypes used in genomic evaluation of dairy cattle in the United States and Canada. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 3431-3436, 2009.

WOLC, A. et al. Mixture models detect large effect QTL better than GBLUP and result in more accurate and persistent predictions. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 7, n. 7, p. 1-6, 2016.

XU, S. S. et al. Genome-wide association analysis identifies the genetic basis of fat deposition in the tails of sheep (*Ovis aries*). **Animal Genetics**, v. 48, n. 5, p. 560-569, 2017.

YAN, J. et al. Genome-wide detection of autosomal copy number variants in several sheep breeds using Illumina OvineSNP50 BeadChips. **Small Ruminant Research**, v. 155, p. 24-32, 2017.

YANG, J. et al. Advantages and pitfalls in the application of mixed model association methods. **Nature Genetics**, v. 46, n. 2, p. 100–106, 2014.

YOKOO, M.J. et al. Genetic and environmental factors affecting ultrasound measures of *longissimus* muscle area and back fat thickness in Nellore cattle. **Livestock Science**, v.117, n.2-3, p.147–154, 2008.

ZHANG, H. et al. Progress of genome wide association study in domestic animals. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 3, n. 26, p. 1-10, 2012.

ZHANG, X. et al. Weighting strategies for single-step genomic BLUP: an iterative approach for accurate calculation of GEBV and GWAS. **Frontiers in Genetics**, v. 7, n. 151, p. 1-14, 2016.

ZIEGLER, A.; KÖNIG, I.R.; THOMPSON, J.R. Bioestatistical aspects of genome-wide association studies. **Biometrical Journal**, v. 50, n. 1, p. 8-28, 2008.

CAPÍTULO I

Avaliação genética de ovinos adaptados ao clima tropical para características de carcaça com inclusão de informação genômica

Avaliação genética de ovinos adaptados ao clima tropical para características de carcaça com inclusão de informação genômica

Luciano Silva Sena^{a,*}, José Lindenberg Rocha Sarmiento^b

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, 64049-550, Teresina, PI, Brasil.

^bDepartamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, 64049-550, Teresina, PI, Brasil.

*Autor correspondente.

Endereços de e-mail: LSS:lucianosbj@hotmail.com; JLRS:sarmiento@ufpi.edu.br.

Destaques

- Parâmetros genômicos moderados para características de carcaça mensuradas com uso de ultrassom foram obtidos para ovinos deslanados adaptados a ambientes rigorosos.
- Características de carcaça avaliadas *in vivo* são viáveis para seleção em ovinos da raça Santa Inês.
- A avaliação genética para característica de carcaça é favorecida pela inclusão de informação genômica.
- O método *single-step* GBLUP supera o método BLUP com base na acurácia de valores genéticos genômicos.

RESUMO

A raça ovina deslanada Santa Inês é localmente adaptada e está sob ampla expansão no Brasil e outros países de clima tropical. Objetivou-se avaliar o efeito da utilização de diferentes estruturas de matriz de parentesco (**A** ou **H**) sobre a estimação de parâmetros genéticos e acurácia de valores genéticos para características de carcaça medidas *in vivo* em ovinos Santa Inês. Foram utilizadas 977, 890, 894 e 882 observações de área de olho de lombo (AOL), marmoreio de olho de lombo (MOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e circunferência da perna (PER), respectivamente. Um total de 1.637 indivíduos foi incluído na matriz dos numeradores de parentesco (**A**). Um total de 389

indivíduos com informação de fenótipo foram genotipados com o painel Ovine SNP50 BeadChip (Illumina, Inc., San Diego, CA). Após o controle de qualidade dos dados genômicos, foram utilizados 42.748 SNPs e 388 amostras para as análises posteriores. Os componentes de (co)variância foram estimados inferência Bayesiana por meio de análises uni e multicaracterísticas, com utilização de modelo animal com a matriz **A** ou a combinação desta com a matriz de parentesco genômico (**G**), ou seja, matriz **H**. Para comparação da eficiência da inclusão de informação genômica nos modelos foram utilizadas a acurácia teórica dos valores genéticos, correlação de Pearson entre valores genéticos preditos (com ou sem informação genômica) e correlação de rank de Spearman. As estimativas de herdabilidade obtidas com os dois modelos variaram de $0,12 \pm 0,06$ (EGS, usando a matriz **A**), a $0,29 \pm 0,07$ (AOL, com uso da matriz **H**), nas análises unicaracterísticas, e de $0,17 \pm 0,05$ (EGS, com uso de **A**), a $0,33 \pm 0,07$ (AOL, com uso de **H**), em análises multicaracterísticas. De modo geral, as estimativas de variância genética aditiva direta e herdabilidade foram superiores nos modelos com uso de informação genômica. Isso demonstra a importância da inclusão de informação genômica em programas de melhoramento genético de ovinos e irá favorecer a seleção para as características em estudo, em ovinos Santa Inês. Foi observada correlação genética alta desfavorável entre AOL e SFT. As estimativas de acurácia teórica de valores genéticos foram superiores quando a informação genômica foi incluída no modelo, em todos os cenários. Os ganhos em acurácia de valor genético variaram de 0,013 a 0,039 unidades com a inclusão de informação genômica. Se disponíveis, informações genômicas devem ser incluídas nas análises para a estimação de parâmetros genéticos e valores genéticos para características de carcaça medidas *in vivo* em ovinos Santa Inês. Isto irá acelerar o progresso genético para características de carcaça em ovinos Santa Inês.

Palavras-chave: Acurácia teórica, *Longissimus dorsi*, Ovinos deslanados, Parâmetros genômicos, ssGBLUP

Genetic evaluation of Tropical climate-adapted sheep for carcass traits including genomic information

ABSTRACT

Santa Inês is a locally adapted hair sheep breed that is under large expansion in Brazil and other Tropical countries. This study aimed to evaluate the effect of using different

structures of relationship matrices (**A** or **H**) on the estimation of genetic parameters and accuracy of breeding values for carcass traits measured *in vivo* in Santa Inês sheep. A total of 977, 890, 894, and 882 records for loin eye area (LEA), marbling score (MLE), subcutaneous fat thickness (SFT), and leg circumference (LEC), respectively, were included in this study. There were 1,637 animals in the numerator relationship matrix (**A**). A total of 389 animals with phenotypic information were genotyped using the OvineSNP50 BeadChip (Illumina, Inc., San Diego, CA). After the genotyping quality control, 388 samples and 42,748 SNPs remained in the dataset. The (co)variance components were estimated via Bayesian inference through single- and multi-trait analyses using the animal model with either the **A** matrix or combining the genomic (**G**) and **A** matrices (i.e. **H**). The theoretical accuracies of estimated breeding values, Pearson correlation between breeding values estimated including or not genomic information, and Spearman rank correlation were used to compare the feasibility of incorporating genomic information in the analyses. Heritability estimates obtained using both models ranged from 0.12 ± 0.06 (SFT, using the **A** matrix) to 0.29 ± 0.07 (LEA, using the **H** matrix), in the single-trait analyses, and from 0.17 ± 0.05 (SFT, using the **A** matrix) to 0.33 ± 0.07 (LEA, using the **H** matrix), in a multi-trait setting. In general, direct genetic additive variance and heritability estimates were higher when including genomic information. These findings highlight the importance of including genomic information in sheep breeding programs and will help in the selection process for these traits in the Santa Inês sheep. Unfavorable and high genetic correlation was observed between LEA and SFT. The estimates of theoretical accuracy of breeding values were higher in all the scenarios when genomic information was incorporated in the model. Gains in breeding value accuracy ranged from 0.013 to 0.039 units when genomic information was included in the analyses. If available, genomic information should be incorporated in the estimation of genetic parameters and breeding values for carcass traits measured *in vivo* in Santa Inês sheep. This will fastener genetic progress for carcass traits in Santa Inês sheep.

Keywords: Genomic parameters, Hair sheep, *Longissimus dorsi*, Santa Inês sheep, ssGBLUP

1. Introdução

A carne ovina atualmente é a quarta carne mais consumida mundialmente (FAO, 2019), com maior importância em países em desenvolvimento e áreas geográficas com ambientes mais rigorosos (regiões áridas e quentes, por exemplo). Neste contexto, a ovinocultura de corte no Brasil aumentou substancialmente ao longo das últimas décadas e está contribuindo de maneira importante para melhorar a competitividade do setor de produção de proteína animal no país (Lucena et al., 2018). Para tornar a indústria de carne ovina competitiva com cadeias produtivas mais organizadas (por exemplo, bovinos de corte, suínos e aves), é importante melhorar geneticamente características ligadas à musculabilidade e deposição de gordura na carcaça (diretamente associada à qualidade de carne, principalmente gordura intramuscular) para melhorar a experiência alimentar do consumidor (Brito et al., 2017a).

Uma importante alternativa para produção de carne ovina no Brasil é a criação de raças mais adaptadas ao clima tropical e ambientes áridos, como os ovinos Santa Inês, que é uma raça ovina deslanada desenvolvida localmente (McManus et al., 2011). Esta raça foi originada na região Nordeste do Brasil a partir de cruzamentos intercorrentes das raças Somalis Brasileira, Bergamácia, Morada Nova e ovinos Sem Raça Definida (ARCO, 2018). Devido a seu notável tamanho corporal, taxa de crescimento e adaptabilidade, a raça Santa Inês se expandiu ao longo do tempo e é atualmente criada para a produção de carne em outros países da América do Sul, México e África do Sul (Santana Jr et al., 2013). Contudo, ainda não há programas de melhoramento genético direcionados para avaliação genética de ovinos Santa Inês que incluam avaliações genômicas rotineiras (Rego Neto et al., 2018; Lobo, 2019).

A avaliação genética de animais de produção depende de estimativas acuradas de parâmetros genéticos, os quais são específicos de cada população. A acurácia dessas estimativas depende, principalmente, do número de informações utilizadas, qualidade do pedigree, modelo estatístico e método de estimação dos componentes de (co)variância (Sarmiento et al., 2006). Neste sentido, a utilização de modelos multicaracterísticas possibilita a obtenção de valores oriundos da relação entre animais nas diferentes características. Isto pode contribuir para resgatar maior proporção da variância genética aditiva dos fenótipos, principalmente quando há inclusão de informação genômica (Gordo et al., 2016).

A utilização da matriz de parentesco genômico (**G**) combinada com a matriz de de numeradores de parentesco (**A**), com uso do método *single-step* GBLUP (Legarra et al., 2009; Misztal et al., 2009; Aguilar et al., 2010; Christensen e Lund, 2010), poderá melhorar a estimação de componentes de (co)variância e parâmetros genéticos, assim como favorecer a seleção para a melhoria de características de carcaça. Aliado a isso, é importante a mensuração precisa da composição da carcaça, que pode ser realizada de forma eficiente com uso da ultrassonografia em tempo real (Emenheiser et al., 2010) e perímetro (circunferência) da perna (Araújo et al., 2015).

Ainda não há na literatura resultados sobre avaliação genética de ovinos da raça Santa Inês para características de carcaça obtidas por ultrassonografia em tempo real com uso de informação genômica. Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da utilização da matriz **A** e da matriz híbrida (**H**), que combina as matrizes **A** e **G**, sobre a estimação de parâmetros genéticos e acurácia teórica de valores genéticos para características de carcaça mensuradas *in vivo* em ovinos da raça Santa Inês.

2. Material e métodos

Os dados utilizados no estudo pertencem ao projeto Estudo genômico aplicado ao melhoramento genético de ovinos Santa Inês para características de carcaça, nº 340/17 e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI), da Universidade Federal do Piauí, que integra o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA) do CNPq, coordenado pela Universidade Federal de Viçosa.

2.1. População amostrada

O arquivo de dados de pedigree incluiu 1.637 animais, dos quais 206 indivíduos eram pais e 713 eram mães. A profundidade do pedigree utilizado foi de oito gerações, em que 933 indivíduos tinham informação de pai e mãe, 40 indivíduos tinham apenas mãe conhecida e 664 não tinham ancestrais conhecidos. As coletas de dados foram realizadas em 18 fazendas localizadas na subregião Meio-Norte do Brasil (estados do Piauí e Maranhão), em animais registrados junto à Associação Brasileira de Criadores de Ovinos (ARCO) ou pertencentes ao núcleo de conservação de caprinos e ovinos da Embrapa Meio-Norte (Campo Maior, Piauí).

Os dados fenotípicos utilizados na pesquisa foram coletados entres os anos de 2012 e 2018. Os animais utilizados no estudo eram criados em sistema semi-intensivo,

em que recebiam suplemento nutricional em época de escassez de pastagem. Este sistema apresentou pequenas diferenças entre as fazendas ao longo do período de coleta, mas estes efeitos foram considerados nos modelos estatísticos.

2.2. Dados fenotípicos

As características de carcaça mensuradas sobre o músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12^a e 13^a vértebras lombares, com uso de ultrassonografia em tempo real foram: área de olho de lombo (AOL, cm²); espessura de gordura subcutânea (EGS, mm); e escore de marmoreio do olho de lombo (MOL). MOL foi coletado com base em notas (escore) de 0 a 6, de acordo com a disposição quantitativa de gordura intramuscular presente no músculo *L. dorsi*, em que 0 - ausente, 1 - traços, 2 - pouco, 3 - regular; 4 - muito, 5 - moderadamente excessivo e 6 - excessivo. As notas 4 (12,6%), 5 (1,5%) e 6 (0,0%) foram agrupadas na categoria 4, devido às baixas frequências destas categorias. A circunferência da perna (PER, cm) foi mensurada com uso de fita métrica na parte intermediária entre os ossos do jarrete (tarso) e ísquio, próximo à parte distal do fêmur (região tibiofemural), na perna direita.

As medidas de carcaça obtidas por ultrassonografia foram aferidas por um técnico treinado, com uso de um aparelho de ultrassom equipado com transdutor linear de 3,5 MHz. Para a obtenção das imagens, cada animal foi contido individualmente e imobilizado para evitar movimentos laterais. Em seguida, foi realizada a limpeza da pele do indivíduo e, com auxílio de pente, foi feita a separação de pelos na região anatômica indicada para a mensuração (perpendicular ao comprimento do músculo *Longissimus dorsi*), no lado esquerdo do corpo do animal. Logo após, foi aplicado gel incolor específico para ultrassonografia no local, sobre o qual foi posicionado o transdutor. A leitura das medidas (AOL, MOL e EGS) coletadas em cada animal foi realizada no momento da coleta, após congelamento da imagem pelo operador do aparelho de ultrassom.

2.3. Dados genômicos

As amostras de sangue utilizadas para a extração do DNA foram coletadas diretamente na veia jugular dos animais, após a realização da higienização da região anatômica, com auxílio de agulha acoplada diretamente em tubos a vácuo contendo anticoagulante EDTA. A extração de DNA foi realizada com o Kit DNeasy *Blood &*

Tissue da QIAGEN (protocolo estabelecido pelo fabricante). A qualidade do DNA foi verificada em gel de agarose a 1%, em tampão SB 1x, por 60 minutos a 60V. Os géis foram digitalizados e visualizados em fotodocumentador L-PIX (Loccus Biotecnologia, Cotia, SP, Brazil). A quantificação do DNA foi realizada por meio de Fluorespectofotômetro NanoDrop 3300, com o kit Intercalante AccuBlue® Broad Range dsDNA (Biotium Inc., Fremont, CA, EUA). O DNA obtido após extração foi estocado em freezer a -20°C no Laboratório de Genética Animal do Departamento de Zootecnia da UFPI, até o envio para a genotipagem.

Um total de 389 amostras de DNA foi genotipado com o painel Ovine SNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, EUA), que contém 54.241 SNPs uniformemente espaçados nos cromossomos do genoma ovino. Neste estudo, as coordenadas cromossômicas para cada SNP foram utilizadas de acordo com o *assembly* do genoma ovino Oar_v4.0.

2.4. Edição e controle de qualidade dos dados fenotípicos e genômicos

Em análise preliminar para edição e consistência dos dados fenotípicos, foram mantidos para as análises subsequentes apenas animais com informação de ano de nascimento, fazenda, sexo e idade no dia da coleta. Os animais foram designados em grupos de contemporâneos constituídos pelos efeitos de sexo do animal (1 = macho e 2 = fêmea), período de coleta (1 = coletas realizadas de janeiro a maio – estação chuvosa; e 2 = coletas realizadas de junho a dezembro – estação seca), ano de coleta (2012, 2013, 2014, 2017 e 2018) e fazenda (1 a 18). A idade do animal no momento da coleta foi utilizada como co-variável (efeito linear). Após o procedimento para edição e consistência dos dados fenotípicos, apenas observações de grupos contemporâneos com no mínimo dois animais foram mantidas. Amostras com valores acima ou abaixo de três desvios padrão da média de cada grupo contemporâneo foram removidas. No total, 977, 890, 894 e 882 observações de AOL, MOL, EGS e PER, respectivamente, foram utilizadas para as análises estatísticas.

O controle de qualidade de dados genômicos foi realizado com uso do software PREGSF90 (Misztal et al., 2018). Foram removidos SNPs localizados em posições genômicas desconhecidas ($n = 682$), ou em cromossomos sexuais ($n = 1.472$) e DNA mitocondrial ($n = 3$). Marcadores com *Minor Allele Frequency* (MAF) menor que 0,05 ($n = 5.009$), *Call Rate* menor que 0,95 ($n = 4.319$) e desvio extremo do equilíbrio de

Hardy-Weinberg ($P < 10^{-6}$, $n = 8$) também foram removidos. Além disso, foi eliminada uma amostra com *Call Rate* menor que 0,90. Após o controle de qualidade, restaram para as análises informações de 42.748 SNPs e 388 amostras.

2.5. Análises genético-quantitativas

Os componentes de (co) variância foram estimados via inferência Bayesiana, por meio de análises uni e multicaracterísticas, usando modelo animal pelos métodos BLUP tradicional e *single-step genomic* BLUP (ssGBLUP). Foram utilizados os programas GIBBS1F90 (Misztal et al., 2018), para características lineares, e THRGIBBS1F90 (Misztal et al., 2018), para análise de dados categóricos e análises multicaracterísticas. As análises multicaracterísticas foram realizadas com todas as características simultaneamente, com uso de AOL como âncora. Para as estimativas da distribuição *a posteriori* dos componentes de (co) variância nos diferentes cenários foi utilizado o programa POSTGIBBSF90 (Misztal et al., 2018), que permite verificar a convergência da cadeia de Monte Carlo por meio de análises gráficas, diagnóstico de Geweke (Geweke, 1992) e erro de Monte Carlo (Sorensen e Gianola, 2002). Foi utilizada uma cadeia de 1.000.000 de ciclos, com descarte inicial de 200.000 (*burn-in*) e intervalo de amostragem (*thinning interval*) a cada 100 ciclos, totalizando 8.000 amostras para cada análise (uni e multicaracterística), a partir das quais as inferências foram realizadas. Em seguida, os desvios-padrão *a posteriori* foram calculados para cada estimativa.

As estimativas de componentes de (co)variância obtidas nas análises unicaracterísticas foram utilizadas como valores *a priori* para predição dos valores genéticos (genômicos) com uso do software BLUPF90 (Misztal et al., 2018).

O modelo geral utilizado pode ser descrito como:

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

em que: \mathbf{y} é o vetor de observações para cada característica; $\boldsymbol{\beta}$ é o vetor de efeitos fixos (grupo contemporâneo e idade como co-variável); $\boldsymbol{\alpha}$ é o vetor de efeitos genéticos aditivos diretos, em que $\boldsymbol{\alpha} \sim N(0, \mathbf{G})$, com $\mathbf{G} = \mathbf{A}\sigma_a^2$, em modelos unicaracterística, na abordagem baseada no pedigree, e $\boldsymbol{\alpha} \sim N(0, \mathbf{H}\sigma_a^2)$, na abordagem genômica, em que σ_a^2 é a variância genética aditiva, \mathbf{A} é a matriz de numeradores de parentesco e \mathbf{H} é a matriz de parentesco que combina informações de parentesco baseadas no pedigree e em dados genômicos; \mathbf{X} é a matriz de incidência dos efeitos fixos; \mathbf{Z} é a matriz de incidência dos

efeitos genéticos aditivos; e \mathbf{e} é o vetor de efeitos residuais, em que $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{R})$, com $\mathbf{R} = \mathbf{I}\sigma_e^2$, em modelos unicaracterística.

Para modelos multicaracterísticas, $\mathbf{G} = \mathbf{A} \otimes \mathbf{G}_0$ and $\mathbf{R} = \mathbf{I} \otimes \mathbf{R}_0$. Portanto, para as análises multicaracterística a estrutura de covariância entre as características foi modelada como:

$$\text{Var} \begin{bmatrix} \alpha \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{A} \otimes \mathbf{G}_0 & 0 \\ 0 & \mathbf{I} \otimes \mathbf{R}_0 \end{bmatrix}$$

em que

$$\mathbf{G}_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{\alpha 1}^2 & \sigma_{\alpha 1 \alpha 2} & \sigma_{\alpha 1 \alpha 3} & \sigma_{\alpha 1 \alpha 4} \\ & \sigma_{\alpha 2}^2 & \sigma_{\alpha 2 \alpha 3} & \sigma_{\alpha 2 \alpha 4} \\ & & \sigma_{\alpha 3}^2 & \sigma_{\alpha 3 \alpha 4} \\ & \text{simétrico} & & \sigma_{\alpha 4}^2 \end{bmatrix}$$

é a matriz de (co) variância entre as características devido aos efeitos aditivos genéticos de animal,

$$\mathbf{R}_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{e 1}^2 & \sigma_{e 1 e 2} & \sigma_{e 1 e 3} & \sigma_{e 1 e 4} \\ & \sigma_{e 2}^2 & \sigma_{e 2 e 3} & \sigma_{e 2 e 4} \\ & & \sigma_{e 3}^2 & \sigma_{e 3 e 4} \\ & \text{simétrico} & & \sigma_{e 4}^2 \end{bmatrix}$$

é a matriz de (co)variância entre as características devido aos efeitos residuais, \mathbf{I} é a matriz identidade ($N \times N$, em que N representa o número de observações para cada característica) e \otimes é o operador do produto Kronecker.

Para a inclusão de informação genômica nos modelos com utilização do método ssGBLUP, a inversa da matriz \mathbf{A} (\mathbf{A}^{-1}) foi substituída pela inversa da matriz \mathbf{H} (\mathbf{H}^{-1}), de modo que \mathbf{H}^{-1} foi calculada de acordo com Aguilar et al. (2010), como:

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

em que \mathbf{A}^{-1} é a inversa da matriz de parentesco baseada na informação de *pedigree*, \mathbf{G}^{-1} é a inversa da matriz de parentesco genômico e \mathbf{A}_{22}^{-1} é a inversa da matriz de parentesco baseada no *pedigree* apenas para animais genotipados. Para o cálculo de \mathbf{G} , α e β foram fixados em 0,95 e 0,05, respectivamente, que são os valores padrão (*default*) do

programa PREGSF90 (Misztal et al., 2018) para criar uma matriz \mathbf{G} ponderada como $0,95\mathbf{G}_b + 0,05\mathbf{A}_{22}$ (para evitar problemas de singularidade), em que \mathbf{G}_b foi criada usando o primeiro método descrito por VanRaden (2008), como:

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

em que \mathbf{M} é uma matriz com m colunas (m = total de marcadores) e n linhas (n = total de animais genotipados), que especifica quais alelos do marcador cada indivíduo herdou; e \mathbf{P} é uma matriz que contém a frequência do segundo alelo (p_j), expressa como $2p_j$. \mathbf{M}_{ij} é assumido como 0 se o genótipo do indivíduo i para o SNP j é homozigoto para o primeiro alelo, 1 se o genótipo é heterozigoto, e 2 se o genótipo é homozigoto para o segundo alelo. As frequências alélicas observadas foram utilizadas.

As acurácias teóricas dos valores genéticos para análises uni e multicaracterísticas, com uso de ambas as matrizes de parentesco (\mathbf{A} e \mathbf{H}), foram calculada usando os erros padrão da predição (SEP) estimados a partir da inversa das equações de modelos mistos, como $\text{Acc}_{ij} = 1 - \sqrt{(\text{PEV}_{ij} / \sigma_{a_j}^2)}$, em que PEV_{ij} (variância do erro de predição) é equivalente a SEP_{ij}^2 , sendo que SEP_{ij} é o erro padrão de predição liberado na saída do programa BLUPF90 para o valor genético (genômico) estimado ((G)EBV) do animal i para a característica j e $\sigma_{a_j}^2$ é a variância genética aditiva da característica j . A acurácia teórica é baseada na pressuposição de que o modelo estatístico utilizado é o modelo genético verdadeiro (Mrode et al., 2019).

As correlações de Pearson entre os EBVs obtidos com uso dos diferentes métodos em estudo foram calculadas. Além disso, os coeficientes de correlação de Spearman entre a classificação de cada animal foram calculados para investigar se alterações na classificação dos animais com base nos valores genéticos preditos com uso dos métodos BLUP e ssGBLUP, em análises unicaracterísticas. A correlação de Spearman é dada como:

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

em que: ρ é o Coeficiente de Correlação de Spearman; d_i^2 é a diferença entre as ordenações; e n é o número de pares de ordenações.

3. Resultados

3.1. Estatística descritiva dos dados fenotípicos

O número de observações utilizadas para as análises variou de 882 para PER a 977 para AOL (Tabela 1). Os maiores valores de coeficientes de variação (CV) foram observados para as características mensuradas por ultrassonografia, as quais estão mais sujeitas a variação em função de fatores como nutrição e idade dos animais, dentre outros fatores, em comparação à circunferência da perna.

Tabela 1 Estatística descritiva para características de carcaça mensuradas *in vivo* em ovinos Santa Inês.

Característica	N	Média	DP	CV%	Mínimo	Máximo
AOL (cm ²)	977	8,99	3,11	34,58	2,55	23,07
MOL (escore)	890	2,12	1,20	56,52	0,00	4,00
EGS (mm)	894	1,69	1,04	61,14	0,00	6,55
PER (cm)	882	38,76	4,42	11,41	22,00	55,00

AOL: área de olho de lombo; MOL: escore de marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

3.2. Estimativas de herdabilidade

As estimativas de herdabilidade (h^2) variaram de baixa a moderada magnitude, em que o valor mais baixo foi obtido para EGS ($0,12 \pm 0,06$), em análise unicaracterística com uso de matriz de parentesco tradicional (**A**), enquanto que a maior estimativa foi obtida para AOL ($0,33 \pm 0,07$), em análise multicaracterística com uso da matriz **H** (Tabela 2). Para fins de comparação, as estimativas de herdabilidade foram classificadas como baixa ($<0,15$), moderada ($0,15$ a $0,35$) e alta ($>0,35$). Nas análises unicaracterísticas e multicaracterísticas, as estimativas de variância genética aditiva foram superiores quando foi utilizada informação genômica, para todas as características. Em geral, as estimativas de variância residual foram menores em cenários em que **H** foi utilizada, em comparação àqueles em que foi utilizada a matriz **A**. As estimativas de variância ambiental foram menores em todos os cenários em que

houve inclusão de informação genômica, em relação aos cenários com utilização da matriz de parentesco baseada apenas no pedigree.

Tabela 2 Estimativas de componentes de variância e herdabilidade para características de carcaça em ovinos Santa Inês com uso de diferentes matrizes de parentesco.

Característica	Unicaracterística			Multicaracterística		
	σ_a^2	σ_e^2	$h^2 \pm \text{DPP}$	σ_a^2	σ_e^2	$h^2 \pm \text{DPP}$
A						
AOL (cm ²)	1,45	4,09	0,26 ± 0,07	1,59	4,03	0,28 ± 0,07
MOL (escore)	0,12	0,61	0,16 ± 0,08	0,11	0,49	0,18 ± 0,07
EGS (mm)	0,08	0,61	0,12 ± 0,06	0,12	0,58	0,17 ± 0,05
PER (cm)	2,18	11,52	0,16 ± 0,07	2,91	11,34	0,20 ± 0,06
H						
AOL (cm ²)	1,64	3,97	0,29 ± 0,07	1,90	3,84	0,33 ± 0,07
MOL (escore)	0,15	0,58	0,21 ± 0,09	0,14	0,47	0,23 ± 0,08
EGS (mm)	0,14	0,55	0,20 ± 0,07	0,14	0,56	0,20 ± 0,04
PER (cm)	2,54	11,26	0,18 ± 0,07	3,55	10,88	0,25 ± 0,07

AOL: área de olho de lombo; MOL: marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna; σ_a^2 : variância genética aditiva; σ_e^2 : variância ambiental; h^2 : herdabilidade; **A**: matriz de numeradores do coeficiente de parentesco; **H**: matriz genômica combinada com a matriz de parentesco tradicional. DPP: desvio padrão *a posteriori*.

3.3. Estimativas de correlação genética

As correlações genéticas entre as características em estudo foram todas positivas, variando de $0,14 \pm 0,25$ (MOL x PER, com uso da matriz **A**) a $0,98 \pm 0,02$ (AOL x EGS, com uso da matriz **H**) (Tabela 3). As estimativas de correlação genética foram geralmente maiores quando houve inclusão de informação genômica. Apenas a estimativa de correlação entre AOL e PER diminuiu quando obtida com uso da matriz **H**. Para fins de interpretação, as estimativas de correlação genética foram classificadas como baixa (<0,60), moderada (0,60 a 0,80) e alta (>0,80). As estimativas de correlação genética entre as características mensuradas com uso de ultrassonografia apresentaram magnitudes de moderada a alta, independente da inclusão de informação genômica. Por outro lado, PER apresentou correlação baixa com as demais características, em ambos os cenários investigados.

Tabela 3 Estimativas de correlação genética entre características de carcaça mensuradas *in vivo* em ovinos Santa Inês com uso de diferentes matrizes de parentesco.

Característica	MOL \pm DPP	EGS (mm) \pm DPP	PER (cm) \pm DPP
A			
AOL (cm ²)	0,64 \pm 0,16	0,95 \pm 0,03	0,42 \pm 0,19
MOL (escore)		0,73 \pm 0,14	0,14 \pm 0,25
EGS (mm)			0,21 \pm 0,23
H			
AOL (cm ²)	0,72 \pm 0,13	0,98 \pm 0,02	0,38 \pm 0,18
MOL (escore)		0,79 \pm 0,10	0,38 \pm 0,21
EGS (mm)			0,51 \pm 0,16

AOL: área de olho de lombo; MOL: marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna. **A**: matriz de numeradores do coeficiente de parentesco; **H**: matriz genômica combinada com a matriz de parentesco tradicional. DPP: desvio padrão *a posteriori*.

3.4. Acurácias de valores genéticos

As estimativas de acurácia teórica de valores genéticos com uso do método ssGBLUP (matriz **H**), em modelos uni e multicaracterística, foram maiores do que as estimativas obtidas com uso da matriz de parentesco tradicional (Tabela 4).

Tabela 4 Estimativas de acurácia média para valores genéticos de ovinos Santa Inês avaliados para características de carcaça com uso de diferentes matrizes de parentesco.

Característica	A		H		GAU	GAM	EF (%)
	UNI	MULTI	UNI	MULTI			
AOL	0,127	0,142	0,142	0,166	0,015	0,024	14,70
MOL	0,079	0,102	0,096	0,131	0,017	0,029	26,67
EGS	0,057	0,138	0,096	0,167	0,039	0,029	42,52
PER	0,075	0,099	0,088	0,121	0,013	0,022	27,02

AOL: área de olho de lombo; MOL: marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna. UNI: análise unicaracterística; MULTI: análise multicaracterística; **A**: matriz de numeradores de parentesco; **H**: matriz genômica combinada com a matriz **A**. GAU: ganho em acurácia em análises unicaracterística com inclusão de informação genômica; GAM: ganho em acurácia em análises multicaracterísticas com inclusão de informação genômica; EF: eficácia da inclusão de informação genômica em modelo multicaracterístico em comparação a modelo unicaracterístico com informação genômica.

As acurácias mais altas foram estimadas em modelos multicaracterística, como esperado. Os ganhos em acurácia, quando comparadas às análises genômicas uni e multicaracterísticas, variaram de 14,70 (AOL) a 42,52% (EGS).

3.5. Valores genéticos e classificação dos animais

As correlações entre valores genéticos preditos com uso de BLUP e ssGBLUP, assim como as correlações de Spearman entre as classificações dos animais de acordo com o valor genético predito por ambos os métodos apresentaram magnitude moderada (Figura 1). As correlações de Spearman variaram de 0,65 (para EGS) a 0,68 (para AOL e MOL), enquanto que as correlações de Pearson entre (G)EBVs foram 0,78 (AOL), 0,77 (MOL), 0,75 (EGS) e 0,77 (PER).

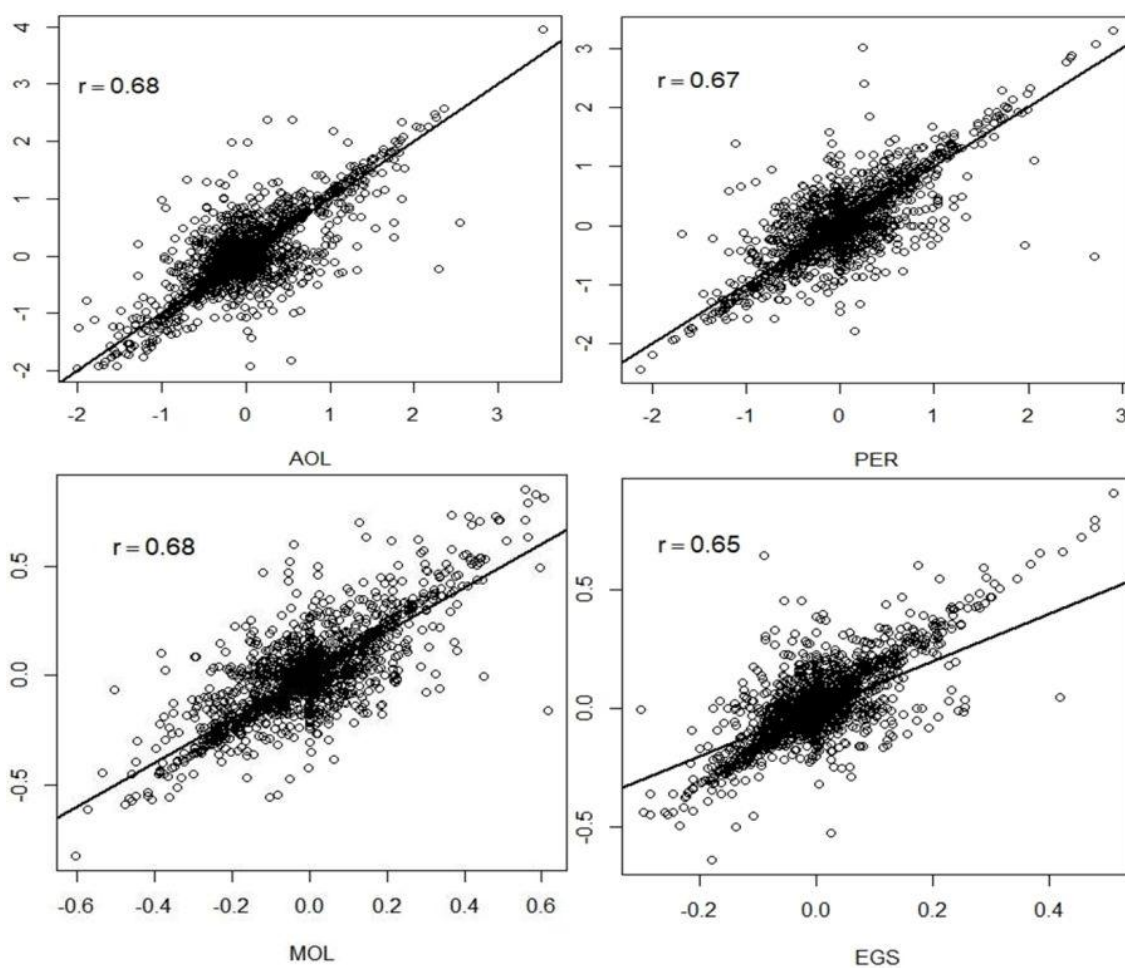


Figura 1 Valores genéticos obtidos com BLUP tradicional (eixo x) e *single-step* GBLUP (eixo y), e correlação de ordem de Spearman (r) para área de olho (AOL), escore de marmoreio de olho de lombo (MOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) e circunferência da perna (PER) mensurados *in vivo* em ovinos da raça Santa Inês.

4. Discussão

4.1. Estimativas de herdabilidade

O aumento observado nas estimativas de variância genética aditiva para as características em estudo nos diferentes cenários com inclusão de informação genômica já era esperado. Na avaliação de características com poucas observações (bancos de dados pequenos), como no presente estudo, o método ssGBLUP tende a detectar maior proporção da variância genética aditiva comparado ao método BLUP (Kluska et al., 2018). Esse aumento na proporção de variância detectada com inclusão de informação genômica na matriz de parentesco ocorre devido à correção de erros de pedigree antes da construção das matrizes de parentesco. Isso pode influenciar na estimação da variabilidade genética para características de carcaça (Gordo et al., 2016). Em bovinos de corte, são relatadas estimativas de variância aditiva e herdabilidade geralmente maiores para características de carcaça incluindo informação genômica, com uso do método ssGBLUP, em comparação ao método BLUP (Onogi et al., 2014; Gordo et al., 2016; Kluska et al., 2018).

Os valores de h^2 para AOL obtidos com uso apenas da matriz **A** (Tabela 2) foram inferiores ao valor relatado (0,31) por Figueiredo Filho et al. (2016) e superiores ao encontrado (0,20) por Sena et al. (2016), ambos utilizando análises unicaracterísticas em trabalhos com ovinos Santa Inês, com uso da matriz de parentesco baseada no pedigree (**A**). As diferentes estimativas provavelmente são devido ao diferente número de informações (fenótipo e pedigree) em cada trabalho e a particularidades nas análises estatísticas. Há poucos resultados disponíveis na literatura sobre estimativas de herdabilidade para área de olho de lombo mensurada *in vivo* em outras raças ovinas e os estudos geralmente mostram estimativas que variam de baixa a moderada magnitude. Em um estudo de revisão, Safari et al. (2005) relataram estimativas médias de h^2 para AOL mensurada por ultrassonografia entre $0,12 \pm 0,02$ e $0,14 \pm 0,01$ em diferentes raças, com base em resultados de estudos publicados em um período de 10 anos. Na raça ovina Texel, Ciappesoni et al. (2014) relataram h^2 de $0,19 \pm 0,05$, enquanto que Kiya et al. (2019) observaram o valor de herdabilidade $0,07 \pm 0,03$ para AOL em ovinos Dorper.

Para MOL, os valores de h^2 encontrados no presente estudo são menores do que alguns relatados na literatura para características que representam a qualidade de carne em ovinos. Brito et al. (2017a) e Mortimer et al. (2014) encontraram h^2 de $0,30 \pm 0,03$ (score de marmoreio) e $0,48 \pm 0,05$ (porcentagem de gordura intramuscular), respectivamente, em ovinos de diferentes raças. Esses autores coletaram as medidas diretamente na carcaça, após abate, com uso de diferentes metodologias e modelos estatísticos. Em ovinos Santa Inês, Figueiredo Filho et al. (2017) obtiveram h^2 de 0,66 para marmoreio de olho de lombo obtido com uso de ultrassom em tempo real.

As estimativas para EGS no presente estudo, em análises uni ($0,12 \pm 0,06$) e multicaracterística ($0,17 \pm 0,05$), ambos considerando a matriz **A**, foram superiores ao relatado (0,11) por Figueiredo Filho et al. (2016), em análise unicaracterística, em ovinos Santa Inês. Por outro lado, os autores supracitados relataram maiores estimativas de h^2 (0,29) em análise multicaracterística. Fernandes et al. (2004) obtiveram herdabilidade de $0,35 \pm 0,04$ para espessura de gordura mensurada com uso de ultrassom em tempo real em ovinos de rebanhos multirraciais ($n = 3.483$). Mortimer et al. (2010) obtiveram h^2 de $0,15 \pm 0,03$ para EGS, em estudo envolvendo diferentes raças ovinas australianas ($n = 6.768$). Brito et al. (2017a) relataram estimativa de herdabilidade de $0,28 \pm 0,03$ para espessura de gordura mensurada por ultrassom em raças ovinas compostas na Nova Zelândia. Brito et al. (2017b) encontraram h^2 de $0,28 \pm 0,01$ para EGS mensurada por ultrassonografia *in vivo* em ovinos de raça composta, na Nova Zelândia, com uso de informação genômica de 14.845 animais genotipados com um painel de SNPs de alta densidade (~606.000 SNPs). Apesar dos resultados similares relatados por Brito et al. (2017a, 2017b), é importante notar que houve aumento na precisão das estimativas de herdabilidade para espessura de gordura no estudo em que foram incluídas informações genômicas. No presente estudo, foi observado aumento nos valores de h^2 para AOL e EGS com inclusão de informação genômica. Em bovinos da raça Nelore, Gordo et al. (2016) também relataram estimativas de herdabilidade superiores para essas características com uso de informação genômica, em relação aos valores obtidos com uso apenas da matriz de numeradores do coeficiente de parentesco.

São escassos os relatos de estimativas de parâmetros genéticos para perímetro (circunferência) da perna em pequenos ruminantes. Não foram encontrados na literatura resultados de herdabilidade para esta característica em ovinos Santa Inês. Em um estudo com uso de informações de uma população multirracial de ovinos, Brito et al. (2017a) relataram herdabilidade de $0,25 \pm 0,03$ para a circunferência da perna mensurada na

região das nádegas *post mortem* (n = 14.366). Jafari e Hashemi (2014) relataram herdabilidade de 0,02 para circunferência da perna (n = 2.144) mensurada na perna direita traseira, em ovinos da raça Makuie. Em um estudo com ovinos da raça Moghani (n = 15.115), Bakhshalizadeh et al. (2016) relataram estimativas de herdabilidade direta para circunferência da perna variando de 0,12 a 0,37, quando diferentes modelos foram testados usando metodologia REML (Máxima Verossimilhança Restrita). Por outro lado, Hossein-Zadeh e Ghahremani (2018) relataram herdabilidade de $0,07 \pm 0,02$ para circunferência da perna (n = 2.387) utilizando metodologia Bayesiana em outro estudo em ovinos Moghani. Em caprinos da raça Beetal, Waheed e Khan (2011) relataram h^2 de $0,04 \pm 0,00$ para perímetro da coxa (n = 127). Em caprinos Anglo-Nubiano, Figueiredo Filho et al. (2018) relataram estimativa de herdabilidade de 0,41 (n = 385) para esta característica, com intervalo de confiança variando de 0,16 a 0,47. Nestes estudos foram utilizadas apenas informações fenotípicas e de pedigree.

As diferentes estimativas de herdabilidade para características semelhantes em diferentes estudos são devidas a propriedades específicas de cada população avaliada, mesmo dentro de uma mesma raça e espécie. Além disso, o uso de diferentes procedimentos para mensuração dos fenótipos e diferentes metodologias estatísticas podem gerar diferentes resultados, inclusive em uma mesma população. Como exemplo, podemos mencionar os diferentes resultados encontrados no presente estudo entre as diferentes análises quando a informação genômica foi incluída ou não. Isto destaca a importância da avaliação contínua da herdabilidade para diferentes características em uma população específica ao longo do tempo e entre populações.

4.2. Estimativas de correlações genéticas

As correlações positivas de magnitudes moderada a alta entre as medidas de ultrassonografia em tempo real (AOL, MOL e EGS), com uso das matrizes **A** ou **H** (Tabela 3), sugerem que a seleção para qualquer uma destas características poderá resultar em melhoramento genético indireto nas demais características mensuradas sobre o músculo *Longissimus dorsi*. As estimativas de correlação genética entre AOL e MOL são favoráveis, pois estas sugerem que aumento na musculabilidade poderá resultar em aumento considerável na suculência da carne, o que é um atributo de qualidade alimentar que influencia positivamente a preferência do consumidor pela carne ovina (Font-i-Furnols e Guerrero, 2014). Em muitos países desenvolvidos, o grau de

marmoreio é o principal índice de avaliação de notas para qualidade de carne, de modo que, frequentemente há uma correlação muito alta entre escore de marmoreio e preço (Cheng et al., 2015).

Contudo, as correlações de magnitudes moderada a alta entre EGS e MOL ($0,73 \pm 0,14$ e $0,79 \pm 0,10$) e entre EGS e AOL ($0,95 \pm 0,03$ e $0,98 \pm 0,02$) nos diferentes cenários são desfavoráveis, pois na ovinocultura de corte, há um interesse em reduzir a espessura de gordura, mas aumentar ou manter altos níveis de gordura intramuscular (marmoreio). Assim, do ponto de vista da aceitação da carne ovina pelo consumidor, as correlações mencionadas acima podem representar um cenário complicado, já que a seleção para maior rendimento de carne magra por meio da redução de gordura pode afetar de forma adversa aspectos de qualidade de consumo da carne ovina (Pannier et al., 2014; Brito et al., 2017b). Portanto, características de carcaça e qualidade de carne precisam ser continuamente melhoradas ou mantidas em níveis ótimos ou intermediários juntamente com outras características produtivas, de modo a aumentar a competitividade da indústria de carne ovina (Brito et al., 2017b).

Há poucos relatos sobre correlação genética entre área do músculo *Longissimus dorsi* e espessura de gordura mensurada por ultrassonografia em tempo real sobre as 12^a e 13^a costelas, em ovinos. Correlação genética positiva e desfavorável entre área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea ($0,76 \pm 0,13$) foi relatada por Kiya et al. (2019), em ovinos Dorper ($n = 1.245$). Em ovinos da raça Texel, Ciappesoni et al. (2014) relataram correlação genética baixa e desfavorável ($0,56 \pm 0,12$) entre AOL ($n = 3.081$) e EGS ($n = 3.071$). Em uma revisão de literatura, Safari et al. (2005) relataram correlação genética média de 0,51 (com intervalo de confiança de 0,24 a 0,70) entre área de olho de lombo e espessura de gordura mensuradas sobre o músculo *Longissimus dorsi* com uso de ultrassonografia em tempo real, em ovinos. Neste mesmo estudo, os autores mostraram que a área de olho de lombo tem correlação genética alta e positiva com a profundidade do músculo *Longissimus dorsi* (0,99). Em vários estudos para avaliação de carcaça de ovinos, os autores têm usado profundidade de olho de lombo ao invés da área deste (por exemplo, Daetwyler et al., 2010; Mortimer et al., 2010, 2017; Brito et al., 2017a, 2017b; Massender et al., 2019).

Estimativas de correlação genética de $0,83 \pm 0,05$ e $0,42 \pm 0,16$ entre profundidade de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea mensuradas *in vivo* sobre o músculo *Longissimus dorsi* com uso de ultrassom foram relatadas por Mortimer et al. (2017) e Massender et al. (2019), respectivamente. Estas correlações positivas

entre medidas do olho de lombo e espessura de gordura, assim como as estimativas de correlação entre circunferência da perna e EGS encontradas no presente estudo ($0,21 \pm 0,23$ e $0,51 \pm 0,16$) sugerem que a seleção baseada nestas características para melhorar a musculosidade da carcaça pode resultar em aumento desfavorável na espessura de gordura, que não é desejável em programas de melhoramento de ovinos de corte, devido a motivos mencionados anteriormente.

Uma possível explicação para as correlações positivas entre espessura de gordura subcutânea com as demais características avaliadas neste estudo pode ser o fato de que, há décadas, a maioria dos criadores de ovinos Santa Inês tem considerado o tamanho corporal e peso do corpo como principais aspectos para a criação de animais desta raça (Rego Neto et al., 2014). Assim, como provável resultado, os animais desta raça foram indiretamente selecionados, ao longo dos anos, para produzirem carcaças mais pesadas. De acordo com Brito et al. (2017b), a seleção para produção de carcaças mais pesadas poderá resultar em maior nível de gordura na carcaça, se ambas as características não forem consideradas simultaneamente em um índice de seleção.

De qualquer modo, é necessário cautela no uso de seleção indireta com base nas correlações, pois, de acordo com Leeds et al. (2008), estas estimativas apresentam valor limitado, devido à influência que a variabilidade da característica exerce sobre a magnitude das estimativas de correlação e ao fato de que correlações não são medidas diretas de precisão e acurácia. Além disso, é importante lembrar que as estimativas de parâmetros genéticos são medidas específicas de cada população. Assim, essas estimativas refletem apenas a relação entre as características dentro de um rebanho específico avaliado, podendo variar em diferentes populações de uma mesma espécie e até mesmo de uma mesma raça, ao longo do tempo (Gebreyohannes et al., 2013).

4.3. Acurácias teóricas de valores genéticos estimados

Os ganhos em acurácia obtidos com inclusão de informação genômica (ssGBLUP) em comparação ao observado com uso da matriz de parentesco tradicional (BLUP) foram baixos (0,013 a 0,039). Este resultado pode ser atribuído ao pequeno número de animais genotipados em comparação à quantidade de animais com informações fenotípicas para todas as características, como mencionado por Gordo et al. (2016). Assim, é recomendada a continuação no processo de avaliação genética iniciado neste estudo, com a inclusão de mais informações de animais genotipados e

informações fenotípicas, para a criação de uma maior população de treinamento para viabilizar a implementação de seleção genômica para características de carcaça em ovinos Santa Inês. De acordo com Hayes et al. (2009), mais informações fenotípicas e genotípicas resultarão em mais observações por alelo de SNP e, conseqüentemente, maiores acurácias de predição genômica.

Nas análises genômicas, a adoção de um modelo multicaracterística resultou em maiores acurácias, em comparação aos modelos unicaracterística (Tabela 4). Resultados semelhantes foram relatados em outros estudos (por exemplo, Aguilar et al., 2011; Tsuruta et al., 2011; Guarini et al., 2019) com uso do método ssGBLUP. A análise multicaracterística utiliza mais informações para avaliação dos animais, o que resulta em estimativas mais acuradas de valor genético para as características avaliadas, devido à redução da variância dos erros de predição (Schaeffer, 1984).

Ao avaliarem a eficiência da predição genômica de características de carcaça em rebanho multirracial de ovinos, Daetwyler et al. (2012) observaram ganho médio no valor da acurácia real de 0,20 (0,07 a 0,31), na predição de valor genético com uso de informação genômica, e acurácia de predição média de 0,09, com uso do BLUP baseado apenas no pedigree. Estes autores relataram maiores acurácias de predição do valor genômico para características cuja população de treinamento foi maior.

Uma prática comum consiste na avaliação do desempenho de predições genômicas com base nas correlações entre “valores genéticos verdadeiros” e valores genômicos preditos (por exemplo, Brito et al., 2017a). Devido ao limitado número de animais genotipados disponíveis para o presente estudo, não dividimos os animais genotipados em populações de treinamento e validação, mas avaliamos a acurácia teórica baseada na variância do erro de predição estimada a partir da inversão do lado esquerdo das equações de modelos mistos, para os métodos BLUP e ssGBLUP. A aplicação prática da acurácia teórica de (G)EBVs para ovinocultores se deve à possibilidade da obtenção da estimativa de acurácia individualmente para cada animal candidato à seleção, o que é importante para decisões de rotina sobre a seleção e descarte de animais (Brito et al., 2017a).

4.4. Estimativas de correlação e classificação de animais

As estimativas de moderada magnitude observadas para todas as correlações de Spearman entre os ranks dos animais com base em seus valores genéticos obtidos nos

diferentes cenários representam alteração moderada na classificação dos animais avaliados quando foi utilizada a informação genômica para a predição do valor genético (Figura 1). As correlações de rank mostraram que a reclassificação dos animais coincide com a acurácia de seus (G)EBVs para cada característica. Isto significa que, quanto mais a acurácia de valores genéticos estimados com um método difere da acurácia obtida com outro método, são esperadas mais mudanças na classificação dos animais com base em seus valores genéticos. Por exemplo, o maior ganho em acurácia em análises unicaracterísticas com uso de ssGBLUP em comparação ao BLUP foi observado para a característica EGS (Tabela 4), que teve a menor estimativa de correlação de Spearman. A maior eficácia (porcentagem de ganho em acurácia) com uso do modelo genômico multicaracterístico comparado ao modelo genômico unicaracterístico também foi observada para EGS.

Alterações na classificação dos animais com uso de diferentes métodos podem ser problemáticas para a aplicação prática de seleção genômica devido a implicações comerciais (Farah et al., 2018). No Brasil é comum a prática de feiras em que ovinos (principalmente da raça Santa Inês na região Nordeste) são exibidos e o desempenho dos animais é avaliado apenas com base em informações morfológicas (Alves et al., 2016) e pedigree (parentescos próximos). Nesse contexto, os animais considerados melhores conseguem maiores preços durante leilões ou vendem mais doses de sêmen. Provavelmente, se esses animais fossem incluídos em avaliações genéticas para características específicas, alguns desses indivíduos considerados anteriormente como melhores, poderiam ser classificados como top 5% (por exemplo) para uma característica, usando uma metodologia como BLUP, e não aparecer entre os animais top 5% para esta mesma característica com base em seu valor genético estimado com uso de ssGBLUP ou outro método genômico. Essa situação poderia resultar em conflito de interesse entre criadores que não concordassem com os resultados desfavoráveis à comercialização de seus animais. Portanto, considerando a viabilidade amplamente relatada da seleção genômica para várias características em diferentes espécies pecuárias, seria recomendada a adoção de informação genômica, se possível, em futuras avaliações genéticas de diferentes raças ovinas criadas no Brasil.

Mais estudos deverão ser realizados para melhorar a avaliação dos efeitos da seleção genômica em ovinos da raça Santa Inês. Além disso, o aumento do tamanho da população de treinamento para características de interesse econômico é crucial para aumentar as acurácias de predições genômicas.

A quantidade de genótipos utilizados para a realização deste trabalho foi relativamente pequena, em comparação a estudos com ovinos realizados em países desenvolvidos (por exemplo, Daetwyler et al., 2012; Brito et al., 2017a, 2017b). No entanto, os resultados desta pesquisa foram satisfatórios, se forem consideradas as limitações para a obtenção das informações fenotípicas e dados genômicos em raças locais. Então, é esperado que a inclusão de mais informações (fenotípicas e genômicas) possa beneficiar a avaliação genética de ovinos da raça Santa Inês. Isto possibilitará a exploração de maneira mais abrangente do potencial desta raça para a produção de carne em condições de clima tropical e o aumento de seu valor econômico no contexto internacional, tanto para a exportação de carne quanto para a disseminação de seu material genético em outros países.

5. Conclusão

A variação genética observada para características de carcaça mensuradas *in vivo* indica que a seleção genética é viável e pode ser alcançada por meio de seleção direta e indireta para melhorar o rendimento de carcaça e qualidade de carne em ovinos da raça Santa Inês. A inclusão de informação genômica resultou em parâmetros genéticos mais acurados para todas as características avaliadas. Isto contribuirá para aumentar as taxas de progresso genético por unidade de tempo. As correlações genéticas observadas entre musculabilidade e deposição de gordura na carcaça indicam que ambos os grupos de características necessitam serem considerados simultaneamente em um índice de seleção para evitar ganhos genéticos indesejados. A utilização do método *single-step* GBLUP proporcionou a estimação de valores genéticos mais acurados e alteração moderada na classificação dos animais considerados geneticamente melhores com base no BLUP tradicional.

Referências

- Aguilar, I., Misztal, I., Johnson, D.L., Legarra, A., Tsuruta, S., Lawlor, T.J., 2010. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *J. Dairy Sci.* 93, 743-752. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2730>.
- Aguilar, I., Misztal, I., Tsuruta, S., Wiggans, G.R., Lawlor, T.J., 2011. Multiple trait genomic evaluation of conception rate in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 94, 2621–2624. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3893>.

- Alves, A.A.C., Lôbo, A.M.B.O., Facó, O., Silva, L.P., Lôbo, R.N.B., 2016. Genetic parameters for rank of the Santa Inês sheep in agricultural fairs using Bayesian procedures. *Ital. J. Anim. Sci.*, 15, 604-609. <http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2016.1248866>.
- Araújo, R.P., Souza, B.B., Roberto, J.V.B., Dantas, N.L.B., Oliveira, G.J.C., Batista, L.F., Cordão, M.A., 2015. Medidas corporais e da carcaça de ovinos suplementados com diferentes níveis de sal forrageiro de faveleira. *Rev. Cient. Prod. Anim.* 17, 1-6. <http://dx.doi.org/10.15528/2176-4158/rcpa.v17n1p1-6>.
- Associação Brasileira de Criadores de Ovinos – ARCO, 2018. Padrões raciais. <http://www.arcoovinos.com.br/index.php/mn-srgo/mn-padroesraciais/40-santa-ines/> (Acessado em 17 de Junho de 2018).
- Bakhshalizadeh, S., Hashemi, A., Gaffari, M., Jafari, S., Farhadian, M., 2016. Estimation of genetic parameters and genetic trends for biometric traits in Moghani sheep breed. *Small Rum. Res.* 134, 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.030>.
- Brito, L.F., Clarke, S.M., McEwan, J.C., Miller, S.P., Pickering, N.K., Bain, W.E., Dodds, K.G., Sargolzaei, M., Schenkel, F.S., 2017a. Prediction of genomic breeding values for growth, carcass and meat quality traits in a multi-breed sheep population using a HD SNP chip. *BMC Genet.* 18, 7. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0476-8>.
- Brito, L.F., McEwan, J.C., Miller, S., Bain, W., Lee, M., Dodds, K., Newman, S.A., Pickering, N., Schenkel, F.S., Clarke, S., 2017b. Genetic parameters for various growth, carcass and meat quality traits in a New Zealand sheep population. *Small Rumin. Res.* 154, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.07.011>.
- Cheng, W., Cheng, J.H., Sun, D.W., Pu, H., 2015. Marbling analysis for evaluating meat quality: Methods and Techniques. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 523-535. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12149>.
- Christensen, O.F., Lund, M.S. 2010. Genomic prediction when some animals are not genotyped. *Genet. Sel. Evol.* 42, 2. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-42-2>.
- Ciappesoni, G., San Julián, R., Navajas, E.A., Gimeno, D., Gutierrez-Zamit, E., Goldberg, V., Brito, G., 2014. Genetic evaluation of the Texel breed in Uruguay: I. Carcass quality traits. In: 60th Internat. Cong. Meat Sci. Technol. Punta del Este, Uruguay. <https://doi.org/10.13140/2.1.2762.6888>.
- Daetwyler, H.D., Hickey, J.M., Henshall, J.M., Dominik, S., Gredler, B., van der Werf, J.H.J., Hayes, B.J., 2010. Accuracy of estimated genomic breeding values for wool and meat traits in a multi-breed sheep population. *Anim. Prod. Sci.* 50, 1004-1010. <https://doi.org/10.1071/AN10096>.
- Daetwyler, H.D., Swan, A.A., van der Werf, J.H.J., Hayes, B.J., 2012. Accuracy of pedigree and genomic predictions of carcass and novel meat quality traits in multi-breed sheep data assessed by cross-validation. *Genet. Sel. Evol.* 44, 33. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-44-33>.
- Emenheiser, J.C., Greiner, S.P., Lewis, R.M., Notter, D.R., 2010. Validation of live animal ultrasonic measurements of body composition in market lambs. *J. Anim. Sci.* 88, 2932-2939. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2661>.
- Farah, M.M., Fortes, M.R.S., Kelly, M., Porto-Neto, L.R., Meira, C.T., Carreño, L.O.D., Fonseca, R., Moore, S.S., 2018. Accuracy of genomic selection predictions for hip height in Brahman cattle using different relationship matrices. *Pesq. Agropec. Bras.* 53, 717-726. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2018000600008>.

- Fernandes, T.L., Wilton, J.W., Tosh, J.J., 2004. Estimates of genetic parameters for ultrasound measured carcass traits in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 84, 361–365. <https://doi.org/10.4141/A03-080>.
- Figueiredo Filho, L.A.S., do Ó, A.O., Sarmiento, J.L.R., Santos, N.P.S., Torres, T.S., 2016. Genetic parameters for carcass traits and body size in sheep for meat production. *Trop. Anim. Health Prod.* 48, 215–218. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0921-5>.
- Figueiredo Filho, L.A.S., Sarmiento, J.L.R., do Ó, A.O., Santos, N.P.S., Sena, L.S., Sousa Júnior, A., 2017. Estimate of genetic parameters for carcass traits and visual scores in meat sheep using Bayesian inference via threshold and linear models. *Cienc. Rural* 47, 3. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160174>.
- Figueiredo Filho, L.A.S., Sarmiento, J.L.R., Campelo, J.E.G., Almeida, M.J.O., Sousa Júnior, A., Santos, N.P.S., 2018. Genetic parameters for marbling and body score in Anglonubian goats using Bayesian inference via threshold and linear models. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 31, 1407–1414. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0490>.
- Font-i-Furnols, M., Guerrero, L., 2014. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Sci.* 98, 361–371. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.025>.
- Gebreyohannes, G., Koonawootrittriron, S., Elzo, M.A., Suwanasopee, T., 2013. Variance components and genetic parameters for milk production and lactation pattern in an Ethiopian multibreed dairy cattle population. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26, 1237–1246. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13040>.
- Geweke, J., 1992. Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments. In: Bernardo, J.M., Berger, J.O., Dawid, A.P., Smith, A.F.M. (Ed.). *Bayesian statistics*. New York: Oxford University. Cap.4, p.625–631.
- Gordo, D.G.M., Espigolan, R., Tonussi, R.L., Júnior, G.A.F., Bresolin, T., Magalhães, A.F.B., Feitosa, F.L., Baldi, F., Carvalheiro, R., Tonhati, H., Oliveira, H.N., Chardulo, L.A.L., Albuquerque, L.G., 2016. Genetic parameter estimates for carcass traits and visual scores including or not genomic information. *J. Anim. Sci.* 94, 1821–1826. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-0134>.
- Guarini, A.R., Lourenco, D.A.L., Brito, L.F., Sargolzaei, M., Baes, C.F., Miglior, F., Misztal, I., Schenkel, F.S., 2019. Genetics and genomics of reproductive disorders in Canadian Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 102, 1341–1353. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15038>.
- Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.C., Goddard, M.E., 2009. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *J. Dairy Sci.* 92, 433–443. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1646>.
- Hosseini-Zadeh, N.G., Ghahremani, D., 2018. Bayesian estimates of genetic parameters and genetic trends for morphometric traits and their relationship with yearling weight in Moghani sheep. *Ital. J. Anim. Sci.* 17, 586–592. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1403296>.
- Jafari, S., Hashemi, A., 2014. Estimation of genetic parameters for body measurements and their association with yearling live weight in the Makuie sheep breed. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 44, 140–147. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v44i2.6>.
- Kiya, C.K., Pedrosa, V.B., Muniz, K.F.A., Gusmão, A.L., Pinto, L.F.B., 2019. Estimates of the genetic parameters of a Dorper flock in Brazil. *Small Rumin. Res.* 171, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.12.007>.
- Kluska, S., Lemos, M.V.A., Olivieri, B.F., Peripolli, E., Berton, M.P., Grigoletto, L., Eler, J.P., Matos, R.S., Baldi, F., Ferraz, J.B.S., 2018. Genetic evaluation using

- single-step genomic best linear unbiased predictor (ssGBLUP) in Montana breed. In: 11th World. Cong. Gen. Appl. Livest. Prod. Auckland, New Zealand. <http://www.wcgalp.org/proceedings/2018>.
- Leeds, T.D., Mousel, M.R., Notter, D.R., Zerby, H.N., Moffet, C.A., Lewis, G.S., 2008. B-mode, real-time ultrasound for estimating carcass measures in live sheep: Accuracy of ultrasound measures and their relationships with carcass yield and value. *J. Anim. Sci.* 86, 3203-3214. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0836>.
- Legarra A., Aguilar I., Misztal I., 2009. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. *J. Dairy Sci.* 92, 4656-4663. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2061>.
- Lobo, R.N.B., 2019. Opportunities for investment into small ruminant breeding programmes in Brazil. *J. Anim. Breed. Genet.* 136, 313-318. <https://doi.org/10.1111/jbg.12396>.
- Lucena, C. C., Martins, E.C., Magalhães, K.A., Holanda Filho, Z.F., 2018. Boletim do Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos. Produtos de origem caprina e ovina: mercado e potencialidades na região do Semiárido brasileiro. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1093567> (acessado em 8 de Outubro de 2018).
- Massender, E., Brito, L.F., Cánovas, A., Baes, C.F., Kennedy, D., Schenkel, F.S., 2019. A genetic evaluation of growth, ultrasound, and carcass traits at alternative slaughter endpoints in crossbred heavy lambs. *J. Anim. Sci.* 97, 521-535. <https://doi.org/10.1093/jas/sky455>.
- McManus, C., Louvandini, H., Paim, T.P., Martins, R.S., Barcellos, J.O.J., Cardoso, C., Guimarães, R.F., Santana, O.A., 2011. The challenge of sheep farming in the tropics: aspects related to heat tolerance. *R. Bras. Zootec.* 40, 107-120. <http://www.sbz.org.br/revista/artigos/66266.pdf>.
- Misztal, I., Legarra, A., Aguilar, I., 2009. Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. *J. Dairy Sci.* 92, 4648-4655. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2064>.
- Misztal, I., Tsuruta, S., Lourenco, D.A.L., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A., Vitezica, Z., 2018. Manual for BLUPF90 family of programs. http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90_all7.pdf (Acessado em 20 de Maio de 2018).
- Mortimer, S.I., van der Werf, J.H.J., Jacob, R.H., Pethick, D.W., Pearce, K.L., Warner, R.D., Geesink, G.H. Hocking Edwards, J.E., Gardner, G.E., Ponnampalam, E.N. Kitessa, S.M., Ball, A.J. Hopkins, D.L., 2010. Preliminary estimates of genetic parameters for carcass and meat quality traits in Australian sheep. *Anim. Prod. Sci.* 50, 1135-1144. <https://doi.org/10.1071/AN10126>.
- Mortimer, S.I., van der Werf, J.H.J., Jacob, R.H., Hopkins, D.L., Pannier, L., Pearce, K.L., Gardner, G.E., Warner, R.D., Geesink, G.H. Hocking Edwards, J.E., Ponnampalam, E.N., Ball, A.J., Gilmour, A.R., Pethick, D.W., 2014. Genetic parameters for meat quality traits of Australian lamb meat. *Meat Sci.* 96, 1016-1024. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.007>.
- Mortimer, S.I., Hatcher, S., Fogarty, N.M., van der Werf, J.H.J., Brown, D.J., Swan, A.A., Greeff, J.C., Refshauge, G., Edwards, J.E.H., Gaunt, G.M., 2017. Genetic parameters for wool traits, live weight, and ultrasound carcass traits in Merino sheep. *J. Anim. Sci.* 95, 1879-1891. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1234>.
- Mrode, R., Ojango, J.M.K., Okeyo, A.M., Mwacharo, J.M., 2019. Genomic selection and use of molecular tools in breeding programs for indigenous and crossbred cattle in developing countries: current status and future prospects. *Front. Genet.* 9, 694. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00694>.

- Onogi, A., Ogino, A., Komatsu, T., Shoji, N., Simizu, K., Kurogi, K., Yasumori, T., Togashi, K., Iwata, H., 2014. Genomic prediction in Japanese black cattle: Application of a single-step approach to beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92, 1931-1938. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7168>.
- Pannier, L., Pethick, D.W., Geesink, G.H., Ball, A.J., Jacob, R.H., Gardner, G.E., 2014. Intramuscular fat in the longissimus muscle is reduced in lambs from sires selected for leanness. *Meat Sci.* 96, 1068-1075. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.014>.
- Rego Neto, A.A., Sarmiento, J.L.R., Santos, N.P.S., Biagiotti, D., Santos, G.V., Campelo, J.E.G., Sena, L.S., Figueiredo Filho, L.A.S., 2014. Estrutura e distribuição geográfica do rebanho de ovinos Santa Inês no estado do Piauí. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 15, 272-280. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-99402014000200004>.
- Rego Neto, A., Sarmiento, J.L.R., Santos, N.P.S., Campelo, J.E.G., Sena, L.S., Biagiotti, D., Santos, G.V., 2018 Population genetic structure of Santa Inês sheep in Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 50, 503-508. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1459-5>.
- Safari, E., Fogarty, N.M., Gilmour, A.R., 2005. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. *Livest. Prod. Sci.* 92, 271-289. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.09.003>.
- Santana Jr., M.L., Bignardi, A.B., Eler, J.P., Cardoso, F.F., Ferraz, J.B.S., 2013. Genotype by environment interaction and model comparison for growth traits of Santa Ines sheep. *J. Anim. Breed. Genet.* 130, 394-403. <http://dx.doi.org/10.1111/jbgs.12029>.
- Sarmiento, J.L.R., Torres, R.A., Sousa, W.H., Pereira, C.S., Lopes, P.S., Breda, F.C., 2006. Estimação de parâmetros genéticos para características de crescimento de ovinos Santa Inês utilizando modelos uni e multicaracterísticas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 58, 581-589. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352006000400021>.
- Schaeffer, L.R., 1984. Sire and cow evaluation under multiple trait models. *J. Dairy Sci.* 67, 1567-1580. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81479-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81479-4).
- Sena, L.S., Santos, G.V., Torres, T.S., Sousa Júnior, A., Rego Neto, A.A., Sarmiento, J.L.R., Biagiotti, D., 2016. Genetic parameters for carcass traits and body size of meat sheep. *Semina: Ciênc. Agrár.* 37, 2477-2486. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n4Sup1p2477>.
- Sorensen, D.A., Gianola, D., 2002. Likelihood, Bayesian, and MCMC methods in quantitative genetics, first ed. Springer, New York.
- Tsuruta, S., Misztal, I., Aguilar, I., Lawlor, T.J., 2011. Multiple-trait genomic evaluation of linear type traits using genomic and phenotypic data in US Holsteins. *J. Dairy Sci.* 94, 4198-4204. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4256>.
- United Nations, Meat Market Review, Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO, Rome, March 2019. <http://www.fao.org/3/ca3880en/ca3880en.pdf> (acessado em 27 de abril de 2019).
- VanRaden, P.M., 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *J. Dairy Sci.* 91, 4414-4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>.
- Waheed, A., Khan, M.S., 2011. Genetic parameters of body measurements and their association with milk production in Beetal goats. *Adv. Agric. Biot.* 1, 34-42. <https://www.researchgate.net/publication/313401541>.

CAPÍTULO II

Estudo de associação genômica ampla para características de carcaça em ovinos criados em clima tropical

Estudo de associação genômica ampla para características de carcaça em ovinos criados em clima tropical

Luciano Silva Sena^{a,*}, José Lindenberg Rocha Sarmiento^b

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil.

^bDepartamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil.

*Autor correspondente

Endereços de e-mail: LSS: lucianosbj@hotmail.com; JLRS: sarmiento@ufpi.edu.br.

Destaques

- Regiões genômicas associadas a características de carcaça mensuradas *in vivo* em ovinos deslanados foram identificadas.
- Características de carcaça avaliadas *in vivo* em ovinos Santa Inês são poligênicas.
- Uma região associada à área de olho de lombo foi identificada no OAR18 próximo a QTLs para musculosidade.
- Importantes vias metabólicas são influenciadas por genes associados à composição de carcaça.

RESUMO

Objetivou-se identificar regiões genômicas e vias metabólicas associadas a características de carcaça e qualidade de carne em ovinos da raça Santa Inês criados sob condições de clima tropical. A metodologia de associação genômica em passo único (ssGWAS) foi utilizada para estimar os efeitos dos marcadores genéticos e sua associação com as características área de olho de lombo (AOL, n = 977), marmoreio de olho de lombo (MOL, n = 890), espessura de gordura subcutânea (EGS, n = 894) e circunferência da perna (PER, n = 882). Um total de 1.637 indivíduos foi incluído na matriz de parentesco, dos quais 389 foram genotipados com o painel OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc.). Após o controle de qualidade dos dados genômicos, foram utilizadas informações de 45.465 SNPs e 388 amostras para as análises de associação genômica. Os níveis de desequilíbrio de ligação (r^2) médio entre pares de SNP por cromossomo autossômico variaram de $0,007 \pm 0,013$ a $0,013 \pm 0,031$. Foram identificadas 18, 22, 20 e 16 janelas de 10 SNPs adjacentes que explicaram pelo

menos 1,00% da variância genética aditiva, respectivamente, para AOL, MOL, EGS e PER. Nessas regiões foram encontrados vários genes conhecidamente associados ao desenvolvimento muscular (*KCNN3* e *ATF3*) e deposição de gordura (*ADSL*, *MTPAP*, *PDHX*, *CIDEA*, *PTPN2*, *MC2R*, *MC5R*, *ADAM23*, *EIF2AK2* e *OSBPL3*), assim como genes candidatos com funções ainda desconhecidas. No OAR18, uma região associada a AOL foi identificada a menos que 2 Mpb de QTLs ligados a hipertrofia muscular. A análise de enriquecimento gênico revelou processos que influenciam diretamente o crescimento e desenvolvimento corporal. Estes resultados deverão auxiliar no entendimento sobre os mecanismos genéticos e fisiológicos que regulam a composição de tecidos musculares e adiposos, assim como a expressão dos genes responsáveis pelos fenótipos relacionados a esses tecidos. Essas informações poderão ser úteis para futuros estudos genômicos em ovinos Santa Inês, assim como para auxiliar na identificação e seleção de animais com maior rendimento de carcaça e melhor qualidade de carne.

Palavras-chave: *Longissimus dorsi*, qualidade de carne, ovinos Santa Inês, ssGWAS, medida ultrassonográfica

Genome-wide association study for carcass traits of sheep raised in Tropical climate conditions

ABSTRACT

In this study we aimed to identify genomic regions and metabolic pathways associated with carcass and meat quality traits in Santa Inês sheep reared in tropical climate conditions. The single-step GWAS (ssGWAS) methodology was applied for estimation of SNP effects and to assess their association with loin eye area (LEA, $n = 977$), marbling score of loin eye (MLE, $n = 890$), subcutaneous fat thickness (SFT, $n = 894$) and leg circumference (LEC, $n = 882$). A total of 1,637 individuals were included in the numerator relationship matrix, of which 389 were genotyped with the OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc.). After quality control of genomic data, 45,465 SNPs and 388 samples were used for ssGWAS analyses. The average linkage disequilibrium (r^2) between SNP pairs per chromosome ranged from 0.007 ± 0.013 to 0.013 ± 0.031 . A total of 18, 22, 20, and 16 genomic windows of 10 adjacent SNPs explaining at least 1.00% of the additive genetic variance were identified for LEA, MLE, SFT, and LEC, respectively. In these regions, we identified candidate genes previously described as associated to muscle development (*KCNN3* and *ATF3*) and fat

deposition (*ADSL*, *MTPAP*, *PDHX*, *CIDEA*, *PTPN2*, *MC2R*, *MC5R*, *ADAM23*, *EIF2AK2*, and *OSBPL3*), as well as other candidate genes with unknown functions. On OAR18, a candidate region for LEA was identified in a distance less than 2 Mb from QTL for muscle hypertrophy. The enrichment analysis revealed biological processes affecting directly body growth and development. These results might help to better understand the genetic and physiological mechanisms that regulate the composition of muscle and adipose tissues, as well as the gene expression of phenotype related to these mechanisms in sheep. This information could be useful for future genomic studies in Santa Inês sheep and may help in the selection of animals with higher yield of carcass and better meat quality.

Keywords: *Longissimus dorsi*, meat quality, Santa Inês sheep, ssGWAS, ultrasonography measurement

1. Introdução

A raça Santa Inês tem sido destaque no âmbito da ovinocultura de corte brasileira há décadas, por conta de características como adaptabilidade, rusticidade, prolificidade, habilidade materna e desenvolvimento ponderal (McManus et al., 2011; Santana Jr et al., 2013). Devido a sua aptidão para a produção de carne, vários estudos sobre características de carcaça têm sido realizados nesta raça. No entanto, ainda há poucas pesquisas relacionadas ao entendimento da arquitetura e mecanismos de genes envolvidos na expressão de características de carcaça na raça Santa Inês (Meira et al., 2019; Rovadoscki et al., 2018).

Estudos de associação genômica ampla (GWAS) possibilitam a identificação de variantes causais (genes e/ou *loci* de características quantitativas – QTL) no genoma de um conjunto de indivíduos de uma determinada população, por meio de marcadores genéticos, principalmente do tipo SNP (polimorfismo de nucleotídeo único), para descobrir associações estatísticas significativas entre essas variantes e fenótipos de interesse (Scherer e Christensen, 2016). Desta forma, é possível a investigação de regiões cromossômicas em que as variantes significativas se encontram e estabelecer a relação destas com funções biológicas, por meio de informações disponíveis em plataformas que disponibilizam dados genômicos.

Com o advento de plataformas de sequenciamento genômico e genotipagem, a metodologia GWAS tem se tornado uma ferramenta poderosa e amplamente utilizada

para melhorar o entendimento dos mecanismos genéticos de QTLs em várias espécies de interesse pecuário (Zhang et al., 2012). Estudos com aplicação de GWAS já mostraram a presença de SNPs significativos para características de crescimento corporal, desenvolvimento muscular, deposição de gordura e qualidade de carne em ovinos (por exemplo, Zhang et al., 2013; Matika et al., 2016; Rovadoscki et al., 2018).

As regiões genômicas associadas a características de interesse econômico identificadas com a aplicação de GWAS podem ser utilizadas diretamente para auxiliar na seleção assistida por marcadores (Hay e Roberts, 2018). Para a realização de estudos de associação genômica, a qualidade dos dados mensurados apresenta grande importância (Navajas, 2014). Assim, para a melhoria do potencial genético de ovinos de corte, por exemplo, a coleta precisa de dados de carcaça é importante para a obtenção de benefícios com o uso de informação genômica. Neste sentido, a ultrassonografia em tempo real é uma ferramenta que tem sido amplamente utilizada para a avaliação de carcaça em pequenos ruminantes, pois possibilita a obtenção de medidas de carcaça *in vivo* correlacionadas positivamente com aquelas mensuradas na mesma região anatômica após abate (Teixeira, 2008; Emenheiser et al., 2010; Pinheiro et al., 2010). A avaliação de carcaça *in vivo* também pode ser realizada com base em características como a circunferência da perna, que indica desenvolvimento do pernil, que é considerado um corte nobre em ovinos de corte (Araújo et al., 2015).

No Brasil, ainda há grande carência de iniciativas direcionadas ao melhoramento genético de características de carcaça em ovinos, principalmente com utilização de informação genômica. Conseqüentemente, ainda há pouco conhecimento sobre a arquitetura genética e mecanismos fisiológicos envolvidos na expressão de características de carcaça nas principais raças ovinas brasileiras. Portanto, o objetivo com esta pesquisa foi identificar regiões genômicas e vias metabólicas relacionados a características de carcaça e qualidade de carne mensuradas *in vivo* em ovinos da raça Santa Inês, por meio de estudos de associação genômica ampla.

2. Material e métodos

Os dados utilizados neste estudo são oriundos do projeto intitulado Estudo genômico aplicado ao melhoramento genético de ovinos Santa Inês para características de carcaça (número 340/17), que foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Piauí.

2.1. População amostrada

O arquivo de dados de pedigree incluiu 1.637 animais, dos quais 206 indivíduos eram pais e 713 eram mães. A profundidade do pedigree utilizado foi de oito gerações, em que 933 indivíduos tinham informação de pai e mãe, 40 indivíduos tinham apenas mãe conhecida e 664 não tinham ancestrais conhecidos. As coletas de dados fenotípicos foram realizadas em 18 fazendas localizadas na subregião Meio-Norte do Brasil (estados do Piauí e Maranhão), entre os anos de 2012 e 2018. Os dados são oriundos de animais registrados junto à Associação Brasileira de Criadores de Ovinos (ARCO, <http://www.arcoovinos.com.br/index.php>) ou pertencentes ao núcleo de conservação de caprinos e ovinos da Embrapa Meio-Norte (Campo Maior, Piauí). Em todas as fazendas os animais eram criados em sistema semi-intensivo, em que recebiam suplemento nutricional em época de escassez de pastagem. Este sistema apresentou pequenas diferenças entre as fazendas ao longo do período de coleta, mas estes efeitos foram considerados nos modelos estatísticos.

2.2. Dados fenotípicos

As características de carcaça mensuradas sobre o músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12^a e 13^a vértebras lombares, com uso de ultrassonografia em tempo real foram: área de olho de lombo (AOL, cm²); espessura de gordura subcutânea (EGS, mm); e escore de marmoreio do olho de lombo (MOL). MOL foi coletado com base em notas (escore) de 0 a 6, de acordo com a disposição quantitativa de gordura intramuscular presente no músculo *L. dorsi*, em que 0 - ausente, 1 - traços, 2 - pouco, 3 - regular; 4 - muito, 5 - moderadamente excessivo e 6 - excessivo. As notas 4 (12,6%), 5 (1,5%) e 6 (0,0%) foram agrupadas na categoria 4, devido às baixas frequências destas categorias. A circunferência da perna (PER, cm) foi mensurada com uso de fita métrica na parte intermediária entre os ossos do jarrete (tarso) e ísquio, próximo à parte distal do fêmur (região tibiofemural), na perna direita.

As medidas de carcaça obtidas por ultrassonografia foram aferidas por um técnico treinado, com uso de um aparelho de ultrassom equipado com transdutor linear de 3,5 MHz. Para a obtenção das imagens, cada animal foi contido individualmente e imobilizado para evitar movimentos laterais. Em seguida, foi realizada a limpeza da

pele do indivíduo e, com auxílio de pente, foi feita a separação de pelos na região anatômica indicada para a mensuração (perpendicular ao comprimento do músculo *Longissimus dorsi*), no lado esquerdo do corpo do animal. Logo após, foi aplicado gel incolor específico para ultrassonografia no local, sobre o qual foi posicionado o transdutor. A leitura das medidas (AOL, MOL e EGS) coletadas em cada animal foi realizada no momento da coleta, após congelamento da imagem pelo operador do aparelho de ultrassom.

2.3. Dados genômicos

As amostras de sangue utilizadas para a extração do DNA foram coletadas diretamente na veia jugular dos animais, após a realização da higienização da região anatômica, com auxílio de agulha acoplada diretamente em tubos a vácuo contendo anticoagulante EDTA. A extração de DNA foi realizada com o Kit DNeasy *Blood & Tissue* da QIAGEN (protocolo estabelecido pelo fabricante). A qualidade do DNA foi verificada em gel de agarose a 1%, em tampão SB 1x, por 60 minutos a 60V. Os géis foram digitalizados e visualizados em fotodocumentador L-PIXTM (Loccus Biotecnologia, Cotia, SP, Brazil). A quantificação do DNA foi realizada por meio de Fluorespectofotômetro NanoDrop 3300, com o kit Intercalante AccuBlue® Broad Range dsDNA (Biotium Inc., Fremont, CA, EUA). O DNA obtido após extração foi estocado em freezer a -20°C no Laboratório de Genética Animal do Departamento de Zootecnia da UFPI, até o envio para a genotipagem.

Um total de 389 amostras de DNA foi genotipado com o painel Ovine SNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, EUA), que contém 54.241 SNPs uniformemente espaçados nos cromossomos do genoma ovino. Neste estudo, as coordenadas cromossômicas para cada SNP foram utilizadas de acordo com o *assembly* do genoma ovino Oar_v4.0.

2.4. Controle de qualidade dos dados fenotípicos e genômicos

Em análise preliminar para edição e consistência dos dados fenotípicos, foram mantidos para as análises subsequentes apenas animais com informação de ano de nascimento, fazenda, sexo e idade no dia da coleta. Os animais foram designados em grupos de contemporâneos constituídos pelos efeitos de sexo do animal (1 = macho e 2

= fêmea), período de coleta (1 = coletas realizadas de janeiro a maio – estação chuvosa; e 2 = coletas realizadas de junho a dezembro – estação seca), ano de coleta (2012, 2013, 2014, 2017 e 2018) e fazenda (1 a 18). A idade do animal no momento da coleta foi utilizada como co-variável (efeito linear). Após o procedimento para edição e consistência dos dados fenotípicos, apenas observações de grupos contemporâneos com no mínimo dois animais foram mantidas. Amostras com valores acima ou abaixo de três desvios padrão da média de cada grupo contemporâneo foram removidas. No total, 977, 890, 894 e 882 observações de AOL, MOL, EGS e PER, respectivamente, foram utilizadas para as análises estatísticas.

O controle de qualidade de dados genômicos foi realizado com uso do software PREGSF90 (Misztal et al., 2018). Foram removidos SNPs localizados em posições genômicas desconhecidas (n = 682), ou em cromossomos sexuais (n = 1.472) e DNA mitocondrial (n = 3). Marcadores com *Minor Allele Frequency* (MAF) menor que 0,01 (n = 2.292), *Call Rate* menor que 0,95 (n = 4.319) e desvio extremo do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P < 10^{-6}$, n = 8) também foram removidos. Além disso, foi eliminada uma amostra com *Call Rate* menor que 0,90. Após o controle de qualidade, restaram informações de 45.465 SNPs e 388 amostras para as análises.

2.5. Estimação de desequilíbrio de ligação

O desequilíbrio de ligação no presente estudo foi calculado utilizando o quadrado da correlação entre pares de SNPs (r^2), com utilização do programa PREGSF90 (Misztal et al., 2018), de acordo com a seguinte equação:

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

em que, $D = freq.AB - freq.A * freq.B$ e $freq.A$, $freq.a$, $freq.B$ e $freq.b$ são as frequências dos alelos A, a, B e b, respectivamente, e $freq.AB$, $freq.ab$, $freq.aB$ e $freq.Ab$ são as frequências dos haplótipos Ab, ab, aB e Ab na população, respectivamente. Se dois *loci* são independentes, a frequência esperada do haplótipo AB ($freq.AB$) é calculada como o produto entre $freq.A$ e $freq.B$. O r^2 atinge valores próximo a zero quando os alelos A e B segregam independentemente. A $freq.AB$ maior ou menor do

que o valor esperado indica que estes dois *loci* em particular tendem a segregar juntos e estão em LD, com valor máximo de um para r^2 (Espigolan et al., 2013).

2.6. Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (ACPs) foi aplicada aos dados genotípicos para calcular os componentes principais (CPs) que explicam diferenças entre amostras individuais nos dados genéticos, de modo a permitir a representação gráfica dos resultados. Os CPs tops são representados por eixos contínuos de variação que refletem a variação genética devido a ancestralidade na amostra. Assim, indivíduos com valores similares para um determinado componente principal terão uma ancestralidade similar para aquele eixo (Berton et al., 2017). A ACPs neste estudo foi realizada com base na matriz de parentesco genômico calculada com base no método implementado por VanRaden (2008). Para o cálculo dos CPs foi utilizado o programa PREGSF90 (Misztal et al., 2018).

2.7. Análises genético-quantitativas

Os componentes de variância foram estimados por meio de inferência Bayesiana em análises unicaracterísticas com uso de um modelo animal, pelo método *single-step genomic* BLUP (ssGBLUP). Foram utilizados os programas GIBBS1F90 (Misztal et al., 2018), para características lineares, e THRGIBBS1F90 (Misztal et al., 2018), para a característica categórica MOL. As estimativas da distribuição *a posteriori* dos componentes de variância foram obtidas com uso do programa POSTGIBBSF90 (Misztal et al., 2018), que permite o diagnóstico da convergência da cadeia de Markov, por meio de avaliação gráfica, diagnóstico de Geweke e erro de Monte Carlo. As análises consistiram de uma cadeia de 1.000.000 de ciclos, com descarte inicial de 200.000 ciclos (*burn-in*) e intervalo de amostragem a cada 100 ciclos (*thinning interval*), totalizando 8.000 amostras para cada análise, a partir das quais foram calculados os componentes de variância, parâmetros genéticos e desvios padrão *a posteriori*.

As estimativas de componentes de variância obtidas foram utilizadas como valores iniciais para o cálculo dos valores genéticos genômicos (GEBVs) com uso do programa BLUPF90 (Misztal et al., 2018).

O modelo geral utilizado é expresso como:

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

em que: y é o vetor de observações para cada característica; β é o vetor de efeitos fixos (grupo contemporâneo e idade como co-variável); α é o vetor de efeitos genéticos aditivos de animal, com $\alpha \sim N(0, \mathbf{H}\sigma_a^2)$, em que σ_a^2 é a variância genética aditiva e \mathbf{H} é a matriz de parentesco que combina as informações de pedigree e genômicas; \mathbf{X} é a matriz de incidência dos efeitos fixos; \mathbf{Z} é a matriz de incidência dos efeitos genéticos aditivos; e \mathbf{e} é o vetor de efeitos residuais, de modo que $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_e^2)$.

A inversa da matriz \mathbf{H} foi calculada de acordo com Aguilar et al. (2010), como:

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

em que \mathbf{A}^{-1} é a inversa da matriz de parentesco baseada na informação de *pedigree*, \mathbf{G}^{-1} é a inversa da matriz de parentesco genômico e \mathbf{A}_{22}^{-1} é a inversa da matriz de parentesco baseada no *pedigree* para animais genotipados. A matriz \mathbf{G} foi criada de acordo com VanRaden (2008), como segue:

$$\mathbf{G} = \frac{\mathbf{ZDZ}'}{2 \sum_{i=1}^m p_i(1 - p_i)}$$

em que \mathbf{Z} é uma matriz que relaciona os genótipos de cada locus, \mathbf{D} é uma matriz diagonal de pesos para variâncias de SNPs e p_i é a frequência do alelo menos frequente (*minor allele frequency*) do SNP i .

2.8. Análise de associação genômica ampla

A análise de associação genômica ampla para cada característica foi realizada com utilização da metodologia *single-step* GWAS (ssGWAS), proposta por Wang et al. (2012). Após a predição dos valores genéticos genômicos dos animais, estes valores foram utilizados para calcular os efeitos dos SNPs. Os efeitos de animal foram decompostos em genotipado (\mathbf{a}_g) e não genotipado (\mathbf{a}_n), em que o efeito de animal genotipado é considerado em função do efeito do marcador como:

$$\mathbf{a}_g = \mathbf{Z}u$$

em que \mathbf{Z} é uma matriz que relaciona os genótipos de cada *locus* e \mathbf{u} é um vetor de efeitos de SNPs.

A variância do efeito de animal foi assumida como:

$$\text{var}(\mathbf{a}_g) = \text{var}(\mathbf{Z}\mathbf{u}) = \mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}'\sigma_u^2 = \mathbf{G}^*\sigma_a^2$$

em que \mathbf{D} é uma matriz diagonal de pesos para variâncias de marcadores ($\mathbf{D} = \mathbf{I}$ para GBLUP), σ_u^2 é a variância genética aditiva capturada por cada SNP quando não são utilizados pesos e \mathbf{G}^* é a matriz de parentesco genômico ponderada.

A razão de covariância dos efeitos genéticos (\mathbf{a}_g) e de SNPs (\mathbf{u}) é dada por:

$$\text{var} \begin{bmatrix} \mathbf{a}_g \\ \mathbf{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}' & \mathbf{Z}\mathbf{D}' \\ \mathbf{D}\mathbf{Z}' & \mathbf{D} \end{bmatrix} \sigma_u^2$$

e posteriormente por

$$\mathbf{G}^* = \frac{\text{var}(\mathbf{a}_g)}{\sigma_a^2} = \frac{\text{var}(\mathbf{Z}\mathbf{u})}{\sigma_a^2} = \mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}' \frac{\sigma_u^2}{\sigma_a^2} = \mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}'\lambda$$

em que, de acordo com VanRaden et al. (2008), λ é definida como uma constante de normalização, como descrito abaixo:

$$\lambda = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_a^2} = \frac{1}{\sum_{i=1}^M 2p_i(1-p_i)}$$

em que M é o número de SNPs e p_i é a frequência alélica do segundo alelo do i -ésimo SNP.

Portanto, como mostrado por Wang et al. (2012), a equação para prever os efeitos de SNPs que usa a matriz de parentesco genômica ponderada (\mathbf{G}^*) é dada por:

$$\hat{\mathbf{u}} = \lambda \mathbf{D}\mathbf{Z}'\mathbf{G}^{*-1}\hat{\mathbf{a}}_g = \mathbf{D}\mathbf{Z}'[\mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}']^{-1}\hat{\mathbf{a}}_g$$

As estimativas de efeitos dos SNPs podem ser usadas para estimar a variância do efeito individual de cada SNP e aplicar um peso diferente para cada marcador (Zhang et al., 2010), como descrito seguir:

$$\hat{\sigma}_{u,i}^2 = \hat{u}_i^2 2p_i(1-p_i)$$

O seguinte processo iterativo foi realizado, considerando \mathbf{D} para estimar os efeitos de SNPs a partir do método ssGBLUP, de acordo com Wang et al. (2012), como segue:

1. $\mathbf{D}=\mathbf{I}$;
2. Calcular a matriz $\mathbf{G}=\mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}'\lambda$
3. Calcular os GEBVs para todos os animais que estão no arquivo de pedigree, pelo método ssGBLUP;
4. Calcular o efeito de SNP: $\hat{\mathbf{u}} = \lambda \mathbf{D}\mathbf{Z}' \mathbf{G}^{*-1}\hat{\mathbf{a}}_g$;

5. Calcular a variância de cada SNP (i): $d_i = \hat{u}_i^2 2p_i(1 - p_i)$;

6. Normalizar os valores de SNPs para a variância genética aditiva permanecer constante;

7. Sair ou voltar ao passo 2 ou 3.

Os efeitos de marcadores no presente estudo foram obtidos por três iterações, dos passos 2 a 7. A porcentagem de variância genética explicada por cada região genômica (janelas móveis de 10 SNPs adjacentes) foi calculada de acordo a equação sugerida por Wang et al. (2014):

$$\frac{\text{Var}(a_i)}{\sigma_a^2} \times 100\% = \frac{\text{Var}(\sum_{j=1}^{10} \mathbf{Z}_j \hat{u}_j)}{\sigma_a^2} \times 100\%$$

em que a_i é o valor genético da região i (10 SNPs adjacentes), σ_a^2 é a variância genética total, \mathbf{Z}_j é um vetor de conteúdo gênico do SNP j para todos os indivíduos e \hat{u}_j é o efeito do SNP j dentro da região i .

As análises de GWAS foram executadas com uso dos programas BLUPF90 e POSTGSF90, pertencentes à família BLUPF90 (Misztal et al., 2018). Após o processo iterativo com execução do POSTGSF90, foram gerados gráficos Manhattan plot em que são representados os cromossomos autossômicos da espécie *Ovis aries* e a proporção de variância explicada pelas janelas de SNPs utilizadas.

As regiões cromossômicas que explicaram no mínimo 1,00% da variância genética aditiva para cada característica foram exploradas à procura de possíveis genes candidatos ou QTLs. Para identificação de genes presentes nas regiões de interesse nos cromossomos do genoma ovino, foram utilizadas as ferramentas *Genome data viewer*, do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/?org=ovis-aries>), e Biomart, do Ensembl (<https://www.ensembl.org/biomart/martview/>). A plataforma SheepQTLdb (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/index>) foi utilizada para a procura por QTLs já relatados na literatura, relacionados às características em estudo ou a fenótipos semelhantes dentro da mesma classe hierárquica disponível na plataforma, em cromossomos em que foram encontradas regiões candidatas no presente trabalho.

A classificação dos genes de acordo com sua função biológica foi realizada por meio da ferramenta DAVID (*Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*) v6.8 (Huang et al., 2009a, 2009b), usando a Ontologia Gênica ($P < 0,01$) e as vias metabólicas da Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEGG; $P < 0,05$), considerando todos os genes anotados no genoma da espécie *Ovis aries* como base (*background*).

3. Resultados

3.1. Estatísticas descritivas e estimativas de parâmetros genéticos

A estatística descritiva e as estimativas de parâmetros genéticos para as características analisadas são apresentadas na Tabela 1. As estimativas de herdabilidade para AOL, MOL e EGS apresentaram moderada magnitude, corroborando com a amplitude de estimativas de herdabilidade relatada na literatura para estas características em diferentes raças ovinas. Para fins de comparação, as estimativas de herdabilidade foram classificadas como baixa ($<0,15$), moderada ($0,15$ a $0,35$) e alta ($>0,35$). Para PER, há poucos resultados de estimativas de herdabilidade disponíveis na literatura para ovinos de corte, que variam de baixa a moderada magnitudes. Neste estudo, as estimativas de herdabilidade para PER tiveram moderada magnitude.

3.2. Desequilíbrio de ligação e estrutura populacional

A porcentagem explicada pelos dois primeiros componentes principais (PC1 = 3,85% e PC2 = 3,35%) é considerada pequena (Figura 1). Assim, é possível observar que os animais não foram classificados em grupos separados de forma muito distinta, o que indica que a maioria dos animais é geneticamente relacionada em algum grau.

Os níveis de desequilíbrio de ligação (LD) médio calculado com base na estatística r^2 entre pares de SNPs por cromossomo autossômico variaram de $0,007 \pm 0,013$ a $0,013 \pm 0,031$ (Tabela 2). Os cromossomos OAR1 e OAR24, respectivamente apresentaram o maior e menor tamanho (Figura 2), assim como observado por Alvarenga et al. (2018) em ovinos da raça Santa Inês. A quantidade de SNPs foi diretamente proporcional ao tamanho de cada cromossomo (Tabela 2).

Os níveis de LD entre pares de SNPs por cromossomo tendem a serem maiores em menores distâncias e diminuírem em maiores distâncias, como relatado em bovinos (Sargolzaei et al., 2008), caprinos (Brito et al., 2015) e ovinos (Alvarenga et al., 2018). No entanto, no presente estudo, alguns padrões de LD incomuns foram observados em diferentes cromossomos. Por exemplo, no OAR1, picos de r^2 foram observados em distâncias superiores a 100 Mpb (Figura 2). Nos cromossomos OAR2, OAR3, OAR4, OAR5, OAR6, OAR7 (Figura suplementar S1 – ANEXO B), OAR8, OAR10 e OAR14 (Figura suplementar S2 – ANEXO B) foram observados picos de LD em distâncias

superiores a 10 Mpb. Apesar disto, os gráficos para estes cromossomos mostram tendência de decaimento de desequilíbrio de ligação com o aumento da distância entre SNPs. Por outro lado, a partir do cromossomo 15 até o cromossomo 26 (Figura 2 e Figuras suplementares S3 e S4 – ANEXO B), foram observadas tendências diferentes daquelas relatadas anteriormente.

3.3. Regiões genômicas

Um total de 18, 22, 20 e 16 regiões candidatas foram identificadas para AOL, MOL, EGS e PER, respectivamente (Figuras 3 a 6 e Tabelas 3 a 6). Uma região candidata em comum foi identificada no cromossomo 12 (68,91-69,19 Mpb) para AOL e MOL (Tabelas 3 e 4). No OAR1, duas regiões sobrepostas foram identificadas para AOL (241,61-242,26 Mpb) e MOL (242,15-242,67 Mpb), onde foi encontrado apenas um gene ainda não caracterizado (*LOC101105302*) relacionado a MOL. No OAR8, as regiões 45,11-45,59 Mpb e 45,22-45,68 Mpb, que foram identificadas como candidatas para MOL e AOL, respectivamente, explicaram 1,29% da variação genética aditiva para ambas as características, no entanto não foram encontrados genes nestas regiões. No cromossomo 4, está localizado o gene *OSBPL3* (Tabelas 3 e 5) em regiões sobrepostas associadas a AOL (70,44-70,89 Mpb) e EGS (70,78-71,12 Mpb). Vários genes em comum foram encontrados em regiões sobrepostas associadas a MOL (91,27-91,70 Mpb e 195,24-195,64 Mpb) e EGS (91,41-91,91 Mpb e 195,10-195,62 Mpb), no OAR3 (Tabelas 4 e 5). Vários genes do tipo LOC e proteínas não-caracterizadas foram encontrados em diferentes regiões candidatas para todas as características em estudo.

As características avaliadas apresentaram natureza poligênica, no entanto, alguns genes como *KCNN3* e *ATF3* são mais prováveis de apresentarem associação com área de olho de lombo. Do mesmo modo, os genes *ADSL*, *MTPAP*, *PDHX*, *CIDEA*, *PTPN2*, *MC2R* e *MC5R* são mais prováveis de serem associados com marmoreio, enquanto os genes *ADAM23*, *EIF2AK2* e *OSBPL3* sugerem maior associação com espessura de gordura subcutânea.

3.4. Busca por QTLs em regiões associadas às características em estudo

Para todos os cromossomos em que foram identificadas regiões associadas com as características de carcaça em estudo, foi realizada prospecção de QTLs na plataforma

SheepQTLdb (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/index>). Entre os 13 cromossomos com regiões associadas a AOL neste estudo, apenas nos cromossomos OAR2, OAR6 e OAR18 foram encontrados QTLs previamente relatados na literatura e disponíveis na plataforma SheepQTLdb.

Para marmoreio de olho de lombo, a prospecção foi realizada com base nas características percentual de gordura na carcaça e quantidade de gordura intramuscular. Foram encontrados QTLs relatados nos cromossomos OAR1, OAR10, OAR12 e OAR23 associados com percentual de gordura na carcaça, em comum com os cromossomos com regiões associadas a MOL neste estudo. Para quantidade de gordura intramuscular não foram encontrados QTLs nos cromossomos relatados neste trabalho.

Entre os 12 cromossomos com regiões candidatas para espessura de gordura subcutânea apresentadas neste trabalho, foram observados QTLs apenas nos cromossomos OAR2, OAR3, OAR4, OAR16 e OAR17. Além disso, nos cromossomos OAR4 e OAR9 foram encontrados QTLs associados a gordura nas 12^a e 13^a costelas.

Para circunferência da perna, a prospecção foi realizada com base nos QTLs relatados para a característica circunferência da parte superior da perna (*butt circumference*), que é uma medida realizada na carcaça em região anatômica próxima àquela utilizada para a medida apresentada neste estudo. Apenas no cromossomo 2 foi relatado na literatura a presença de QTL associado a esta característica.

3.5. Análises de enriquecimento de anotação gênica

As análises de anotação funcional dos genes identificados nas regiões significativamente associadas às características em estudo para a identificação de termos de ontologia gênica (GO) e vias KEGG foram realizadas inicialmente considerando apenas o conjunto gênico para cada característica individualmente. Em seguida, foi conduzida análise com a utilização conjunta de todos os genes identificados em regiões associadas às características em estudo. O conjunto gênico completo compreendeu 392 genes diferentes. Um total de 378 genes (IDs) da espécie ovina foi identificado pela ferramenta DAVID v6.8. Ao considerar o conjunto gênico por característica, apenas para AOL e EGS foram identificados processos biológicos ao nível de significância $P < 0,01$ (Tabela 7).

Ao considerar o conjunto gênico completo, foram identificados dois processos biológicos e duas funções moleculares ao nível de significância $P < 0,01$ (Tabela 8). Nos

termos GO enriquecidos nesta análise, foram identificados genes relacionados a todas as características em estudo. Isso evidencia a similaridade entre os processos básicos que regulam a fisiologia e metabolismo de características de desenvolvimento muscular e deposição de gordura.

Um total de 11 vias KEGG foi enriquecido ($P < 0,05$) para todas as características, ao considerar o conjunto gênico individualmente (Tabela 9). Quando considerado o conjunto gênico completo para a análise, 13 vias KEGG que envolvem alguns genes presentes em regiões associadas a todas as características em estudo foram identificadas (Tabela 10). As vias oas04015, oas04014, oas04066, oas00900, oas04080, oas04151 e oas04925 foram identificadas em ambos os cenários mencionados anteriormente. As análises de agrupamento funcional mostraram que genes associados com AOL, MOL e EGS estão envolvidos em funções relacionadas aos metabolismos de proteína e lipídios. Os processos biológicos mostraram que estes genes estão significativamente ($P < 0,01$) envolvidos na atividade celular e homeostase, secreção hormonal e regulação de processos.

4. Discussão

4.1. Estimativas de parâmetros genéticos

As estimativas de herdabilidade para AOL foram maiores do que aquelas ($0,12 \pm 0,02$ a $0,14 \pm 0,01$) relatadas por Safari et al. (2005) em um estudo de revisão sobre parâmetros genéticos para área de olho de lombo mensurada *in vivo*, em diferentes raças ovinas. No presente estudo, a estimativa de herdabilidade para AOL também foi maior do que o valor ($0,20$) relatado por Sena et al. (2016), em ovinos Santa Inês, enquanto que Figueiredo Filho et al. (2016) relataram uma estimativa de herdabilidade de $0,31$ para AOL em ovinos desta raça.

Para MOL, a herdabilidade estimada no presente estudo foi menor do que o resultado ($0,66$) relatado por Figueiredo Filho et al. (2017) para escore de marmoreio do músculo *Longissimus dorsi* utilizando ultrassom em tempo real, em ovinos Santa Inês. Brito et al. (2017) e Mortimer et al. (2014) relataram estimativas de herdabilidade de $0,30 \pm 0,03$ (escore de marmoreio) e $0,48 \pm 0,05$ (porcentagem de gordura intramuscular), respectivamente, em ovinos de diferentes raças, usando informações de medidas coletadas diretamente na carcaça após abate.

Para EGS, em diferentes raças ovinas, Safari et al. (2005) relataram maior estimativa de herdabilidade ($0,25 \pm 0,02$), em relação ao presente estudo. Por outro lado, nosso resultado foi maior do que as estimativas de herdabilidade de 0,11 e $0,10 \pm 0,05$ para espessura de gordura subcutânea relatadas por Figueiredo Filho et al. (2016), em ovinos Santa Inês, e Kiya et al. (2019), em ovinos Dorper, respectivamente.

A estimativa de herdabilidade para circunferência da perna encontrada no presente estudo está dentro da margem relatada para esta característica em alguns estudos em outras raças ovinas e caprinos. Por exemplo, em ovinos Moghani sheep, Bakhshalizadeh et al. (2016) relataram estimativas de herdabilidade direta para circunferência da perna variando de 0,12 a 0,37, enquanto que Hossein-Zadeh e Ghahremani (2018) relataram estimativa de herdabilidade de $0,07 \pm 0,02$ para esta característica nesta mesma raça. Em caprinos da raça Anglo-Nubiana, Figueiredo Filho et al. (2018) relataram herdabilidade de 0,41 para perímetro da perna.

As diferentes estimativas de herdabilidade observadas entre diferentes estudos se devem a propriedades específicas de cada população em estudo. Além disso, o uso de diferentes procedimentos para as mensurações dos fenótipos, assim como a aplicação de diferentes metodologias estatísticas, podem resultar em diferentes resultados, inclusive em uma mesma população. As estimativas encontradas para as características analisadas no presente estudo indicam que estas são viáveis para a seleção direta, o que poderá ser favorecido com a inclusão de mais informações genômicas em estudos futuros nesta mesma população, assim como o aumento no tamanho da população de referência.

4.2. Desequilíbrio de ligação e estrutura populacional

Os animais genotipados no presente estudo pertenciam a seis fazendas diferentes (São José: SJOS; São Jorge: SJORG; Embrapa Meio Norte: EMB; Campinas: CAM; Colégio Agrícola de Floriano: CAF; e Fazenda Chico Beca: FCB) localizadas na cidade de Santa Inês (SJORG), no estado do Maranhão, e nas cidades piauienses de José de Freitas (SJOS e FCB), Campo Maior (CAM e EMB) e Floriano (CAF). Na região em que estão localizadas essas cidades é comum a venda e/ou troca de animais entre as fazendas para fins reprodutivos, além de aquisição de animais e/ou sêmen oriundos de rebanhos em comum. Esta pode ser uma justificativa para a proximidade genética entre os animais observada com base nos gráficos de componentes principais (Figura 1).

Os valores de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) entre pares de SNPs por cromossomo foram inferiores aos relatados em ovinos Santa Inês por Alvarenga et al. (2018). Estes autores utilizaram o painel OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA), com informações genômicas de 395 amostras e 38.168 SNPs, de acordo com o assembly do genoma ovino versão 3.1 (Oar_v3.1).

Os níveis de desequilíbrio de ligação (LD) podem ser diferentes em populações distintas de uma mesma raça, devido à estrutura populacional resultante de seleção, migração, taxa de recombinação, entre outros fatores inerentes a cada população (Miller et al., 2011). Assim, o desequilíbrio de ligação é um parâmetro importante para melhor explicar e caracterizar a estrutura da população estudada, antes que seja aplicada a informação genômica (Alvarenga et al., 2018).

Assim como no presente estudo, Alvarenga et al. (2018) também observaram uma divergência no padrão de decaimento de desequilíbrio de ligação em grandes distâncias em alguns cromossomos. De acordo com os autores supracitados, o aumento no LD entre pares de SNPs em maiores distâncias pode ser devido a processos de seleção na raça Santa Inês, que podem ter favorecido alelos para diferentes características e resultado em maiores níveis de LD em grandes distâncias entre pares de SNPs. Estes mesmos autores relataram que erros na montagem dos genomas de referência (*assembly*) podem representar outro motivo para o comportamento anormal de desequilíbrio de ligação observado em diferentes cromossomos do genoma ovino.

4.3. Área de olho de lombo

Um total de 140 genes foi identificado nas regiões genômicas que explicaram pelo menos 1,0% da variância genética aditiva para AOL (Tabela 3 e Figura 3). Genes como *KCNN3* (*potassium calcium-activated channel subfamily N member 3*), situado no cromossomo 1, e *ATF3* (*activating transcription factor-3*), localizado no cromossomo 12, têm funções associadas ao transporte de íons potássio (GO:0006813) e gliconeogênese (GO:0006094), que estão diretamente ligadas a contração e desenvolvimento musculares. O gene *KCNN3* tem presença abundante no músculo *Longissimus dorsi* de ovinos que apresentam o fenótipo *callipyge* (Fleming-Waddell et al., 2009), que é uma mutação caracterizada por hipertrofia muscular que proporciona efeitos benéficos na composição da carcaça (Teixeira et al., 2006).

O gene *ATF3* contribui para a formação do complexo do fator de transcrição da proteína ativadora 1 (*API*), que regula a expressão de vários genes envolvidos no controle da proliferação e diferenciação celular, e está envolvido na regulação das mudanças de expressão gênica no músculo *Longissimus dorsi* de indivíduos *callipyge* (Vuocolo et al., 2007). A janela em que o gene *ATF3* está localizado (OAR12:68910684-69196281 pb) também apresentou associação significativa com marmoreio de olho de lombo (Tabela 4). Em bovinos Angus, é relatado que o gene *ATF3* também está envolvido no metabolismo lipídico (Zhao et al., 2012). Na janela em que este gene foi encontrado, situam-se dois genes com função ainda não caracterizada. Esta informação pode ser interessante para a melhor investigação do efeito dos genes presentes nesta região sobre o desenvolvimento muscular e deposição de gordura.

4.4. Marmoreio de olho de lombo

Nas regiões associadas com MOL (Figura 4 e Tabela 4) foram encontrados genes importantes como *ATF4* (*activating transcription factor 4*), *NUAK1* (*NUAK family kinase 1*), *MTPAP* (*mitochondrial poly(A) polymerase*), *PDHX* (*pyruvate dehydrogenase complex component X*), *CIDEA* (*cell death-inducing DFFA-like effector a*), *PTPN2* (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2*), *MC2R* (*Melanocortin 2 Receptor*) e *MC5R* (*Melanocortin Receptor 5*), que são relatados na literatura como associados ao conteúdo de gordura intramuscular e deposição de gordura em diferentes espécies.

O gene *ATF4* é um fator de transcrição da classe bZIP (zíper básico de leucina) que apresenta várias funções de regulação metabólica, inclusive em relação ao metabolismo lipídico (Sevane et al., 2013). Em estudos com camundongos, Seo et al. (2009) e Wang et al. (2010) observaram que indivíduos com deficiência do gene *ATF4* apresentaram aumento na quebra de lipídios e diminuição na expressão de genes lipogênicos. Em outro estudo realizado com camundongos, foi identificado o gene *NUAK1*, que atua como supressor da absorção de glicose por meio da inibição da sinalização de insulina em músculos esqueléticos (Inazuka et al., 2012). Em frangos de corte, Kong et al. (2017) identificaram que o gene *NUAK1* atua no metabolismo de carboidratos.

O gene *ADSL* atua na síntese de inosina monofosfato (IMP), que é um componente aromático fundamental presente em músculos de diferentes espécies

pecuárias, nas quais serve como indicador de qualidade de carne (Zhu et al., 2017). Em frangos de corte, Cui et al. (2017) observaram maior acúmulo de gordura intramuscular em indivíduos com maiores concentrações de IMP. De acordo com estes autores, a correlação positiva entre as proporções de gordura intramuscular e IMP apresenta efeito benéfico na melhoria de propriedades ligadas ao sabor da carne. Em suínos de diferentes raças, Zhang et al. (2015) identificaram correlação positiva entre as quantidades de IMP e a expressão do gene *ADSL*, assim como grande expressão deste gene no músculo *Longissimus lumborum* dos indivíduos avaliados. Em alguns estudos realizados com aves, foi relatado que o gene *ADSL* pode ser considerado como gene candidato para características de carcaça e qualidade de carne (Shu et al., 2009; Fang et al., 2010; Ye et al., 2010; Mao et al., 2018).

Em diferentes espécies, o gene *MTPAP* apresenta associação com características ligadas à deposição de gordura na carcaça. Em bovinos, o gene *MTPAP* tem papel importante na deposição de gordura intramuscular (Xiao et al., 2006) e também está diretamente associado à suculência e maciez da carne (Shin et al., 2016). Em estudo com suínos, foi relatado que o gene *MTPAP* desempenha papel crítico na regulação da deposição de gordura e foi significativamente associado à suculência da carne e gordura intramuscular (Han et al., 2012). Em geral, o conteúdo de gordura intramuscular influencia positivamente características como sabor, maciez e suculência da carne em diferentes espécies (Hocquette et al., 2010).

O gene *PDHX* catalisa a conversão de piruvato para acetil-CoA na mitocôndria, que é um processo importante na conversão de carboidratos para ácidos graxos e colesterol (Shi e Tu, 2015). O gene *CIDEA* participa do metabolismo lipídico (GO:0006629), armazenamento de lipídio (GO:0019915) e regulação negativa do catabolismo lipídico (GO:0050995). Por outro lado, o gene *PTPN2* desempenha seu papel na regulação negativa do armazenamento de lipídio (GO:0010888). Em suínos, Hérault et al. (2018) relataram a presença dos genes *PTPN2* e *CIDEA* em QTLs para espessura de gordura subcutânea. Ao compararem a relação de diferentes genes com a expressão do percentual de gordura intramuscular, em ovinos e bovinos, Guo et al. (2014) concluíram que o gene *CIDEA* foi o mais correlacionado com marmoreio em ambas as espécies.

Em suínos, os genes *MC2R* e *MC5R* são recomendados como genes candidatos em uma região genômica que abriga um forte QTL descrito para gordura intramuscular (De Koning et al., 1999; Ovilo et al., 2000; Grindflek et al., 2001). O gene *MC2R*

codifica um receptor de domínio transmembrana 7 que mostra grande similaridade entre humanos, camundongos, bovinos, ovinos e suínos (Jacobs et al., 2002). O gene *MC5R* pertence a uma classe de proteínas de domínio transmembrana que estão envolvidas na regulação do metabolismo lipídico nos músculos e no fígado, em humanos (Yang et al., 2013). A expressão de *MC5R* suprime a secreção de leptina em adipócitos e interfere na produção de interleucina 6 (IL6), afetando assim a regulação de ingestão alimentar e gasto energético ou a resistência a insulina (Switonski et al., 2013).

4.5. Espessura de gordura subcutânea

O gene *EIF2AK2* (*eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 2*), encontrado na região genômica que explicou 3,23% da variação para espessura de gordura subcutânea no OAR3 (Figura 5 e Tabela 5), está relacionado ao acúmulo de gordura subcutânea e é um indutor chave de inflamação, responsivo a interferons (IFN), que está associado ao stress do retículo endoplasmático e ao acúmulo de gordura (Ramos-Lopez et al., 2018). Em estudo com bovinos Nelore, foi concluído que o gene *EIF2AK2* pode ser considerado como candidato para a seleção para espessura de gordura subcutânea (Silva-Vignato et al., 2019).

No OAR2, foi encontrada associação do gene *ADAM23* (*ADAM metallopeptidase domain 23*) com EGS (2,54%). Em bovinos da raça Nelore, o ortólogo deste gene foi encontrado em uma região (BTA2: 95 Mpb) que explicou 2,84% da variância para perfil de ácidos graxos saturados na gordura intramuscular do músculo *Longissimus thoracicus* (Lemos et al., 2016). Em camundongos, o gene *ADAM23* age como um receptor de glioma inativado 3 rico em leucina, de modo que é responsável pela supressão da adipogênese (Kim et al., 2015).

O gene *OSBPL3* (*oxysterol binding protein like 3*), encontrado em regiões próximas localizadas no cromossomo 4 que apresentaram associação significativa para AOL e EGS, atua no transporte lipídico intra e extracelular (GO:0006869) e na ligação de receptores de colesterol (GO:0015485). Este gene é responsável pela formação de receptores de lipídio intracelular que promovem a regulação da adesão celular e citoesqueleto aquitina (Lehto et al., 2004). Em bovinos da raça Nelore, o gene *OSBPL3* é também significativamente associado à espessura de gordura (Santana et al., 2015).

4.6. Circunferência da perna

Nas janelas associadas à circunferência da perna foram encontrados alguns genes cujas funções estão relacionadas a crescimento ósseo e desenvolvimento muscular. O gene *RARB* (*retinoic acid receptor beta*), encontrado no cromossomo 26 associado à circunferência da perna participa do desenvolvimento ósseo (GO:0060348) e do processo cujo resultado específico é a progressão da cartilagem que fornecerá um suporte para a mineralização dos ossos endocondrais à medida que eles se alongam ou crescem (GO:0003417). O gene *RARB* também atua no crescimento de organismos multicelulares (GO:0035264) e na morfogênese embrionária de membros posteriores de animais (GO:0035116). Em um estudo com ovinos, Zhang et al. (2013) identificaram o gene *RARB* em uma lista de genes candidatos para características de crescimento e produção.

No cromossomo 4, o gene *FOXP2* (*forkhead box P2*) está ligado ao desenvolvimento de tecido nos músculos esqueléticos (GO:0007519) e lisos (GO:0048745). Outro gene aparentemente importante encontrado em região associada a PER foi o *ONECUT2* (*one cut homeobox 2*), que participa na morfogênese e organização de estruturas anatômicas (GO:0009653), isto é, os processo em que estruturas anatômicas são geradas, organizadas e têm suas formas criadas.

4.7. QTLs relatados previamente para as características em estudo

Para área de olho de lombo (*Longissimus dorsi*), foram encontrados no SheepQTLdb, no OAR2, QTLs entre 117,9-118,6 Mpb (Laville et al., 2004), entre 134,1-134,2 Mpb e 168,3–168,5 Mpb (Johnson et al., 2005) e entre 117,9-118,6 Mpb (Kijas et al., 2007). No cromossomo 6, foi encontrado um QTL na posição 97,1 Mpb (Armstrong et al., 2018). No cromossomo 18, foi relatado o QTL LoinMAXTM, entre 63,4-64,8 Mpb, que tem efeitos positivos no desenvolvimento do músculo *Longissimus dorsi* com base em medidas obtidas com uso de ultrassonografia (Masri et al., 2010). A posição do QTL LoinMAXTM abrange a região do OAR18 em que estão situados os genes *Delta-like 1* (*DLK1*; 64,23-64,24 Mpb) e *Retrotransposon-like 1* (*RTL1*; 64,38-64,41 Mpb), cuja expressão resulta na hipertrofia muscular conhecida como mutação *callipyge*, que promove aumento de aproximadamente 40% de massa muscular em ovinos, sem alterar o peso vivo (Cockett et al. 2005; Lutz, 2014). No presente estudo, a

região 66,37-67,25 Mpb (OAR18), localizada a distância menor que 2 Mpb do QTL LoinMAXTM, explicou 3,99% da variação genética para área de olho de lombo e abriga 28 genes, inclusive alguns com funções ainda não descritas. Em ovinos da raça Texel, a região do cromossomo 18 é recomendada para utilização em programas de melhoramento genético, pois apresenta alto *imprinting* e abriga QTLs para musculatura, incluindo o QTL Carwell e a mutação *callipyge* (Matika et al., 2011). O QTL Carwell também está associado ao desenvolvimento do músculo *Longissimus dorsi* em ovinos Poll Dorset australiano e está posicionado em uma região sobreposta à localização dos genes responsáveis pela mutação *callipyge* mencionadas acima (Tellam et al., 2012).

Os QTLs relatados para percentual de gordura na carcaça, nos cromossomos OAR1 (168,6-197,3 Mpb e 10,5-266,5 Mpb), OAR10 (13,9-78,6 Mpb e 79,0-86,4 Mpb), OAR12 (79,1-79,1 Mpb) e OAR23 (1,3-55,4 Mpb) foram apresentados no trabalho de Cavanagh et al. (2010). Para quantidade de gordura intramuscular, há relato de apenas um QTL em ovinos, na região entre 117,9-118,0 Mpb (Kijas et al., 2007) do cromossomo 2, que não apresentou regiões associadas a marmoreio de olho de lombo no presente estudo.

Para espessura de gordura subcutânea (EGS), os QTLs disponibilizados na plataforma SheepQTLdb foram encontrados nos cromossomos OAR2, OAR3, OAR4, OAR16 e OAR 17. No cromossomo 2, os QTLs estão situados nas regiões 99,3-99,4 Mpb, 201,6-201,7 Mpb (Walling et al., 2004), 86,5-86,6 Mpb e 135,5-135,7 Mpb (Johnson et al., 2005). As regiões 172,4-172,6 Mpb, 186,1-186,3 Mpb, 190,6-190,8 Mpb e 190,3-191,4 Mpb, no OAR3, e 114,8-115,0 Mpb, no OAR4 (Walling et al., 2004) apresentaram QTLs para espessura de gordura subcutânea. No OAR16, os QTLs estão entre 4,5-62,7 Mpb (Cavanagh et al., 2010) e 18,4-18,4 Mpb (Garza Hernandez et al. 2018). No OAR17, apenas Yang et al. (2014) relataram QTL para EGS, entre 14,6-14,7 Mpb. Para a característica gordura nas 12^a e 13^a costelas, a presença de QTLs nos cromossomos em comum com aqueles em que há regiões associadas a EGS no presente estudo foram OAR4 (65,4-65,4 Mpb) e OAR9 (13,6-13,6 Mpb), ambos relatados por Armstrong et al. (2018).

Para circunferência da perna na região das nádegas (*butt circumference*), apenas o QTL na região entre 117,8-117,9 Mpb do cromossomo 2 (Johnson et al., 2009) está disponível no SheepQTLdb. No presente estudo, não foram encontrados genes na região do cromossomo 2 associada a circunferência da perna (152,76-153,26 Mpb).

4.8. Análises de enriquecimento de anotação gênica

Na análise individual do conjunto de genes associados com AOL, apenas um termo (GO:0016477) foi enriquecido (Tabela 7). Este termo GO representa a migração celular, que é um processo central no desenvolvimento e manutenção de organismos multicelulares, já que a habilidade das células migrarem é crítica no desenvolvimento e funções fisiológicas normais (Mak et al., 2016). Na análise do conjunto de todos os genes presentes nas regiões associadas às características em estudo, o processo biológico mais importante identificado foi a homeostase da glicose celular (GO:0001678), que está ligada à manutenção de atividade celular e síntese de proteínas. A homeostase de glicose celular é um processo envolvido na manutenção de um estado interno constante de glicose dentro de uma célula ou entre uma célula e seu ambiente externo. Neste processo foram enriquecidos ($P < 0,01$) os genes *HK1*, *HKDC1* e *PIK3R1*.

Os genes *HK1*, *HKDC1*, *PKLR* e *GALM*, que foram encontrados em regiões associadas a área de olho de lombo, marmoreio e espessura de gordura subcutânea, participam das vias metabólicas glicólise/gliconeogênese (oas00010) e diabetes mellitus tipo II (oas04930), que foram enriquecidas ($P < 0,05$) no presente estudo (Tabela 10). Isso evidencia a existência de relação entre os mecanismos envolvidos na expressão das características de desenvolvimento muscular e deposição de gordura em ovinos. Com isso, é reforçado o conceito de que grupos gênicos em comum controlam a expressão desses grupos de características em ovinos, como é preconizado em alguns estudos que mostram correlações genéticas positivas entre as dimensões do músculo *Longissimus dorsi*, musculabilidade da perna e deposição de gordura na carcaça, em diferentes raças ovinas (por exemplo, Brito et al., 2017; Mortimer et al., 2017; Kiya et al., 2019; Massender et al., 2019).

Outra importante via KEGG revelada na análise de enriquecimento no presente estudo é a via de sinalização de fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)-Akt (oas04151). Esta via metabólica é ativada após a ligação de insulina a seu gene receptor e provoca a ativação e auto-fosforilação deste, dando início a uma cascata de sinalização (Ward e Lawrance, 2011). A insulina é um hormônio peptídico responsável pelo sinal endócrino anabólico primário e desempenha papel crítico no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (Hardie, 2012; Baumgard et al., 2016). Este hormônio tem influência direta no transporte e uso de glicose por células musculares e no suprimento das moléculas de gordura com a glicose que é transportada para dentro das células adiposas (Qaid e

Abdelrahman, 2016). A via PI3K-Akt, que é responsável pelos efeitos metabólicos da insulina, promove a absorção celular de glicose e aminoácidos, assim como a síntese de ácidos graxos e a conversão destes componentes para as formas em que eles são armazenados, ou seja, glicogênio, proteínas e triglicerídeos (Hardie, 2012).

A via de sinalização PI3K-Akt atua na hipertrofia muscular (Lai et al., 2004; Schiaffino e Mammucari, 2011) e simultaneamente bloqueia a degradação de proteína (Schiaffino et al., 2013). Pelo menos um gene relacionado a cada uma das características em estudo foi identificado nesta via metabólica (Tabela 10).

A ativação da via PI3K-Akt pode ser realizada de forma direta ou indireta, por meio de várias conexões (Bolormaa et al., 2016), entre elas, a via de sinalização de receptores ErbB (oas04012), em que atuam alguns genes encontrados em janelas associadas a área de olho de lombo no presente estudo. A via oas04012 controla funções biológicas como a proliferação celular, diferenciação, sobrevivência, adesão e migração (Holbro e Hynes, 2004). Em camundongos, a deficiência de receptores ErbB2 em músculos esqueléticos provoca a ausência de fibras musculares e defeitos na regeneração muscular (Andrechek et al., 2002).

Alguns dos genes relacionados às características de deposição de gordura e qualidade de carne (MOL e EGS) possibilitaram a detecção da via KEGG oas04066, responsável pela sinalização do fator de transcrição *Hypoxia Inducible Factor1* (HIF-1) (Tabelas 9 e 10). Vários estudos têm mostrado que a obesidade é aumentada pela inibição de fatores HIF e diminuída pela ativação desses fatores. A subunidade alfa deste fator (HIF-1 α) é super estimulada no tecido adiposo de humanos obesos (Ozmen et al., 2016). Por outro lado, a ativação da via PI3K-Akt ou de algumas proteínas específicas, por fatores de crescimento, leva ao aumento de RNA mensageiro (mRNA) de HIF-1 α e síntese protéica (Mylonis et al., 2019).

A via metabólica da síntese e secreção de aldosterona (oas04925) também foi identificada com base no conjunto gênico relacionado a MOL e EGS. Em humanos, Hannich et al. (2018) relataram que concentrações do hormônio aldosterona estão relacionadas a alterações no metabolismo lipídico. Assim, a detecção da via oas04925 com base em genes presentes em regiões associadas à deposição de gordura, no presente estudo, pode ser um indicativo de que esta via metabólica também atue no metabolismo lipídico em ovinos.

De modo interessante, a via KEGG mais enriquecida com uso do conjunto completo de genes neste estudo é denominada de vias metabólicas (oas01100). Esta via

inclui mais de 100 vias metabólicas diferentes, como por exemplo, algumas vias relacionadas aos metabolismos de glicose, lipídeo e aminoácidos, como biossíntese de ácidos graxos, metabolismos de nitrogênio e piruvato. Pelo menos dois genes encontrados em regiões associadas a cada uma das características avaliadas estão presentes na via oas01100.

5. Conclusões

Várias regiões candidatas relacionadas à musculosidade e deposição de gordura foram identificadas neste estudo. Essas informações poderão dar suporte a estudos genômicos em ovinos, assim como à identificação e seleção de animais criados em condições de clima tropical com melhor qualidade de carcaça e, conseqüentemente, favorecer o aumento da produtividade da raça Santa Inês. Os resultados apresentados neste estudo também deverão auxiliar no entendimento dos mecanismos genéticos e fisiológicos que regulam o desenvolvimento muscular e distribuição de gordura na carcaça de ovinos. A detecção da presença de vários genes do tipo LOC em alguns cromossomos com regiões associadas às características avaliadas é interessante, pois esses são genes cujas funções biológicas ainda não foram confirmadas. Mais estudos são necessários para a determinação de funções de genes ainda não identificados, assim como para melhor entendimento sobre aqueles já conhecidos.

Referências

- Aguilar, I., Misztal, I., Johnson, D.L., Legarra, A., Tsuruta, S., Lawlor, T.J., 2010. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *J. Dairy Sci.* 93, 743-752. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2730>.
- Alvarenga, A.B., Rovadoscki, G.A., Petrini, J., Coutinho, L.L., Morota, G., Spangler, M.L., Pinto, L.F.B., Carvalho, G.G.P., Mourão, G.B., 2018. Linkage disequilibrium in Brazilian Santa Inês breed, *Ovis aries*. *Scient. Rep.* 8, 8851. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27259-7>.
- Andrechek, E.R., Hardy, W.R., Girgis-Gabardo, A.A., Perry, R.L., Butler, R., Graham, F.L., Kahn, R.C., Rudnicki, M.A., Muller, W.J., 2002. ErbB2 is required for muscle spindle and myoblast cell survival. *Mol. Cell. Bio.* 22, 4714-4722. <https://doi.org/10.1128/mcb.22.13.4714-4722.2002>.
- Armstrong, E., Ciappesoni, G., Iriarte, W., Da Silva, C., Macedo, F., Navajas, E.A., Brito, G., San Julián, R., Gimeno, D., Postiglioni, A., 2018. Novel genetic polymorphisms associated with carcass traits in grazing Texel sheep. *Meat Sci.* 145, 202-208. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.014>.

- Araújo, R.P., Souza, B.B., Roberto, J.V.B., Dantas, N.L.B., Oliveira, G.J.C., Batista, L.F., Cordão, M.A., 2015. Medidas corporais e da carcaça de ovinos suplementados com diferentes níveis de sal forrageiro de faveleira. *Rev. Cient. Prod. Anim.* 17, 1-6. <http://dx.doi.org/10.15528/2176-4158/rcpa.v17n1p1-6>.
- Bakhshalizadeh, S., Hashemi, A., Gaffari, M., Jafari, S., Farhadian, M., 2016. Estimation of genetic parameters and genetic trends for biometric traits in Moghani sheep breed. *Small Rum. Res.* 134, 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.030>.
- Baumgard, L.H., Hausman, G.J., Sanz Fernandez, M.V., 2016. Insulin: pancreatic secretion and adipocyte regulation. *Domest. Anim. Endocrinol.* 54, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2015.07.001>.
- Berton, M.P., Silva, R.M.O., Peripolli, E., Stafuzza, N.B., Martin, J.F., Álvarez, M.S., Gavina, B.V., Toro, M.A., Banchemo, G., Oliveira, P.S., Eler, J.P., Baldi, F., Ferraz, J.B.S., 2017. Genomic regions and pathways associated with gastrointestinal parasites resistance in Santa Inês breed adapted to tropical climate. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8, 73. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0190-4>.
- Bolormaa, S., Hayes, B.J., van der Werf, J.H., Pethick, D., Goddard, M.E., Daetwyler, H.D., 2016. Detailed phenotyping identifies genes with pleiotropic effects on body composition. *BMC Genomics* 17, 224. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2538-0>.
- Brito, L.F., Jafarikia, M., Grossi, D.A., Kijas, J.W., Porto-Neto, L.R., Ventura, R.V., Salgorzaei, M., Schenkel, F.S., 2015. Characterization of linkage disequilibrium, consistency of gametic phase and admixture in Australian and Canadian goats. *BMC Genet.* 16, 67. <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0220-1>.
- Brito, L. F., McEwan, J.C., Miller, S., Bain, W., Lee, M., Dodds, K., Newman, S.A., Pickering, N., Schenkel, F.S., Clarke, S., 2017. Genetic parameters for various growth, carcass and meat quality traits in a New Zealand sheep population. *Small Rumin. Res.* 154, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.07.011>.
- Cavanagh, C.R., Jonas, E., Hobbs, M., Thomson, P.C., Tammen, I., Raadsma, H.W., 2010. Mapping Quantitative Trait Loci (QTL) in sheep. III. QTL for carcass composition traits derived from CT scans and aligned with a meta-assembly for sheep and cattle carcass QTL. *Genet. Sel. Evol.* 42, 36. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-42-36>.
- Cockett, N.E., Smit, M.A., Bidwell, C.A., Segers, K., Hadfield, T.L., Snowden, G.D., Georges, M., Charlier, C., 2005. The callipyge mutation and other genes that affect muscle hypertrophy in sheep. *Genet. Sel. Evol.* 37, Suppl. 1, S65–S81. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-37-S1-S65>.
- Cui, X., Liu, R., Cui, H., Zhao, G., Zheng, M., Li, Q., Liu, J., Liu, Z., Wen, J., 2017. Effects of caponization and ovariectomy on objective indices related to meat quality in chickens. *Poult. Sci.* 96, 3, 770-777. <https://doi.org/10.3382/ps/pew346>.
- De Koning, D.J., Janss, L.L.G., Rattink, A.P., van Oers, A.M., de Vries, B.J., Groenen, M.A.M., van der Poel, J.J., de Groot, P.N., Brascamp, E.W., van Arendonk, J.A.M., 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat in pigs (*Sus scrofa*). *Genetics* 152, 4, 1679–1690. <https://www.genetics.org/content/152/4/1679.long>.
- Emenheiser, J.C., Greiner, S.P., Lewis, R.M., Notter, D.R., 2010. Validation of live animal ultrasonic measurements of body composition in market lambs. *J. Anim. Sci.* 88, 2932-2939. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2661>.

- Espigolan, R., Baldi, F., Boligon, A.A., Souza, F.R., Gordo, D.G., Tonussi, R.L., Cardoso, D.F., Oliveira, H.N., Tonhati, H., Sargolzaei, M., Schenkel, F.S., Carneiro, R., Ferro, J.A., Albuquerque, L.G., 2013. Study of whole genome linkage disequilibrium in Nelore cattle. *BMC Genomics* 14, 305. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-305>.
- Fang, L.H., Han, W., Shu, J.T., Zhu, Y.F., Zhang, X.Y., Chen, K.W., 2010. Improving muscle inosine monophosphate (IMP) contents in Wenchang chicken by pyramiding favorable genotypes of ADSL and GARS-AIRS-GART genes. *J. Anim. Vet. Adv.* 9, 13, 1791-1795. <https://doi.org/10.3923/javaa.2010.1791.1795>.
- Figueiredo Filho, L.A.S., do Ó, A.O., Sarmento, J.L.R., Santos, N.P.S., Torres, T.S., 2016. Genetic parameters for carcass traits and body size in sheep for meat production. *Trop. Anim. Health Prod.* 48, 215–218. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0921-5>.
- Figueiredo Filho, L.A.S., Sarmento, J.L.R., do Ó, A.O., Santos, N.P.S., Sena, L.S., Sousa Júnior, A., 2017. Estimate of genetic parameters for carcass traits and visual scores in meat sheep using Bayesian inference via threshold and linear models. *Cienc. Rural* 47, 3. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160174>.
- Figueiredo Filho, L.A.S., Sarmento, J.L.R., Campelo, J.E.G., Almeida, M.J.O., Sousa Júnior, A., Santos, N.P.S., 2018. Genetic parameters for marbling and body score in Anglonubian goats using Bayesian inference via threshold and linear models. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 31, 1407-1414. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0490>.
- Fleming-Waddell, J.N., Olbricht, G.R., Taxis, T.M., White, J.D., Vuocolo, T., Craig, B. A., Tellam, R.L., Neary, M.K., Cockett, N.E., Bidwell, C.A., 2009. Effect of *DLK1* and *RTL1* but not *MEG3* or *MEG8* on muscle gene expression in Callipyge lambs. *PLoS one* 4, e7399. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007399>.
- Garza Hernandez, D., Mucha, S., Banos, G., Kaseja, K., Moore, K., Lambe, N., Yates, J., Bunger, L., 2018. Analysis of single nucleotide polymorphisms variation associated with important economic and computed tomography measured traits in Texel sheep. *Animal* 12, 915-922. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002488>.
- Grindflek, E., Szyda, J., Liu, Z., Sigbjorn, L., 2001. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. *Mamm. Genome* 12, 299–304. <https://doi.org/10.1007/s003350010278>.
- Guo, B., Kongsuwan, K., Greenwood, P.L., Zhou, G., Zhang, W., Dalrymple, B.P., 2014. A gene expression estimator of intramuscular fat percentage for use in both cattle and sheep. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 5, 35. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-35>.
- Han, X., Jiang, T., Yu, L., Zeng, C., Fan, B., Liu, B., 2012. Molecular characterization of the porcine MTPAP gene associated with meat quality traits: chromosome localization, expression distribution, and transcriptional regulation. *Mol. Cell. Biochem.* 364, 1-2, 173-180. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-1216-4>.
- Hannich, M., Wallaschofski, H., Nauck, M., Reincke, M., Adolf, C., Völzke, H., Rettig, R., Hannemann, A., 2018. Physiological aldosterone concentrations are associated with alterations of lipid metabolism: observations from the general population. *Int. J. Endocrinol.* 2018, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2018/4128174>.
- Hardie, D.G., 2012. Organismal carbohydrate and lipid homeostasis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 4, 5. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006031>.
- Hay, E.H., Roberts, A., 2018. Genome-wide association study for carcass traits in a composite beef cattle breed. *Livest. Sci.* 213, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.04.018>.

- Hérault, F., Damon, M., Cherel, P., Le Roy, P., 2018. Combined GWAS and LDLA approaches to improve genome-wide quantitative trait loci detection affecting carcass and meat quality traits in pig. *Meat Sci.* 135, 148-158.
- Hocquette, J.F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C., Pethick, D.W., 2010. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal* 4, 2, 303-319. <https://doi.org/10.1017/S1751731109991091>.
- Holbro, T., Hynes, N.E., 2004. ErbB receptors: directing key signaling networks throughout life, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44, 195-217. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121440>.
- Hossein-Zadeh, N.G., Ghahremani, D., 2018. Bayesian estimates of genetic parameters and genetic trends for morphometric traits and their relationship with yearling weight in Moghani sheep. *Ital. J. Anim. Sci.* 17, 586-592. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1403296>.
- Huang, D.W., Sherman, B.T., Lempicki, R.A., 2009a. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res.* 37, 1-13. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn923>.
- Huang, D.W., Sherman, B.T., Lempicki, R.A., 2009b. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protoc.* 4, 44-57. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211>.
- Inazuka, F., Sugiyama, N., Tomita, M., Abe, T., Shioi, G., Esumi, H., 2012. Muscle-specific knock-out of NUA family SNF1-like kinase 1 (NUAK1) prevents high fat diet-induced glucose intolerance. *J. Biol. Chem.* 287, 20, 16379-16389. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.302687>.
- Jacobs, K., Van Poucke, M., Mattheeuws, M., Chardon, P., Yerle, M., Rohrer, G., Van Zeveren, A., Peelman, L.J., 2002. Characterization of the porcine melanocortin 2 receptor gene (MC2R). *Anim. Genet.* 33, 415-421. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2002.00899.x>.
- Johnson, P.L., McEwan, J.C., Dodds, K.G., Purchas, R.W., Blair, H.T., 2005. A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass traits in Texel sheep. *J. Anim. Sci.* 83, 1988-2000. <https://doi.org/10.2527/2005.8391988x>.
- Johnson, P.L., Dodds, K.G., Bain, W.E., Greer, G.J., McLean, N.J., McLaren, R.J., Galloway, S.M., van Stijn, T.C., McEwan, J.C., 2009. Investigations into the GDF8 g+6723G-A polymorphism in New Zealand Texel sheep. *J. Anim. Sci.* 87, 1856-1864. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1508>.
- Kijas, J.W., McCulloch, R., Edwards, J.E., Oddy, V.H., Lee, S.H., van der Werf, J., 2007. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the ovine GDF8 locus. *BMC Genet.* 8, 80. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-8-80>.
- Kim, H.A., Kwon, N.S., Baek, K.J., Kim, D.S., Yun, H.Y., 2015. Leucine-rich glioma inactivated 3 and tumor necrosis factor- α regulate mutually through NF- κ B. *Cytokine* 72, 220-223. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.12.023>.
- Kiya, C.K., Pedrosa, V.B., Muniz, K.F.A., Gusmão, A.L., Pinto, L.F.B., 2019. Estimates of the genetic parameters of a Dorper flock in Brazil. *Small Rumin. Res.* 171, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.12.007>.
- Kong, B.W., Hudson, N., Seo, D., Lee, S., Khatri, B., Lassiter, K., Cook, D., Piekarski, A., Dridi, S., Anthony, N., Bottje W., 2017. RNA sequencing for global gene expression associated with muscle growth in a single male modern broiler line compared to a foundational Barred Plymouth Rock chicken line. *BMC Genomics* 18, 82. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3471-y>.

- Lai, K.M., Gonzalez, M., Poueymirou, W.T., Kline, W.O., Na, E., Zlotchenko, E., Stitt, T.N., Economides, A.N., Yancopoulos, G.D., Glass, D.J., 2004. Conditional activation of akt in adult skeletal muscle induces rapid hypertrophy. *Mol. Cell. Biol.* 24, 9295-9304. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.21.9295-9304.2004>.
- Laville, E., Bouix, J., Sayd, T., Bibé, B., Elsen, J.M., Larzul, C., Eychenne, F., Marcq, F., Georges, M., 2004. Effects of a quantitative trait locus for muscle hypertrophy from Belgian Texel sheep on carcass conformation and muscularity. *J. Anim. Sci.* 82, 3128-3137. <https://doi.org/10.2527/2004.82113128x>.
- Lehto, M., Tienari, J., Lehtonen, S., Lehtonen, E., Olkkonen, V.M., 2004. Subfamily III of mammalian oxysterolbinding protein (OSBP) homologues: the expression and intracellular localization of ORP3, ORP6, and ORP7. *3 315*, 39–57. <https://doi.org/10.1007/s00441-003-0817-y>.
- Lemos, M.V., Chiaia, H.L., Berton, M.P., Feitosa, F.L., Aboujaoud, C., Camargo, G. M., Pereira, A.S., Albuquerque, L.G., Ferrinho, A.M., Mueller, L.F., Mazalli, M.R., Furlan, J.J., Carvalheiro, R., Gordo, D.M., Tonussi, R., Espigolan, R., Silva, R.M., de Oliveira, H.N., Duckett, S., Aguilar, I., Baldi, F., 2016. Genome-wide association between single nucleotide polymorphisms with beef fatty acid profile in Nellore cattle using the single step procedure. *BMC Genomics* 17, 213. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2511-y>.
- Lutz, K., 2014. Determining the role of DNTTIP1: Piecing together the callipyge sheep muscle hypertrophy pathway. *J. Purdue Undergrad. Res.* 4, 16-21. <http://dx.doi.org/10.5703/jpur.04.1.03>.
- Mak, M., Spill, F., Kamm, R.D., Zaman, M.H., 2016. Single-Cell Migration in Complex Microenvironments: Mechanics and Signaling Dynamics. *J. Biomech. Eng.* 138, 0210041–0210048. <http://dx.doi.org/10.1115/1.4032188>.
- Mao, H.G., Cao, H.Y., Liu, H.H., Dong, X.Y., Xu, N.Y., Yin, Z.Z., 2018. Association of ADSL gene polymorphisms with meat quality and carcass traits in domestic pigeons (*Columba livia*). *Br. Poult. Sci.* 59, 5, 604-607. <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1493188>.
- Masri, A.Y., Lambe, N.R., Macfarlane, J.M., Brotherstone, S., Haresign, W., Rius-Vilarrasa, E., Bünger, L., 2010. The effects of a loin muscling quantitative trait locus (LoinMAX™) on carcass and VIA-based traits in crossbred lambs. *Animal* 4, 407-416. <https://doi.org/10.1017/S175173110999125X>.
- Massender, E., Brito, L.F., Cánovas, A., Baes, C.F., Kennedy, D., Schenkel, F.S., 2019. A genetic evaluation of growth, ultrasound, and carcass traits at alternative slaughter endpoints in crossbred heavy lambs. *J. Anim. Sci.* 97, 521-535. <http://dx.doi.org/10.1093/jas/sky455>.
- Matika, O., Sechi, S., Pong-Wong, R., Houston, R.D., Clop, A., Woolliams, J.A., Bishop, S.C., 2011. Characterization of OAR1 and OAR18 QTL associated with muscle depth in British commercial terminal sire sheep. *Anim. Genet.* 42, 172-180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02121.x>.
- Matika, O., Riggio, V., Anselme-Moizan, M., Law, A.S., Pong-Wong, R., Archibald, A.L., Bishop, S.C., 2016. Genome-wide association reveals QTL for growth, bone and in vivo carcass traits as assessed by computed tomography in Scottish Blackface lambs. *Gen. Sel. Evol.* 48, 11. <https://dx.doi.org/10.1186%2Fs12711-016-0191-3>.
- McManus, C., Louvandini, H., Paim, T.P., Martins, R.S., Barcellos, J.O.J., Cardoso, C., Guimarães, R.F., Santana, O.A., 2011. The challenge of sheep farming in the tropics: aspects related to heat tolerance. *R. Bras. Zootec.* 40, 107-120.

- Meira, A.N., Montenegro, H., Coutinho, L.L., Mourão, G.B., Azevedo, H.C., Muniz, E.N., Machado, A.L., Sousa-Jr, L.P., Pedrosa, V.B., Pinto, L.F.B., 2019. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and IGF type-1 (IGF1) genes associated with carcass traits in Santa Ines sheep. *Animal* 13, 460-468. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001362>.
- Miller, J.M., Poissant, J., Kijas, J.W., Coltman, D.W., I.S.G.C., 2011. A genome-wide set of SNPs detects population substructure and long range linkage disequilibrium in wild sheep. *Mol. Ecol. Resour.* 11, 314-322. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02918.x>.
- Misztal, I., Tsuruta, S., Lourenco, D.A.L., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A., e Vitezica, Z. Manual for BLUPF90 of programs. http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90_all7.pdf (acessado em 20 de Junho de 2018).
- Mortimer, S.I., van der Werf, J.H.J., Jacob, R.H., Hopkins, D.L., Pannier, L., Pearce, K.L., Gardner, G.E., Warner, R.D., Geesink, G.H., Hocking Edwards, J.E., Ponnampalam, E.N., Ball, A.J., Gilmour, A.R., Pethick, D.W., 2014. Genetic parameters for meat quality traits of Australian lamb meat. *Meat Sci.* 96, 1016-1024. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.007>.
- Mortimer, S.I., Hatcher, S., Fogarty, N.M., van der Werf, J.H.J., Brown, D.J., Swan, A.A., Greeff, J.C., Refshauge, G., Edwards, J.E.H., Gaunt, G.M., 2017. Genetic parameters for wool traits, live weight, and ultrasound carcass traits in Merino sheep. *J. Anim. Sci.* 95, 1879-1891. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1234>.
- Mylonis, I., Simos, G., Paraskeva, E., 2019. Hypoxia-inducible factors and the regulation of lipid metabolism. *Cells* 8, 214. <https://doi.org/10.3390/cells8030214>.
- Navajas, E.A., 2014. Animal breeding and genetics: DNA Markers and Marker-Assisted Selection in the Genomic Era. *Enc. Meat Sci.* 1, 2, 12-18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00002-7>.
- Ovilo, C., Pérez-Enciso, M., Barragan, C., Clop, A., Rodriguez, C., Oliver, M.A., Toro, M.A. Noguera, J.L. 2000. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine chromosome 6. *Mamm. Genome* 11, 344-346. <https://doi.org/10.1007/s003350010065>.
- Ozmen, F., Ozmen, M.M., Gelecek, S., Bilgic, İ., Moran, M., Sahin, T.T., 2016. STEAP4 and HIF-1 α gene expressions in visceral and subcutaneous adipose tissue of the morbidly obese patients. *Mol. Immunol.* 73, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.03.008>.
- Pinheiro, R.S.B., Jorge, A.M., Yokoo, M.J., 2010. Correlações entre medidas determinadas in vivo por ultrassom e na carcaça de ovelhas de descarte. *R. Bras. Zootec.* 39, 5, 1161-1167. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000500030>.
- Qaid, M.M., Abdelrahman, M.M., 2016. Role of insulin and other related hormones in energy metabolism – A review. *Cogent Food Agric.* 2, 1. <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2016.1267691>.
- Ramos-Lopez, O., Riezu-Boj, J.I., Milagro, F.I., Martinez, J.A., 2018. DNA methylation signatures at endoplasmic reticulum stress genes are associated with adiposity and insulin resistance. *Mol Genet Metab.* 123, 50-58.
- Rovadoski, G.A., Pertile, S.F.N., Alvarenga, A.B., Cesar, A.S.M., Pértile, F., Petrini, J., Franzo, V., Soares, W.V.B., Morota, G., Spangler, M.L., Pinto, L.F.B., Carvalho, G.G.P., Lanna, D.P.D., Coutinho, L.L., Mourão, G.B., 2018. Estimates of genomic heritability and genome-wide association study for fatty acids profile in Santa Inês sheep. *BMC Genomics* 19, 375. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4777-8>.

- Safari, E., Fogarty, N.M., Gilmour, A.R., 2005. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. *Livest. Prod. Sci.* 92, 271-289. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.09.003>.
- Santana Jr, M.L., Bignardi, A.B., Eler, J.P., Cardoso, F.F., Ferraz, J.B.S., 2013. Genotype by environment interaction and model comparison for growth traits of Santa Ines sheep. *J. Anim. Breed. Genet.* 130, 394-403. <http://dx.doi.org/10.1111/jbg.12029>.
- Santana, M.H.A, Ventura, R.V., Utsunomiya, Y.T., Neves, H.H.R., Alexandre, P.A., Oliveira Júnior, G.A., Gomes, R.C., Bonin, M.N., Coutinho, L.L., Garcia, J.F., Silva, S.L., Fukumasu, H., Leme, P.R., Ferraz, J.B.S., 2015. A genomewide association mapping study using ultrasound-scanned information identifies potential genomic regions and candidate genes affecting carcass traits in Nellore cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 132, 420-427. <https://doi.org/10.1111/jbg.12167>.
- Sargolzaei, M., Schenkel, F.S., Jansen, G.B., Schaeffer, L.R., 2008. Extent of Linkage Disequilibrium in Holstein Cattle in North America. *J. Dairy Sci.* 91, 2106-2117. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0553>.
- Scherer, A., Christensen, G.B., 2016. Concepts and relevance of genome-wide association studies. *Sci. Prog.* 99, 59-67. <https://doi.org/10.3184/003685016X14558068452913>.
- Schiaffino, S., Mammucari, C., 2011. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skelet. Muscle* 1, 4. <https://doi.org/10.1186/2044-5040-1-4>.
- Schiaffino, S., Dyar, K.A., Ciciliot, S., Blaauw, B., Sandri, M., 2013. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.* 280, 4294-4314. <https://doi.org/10.1111/febs.12253>.
- Sena, L.S., Santos, G.V., Torres, T.S., Sousa Júnior, A., Rego Neto, A.A., Sarmiento, J.L.R., Biagiotti, D., 2016. Genetic parameters for carcass traits and body size of meat sheep. *Semina: Ciênc. Agrár.* 37, 2477-2486. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n4Supl1p2477>.
- Seo, J., Fortunato, E.S., Suh, J.M., Stenesen, D., Tang, W., Parks, E.J., Adams, C.M., Townes, T., Graff, J.M., 2009. Atf4 regulates obesity, glucose homeostasis, and energy expenditure. *Diabetes* 58, 11, 2565-2573. <https://doi.org/10.2337/db09-0335>.
- Sevane, N., Armstrong, E., Cortés, O., Wiener, P., Pong Wong, R., Dunner, S., the GemQual Consortium., 2013. Association of bovine meat quality traits with genes included in the PPARG and PPARGC1A networks. *Meat Sci.* 94, 328-335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.014>.
- Shi, L., Tu, B.P., 2015. Acetyl-CoA and the Regulation of Metabolism: Mechanisms and Consequences. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 33, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.02.003>.
- Shin, Y., Jung, H.J., Jung, M., Yoo, S., Subramaniam, S., Markkandan, K., Kang, J.M., Rai, R., Park, J., Kim, J.J., 2016. Discovery of gene sources for economic traits in hanwoo by whole-genome resequencing. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 29, 9, 1353-1362. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.15.0760>.
- Shu, J.T., Bao, W.B., Zhang, X.Y., Ji, C.J., Han, W., Chen, K.W., 2009. Combined effect of mutations in ADSL and GARS-AIRS-GART genes on IMP content in chickens. *Br. Poult. Sci.* 50, 6, 680-686.
- Silva-Vignato, B., Coutinho, L.L., Poleti, M.D., Cesar, A.S.M., Moncau, C.T., Regitano, L.C.A., Balieiro, J.C.C., 2019. *BMC Genomics* 20, 32. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5345-y>.

- Switonski, M., Mankowska, M., Salamon, S., 2013. Family of melanocortin receptor (MCR) genes in mammals-mutations, polymorphisms and phenotypic effects. *J. Appl. Genet.* 54, 461-472. <https://doi.org/10.1007/s13353-013-0163-z>.
- Teixeira, A., 2008. Avaliação "in vivo" da composição corporal e da carcaça de caprinos - uso de ultrasonografia. *R. Bras. Zootec.* 37, 191-196. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982008001300021>.
- Teixeira, C.S., Oliveira, D.A.A., Quirino, C.R., 2006. Musculatura dupla: II - Deteminação genética. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 14, 17-23.
- Tellam, R.L., Cockett, N.E., Vuocolo, T., Bidwell, C.A., 2012. Genes Contributing to Genetic Variation of Muscling in Sheep. *Front. Genet.* 3, 164. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00164>.
- VanRaden, P.M., 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *J. Dairy Sci.*, 91, 4414-4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>.
- Vuocolo, T., Byrne, K., White, J., McWilliam, S., Reverter, A., Cockett, N.E., Tellam RL., 2007. Identification of a gene network contributing to hypertrophy in callipyge skeletal muscle. *Physiol. Genomics* 12, 253-272. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00121.2006>.
- Walling, G.A., Visscher, P.M., Wilson, A.D., McTeir, B.L., Simm, G., Bishop, S.C., 2004. Mapping of quantitative trait loci for growth and carcass traits in commercial sheep populations. *J. Anim. Sci.* 82, 2234-2245. <https://doi.org/10.2527/2004.8282234x>.
- Wang, C., Huang, Z., Du, Y., Cheng, Y., Chen, S., Guo, F., 2010. ATF4 regulates lipid metabolism and thermogenesis. *Cell Res.* 20, 174-184. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.4>.
- Wang, H., Misztal, I., Aguilar, I., Legarra, A., Muir, W.M., 2012. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. *Genet. Res. Camb.* 94, 73-83, <https://doi.org/10.1017/S0016672312000274>.
- Wang, H., Misztal, I., Aguilar, I., Legarra, A., Fernando, R.L., Vitezica, Z., Okimoto, R., Wing, T., Hawken, R., Muir, W.M., 2014. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. *Front. Genet.* 5, 134. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00134>.
- Ward, C.W., Lawrence, M.C., 2011. Landmarks in insulin research. *Front. Endocrinol.* 2, 76. <https://doi.org/10.3389/fendo.2011.00076>.
- Xiao, Q., Wu, X.L., Michal, J.J., Reeves, J.J., Busboom, J.R., Thorgaard, G.H., Jiang, Z.H., 2006. A novel nuclear-encoded mitochondrial poly (A) polymerase PAPD1 is a potential candidate gene for the extreme obesity related phenotypes in mammals. *Int. J. Biol. Sci.* 2, 171-178.
- Yang, G., Forrest, R., Zhou, H., Hodge, S., Hickford, J., 2014. Genetic variation in the ovine uncoupling protein 1 gene: association with carcass traits in New Zealand (NZ) Romney sheep, but no association with growth traits in either NZ Romney or NZ Suffolk sheep. *J. Anim. Breed. Genet.* 131, 437-444. <https://doi.org/10.1111/jbg.12097>.
- Yang, Y., Mishra, V.K., Chen, M., Duffee, E., Dimmitt, R., Harmon, C.M., 2013. Molecular Characterization of Human Melanocortin-5 Receptor Ligand-Receptor Interaction. *Biochemistry* 52, 1737-1745. <https://doi.org/10.1021/bi3013593>.
- Ye, M.H., Chen, J.L., Zhao, G.P., Zheng, M.Q., Wen, J., 2010. Correlation between polymorphisms in ADSL and GARS-AIRS-GART genes with inosine 5'-monophosphate (IMP) contents in Beijing-you chickens. *Br. Poult. Sci.* 51, 5, 609-613. <https://doi.org/10.1080/00071668.2010.508486>.

- Zhang, H., Wang, Z., Wang, S., Li., 2012. Progress of genome wide association study in domestic animals. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 3, 26. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-3-26>.
- Zhang, L., Liu, J., Zhao, F., Ren, H., Xu, L., Lu, J., Zhang, S., Zhang, X., Wei, C., Lu, G., Zheng, Y., Du, L., 2013. Genome-Wide Association Studies for growth and meat production traits in sheep. *Plos One* 8, 6, e66569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066569>.
- Zhang, X.D., Zhang, S.J., Ding, Y.Y., Feng, Y.F., Zhu, H.Y., Huang, L., Wu, T., Zhou, J., Yin, Z.J., 2015. Association between ADSL, GARS-AIRS-GART, DGAT1, and DECR1 expression levels and pork meat quality traits. *Genet. Mol. Res.* 14, 4, 14823-14830. <http://dx.doi.org/10.4238/2015.November.18.47>.
- Zhang, Z., Liu, J., Ding, X., Bijma, P., Koning, D.J., Zhang., 2010. Best linear unbiased prediction of genomic breeding values using a trait-specific marker derived relationship matrix. *PLoS One* 5, 9, e12648. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0012648>.
- Zhao, C., Tian, F., Yu, Y., Luo, J., Mitra, A., Zhan, F., Hou, Y., Liu, G., Zan, L., Updike, M.S., Song, J., 2012. Functional genomic analysis of variation on beef tenderness induced by acute stress in Angus cattle. *Comp. Funct. Genomics* 2012, 756284. <https://doi.org/10.1155/2012/756284>.
- Zhu, R., Wang, Y., Wang, H., Lin, S., Sun, S., Huang, B., Hu, H., 2017. ADSL, AMPD1, and ATIC Expression levels in muscle and their correlations with muscle inosine monophosphate content in Dapulian and hybridized pig species. *Open J. Anim. Sci.*, 7, 393-404. <https://doi.org/10.4236/ojas.2017.74030>.

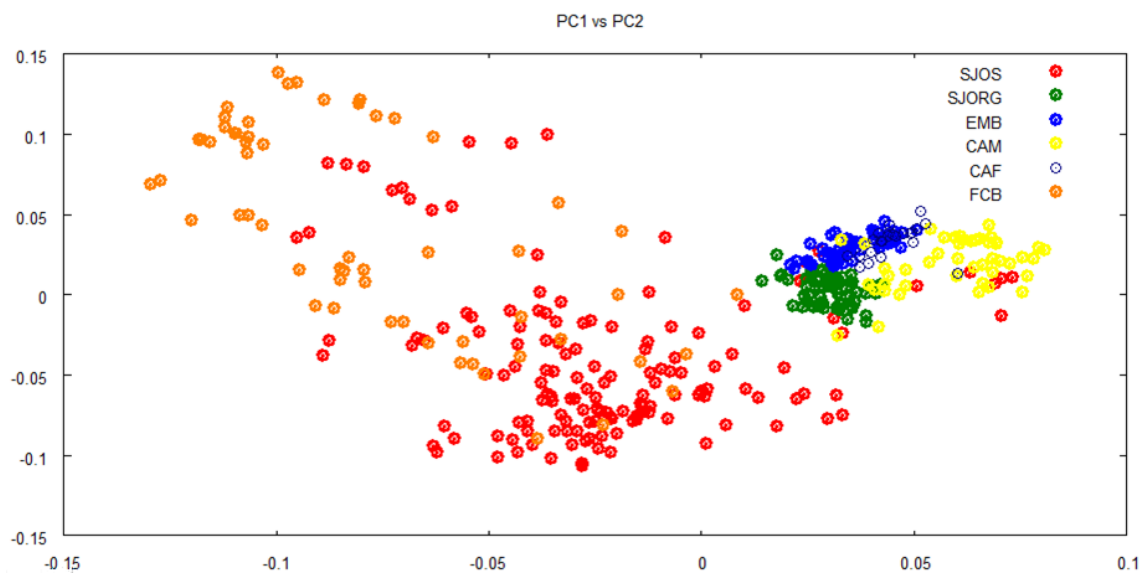


Figura 1. Dois primeiros componentes principais (PC1: eixo x = 3,85%; PC2: eixo y = 3,35%) da matriz de parentesco genômico para os animais genotipados.

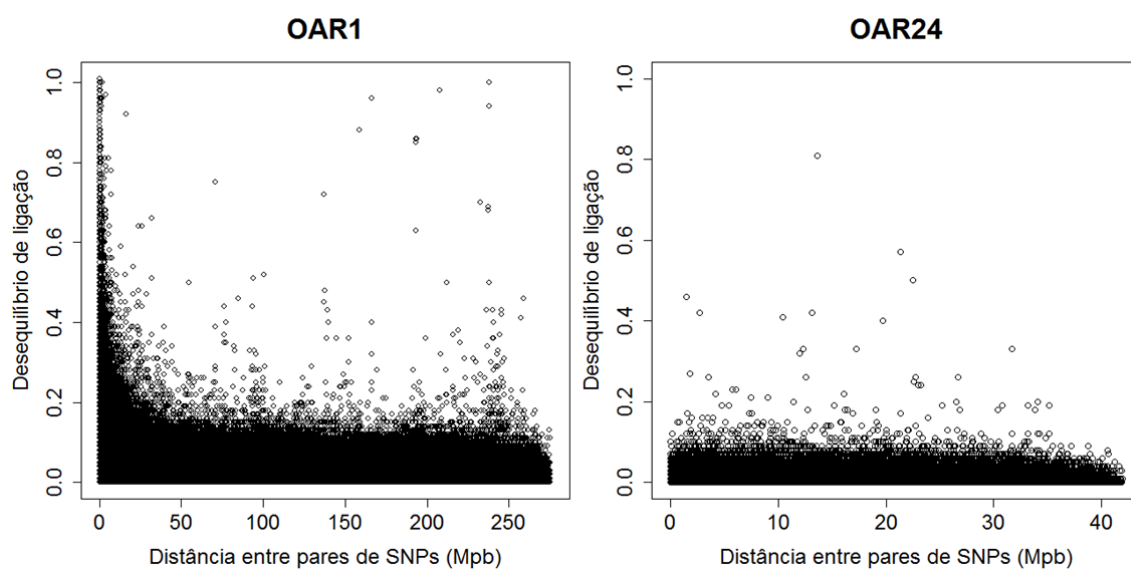


Figura 2. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) no maior (OAR1) e no menor (OAR24) cromossomos autossômicos.

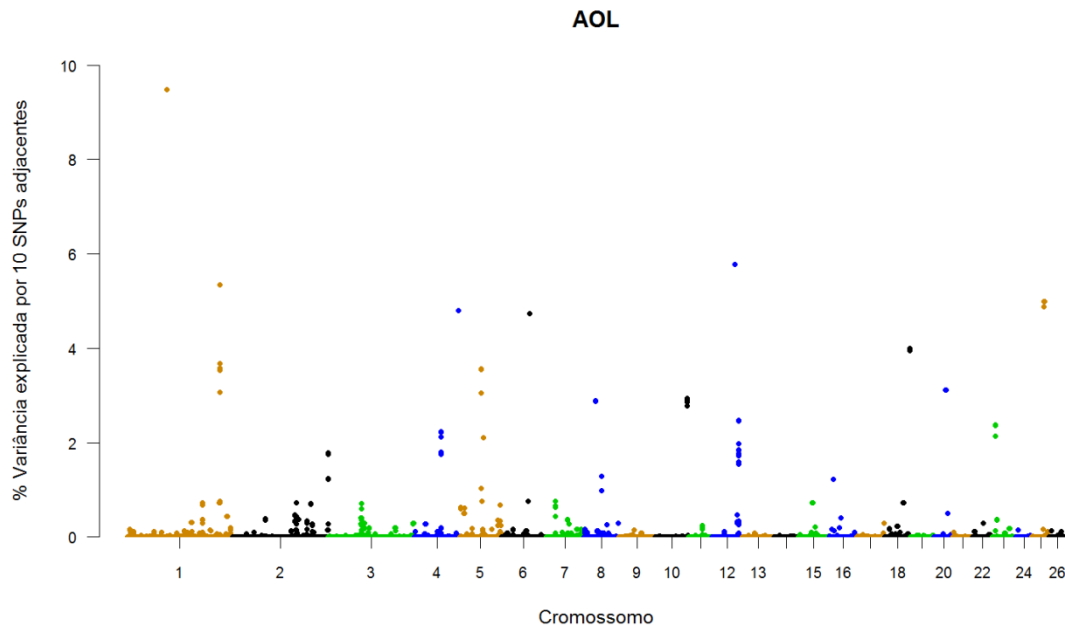


Figura 3. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para área de olho de lombo (AOL) obtida por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.

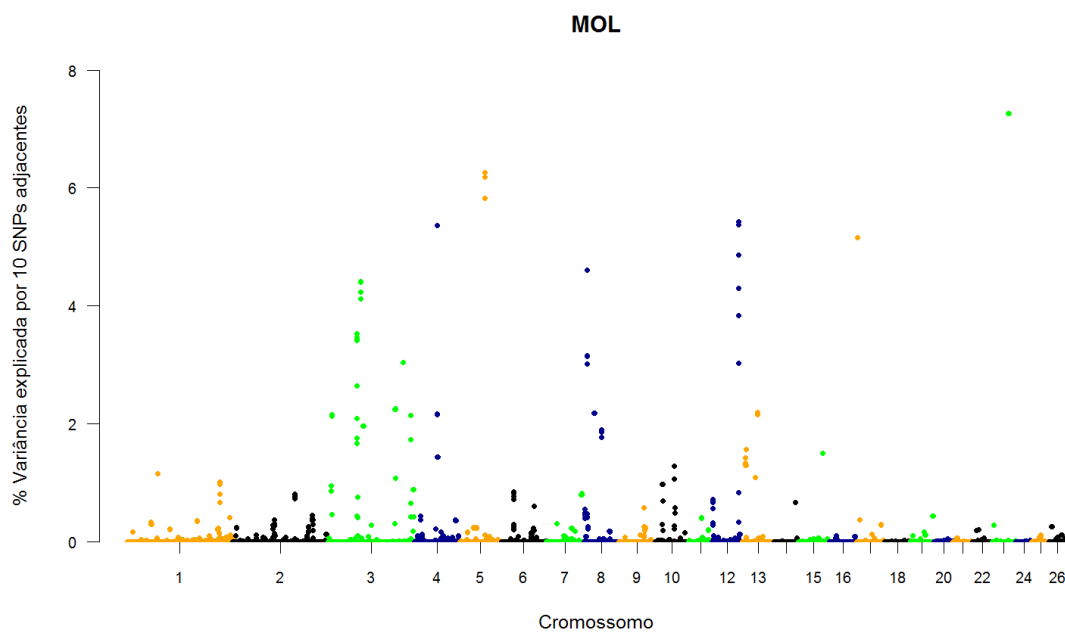


Figura 4. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para marmoreio de olho de lombo (MOL) obtido por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.

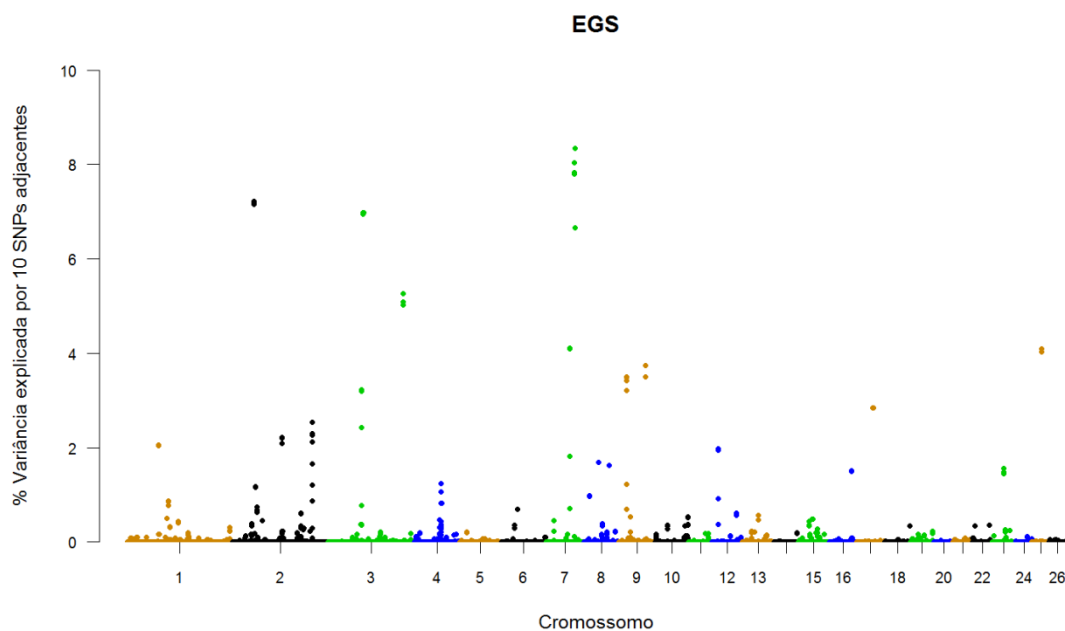


Figura 5. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para espessura de gordura subcutânea (EGS) obtida por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.

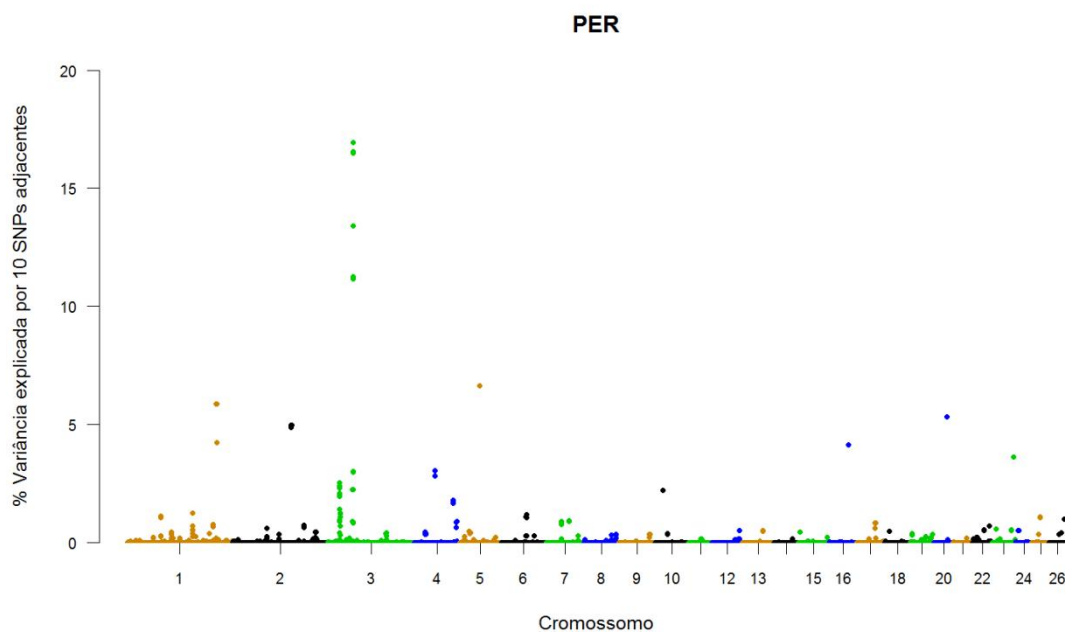


Figura 6. Manhattan plot para a proporção de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes para circunferência da perna (PER) em ovinos Santa Inês.

Tabela 1. Estatística descritiva e estimativas de parâmetros genéticos para características de carcaça mensuradas *in vivo* em ovinos Santa Inês.

Característica	N	Média ± DP	Amplitude	CV (%)	$\sigma_a^2 \pm \text{DPP}$	$\sigma_e^2 \pm \text{DPP}$	$h^2 \pm \text{DPP}$
AOL (cm ²)	977	8,99 ± 3,11	2,55-23,07	34,58	1,65 ± 0,43	3,97 ± 0,38	0,29 ± 0,07
MOL (escore)	890	2,12 ± 1,20	0,00-4,00	56,52	0,15 ± 0,06	0,58 ± 0,17	0,20 ± 0,09
EGS (mm)	894	1,69 ± 1,04	0,00-6,55	61,14	0,14 ± 0,05	0,55 ± 0,05	0,20 ± 0,07
PER (cm)	882	38,76 ± 4,42	22,00-55,00	11,41	2,54 ± 1,00	11,26 ± 0,97	0,18 ± 0,07

AOL: area de olho de lombo; MOL: escore de marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna;

DP: desvio padrão; DPP: desvio padrão *a posteriori*; CV: coeficiente de variação.

Tabela 2. Análises descritivas de desequilíbrio de ligação (LD, r^2) entre pares de SNPs por cromossomo autossômico da espécie *Ovis aries* (OAR).

OAR	Tamanho (Mpb)	SNPs antes ¹	SNPs após ²	LD médio (DP)	Distâncias entre pares de SNPs (Mpb)		
					Média ³	Mínima ⁴	Máxima ⁵
1	275,335	5868	5121	0,009 (0,018)	92,072	0,002	275,335
2	248,621	5470	4805	0,008 (0,017)	82,541	0,002	248,621
3	223,794	4960	4334	0,009 (0,019)	74,118	1,4E-4	223,794
4	118,978	2670	2363	0,010 (0,023)	39,650	0,001	118,978
5	107,487	2334	2038	0,009 (0,019)	35,594	6,5E-5	107,487
6	116,475	2568	2251	0,010 (0,023)	38,618	0,002	116,475
7	99,469	2235	1963	0,011 (0,023)	33,622	0,002	99,469
8	90,471	2047	1818	0,012 (0,026)	30,508	0,003	90,471
9	93,968	2129	1888	0,010 (0,022)	31,705	0,004	93,968
10	85,792	1842	1607	0,011 (0,027)	28,706	0,002	85,792
11	61,278	1171	1035	0,013 (0,029)	20,177	0,004	61,278
12	78,960	1707	1503	0,011 (0,026)	26,101	0,002	78,960
13	82,809	1686	1449	0,013 (0,031)	27,625	0,002	82,809
14	62,357	1170	1001	0,012 (0,030)	20,784	3,6E-5	62,357
15	79,754	1686	1467	0,007 (0,013)	26,811	0,002	79,754
16	71,504	1573	1350	0,007 (0,012)	24,021	0,002	71,504
17	72,037	1416	1204	0,007 (0,013)	23,827	0,003	72,037
18	67,318	1412	1232	0,007 (0,012)	22,149	0,004	67,318
19	60,105	1246	1062	0,007 (0,013)	20,236	0,006	60,105
20	50,608	1132	976	0,007 (0,013)	16,910	0,003	50,608
21	49,714	878	746	0,007 (0,013)	15,962	0,003	49,714

Continua

Continuação da Tabela 2

OAR	Tamanho (Mpb)	SNPs antes ¹	SNPs após ²	LD médio (DP)	Distâncias entre pares de SNPs (Mpb)		
					Média ³	Mínima ⁴	Máxima ⁵
22	50,631	1109	962	0,007 (0,012)	16,868	0,002	50,631
23	61,895	1125	990	0,008 (0,013)	20,649	0,005	61,895
24	41,912	744	651	0,007 (0,013)	13,814	0,003	41,912
25	45,110	995	865	0,007 (0,012)	14,783	0,004	45,110
26	43,810	911	784	0,008 (0,013)	14,813	0,001	43,810

¹Número de SNPs por autossomo ovino antes do controle de qualidade, ²Número de SNPs após o controle de qualidade, DP: desvio padrão, Mpb: Mega pares de base, ³Distância média entre pares de SNPs por cromossomo, ⁴Distância mínima entre pares de SNPs por cromossomo, ⁵Distância máxima entre pares de SNPs por cromossomo.

Tabela 3. Regiões genômicas associadas à área de olho de lombo mensurada por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.

Cromossomo : Região ^a	Genes	%(σ_a^2) ^b
1:103626285-104115107	<i>KCNN3, PMVK, PBXIP1, SHC1, DCST2, KRTCAP2, MUC1, THBS3, GBA, FAM189B, SCAMP3, CLK2, PKLR, ASH1L, DPM3, CKS1B, FLAD1, ZBTB7B, DCST1, ADAM15, EFNA4, EFNA3, EFNA1, SLC50A1, TRIM46, MTX1, HCN3, LENEP, PYGO2, RUSC1, RUSC1-AS1, FDPS</i>	9,48
1:241611252-242256369	-	5,35
2:247483890-247867842	<i>ACTL8, ARHGEF10L</i>	1,78
4:116002333-116343298	<i>PAXIP1, DPP6, LOC101106163</i>	4,81
4:70440497-70888676	<i>NPVF, C7orf31, WSB1, LOC101107954, OSBPL3, LOC105615050, LOC106990092, LOC105606602, TRNAC-GCA</i>	2,24
5:55647041-57012951	<i>DPYSL3, JAKMIP2, SPINK1, C5H5orf46, STK32A, SCGB3A2, SPINK5, SPINK6, PPP2R2B, LOC105606699, LOC105606696, SPINK14, LOC101108915, LOC105606694, LOC101108654, LOC105606690, LOC106990381, TRNAS-GGA, TRNAA-AGC</i>	3,56
5:60500082-60910900	<i>GLRA1, G3BP1, LOC101107700, LOC105615377</i>	2,11
6:74422550-74961416	<i>LOC101119217</i>	4,74
8:29854902-30172605	<i>PDSS2, BEND3, CD24, TRNAW-CCA, LOC101109453, MTRES1</i>	2,89
8:45222581-45685221	-	1,29
10:83151438-83451800	<i>MYO16</i>	2,93
12:58410632-59021348	<i>ABL2, NPFS2, FAM20B, TOR3A, SOAT1, AXDND1, TDRD5, LOC101118627, LOC105608228, LOC105616560, LOC105608227, LOC106991492</i>	5,77
12:68910684-69196281	<i>ATF3, NSLI, BATF3, FAM71A, LOC105607667, LOC101116495</i>	2,47
16:11417839-11788270	<i>PIK3R1</i>	1,23
18:66371408-67250289	<i>CDC42BPB, XRCC3, PPP1R13B, ATP5MPL, RD3L, EIF5, MARK3, TRMT61A, BAG5, APOPT1, TDRD9, LOC101104530, LOC105603274, ZFYVE21, KLC1, KIF26A, EXOC3L4, CKB, TNFAIP2, LOC106990142, LOC105603310, LOC106991750, LOC105603277, LOC101123501, LOC105603275, LOC101123240, LOC105603279, TRNAE-UUC</i>	3,99

Continua

Continuação da Tabela3

Cromossomo : Região ^a	Genes	%(σ_a^2) ^b
20:31443849-31983671	<i>CARMIL1, ARMH2, GMNN, LOC101106806, KIAA0319, C20H6orf62, TDP2, ACOT13, RIPOR2, LOC106991796, LOC105603818, LOC105603821, LOC105603817</i>	3,12
23:9073407-9598680	<i>DSEL, TRNAC-GCA</i>	2,38
25:32244874-32531667	<i>KCNMA1, LOC106991576</i>	5,00

^aPosição em pares de bases (assembly Oar_v4.0); ^bPorcentagem de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes

Tabela 4. Regiões genômicas associadas a marmoreio de olho de lombo mensurado por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.

Cromossomo : Região ^a	Genes	%(σ_a^2) ^b
1:79214250-79792235	<i>COL11A1</i>	1,16
1:242152707-242667571	<i>LOC101105302</i>	1,01
3:8640778-9233223	<i>ANGPTL2, GARNL3, RALGPS1, ZBTB43, ZBTB34, ZNF79, SLC2A8</i>	2,16
3:75596009-75983402	<i>GTF2A1L, PPP1R21, STON1, FOXN2, LHCGR, TRNAW-CCA, LOC101105644, LOC105606945, LOC105613961, LOC105613980</i>	3,53
3:85275923-85708347	<i>HNRNPLL, LOC106990987, LOC101120157, ATL2, LOC105609061, LOC105614635, LOC101120655, SRSF7, GALM, GEMIN6</i>	4,42
3:91267556-91703526	<i>BIRC6, NLRC4, YIPF4, SLC30A6, SPAST, MEMO1, DPY30, LOC105612685, LOC105612687, LOC105614656, LOC105614657, LOC106991061</i>	1,97
3:174477792-174836376	<i>CKAP4, POLR3B, RFX4, TCP11L2, LOC101116302, TRNAC-GCA, NUAKI</i>	2,27
3:195242390-195641594	<i>PLEKHA5, AEBP2, LOC101116645, LOC105611558</i>	3,05
3:214924525-215490076	<i>GRAP2, TNRC6B, ATF4, RPS19BP1, CACNAII, ENTHD1, FAM83F, LOC106991093, ADSL, LOC106991094, SGSM3, MRTFA</i>	2,15
4:60933503-61593928	<i>HERPUD2, EEPD1, SEPT7, ANLN, LOC105610410, LOC105610411</i>	5,37
5:65328276-65782170	<i>SGCD, TIMD4, HAVCRI, LOC105611754, LOC105615294, LOC101111190</i>	6,27
8:6919043-7224951	<i>TTK, BCKDHB, LOC106991296, LOC105615815, LOC105615816</i>	4,61
8:26267543-26795108	<i>SLC16A10, CDK19, LOC105609602, AMD1, RPF2, GTF3C6, MFSD4B</i>	2,18
8:45107550-45596532	-	1,91
10:50243024-50770140	<i>TBCID4, LOC101102249, LOC101123052, TRNAE-CUC</i>	1,29
12:68910684-69196281	<i>NSLI, BATF3, ATF3, FAM71A, LOC105607667, LOC101116495</i>	5,43
13:8762063-9543157	<i>MACROD2, KIF16B, LOC105616645</i>	1,58
13:34003934-34493578	<i>MAP3K8, JCAD, MTPAP, LOC105609161, LOC105616691, LOC106991521</i>	1,10
13:39956131-40394431	<i>PAXI</i>	2,20

Continua

Continuação da Tabela 4

Cromossomo : Região ^a	Genes	%(σ_a^2) ^b
15:63693631-64033930	<i>PDHX, CD44, SLC1A2, LOC105602352</i>	1,51
17:2810414-3691872	<i>DCHS2, LOC105602979</i>	5,16
23:43069356-43964614	<i>GNAL, IMPA2, CIDEA, PRELID3A, PSMG2, CEP192, LDLRAD4, RNMT, MC5R, MPPE1, AFG3L2, SPIRE1, CEP76, PTPN2, FAM210A, MC2R, LOC105612300, TUBB6, LOC106990432, TRNAC-GCA, LOC105604490, LOC105612301</i>	7,27

^aPosição em pares de bases (assembly Oar_v4.0); ^bPorcentagem de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes.

Tabela 5. Regiões genômicas associadas à espessura de gordura subcutânea mensurada por ultrassonografia em tempo real em ovinos Santa Inês.

Cromossomo : Região ^a	Genes	%(σ_a^2) ^b
1:81223040-81762074	-	2,06
2:54304983-54859065	<i>TLE1, LOC101110483</i>	7,23
2:207523564-207861282	<i>ADAM23, DYTN, FASTKD2, MDH1B, FAM237A</i>	2,54
2:127994859-128448469	<i>LOC101121318, TRNAC-GCA</i>	2,21
2:58377511-58805835	<i>GNA14, GNAQ, LOC105607782, TRNAW-CCA</i>	1,17
3:91413691-91908160	<i>BIRC6, NLRC4, SLC30A6, SPAST, YIPF4, DPY30, MEMO1, SRD5A2, LOC106991061, LOC105612685, LOC105612687</i>	6,97
3:195104765-195620265	<i>AEBP2, PLEKHA5, LOC101116645, LOC105611558, LOC105611557</i>	5,27
3:86273231-86864592	<i>CDC42EP3, CEBPZ, EIF2AK2, NDUFAF7, PRKD3, QPCT, SULT6B1, GPATCH11, HEATR5B, CEBPZOS, TRNAS-GGA</i>	3,23
4:70777595-71117749	<i>OSBPL3, DFNA5, LOC105613453</i>	1,23
7:74829782-75197725	<i>LOC105607019, LOC105615804</i>	8,34
7:62785817-63631984	<i>BMP4, LOC105610715, LOC105610719</i>	4,11
8:37883088-38263778	<i>FBXL4</i>	1,69
8:65291460-65744396	-	1,63
9:69276855-69634999	<i>ANGPT1, LOC105610183</i>	3,74
9:20247556-20592464	<i>LOC105608713, LOC105608712</i>	3,50
12:16132429-16608566	-	1,98
16:58712294-58991667	<i>TRIO, LOC106991670</i>	1,51
17:42416982-42967825	<i>LOC105602831</i>	2,85
23:30815656-31304735	<i>PSMA8, SS18, TAF4B</i>	1,56
25:25257437-25716923	<i>HK1, HKDC1, NEUROG3, SRGN, SUPV3L1, TACR2, TSPAN15, VPS26A, FAM241B, LOC105604969, LOC106991930</i>	4,09

^aPosição em pares de bases (assembly Oar_v4.0); ^bPorcentagem de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes.

Tabela 6. Regiões genômicas associadas à circunferência da perna mensurada *in vivo* em ovinos Santa Inês.

Cromossomo : Região ^a	Genes	%(σ_a^2) ^b
1:86906082-87265003	<i>KCNA10, KCNA2, PROK1, CYM, KCNA3, CD53, LOC101105715, LOC105607978, LOC105615254, TRNAK-UUU</i>	1,14
1:170690492-171272368	<i>BBX, CD47, IFT57, HHLA2, LOC105616835, LOC106990806</i>	1,28
1:232532194-233576142	<i>MBNL1, RAP2B, P2RY1, LOC106990883, TRNAC-GCA</i>	5,89
2:152761424-153260541	-	4,97
3:30050924-30423393	-	2,54
3:64123275-64497249	<i>LOC105613749</i>	16,93
4:53508815-53857035	<i>MDFIC, FOXP2</i>	3,06
4:102003825-102514137	<i>TRIM24, SVOPL, ATP6V0A4, TMEM213, KIAA1549, ZC3HAV1L, ZC3HAV1, TTC26, LOC105615164, LOC106991141, LOC105609824</i>	1,79
5:50449742-50982502	<i>NDFIP1, GNPDA1, SPRY4, FGF1, LOC105608315, LOC106991151</i>	6,66
6:65217298-65667866	<i>GABRA4, GABRB1, LOC101121518</i>	1,19
10:19145913-19677603	<i>ARL11, FNDC3A, MLNR, CDADC1, CAB39L, SETDB2, PHF11, RCBTB1, EBPL, KPNA3, LOC101116843, LOC101117088</i>	2,22
16:50007497-50485455	<i>CDH12, LOC105602606</i>	4,16
20:34818549-35241171	<i>LOC105603828, LOC106991810</i>	5,32
23:56560644-57241983	<i>ST8SIA3, ONECUT2, FECH, NARS, ATP8B1, LOC105604550, LOC105604551, LOC105604546, LOC105604547</i>	3,63
25:22347925-22785127	<i>CTNNA3, LOC105604959</i>	1,10
26:38675497-39281659	<i>TOP2B, RARB, LOC106991956</i>	1,02

^aPosição em pares de bases (assembly Oar_v4.0); ^bPorcentagem de variância genética explicada por janelas de 10 SNPs adjacentes.

Tabela 7. Termos de ontologia gênica (GO) para processos biológicos significativamente ($P < 0,01$) relacionados às características em estudo*.

Característica	Termo GO	p-valor	Genes	^a FDR
AOL	GO:0016477~ migração celular	8,8E-3	<i>ABL2, CDC42BPB, CARMIL1, EFNA1</i>	11,00
EGS	GO:0060113~ diferenciação de células receptoras do ouvido interno	7,9E-3	<i>DFNA5, BMP4</i>	9,80

AOL: área de olho de lombo; MOL: marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna; ^aFDR: Taxa de falsa descoberta (%). *Não foram encontrados termos GO significativos ($P < 0,01$) para MOL e PER.

Tabela 8. Análise de anotação de termos de ontologia gênica (GO) enriquecida ($P < 0,01$) a partir do conjunto de genes identificados previamente.

Termo GO	p-valor	Genes	¹ FDR
GO:0001678~ homeostase de glicose celular	8,7E-3	<i>HK1, HKDC1, PIK3R1</i>	13,00
GO:0060013~ reflexo de endireitamento (<i>righting reflex</i>)	6,9E-3	<i>AFG3L2, FOXP2, GLRA1</i>	10,00
GO:0005536~ ligação de glicose	6,3E-3	<i>HK1, HKDC1, SLC2A8</i>	7,50
GO:0000978~ ligação de DNA específica da sequência da região proximal do promotor do núcleo da RNA polimerase II	9,2E-3	<i>AEBP2, CEBPZ, ATF3, ATF4, BATF3, FOXP2, NEUROG3, ONECUT2, RFX4, ZBTB7B</i>	11,00

^aFDR: Taxa de falsa descoberta (%).

Tabela 9. Vias KEGG significativamente enriquecidas ($P < 0,05$) para as características em estudo a partir da plataforma DAVID.

Característica	KEGG	p-valor	Genes	FDR
AOL	oas04014: via de sinalização Ras	1,3E-3	<i>ABL2, SHC1, EFNA1, EFNA3, EFNA4, PIK3R1</i>	1,50
	oas00900: biosíntese de terpenoide na espinha dorsal	3,0E-3	<i>FDPS, PMVK, PDSS2</i>	3,40
	oas04151: via de sinalização PI3K-Akt	9,2E-3	<i>EFNA1, EFNA3, EFNA4, PIK3R1, PPP2R2B, THBS3</i>	10,00
	oas04012: via de sinalização ErbB	4,2E-2	<i>ABL2, SHC1, PIK3R1</i>	39,00
	oas05222: câncer de pulmão de pequenas células	4,2E-2	<i>CKS1B, LOC101107954, PIK3R1</i>	39,00
	oas04015: via de sinalização Rap1	4,2E-2	<i>EFNA1, EFNA3, EFNA4, PIK3R1</i>	39,00
MOL	oas04925: síntese e secreção de aldosterona	4,2E-2	<i>ATF4, CACNA1I, MC2R</i>	37,00
EGS	oas00524: biosíntese de butirósina e neomicina	1,0E-2	<i>HK1, HKDC1</i>	10,00
	oas04066: Via de sinalização HIF-1	1,7E-2	<i>ANGPT1, HK1, HKDC1</i>	17,00
PER	oas04080: Interação neuroativa ligante-receptor	3,0E-2	<i>GABRA4, GABRB1, MLNR, P2RY1</i>	25,00
	oas00190: Fosforilação oxidativa	4,1E-2	<i>ATP6V0A4, LOC101116843, LOC101121518</i>	32,00

AOL: área de olho de lombo; MOL: marmoreio de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; PER: circunferência da perna. ³FDR: Taxa de falsa descoberta (%).

Tabela 10. Principais vias KEGG significativamente enriquecidas ($P < 0,05$) a partir do conjunto de genes previamente identificado.

KEGG	p-valor	Genes	FDR
oas04015: Via de sinalização de Rap1	4,2E-3	<i>GNAQ, ANGPT1, EFNA1, EFNA3, EFNA4, FGF1, PIK3R1, PRKD3, P2RY1</i>	5,00
oas04930: Diabetes mellitus tipo II	2,0E-2	<i>HK1, HKDC1, PIK3R1, PKLR</i>	22,00
oas00520: Metabolismo de açúcar Amino e açúcar nucleotídeo	2,5E-2	<i>LOC101106806, GNPDA1, HK1, HKDC1</i>	27,00
oas04014: Via de sinalização de Ras	2,1E-2	<i>ABL2, SHC1, ANGPT1, EFNA1, EFNA3, EFNA4, FGF1, PIK3R1</i>	23,00
oas04066: Via de sinalização HIF-1	3,4E-2	<i>ANGPT1, LOC101105302, HK1, HKDC1, PIK3R1</i>	35,00
oas00010: Glicólise / Gliconeogênese	9,0E-3	<i>GALM, LOC101105302, HK1, HKDC1, PKLR</i>	10,00
oas04925: Síntese e secreção de aldosterona	1,5E-2	<i>GNAQ, ATF4, CACNA1I, MC2R, PRKD3</i>	17,00
oas01130: Biosíntese de antibióticos	1,9E-2	<i>ADSL, BCKDHB, FDPS, GALM, LOC101105302, HK1, HKDC1, PKLR</i>	21,00
oas00900: Biosíntese de terpenoide na espinha dorsal	3,0E-2	<i>FDPS, PMVK, PDSS2</i>	31,00
oas04080: Interação neuroativa ligante-receptor	3,0E-2	<i>GABRA4, GABRB1, GLRA1, LHCGR, MC2R, MC5R, MLNR, P2RY1, TACR2</i>	32,00
oas04151: Via de sinalização PI3K-Akt	3,0E-2	<i>ATF4, ANGPT1, COL11A1, EFNA1, EFNA3, EFNA4, FGF1, PIK3R1, PPP2R2B, THBS3</i>	32,00
oas01100: Vias metabólicas	3,9E-2	<i>ATP6V0A4, POLR3B, LOC105604959, LOC101116843, AMD1, ADSL, BCKDHB, CKB, LOC101121518, DPM3, FDPS, FECH, FLAD1, GALM, LOC101105302, GNPDA1, GBA, HK1, HKDC1, IMPA2, PMVK, PDHX, PKLR</i>	38,00
oas04932: Doença do fígado gordo não-alcoólica (NAFLD)	4,4E-2	<i>ATF4, LOC101116843, LOC101121518, LOC101107954, PIK3R1, PKLR</i>	43,00

^aFDR: Taxa de falsa descoberta (%).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quantidade de informações utilizada no presente estudo foi relativamente pequena, em comparação a outros trabalhos, em virtude de limitações para a realização de coletas de maior número de informações de carcaça e genotipagem de animais. No entanto, os resultados desta pesquisa mostraram-se satisfatórios e servirão como aporte para mais estudos sobre o estudo genômico de características de carcaça em pequenos ruminantes. Além disso, os resultados aqui apresentados poderão auxiliar no processo de seleção realizado pelos ovinocultores que tiverem interesse em utilizar as informações obtidas na avaliação genética dos animais utilizados no estudo.

A continuação desta pesquisa é fortemente recomendada, devido à importância que seus resultados apresentam para o melhoramento genético de aspectos produtivos relacionados à principal finalidade da raça Santa Inês, que é a produção de carne. Para isto, é importante o incremento na quantidade de dados genotípicos dos animais que já dispõem de informação fenotípica, assim como a continuação da coleta de dados fenotípicos e genotipagem de mais animais. Deste modo, será possível a obtenção de resultados mais robustos e melhor avaliação do progresso genético dos rebanhos de ovinos Santa Inês, assim como dos benefícios da inclusão de informação genômica para o melhoramento genético das características avaliadas neste estudo e de demais fenótipos que sejam de importância para a avaliação genética de animais desta raça.

ANEXOS

ANEXO A – Etapas para análise genômica com programas da família BLUPF90*

*Resumo das principais etapas dos procedimentos utilizados no presente estudo, com base no **Manual dos programas BLUPF90** disponível no seguinte link: http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90_all7.pdf.

➤ Exemplos de preparação dos arquivos de entrada* para análise de dados genômicos.

*Adaptado de arquivos utilizados no presente estudo

- Formato do arquivo de pedigree

pedigree.txt ×			
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	1	2	2007

Obs.: As colunas representam, respectivamente, **animal, pai, mãe e ano de nascimento do animal**. Zero (0) indica que a informação é desconhecida.

- Formato do arquivo de dados

aol.txt ×					
4	1	2	37	5.5	4.95
10	3	4	37	4.0	11.75
19	7	5	28	4.5	10.55
33	6	8	25	5.5	11.95

Obs.: Para a característica área de olho de lombo (AOL), avaliada em análise unicaracterística no presente estudo, as colunas acima representam, respectivamente, os efeitos de **animal, pai, mãe, grupo de contemporâneos, idade do animal e AOL**.

- Formato do arquivo de genótipos

genot.txt_clean ×	
1481	1000000112202101102010221222000122
1487	0000000002021012101001122101001122
843	1100000112210021102201221121000221
1527	1100000002111011102002222212010221

Obs.: A primeira coluna é referente à identificação (ID) do animal no arquivo de pedigree original. A codificação para representar os genótipos é baseada na presença do alelo A no genótipo, de acordo com o arquivo de SNPs oriundo da genotipagem (painel OvineSNP50 BeadChip, Illumina Inc.). Assim, após a conversão, 5 representa genótipo faltante, 0, 1 e 2 representam os genótipos BB, AB e AA, respectivamente.

Os exemplos e executáveis dos programas podem ser acessados pelo seguinte link: <http://nce.ads.uga.edu/wiki/doku.php?id=distribution>.

➤ Formato do cartão de comandos para execução do programa RENUMF90*

*Adaptado do cartão utilizado para análise unicaracterística de AOL.

DATAFILE ##nome do arquivo de dados (incluir extensão .txt)
aol.txt

TRAITS ## posição da coluna referente à característica no arquivo de dados (6ª coluna)
6

FIELDS_PASSED TO OUTPUT ## para manter a codificação no arquivo de saída
deixar linha vazia, se não necessita desta opção

WEIGHT(S) ## para ponderação da variância residual
deixar linha vazia, se não necessita desta opção

RESIDUAL VARIANCE ## valor *a priori* da variância residual para a característica
10.14

EFFECT ## efeito numérico (grupo contemporâneo) na coluna 4 do arquivo de dados
4 cross num

EFFECT ## efeito (linear) de idade como covariável na coluna 5 do arquivo de dados
5 cov

EFFECT ## efeito numérico (animal) na coluna 1 do arquivo de dados
1 cross num

RANDOM ## efeito aleatório (animal)
animal

FILE ## arquivo com informações de pedigree
pedigree.txt

FILE_POS ##colunas: animal, pai, mãe, mãe receptora e ano de nascimento do animal
1 2 3 0 4

SNP_FILE ##arquivo de genótipo (com as colunas ID animal e SNPs)
genot.txt

PED_DEPTH ##profundidade de pedigree. Se digitar 0, serão usadas todas as gerações
0

INBREEDING ##para calcular o efeito de endogamia com base no pedigree
pedigree

(CO)VARIANCES ## valor *a priori* da variância aditiva para a característica
1.2

Obs.: A execução do RENUMF90 é obrigatória para a preparação dos arquivos a serem utilizados pelos programas a serem utilizados nas análises de dados genômicos.

Obs.: Os arquivos necessários para execução do RENUMF90 e demais programas da família BLUPF90 devem estar em uma mesma pasta (diretório), onde serão gerados os arquivos para a execução dos demais programas. Para análise unicaracterística, os arquivos devem estar em uma pasta diferente para cada característica.

Obs.: As sete primeiras palavras-chave (comandos) devem ser obrigatoriamente maiúsculas e devem aparecer na ordem mostrada acima (página 15 do manual).

Obs.: Mais detalhes em: <http://nce.ads.uga.edu/wiki/doku.php?id=readme.renumf90>

➤ Formato do cartão de comandos para execução do programa PREGSF90* para controle de qualidade (CQ) dos dados genômicos (página 32 do manual)

*Adaptado do arquivo utilizado no Capítulo 2 do presente trabalho

BLUPF90 parameter file created by RENF90

DATAFILE #arquivo de dados recodificado gerado após execução do RENUMF90
renf90.dat

NUMBER_OF_TRAITS #número de características

1

NUMBER_OF_EFFECTS #número de efeitos incluídos no modelo

3

OBSERVATION(S) #posição da coluna de observações de aol no arquivo renf90.dat

1

WEIGHT(S)

EFFECTS: POSITIONS_IN_DATAFILE NUMBER_OF_LEVELS
TYPE_OF_EFFECT[EFFECT NESTED]

2 43 cross #indica que há 43 grupos contemporâneos para AOL

3 1 cov #indica que o efeito da covariável é considerado para todos os animais

4 1637 cross #indica a quantidade total de animais no pedigree

RANDOM_RESIDUAL VALUES

10.14

RANDOM_GROUP #indica qual o efeito aleatório

3

#efeito aleatório de animal é o terceiro mostrado acima

RANDOM_TYPE #indica o tipo de efeito aleatório (efeito genético aditivo)

add_an_upginb #efeito aditivo animal com grupos de pais desconhecidos e endogamia

FILE

renadd03.ped #arquivo de pedigree recodificado após execução do RENUMF90

(CO)VARIANCES

1.20

OPTION SNP_file genot.txt #arquivo de SNPs (formato 0125) antes do CQ

OPTION chrinfo map_full.txt #incluindo informação de arquivo de mapa

OPTION minfreq 0.01 #manter apenas SNPs com MAF $\geq 0,01$ (padrão = 0,05)

OPTION callrate 0.95 #manter SNPs com call rate mínima de 0,95 (padrão = 0,90)

OPTION callrateAnim 0.9 #manter genótipos com *call rate* mínima de 0,90 (padrão)

OPTION monomorphic 1 #conferir se há SNPs monomórficos e ignorá-los

OPTION hwe 0.15 #checar por desvios do eq. Hardy-Weinberg (0,15= P-valor de 10^{-6})

OPTION sex_chr 27 #definindo cromossomo sexual (há 26 autossômicos em ovinos)

OPTION excludeCHR 27 28 29 #excluir cromossomos sexuais (27), mitocondriais (28) e localizados em posições desconhecidas (29)

OPTION saveCleanSNPs #salvar arquivo de SNPs após CQ de acordo com OPTIONS

OPTION verify_parentage 1 #Se 1, verifica se há conflitos Mendelianos pais-progênie

OPTION AlphaBeta 0.95 0.05 # para dimensionamento da matriz **H** (página 37)

OPTION saveGInverse #salva inversa da matriz de parentesco genômico (**G**)

Obs.: Outras opções (OPTION) podem ser incluídas para salvar diferentes matrizes, calcular desequilíbrio de ligação (r^2) e análises de componentes principais, por exemplo.

Obs.: O CQ pode ser realizado com uso do programa BLUPF90 ou algum dos programas utilizados para estimação de componentes de variância.

Obs.: Mais detalhes em <http://nce.ads.uga.edu/wiki/doku.php?id=readme.pregsf90>.

➤ Formato do cartão de comandos para estimação de componentes de variância com uso do programa GIBBS1F90* incluindo informação genômica.

*Adaptado do arquivo utilizado no Capítulo 2 do presente trabalho

BLUPF90 parameter file created by RENF90

DATAFILE

renf90.dat

NUMBER_OF_TRAITS

1

NUMBER_OF_EFFECTS

3

OBSERVATION(S)

1

WEIGHT(S)

EFFECTS: POSITIONS_IN_DATAFILE NUMBER_OF_LEVELS

TYPE_OF_EFFECT[EFFECT NESTED]

2 43 cross

3 1 cov

4 1637 cross

RANDOM_RESIDUAL VALUES

10.14

RANDOM_GROUP

3

RANDOM_TYPE

add_an_upginb

FILE

renadd03.ped

(CO)VARIANCES

1.20

OPTION SNP_file genot.txt_clean #arquivo de genótipos após controle de qualidade

OPTION no_quality_control #opção para não fazer controle de qualidade

OPTION solution all #armazenar todas as soluções para todos os efeitos

Obs.: Para o cálculo dos componentes de variância sem informação genômica, não devem ser utilizadas **OPTION SNP_file** e **OPTION no_quality_control**

Obs.: Para utilizar um mesmo cartão novamente, em outra situação em que a maior parte dos comandos será igual, para invalidar uma linha de comando **OPTION** que não será mais útil, digite # no início da linha. Por exemplo, # **OPTION solution all** invalidaria o comando desta linha e as soluções não seriam armazenadas, após a execução do GIBBS1F90.

Obs.: A utilização do comando **OPTION no_quality_control** é obrigatória para evitar que seja feito o controle de qualidade automaticamente ao executar o programa GIBBS1F90, pois o CQ já havia sido feito com uso do PREGSF90.

➤ Cartão de comandos para estimação de GEBVs com uso do programa BLUPF90*.

*Adaptado do arquivo utilizado no Capítulo 2 do presente estudo para AOL

```
# BLUPF90 parameter file created by RENF90
DATAFILE
renf90.dat
NUMBER_OF_TRAITS
  1
NUMBER_OF_EFFECTS
  3
OBSERVATION(S)
  1
WEIGHT(S)

EFFECTS:          POSITIONS_IN_DATAFILE          NUMBER_OF_LEVELS
TYPE_OF_EFFECT[EFFECT NESTED]
  2    43 cross
  3     1 cov
  4   1637 cross
RANDOM_RESIDUAL VALUES
  3.9729 #valor estimado com programa GIBBS1F90
RANDOM_GROUP
  3
RANDOM_TYPE
add_an_upginb
FILE
renadd03.ped
(CO)VARIANCES
  1.6465 #valor estimado com programa GIBBS1F90
OPTION SNP_file genot.txt_clean
OPTION chrinfo map_clean.txt
OPTION no_quality_control
OPTION sol se #mostra o erro padrão para cada valor genético (genômico) estimado
OPTION residual #gera arquivo com resíduos
OPTION saveGInverse #salva a inversa da matriz G considerando a ponderação
OPTION weightedG w1.txt #arquivo com pesos de SNPs para criar a matriz G
ponderada (páginas 34 e 120 do manual)
```

Obs.: O arquivo inicial (w1.txt) para a criação da matriz **G** ponderada deve ser um vetor coluna, composto apenas por '1' em todas as linhas. A quantidade de linhas do vetor é igual ao número de SNPs restantes após o controle de qualidade.

Obs.: Os valores genéticos devem ser (re) estimados após cada iteração, utilizando um novo arquivo em **OPTION weightedG**. O novo arquivo será composto pelos valores da sétima coluna do arquivo **snp_sol** gerado após a execução do programa POSTGSF90.

Obs.: Nesta etapa são geradas as soluções (GEBVs) para seleção genômica (GS). Para GS apenas, **OPTION saveGInverse** e **OPTION weightedG** não seriam obrigatórias.

Obs.: A **OPTION sol se** gera os valores para cálculo da acurácia teórica de predição.

➤ Formato do cartão de comandos para o programa POSTGSF90* para análises de estudos de associação genômica ampla com o método *single step* (pág. 39 do manual).

*Adaptado do arquivo utilizado no presente estudo

BLUPF90 parameter file created by RENF90

DATAFILE

renf90.dat

NUMBER_OF_TRAITS

1

NUMBER_OF_EFFECTS

3

OBSERVATION(S)

1

WEIGHT(S)

EFFECTS: POSITIONS_IN_DATAFILE NUMBER_OF_LEVELS

TYPE_OF_EFFECT[EFFECT NESTED]

2 43 cross

3 1 cov

4 1637 cross

RANDOM_RESIDUAL VALUES

3.9729 #valor estimado com programa GIBBS1F90

RANDOM_GROUP

3

RANDOM_TYPE

add_an_upginb

FILE

renadd03.ped

(CO)VARIANCES

1.6465 #valor estimado com programa GIBBS1F90

OPTION SNP_file genot.txt_clean #arquivo de genótipos após controle de qualidade

OPTION chrinfo map_clean.txt #arquivo de mapa após controle de qualidade

OPTION no_quality_control

OPTION readGInverse #para ler a inversa da matriz **G** criada com o BLUPF90

OPTION windows_variance 10 #calcular variância em janelas de 10 SNPs adjacentes

OPTION windows_variance_type 1 #usar janelas de SNPs móveis (*moving windows*)

OPTION Manhattan_plot #gera plotagem dos efeitos de SNPs em gráfico Manhattan

OPTION weightedG w1.txt #para leitura de pesos de SNPs utilizados para criação da matriz genômica ponderada na etapa anterior

Obs.: Após a execução do POSTGSF90, serão gerados alguns arquivos, entre eles **snp_sol**. Os valores da sétima coluna do arquivo **snp_sol** devem ser utilizados no arquivo (w2.txt) para a criação da matriz **G** ponderada novamente (2ª iteração) com o programa BLUPF90, apenas substituindo o arquivo inicialmente utilizado (w1.txt).

Obs.: No presente estudo, esse processo foi realizado por duas vezes, portanto, duas iterações utilizando os pesos obtidos após gerar a matriz com SNPs de peso igual a 1.

Obs.: Não há necessidade de estimar novamente os componentes de variância. Os valores genéticos estimados serão alterados a cada iteração após executar o BLUPF90.

ANEXO B – Figuras suplementares

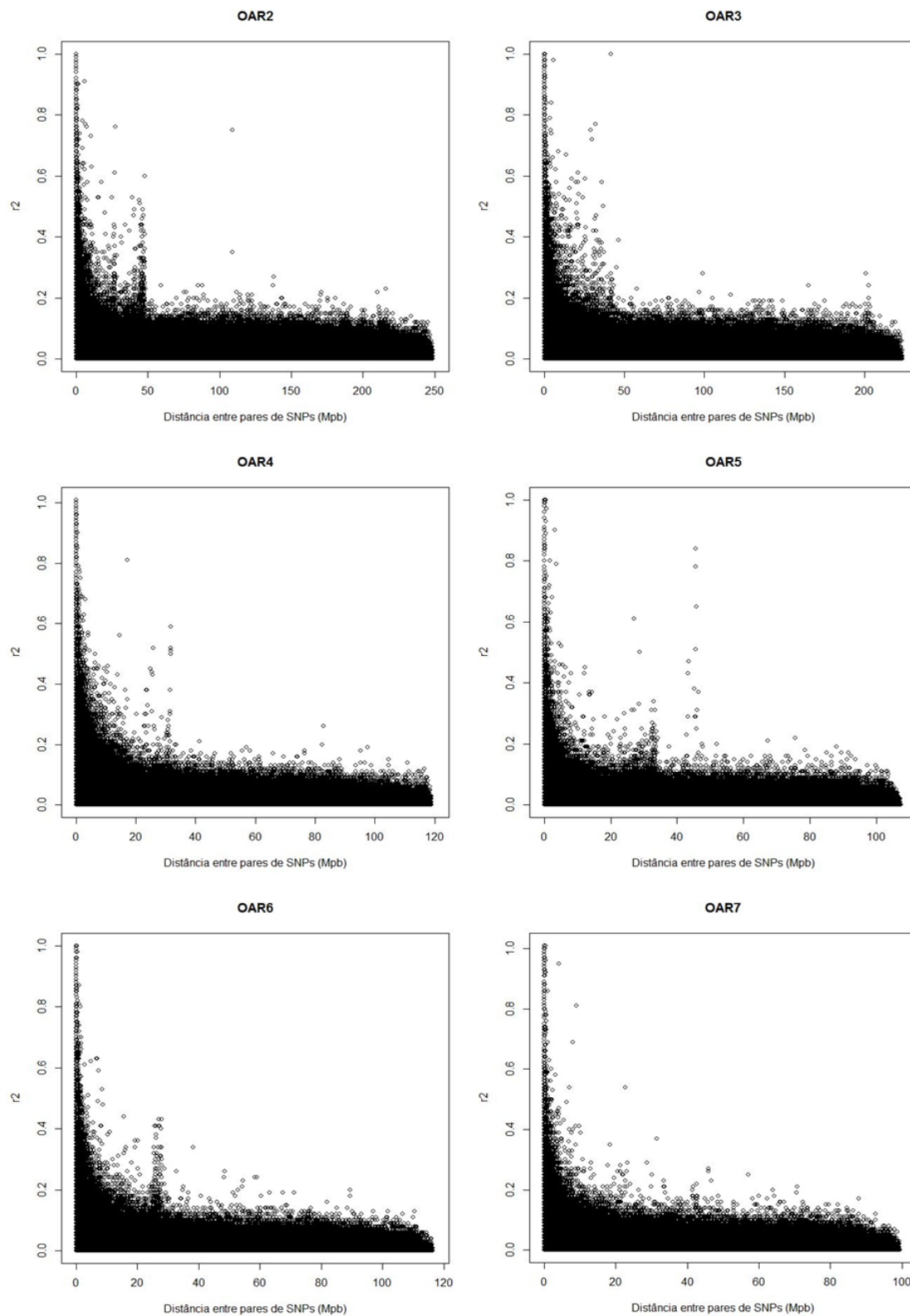


Figura suplementar S1. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) em diferentes cromossomos autossômicos (OAR2 a OAR7).

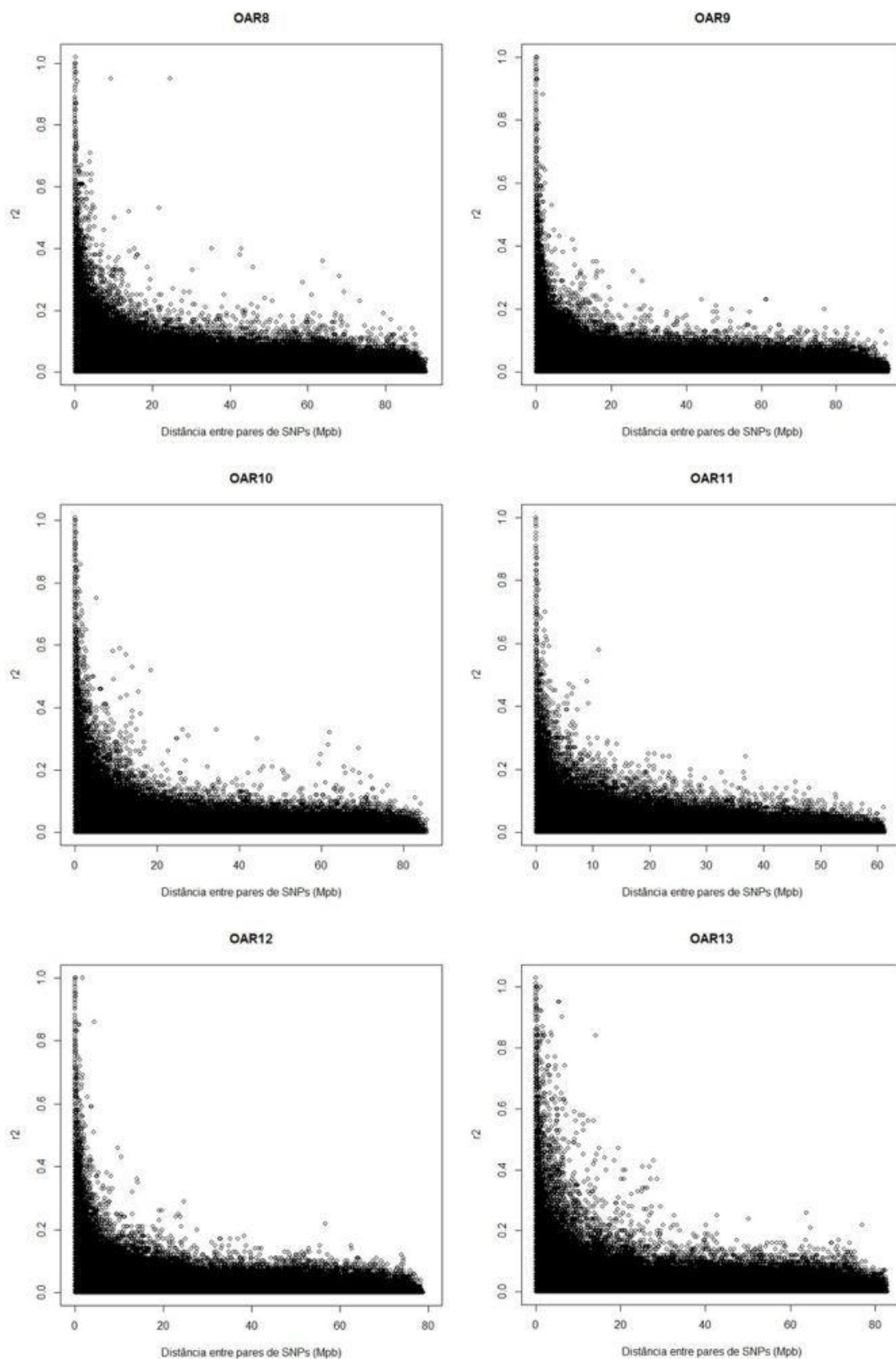


Figura suplementar S2. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) em diferentes cromossomos autossômicos (OAR8 a OAR13).

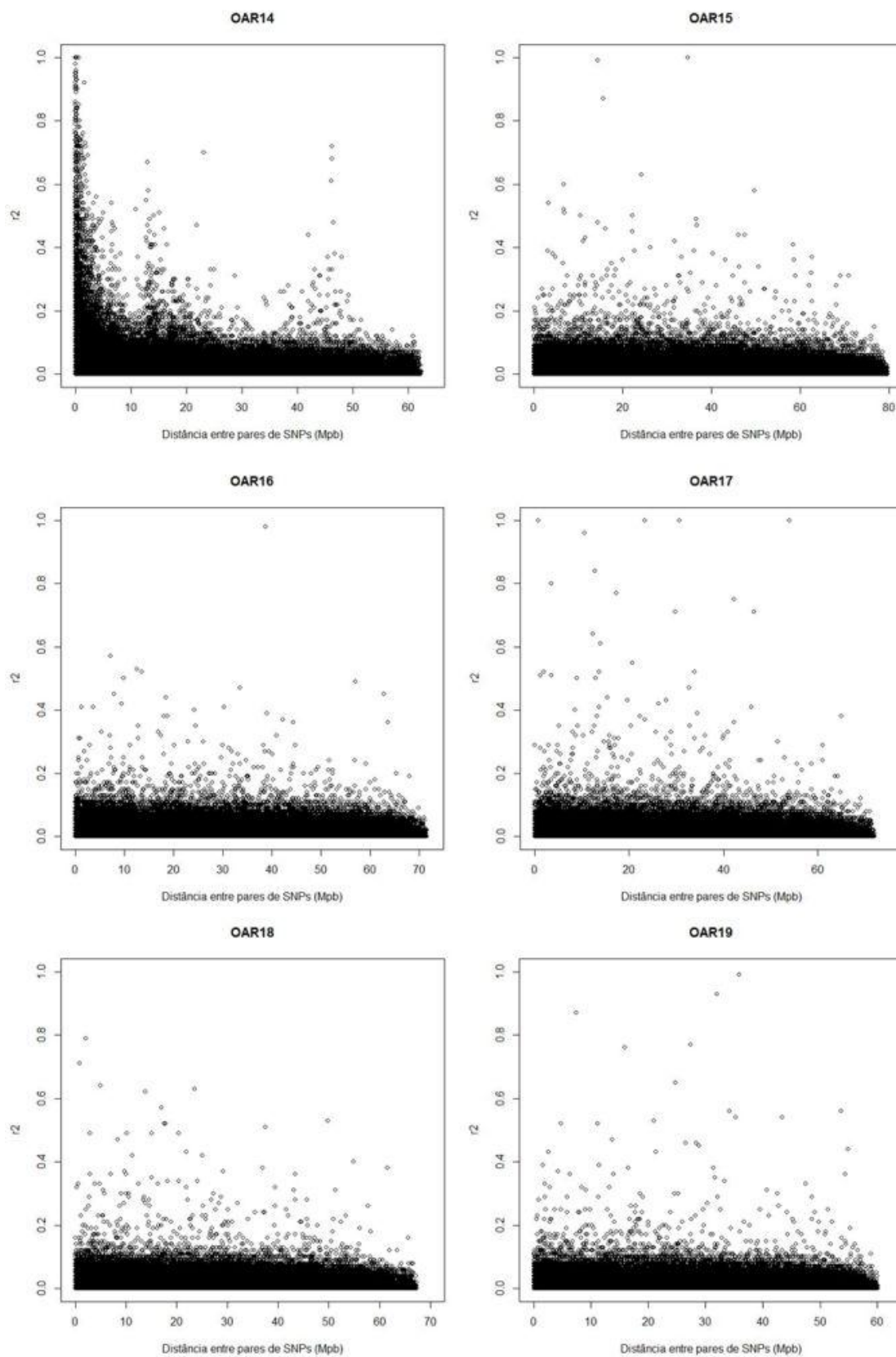


Figura suplementar S3. Distribuição de estimativas de desequilíbrio de ligação (r^2) em função da distância entre pares de marcadores SNP (Mpb) em diferentes cromossomos autossômicos (OAR14 a OAR19).

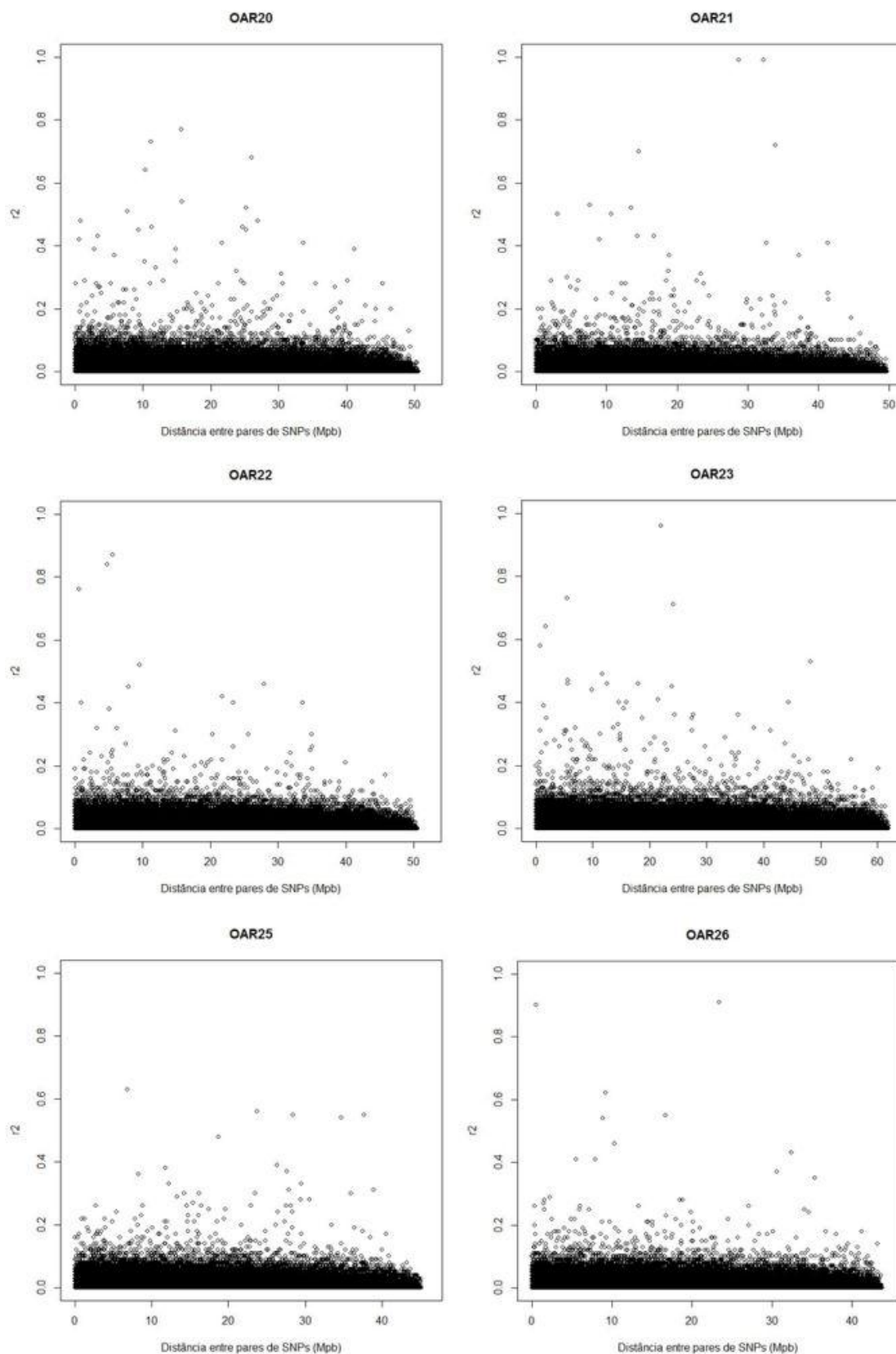


Figura suplementar S4. Distribuição de estimativas de r^2 em função da distância entre pares de SNPs (Mpb) em diferentes cromossomos (OAR20, OAR21, OAR22, OAR23, OAR25 e OAR26).

ANEXO C – Símbolos dos genes presentes nas regiões genômicas associadas às características em estudo

Genes presentes em regiões associadas à Área de Olho de Lombo (AOL)

<i>ABL2</i>	<i>FAM20B</i>	<i>LOC105603817</i>	<i>PMVK</i>
<i>ACOT13</i>	<i>FAM71A</i>	<i>LOC105603818</i>	<i>PPP1R13B</i>
<i>ACTL8</i>	<i>FDPS</i>	<i>LOC105603821</i>	<i>PPP2R2B</i>
<i>ADAM15</i>	<i>FLAD1</i>	<i>LOC105606602</i>	<i>PYGO2</i>
<i>APOPT1</i>	<i>G3BP1</i>	<i>LOC105606690</i>	<i>RD3L</i>
<i>ARHGEF10L</i>	<i>GBA</i>	<i>LOC105606694</i>	<i>RIPOR2</i>
<i>ARMH2</i>	<i>GLRA1</i>	<i>LOC105606696</i>	<i>RUSC1</i>
<i>ASH1L</i>	<i>GMNN</i>	<i>LOC105607667</i>	<i>RUSC1-AS1</i>
<i>ATF3</i>	<i>HCN3</i>	<i>LOC105608227</i>	<i>SCAMP3</i>
<i>ATP5MPL</i>	<i>JAKMIP2</i>	<i>LOC105608228</i>	<i>SCGB3A2</i>
<i>AXDND1</i>	<i>KCNMA1</i>	<i>LOC105615050</i>	<i>SHC1</i>
<i>BAG5</i>	<i>KCNN3</i>	<i>LOC105615377</i>	<i>SLC50A1</i>
<i>BATF3</i>	<i>KIAA0319</i>	<i>LOC105616560</i>	<i>SOAT1</i>
<i>BEND3</i>	<i>KIF26A</i>	<i>LOC105606699</i>	<i>SPINK1</i>
<i>C20H6orf62</i>	<i>KLC1</i>	<i>LOC106990092</i>	<i>SPINK14</i>
<i>C5H5orf46</i>	<i>KRTCAP2</i>	<i>LOC106990142</i>	<i>SPINK5</i>
<i>C7orf31</i>	<i>LENEP</i>	<i>LOC106990381</i>	<i>SPINK6</i>
<i>CARMIL1</i>	<i>LOC101104530</i>	<i>LOC106991492</i>	<i>STK32A</i>
<i>CD24</i>	<i>LOC101106163</i>	<i>LOC106991576</i>	<i>TDP2</i>
<i>CDC42BPB</i>	<i>LOC101106806</i>	<i>LOC106991750</i>	<i>TDRD5</i>
<i>CKB</i>	<i>LOC101107700</i>	<i>LOC106991796</i>	<i>TDRD9</i>
<i>CKS1B</i>	<i>LOC101107954</i>	<i>MARK3</i>	<i>THBS3</i>
<i>CLK2</i>	<i>LOC101108654</i>	<i>MTRES1</i>	<i>TNFAIP2</i>
<i>DCST1</i>	<i>LOC101108915</i>	<i>MTX1</i>	<i>TOR3A</i>
<i>DCST2</i>	<i>LOC101109453</i>	<i>MUC1</i>	<i>TRIM46</i>
<i>DPM3</i>	<i>LOC101116495</i>	<i>MYO16</i>	<i>TRMT61A</i>
<i>DPP6</i>	<i>LOC101118627</i>	<i>NPHS2</i>	<i>TRNAA-AGC</i>
<i>DPYSL3</i>	<i>LOC101119217</i>	<i>NPVF</i>	<i>TRNAC-GCA</i>
<i>DSEL</i>	<i>LOC101123240</i>	<i>NSL1</i>	<i>TRNAE-UUC</i>
<i>EFNA1</i>	<i>LOC101123501</i>	<i>OSBPL3</i>	<i>TRNAS-GGA</i>
<i>EFNA3</i>	<i>LOC105603274</i>	<i>PAXIP1</i>	<i>TRNAW-CCA</i>
<i>EFNA4</i>	<i>LOC105603275</i>	<i>PBXIP1</i>	<i>WSB1</i>
<i>EIF5</i>	<i>LOC105603277</i>	<i>PDSS2</i>	<i>XRCC3</i>
<i>EXOC3L4</i>	<i>LOC105603279</i>	<i>PIK3R1</i>	<i>ZBTB7B</i>
<i>FAM189B</i>	<i>LOC105603310</i>	<i>PKLR</i>	<i>ZFYVE21</i>

Genes presentes em regiões associadas a Marmoreio de Olho de Lombo (MOL)

<i>ADSL</i>	<i>LOC101116645</i>	<i>PAX1</i>
<i>AEBP2</i>	<i>LOC101120157</i>	<i>PDHX</i>
<i>AFG3L2</i>	<i>LOC101120655</i>	<i>PLEKHA5</i>
<i>AMD1</i>	<i>LOC101123052</i>	<i>POLR3B</i>
<i>ANGPTL2</i>	<i>LOC105602352</i>	<i>PPP1R21</i>
<i>ANLN</i>	<i>LOC105602979</i>	<i>PRELID3A</i>
<i>ATF3</i>	<i>LOC105604490</i>	<i>PSMG2</i>
<i>ATF4</i>	<i>LOC105606945</i>	<i>PTPN2</i>
<i>ATL2</i>	<i>LOC105607667</i>	<i>RALGPS1</i>
<i>BATF3</i>	<i>LOC105609061</i>	<i>RFX4</i>
<i>BCKDHB</i>	<i>LOC105609161</i>	<i>RNMT</i>
<i>BIRC6</i>	<i>LOC105609602</i>	<i>RPF2</i>
<i>CACNA1I</i>	<i>LOC105610410</i>	<i>RPS19BP1</i>
<i>CD44</i>	<i>LOC105610411</i>	<i>SEPT7</i>
<i>CDK19</i>	<i>LOC105611558</i>	<i>SGCD</i>
<i>CEP192</i>	<i>LOC105611754</i>	<i>SGSM3</i>
<i>CEP76</i>	<i>LOC105612300</i>	<i>SLC16A10</i>
<i>CIDEA</i>	<i>LOC105612301</i>	<i>SLC1A2</i>
<i>CKAP4</i>	<i>LOC105612685</i>	<i>SLC2A8</i>
<i>COL11A1</i>	<i>LOC105612687</i>	<i>SLC30A6</i>
<i>DCHS2</i>	<i>LOC105613961</i>	<i>SPAST</i>
<i>DPY30</i>	<i>LOC105613980</i>	<i>SPIRE1</i>
<i>EEPD1</i>	<i>LOC105614635</i>	<i>SRSF7</i>
<i>ENTHD1</i>	<i>LOC105614656</i>	<i>STON1</i>
<i>FAM210A</i>	<i>LOC105614657</i>	<i>TBC1D4</i>
<i>FAM71A</i>	<i>LOC105615294</i>	<i>TCP11L2</i>
<i>FAM83F</i>	<i>LOC105615815</i>	<i>TIMD4</i>
<i>FOXM2</i>	<i>LOC105615816</i>	<i>TNRC6B</i>
<i>GALM</i>	<i>LOC105616645</i>	<i>TRNAC-GCA</i>
<i>GARNL3</i>	<i>LOC105616691</i>	<i>TRNAE-CUC</i>
<i>GEMIN6</i>	<i>LOC106990432</i>	<i>TRNAW-CCA</i>
<i>GNAL</i>	<i>LOC106990987</i>	<i>TTK</i>
<i>GRAP2</i>	<i>LOC106991061</i>	<i>TUBB6</i>
<i>GTF2A1L</i>	<i>LOC106991093</i>	<i>YIPF4</i>
<i>GTF3C6</i>	<i>LOC106991094</i>	<i>ZBTB34</i>
<i>HAVCR1</i>	<i>LOC106991296</i>	<i>ZBTB43</i>
<i>HERPUD2</i>	<i>LOC106991521</i>	<i>ZNF79</i>
<i>HNRNPLL</i>	<i>MACROD2</i>	
<i>IMPA2</i>	<i>MAP3K8</i>	
<i>JCAD</i>	<i>MC2R</i>	
<i>KIF16B</i>	<i>MC5R</i>	
<i>LDLRAD4</i>	<i>MEMO1</i>	
<i>LHCGR</i>	<i>MFSD4B</i>	
<i>LOC101102249</i>	<i>MPPE1</i>	
<i>LOC101105302</i>	<i>MRTFA</i>	
<i>LOC101105644</i>	<i>MTPAP</i>	
<i>LOC101111190</i>	<i>NLRC4</i>	
<i>LOC101116302</i>	<i>NSL1</i>	
<i>LOC101116495</i>	<i>NUAK1</i>	

Genes presentes em regiões associadas à Espessura de Gordura Subcutânea (EGS)

<i>ADAM23</i>	<i>NEUROG3</i>
<i>AEBP2</i>	<i>NLRC4</i>
<i>ANGPT1</i>	<i>OSBPL3</i>
<i>BIRC6</i>	<i>PLEKHA5</i>
<i>BMP4</i>	<i>PRKD3</i>
<i>CDC42EP3</i>	<i>PSMA8</i>
<i>CEBPZ</i>	<i>QPCT</i>
<i>CEBPZOS</i>	<i>SLC30A6</i>
<i>DFNA5</i>	<i>SPAST</i>
<i>DPY30</i>	<i>SRD5A2</i>
<i>DYTN</i>	<i>SRGN</i>
<i>EIF2AK2</i>	<i>SS18</i>
<i>FAM237A</i>	<i>SULT6B1</i>
<i>FAM241B</i>	<i>SUPV3L1</i>
<i>FASTKD2</i>	<i>TACR2</i>
<i>FBXL4</i>	<i>TAF4B</i>
<i>GNA14</i>	<i>TLE1</i>
<i>GNAQ</i>	<i>TRIO</i>
<i>GPATCH11</i>	<i>TRNAC-GCA</i>
<i>HEATR5B</i>	<i>TRNAS-GGA</i>
<i>HK1</i>	<i>TRNAW-CCA</i>
<i>HKDC1</i>	<i>TSPAN15</i>
<i>LOC101110483</i>	<i>VPS26A</i>
<i>LOC101116645</i>	<i>YIPF4</i>
<i>LOC101121318</i>	
<i>LOC105602831</i>	
<i>LOC105604969</i>	
<i>LOC105607019</i>	
<i>LOC105607782</i>	
<i>LOC105608712</i>	
<i>LOC105608713</i>	
<i>LOC105610183</i>	
<i>LOC105610715</i>	
<i>LOC105610719</i>	
<i>LOC105611557</i>	
<i>LOC105611558</i>	
<i>LOC105612685</i>	
<i>LOC105612687</i>	
<i>LOC105613453</i>	
<i>LOC105615804</i>	
<i>LOC106991061</i>	
<i>LOC106991670</i>	
<i>LOC106991930</i>	
<i>MDH1B</i>	
<i>MEMO1</i>	
<i>NDUFAF7</i>	

Genes presentes em regiões associadas à Circunferência da Perna (PER)

<i>ARL11</i>	<i>LOC106991956</i>
<i>ATP6V0A4</i>	<i>MBNL1</i>
<i>ATP8B1</i>	<i>MDFIC</i>
<i>BBX</i>	<i>MLNR</i>
<i>CAB39L</i>	<i>NARS</i>
<i>CD47</i>	<i>NDFIP1</i>
<i>CD53</i>	<i>ONECUT2</i>
<i>CDADC1</i>	<i>P2RY1</i>
<i>CDH12</i>	<i>PHF11</i>
<i>CTNNA3</i>	<i>PROK1</i>
<i>CYM</i>	<i>RAP2B</i>
<i>EBPL</i>	<i>RARB</i>
<i>FECH</i>	<i>RCBTB1</i>
<i>FGF1</i>	<i>SETDB2</i>
<i>FNDC3A</i>	<i>SPRY4</i>
<i>FOXP2</i>	<i>ST8SIA3</i>
<i>GABRA4</i>	<i>SVOPL</i>
<i>GABRB1</i>	<i>TMEM213</i>
<i>GNPDA1</i>	<i>TOP2B</i>
<i>HHLA2</i>	<i>TRIM24</i>
<i>IFT57</i>	<i>TRNAC-GCA</i>
<i>KCNA10</i>	<i>TRNAK-UUU</i>
<i>KCNA2</i>	<i>TTC26</i>
<i>KCNA3</i>	<i>ZC3HAV1</i>
<i>KIAA1549</i>	<i>ZC3HAV1L</i>
<i>KPNA3</i>	
<i>LOC101105715</i>	
<i>LOC101116843</i>	
<i>LOC101117088</i>	
<i>LOC101121518</i>	
<i>LOC105602606</i>	
<i>LOC105603828</i>	
<i>LOC105604546</i>	
<i>LOC105604547</i>	
<i>LOC105604550</i>	
<i>LOC105604551</i>	
<i>LOC105604959</i>	
<i>LOC105607978</i>	
<i>LOC105608315</i>	
<i>LOC105609824</i>	
<i>LOC105613749</i>	
<i>LOC105615164</i>	
<i>LOC105615254</i>	
<i>LOC105616835</i>	
<i>LOC106990806</i>	
<i>LOC106990883</i>	
<i>LOC106991141</i>	
<i>LOC106991151</i>	
<i>LOC106991810</i>	