

DANIEL BIAGIOTTI

**ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA EM OVINOS SANTA INÊS
PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS A RESISTÊNCIA À
ENDOPARASITAS**

TERESINA-PI

2016

DANIEL BIAGIOTTI

**ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA EM OVINOS SANTA INÊS
PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS A RESISTÊNCIA À
ENDOPARASITAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal do Piauí, para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIA ANIMAL. Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento

Co-orientadores: Prof. Dr. Fabyano Fonseca Silva

Prof. Dr. Fábio Barros Britto

TERESINA-PI

2016

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processamento Técnico

B577a Biagiotti, Daniel

Associação e seleção genômica ampla em ovinos Santa Inês para características relacionadas a resistência a endoparasitas. / Daniel Biagiotti - 2016.
72 f.: il.

Tese(Doutorado em Ciência Animal) –Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016

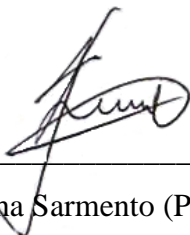
Orientação: Prof. Dr. Lindenberg Rocha Sarmiento

1. Gado ovino 2. GWAS 3. GWS 4. Marcadores SNP 5. Métodos bayesianos 6. Predição de valores genômicos 7. Validação cruzada I. Título

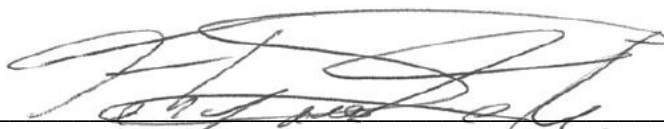
CDD 636.38

ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA EM OVINOS SANTA INÊS PARA
CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS A RESISTÊNCIA À ENDOPARASITAS
DANIEL BIAGIOTTI

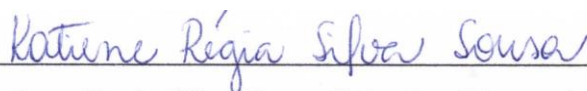
Tese apresentada em Teresina (PI), no dia 07 de Março de 2016 à Banca Examinadora:



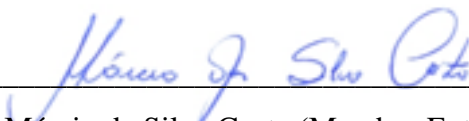
Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento (Presidente/Orientador) / DZO/CCA/UFPI



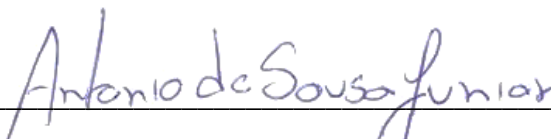
Prof. Dr. Fabyano Fonseca e Silva (Co-orientador) / DZO//UFV



Profa. Dra. Katiene Regia Silva Sousa (Membro Externo) /DZO/CCA/UFMA



Prof. Dr. Márcio da Silva Costa (Membro Externo) / CPCE/UFPI



Prof. Dr. Antônio de Sousa Junior (Membro Externo) / CTT/UFPI

DEDICATÓRIA

À DEUS, por ter me dado o dom da vida.

*À minha amada esposa **Leilane Rocha Barros Dourado** pelo afeto, respeito, paciência,
incentivo e amor.*

*Aos meus pais **José Roberto Biagiotti e Maria Aparecida Machado Biagiotti** pelo incentivo
por sempre acreditarem em mim, pela oportunidade e amor.*

*Aos meus irmãos Arthur e Gabriel, e minha cunhada Andrea e minha afilhada Luiza pelo
apoio e exemplo de dedicação.*

*À todos os professores, servidores e amigos que fazem parte da **Universidade Federal do
Piauí**, que em muitas ocasiões tornaram-se verdadeiros amigos.*

DEDICO.

*“A satisfação reside no esforço,
não no resultado obtido.
O esforço total é a plena vitória. ”*

Mahatma Gandhi

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado o dom da vida e por estar sempre presente em todos os momentos de minha vida, e principalmente por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas e especiais que me ensinaram muito sobre a vida e mostraram os melhores caminhos a seguir.

À UFPI, por ter me concedido a oportunidade de aperfeiçoamento profissional, e pela infraestrutura que disponibilizou.

À CAPES, pela concessão da bolsa para a realização desta pesquisa de estudo que foi grande importância para a conclusão do curso.

Ao CNPq, pelo financiamento da pesquisa através da Chamada Pública Universal 14/2012.

À Universidade Federal do Piauí pelo financiamento das genotipagens dos animais da pesquisa.

Ao Colégio Técnico de Bom Jesus – CTBJ pelo apoio de todos professores e funcionários, em especial a direção.

Ao Campus Professora Cinobelina Elvas – CPCE pelo apoio de todos que fazem parte desse Campus.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, a todos os professores que colaboraram, repassando o que se tem de mais valioso “O CONHECIMENTO” para os alunos desse programa.

Ao Prof. Dr. José Lindenberg Rocha Sarmiento pela orientação, dedicação, ensinamentos, compreensão e confiança, indispensáveis para realização deste estudo e para o meu crescimento profissional. Por sempre estar instigando o instinto de pesquisador em seus orientados.

Ao Prof. Dr. Fabyano Fonseca e Silva da UFV pela ajuda na realização das análises estatísticas e pelas sugestões para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fábio Barros Britto pelos ensinamentos na parte laboratorial de extração e quantificação de DNA e sugestões, que foram importantes para realização deste trabalho.

À minha família, que está sempre presente em todos os momentos da minha vida, mesmo distante, por todo amor e carinho, pela compreensão, companhia, preocupação, confiança e força.

Aos meus amigos Natanael, Aurino, Gleyson, Luciano, Fabrício, Alan, Cezario, Marcelo, Laylson, Luiz, Tatiana e Izabelle que estão sempre presentes nas coletas de dados, dando força e incentivo.

Aos colegas que de alguma forma auxiliaram na execução laboratorial desse trabalho, Bruna Lima, Renan, Fabiana, Edvania, Edleide, Itanalva.

Ao pessoal de Viçosa-MG, Johashy, Ivamara, Lucas, Jean, República Valhalla (Marcos, Daniel e demais integrantes) que me acolheu e incentivaram essa conquista.

Aos colegas professores da UFPI/Bom Jesus, em nome de Leonardo, Sammy, Marcos, Ricardo, Leilson e Ronny e suas famílias, pelos momentos descontraídos que ajudaram a passar por essa etapa de maneira proveitosa.

Aos professores do CTBJ, em nome de Tetuca, José Luiz, Oldênia que auxiliaram de maneira impar no desempenho desse trabalho, disponibilizando-me estrutura e tempo para dedicar ao doutorado.

O MEU MUITO OBRIGADO!.....

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1	Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para presença de pelo arrepiado em ovinos de corte -----	43
Figura 2	Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para característica do escore da condição corporal em ovinos de corte-----	44
Figura 3	Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para presença de ovos do parasita do gênero <i>Strongylus</i> em ovinos de corte -----	45
Figura 4	Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para característica LogOPG em ovinos de corte -----	46
Figura 5	Gráfico quantil-quantil da distribuição dos valores observados para o estudo de associação genômica da característica presença de pelo arrepiado, presença de ovos do parasita do gênero <i>Strongylus</i> , escore da condição corporal e LogOPG comparado com a distribuição normal ----	46
Figura 6	Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR21_52583090.1) no cromossomo 21 para a característica de presença de pelo arrepiado e os marcadores ao seu redor -----	47
Figura 7	Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR12_17005059.1) no cromossomo 12 para a característica de presença de ovos do gênero <i>Strongylus</i> nas fezes de ovino e os marcadores ao seu redor -----	48
Figura 8	Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR8_91253490_X.1) no cromossomo 08 para a característica de presença de ovos do gênero <i>Strongylus</i> nas fezes de ovino e os marcadores ao seu redor -----	48
Figura 9	Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (s23985.1) no cromossomo 02 para a característica escore da condição corporal em ovino e os marcadores ao seu redor -----	49
Figura 10	Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (s26633.1) no cromossomo 06 para a característica LogOPG em ovino e os marcadores ao seu redor -----	50

Figura 11	Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR2_148350187.1) no cromossomo 02 para a característica LogOPG em ovino e os marcadores ao seu redor -----	50
------------------	---	----

Capítulo II

Figura 1	Subdivisão da população original em três grupos (G1, G2 e G3) utilizados na análise de validação cruzada para avaliar a performance preditiva dos modelos -----	63
-----------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1	Resumo dos marcadores SNP analisados e desequilíbrio de ligação (r^2) entre os marcadores para cada cromossomo ovino -----	42
Tabela 2	Lista de SNPs significativos (com correção FDR para os p-valores) associados com características relacionadas a parasitose identificadas pela análise de associação do genoma -----	43

Capítulo II

Tabela 1	Valores de acurácia (R), desvio padrão da acurácia (SD) e ganho em acurácia (GR) proporcionado pela capacidade preditiva dos diferentes métodos testados em comparação com o modelo tradicional -----	65
Tabela 2	Estimativas dos componentes de variância, ambiental (σ_e^2) e aditiva (σ_u^2) e herdabilidade (h^2) via método BRR para as características relacionadas a resistência à endoparasitas em ovinos de corte -----	67
Tabela 3	Correlação (acima da diagonal) e probabilidade (abaixo da diagonal) entre os valores genéticos das características relacionadas a resistência à endoparasitas obtida via modelo BRR -----	68
Tabela 4	Ranqueamento dos 10 animais com melhores valores genéticos para as características relacionadas a resistência à endoparasitas -----	68

BIAGIOTTI, Daniel. **Associação e seleção genômica ampla em ovinos santa inês para características relacionadas a resistência à endoparasitas**. 2016. 72f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

Resumo: Estudos de associação e seleção genômica ampla em programas de melhoramento genético de ovinos vêm sendo executados com o objetivo de promover melhorias na produção e seleção de animais. O objetivo com esta pesquisa foi identificar marcadores SNPs associados a fenótipos de resistência à parasitose em ovinos Santa Inês, para posteriormente realizar levantamento de genes relacionados às características nos diversos cromossomos, além de encontrar o melhor modelo de seleção genômica e aplicá-lo. Foram utilizados dados de 271 ovinos criados nos estados do Piauí e Maranhão com registro na Associação Brasileira de Criadores de Ovinos. A genotipagem foi realizada com o SNP Chip Ovino da Illumina, de modo que após aplicação de critérios de qualidade, foram utilizados 44.580 SNPs para as análises genômicas. A análise de associação genômica ampla foi realizada pelo método de regressão corrigido para efeitos aleatórios poligênicos e após encontrar marcadores significativos foi realizada busca no NCBI para verificar a existência de genes descritos relacionados com a característica associada. Com os resultados da GWAS verificou-se que os cromossomos 8 e 12 apresentaram marcadores significativos para a característica presença de ovos de *Strongylus* e nos cromossomos 2 e 6 marcadores significativos para OPG. Verificou-se também, no cromossomo 2, marcador associado a característica score da condição corporal e no cromossomo 21 marcadores associados a característica presença de pelo arrepiado. No que refere-se a seleção genômica foram testados cinco modelos bayesianos para estimação dos efeitos dos marcadores para as características relacionadas a resistência à parasitose: Modelo *Bayesian Ridge Regression* (BRR) através de regressão aleatória, Bayes A, Bayes B, Bayes C e *Bayesian Least Absolut Shrinkage and Selection Operator* (BLASSO). Para definição do melhor modelo foi analisada a acurácia do valor genético genômico. Os métodos Bayesianos testados proporcionaram maior acurácia de predição quando comparados à predição obtida pelo método tradicional utilizando a matriz de parentesco calculada pela relação média de parentesco. O modelo BRR foi escolhido como melhor modelo por possuir menor número de parâmetros a ser estimado e proporcionar acurácia de predição dos valores genômicos semelhante aos demais modelos estudados.

Palavras-chave: GWAS, GWS, marcadores SNP, métodos bayesianos, predição de valores genômicos, validação cruzada.

BIAGIOTTI, Daniel. **Association and genome wide association study in Santa inês sheep for traits related to resistance to endoparasites**. 2016. 72f. Thesis (PhD in Animal Science) - Federal University of Piauí, Teresina, 2016.

Abstract: Association studies and genome-wide selection in breeding of sheep are being implemented with the aim to promote improvements in the production and selection of animals. The aim of this research was to identify SNPs markers associated with phenotypes of resistance to parasites in Santa Ines sheep, carry out a survey of genes related to these traits in different chromosomes, besides finding the best model of genomic selection and applying it. We used data from 271 sheep bred in the states of Piauí and Maranhão, with registration at ARCO (Brazilian Association of Sheep Breeders). Genotyping was carried out using the Illumina Ovine SNP Chip, so that after application of quality criteria, 44,580 SNPs were used for genomic analysis. The genome wide association analysis was performed by regression method corrected for random polygenic effects and after finding significant markers a search was conducted on NCBI to check for genes related to the trait associated with it. With the results of GWAS it was found that chromosomes 8 and 12 showed significant markers for presence of *Strongylus* eggs and on chromosomes 2 and 6 significant markers for Log-OPG were found. It was also verified, on chromosome 2, a marker associated with body score condition, and on chromosome 21 markers associated with the presence of bristled hair were found. With regard to genomic selection five Bayesian models to estimate the effects of markers were tested (for traits related to resistance to parasites): best linear unbiased estimator (BLUE) using random regression, Bayes A, Bayes B, Bayes C and Bayesian Least Absolute Shrinkage and Selection Operator (BLASSO). For the best model definition we analyzed the accuracy of genomic breeding value. The bayesian methods tested provided more accurate prediction when compared to the prediction obtained by the traditional method using the relationship matrix calculated by the average pedigree. The BRR model was selected as the best model because it has fewer parameters to be estimated and provide accurate prediction of genomic values similar to other models studied.

Key Words: Bayesian methods, cross-validation, genomic values prediction, GWAS, GWS, SNP markers.

SUMÁRIO

1 Introdução -----	14
2 Revisão de Literatura -----	15
2.1 Raça Santa Inês e verminose -----	15
2.2 Características de resistência à parasitose com informações genômicas -----	17
2.3 Introdução aos marcadores moleculares -----	19
2.3.1 Controle de qualidade dos marcadores -----	22
2.4 Estudos de Associação Genômica Ampla-GWAS -----	23
2.5 Seleção Genômica Ampla-GWS -----	24
3 Referências Bibliográficas -----	28
4 Considerações Finais -----	72

CAPÍTULO I

Associação genômica ampla em ovinos de corte para características associadas a resistência à endoparasitas -----	34
Resumo -----	35
Abstract -----	35
1 Introdução -----	36
2 Material e Métodos -----	37
3 Resultado e Discussão -----	40
4 Conclusões -----	51
5 Referências Bibliográficas -----	51

CAPÍTULO II

Seleção genômica ampla em ovinos de corte para características associadas a resistência à endoparasitas -----	55
Resumo -----	56
Abstract -----	56
1 Introdução -----	57
2 Material e Métodos -----	59
3 Resultado e Discussão -----	64
4 Conclusões -----	68
5 Referências Bibliográficas -----	69

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura apesar de apresentar animais com potencial para produção de proteína de origem animal, os mesmos são susceptíveis à parasitas gastrintestinais, o que requer constante planejamento na criação dessa espécie na busca por soluções que visem minimizar o impacto causado pela verminose nos sistemas de produção. As perdas produtivas devido ao parasitismo são duas vezes o custo direto com tratamento anti-hemintico, bom como prejuízo causados por outras doenças e chegando em casos extremos, a morte (MILLER et al., 2012).

Ao considerar o manejo sanitário, a não desvermifugação ou a condução ineficiente desta técnica tem sido um dos principais fatores para o alto nível de infestação e resistência aos anti-helmínticos. Molento et al. (2004) acrescentam que a verminose tem causado baixo desempenho produtivo mesmo em rebanhos com uso de práticas e tecnologias adequadas, reforçando assim, que a endoparasitose é um problema até em propriedades que fazem controle do calendario de vermifugação.

Algumas medidas inegradas à utilização de fármacos para o controle das parasitoses gastrintestinais foram levantadas por CEZAR et al. (2008) como a seleção genética de animais mais resistente às parasitoses, para que estes se tornem pais das próximas gerações, além da rotação de pastagens e menor taxa de lotação.

Nematóides gastrintestinais resistentes a anti-helmínticos constituem grande problema para criação de ovinos em pastagens cultivadas, pois limita sua produção de pequenos ruminantes, uma vez que inviabiliza o controle de com químicos em decorrência a perda de eficiência devido à crescente resistência dos parasitos a estes.

A atividade endoparasitária causa maiores perdas na ovinocultura, principalmente, por ter ação mais intensa nas raças menos adaptadas às condições ambientais. Para otimizar a produção, a solução pode ser buscada pela avaliação dos mecanismos de virulência do parasita e dos mecanismos de defesa do hospedeiro, via seleção de resistência genética à agressão. Quanto à resistência genética dos animais à endoparasitas, têm sido observadas em diversos ambientes de produção e muitos estudos têm quantificado a herança da dessa característica dentro de raças com uso da metodologia do OPG (ovos por grama de fezes) como indicador (BISHOP et al., 2004, GRUNER et al., 2004; BISHOP e MORRIS, 2007).

Como a resistencia gentic a é uma característica de difícil mensuração, haja vista ter indivíduos tolerantes e com o advento da genética molecular juntamente com o uso dos marcadores do tipo de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), torna-se viável detectar animais geneticamente superiores em diversas espécies e raças.

Os marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) vêm se mostrando viáveis para se detectar padrões genéticos de diversas espécies e raças de interesse econômico. Apesar de serem bialélicos, esta deficiência dos SNPs pode ser contornada devido estar presente em maior quantidade no genoma, aumentando a possibilidade de se encontrar marcadores significativos.

Matrizes de SNPs de alta densidade e a evolução computacional e estatísticos têm possibilitado além da seleção assistida por marcadores a predição de valores genéticos com base em grande quantidade de locos estudados (DEKKERS e VAN DER WERF, 2007). Assim, pode-se fazer uso destes para a caracterização de grupos de ovinos que apresentam resistência quando submetidos à infecção a endoparasitas. Assim como associa-los a características fenotípicas de resistência, conseqüentemente, fornecendo ferramentas que para seleção de matrizes e reprodutores. Outro fator que deve ser considerado é agregação de valor ao produto de origem animal com uso da tecnologia aplicada.

Esse estudo teve como objetivo verificar a existência de associação genética entre marcadores SNP do genoma ovino e características fenotípicas ligadas a resistência à endoparasitas, além de promover a predição de valores genéticos genômicos por meio de diferentes métodos bayesianos de seleção genômica ampla.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Raça Santa Inês e a verminose

O Brasil possui registradas na Associação de Criadores de Ovinos (ARCO), credenciada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) cerca de 27 raças de ovinos (MCMANUS et al., 2014). As raças de ovinos melhores adaptadas às condições ambientais do Brasil são, em geral, animais de pequeno porte, que foram submetidos a baixas taxas de seleção artificial e melhoramento genético.

A raça Santa Inês é encontrada em todas as regiões do Brasil, principalmente na região Nordeste, pois apresenta grande adaptabilidade às condições peculiares da região. Não tendo ao certo uma definição exata de sua origem, embora a mais provável seja que a raça é oriunda do cruzamento de animais Bergamácia (lanada), Morada Nova (deslanada) e Crioula (SOUSA et al., 2003). Porém há a teoria que os ovinos Santa Inês são, provavelmente, resultantes de cruzamentos intercorrentes entre as raças Bergamácia, Morada Nova, Somálias e ovinos sem raça definida (SRD) que tiveram origem na Bahia, após períodos de seleção natural e seleção genealógica realizada por criadores e técnicos (PAIVA, 2005).

Uma característica de grande importância na ovinocultura e tem considerável impacto econômico é a resistência genética à endoparasitas, logo as mesmas devem ser incorporadas em programas de melhoramento genético.

A infecção endoparasitária em ovinos tem chamado atenção mundial de criadores pois é uma das principais causas da baixa produtividade desta espécie animal, da diminuição qualitativa e quantitativa do ganho de peso e componentes da carcaça, mortalidade de animais, levando a uma menor pressão de seleção, somada ao custo de reposição dos animais e despesas com anti-helmíntico e mão-de-obra (NUNES et al., 2007).

A preocupação com fármacos é de tamanha importância pois além do caráter ligado sanitário existe a preocupação econômica, segundo Molento e Verissimo (2003), o mercado mundial de produtos veterinários é de aproximadamente 15 bilhões de dólares, sendo que 27% destes são gastos com compostos antiparasitários.

Na criação de ovinos, os animais são parasitados pelas seguintes espécies de nematódeos: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides papillosus*, *Cooperia pectinata*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris ovis*, *Trichuris globulosa* e *Skrjabinema ovis* (CHARLES, 1995). O principal endoparasita em ovinos é o *Haemoncus contortus*, porem frequentemente são infecções mistas, juntamente por parasitas das espécies de *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Strongyloides papillosus* (AMARANTE e SALES, 2007).

Os parasitas gastrintestinais induzem um reflexo imune nos hospedeiros, cuja resistência pode ser definida como a capacidade de impedir ou dificultar o estabelecimento das larvas. Sendo que a resistência ao parasita é comumente mensurada em termos de baixa contagem de ovos por grama de fezes (OPG). A imunidade contra os parasitas gastrintestinais é dependente dos linfócitos Th2, envolve mudanças inflamatórias no trato digestivo e é facilitada pelos anticorpos específicos antiparasitários (WAKELIN, 1995).

A resistência às parasitoses gastrintestinais está relacionada, com o aumento do número de mastócitos na mucosa, eosinófilos, presença de substância inibidoras do muco e aumento de sua produção. As células do tipo Th2 secretam citocinas específicas que ativam a produção de imunoglobulinas nas respostas antiparasitárias e o aumento do número de eosinófilos e mastócitos na mucosa gastrintestinal, e estão associadas a infecções por helmintos (KRAWCZYK e SLOTA, 2009).

Existe uma correlação negativa entre as contagens de OPG e os níveis de Imunoglobulina A (IgA), sugerindo que esses anticorpos são diretamente responsáveis pela inibição do desenvolvimento das larvas e participam indiretamente na sua evacuação. Além disso, esses

anticorpos inibem o metabolismo, o crescimento, a capacidade reprodutiva e a mobilidade do parasita. Pouco se conhece sobre a indução da resposta em IgA de animais parasitados, porém a IgA geralmente encontra-se elevada em ovinos selecionados pela resistência (GILL et al., 1994).

Em estudo sobre a infecção de ovinos por endoparasitas gastrintestinais, principalmente por *Haemoncus contortus*, verificou que cordeiros da raça Santa Inês demonstraram maior resistência à infecções quando comparados à raça Ile de France e Suffolk (AMARANTE et al. 2004). Em animais da raça Crioula Lanada comparada a animais da raça Corriedale, os primeiros obtiveram resultados que caracterizaram animais mais resistentes em relação ao segundo (AMARANTE et al., 2004).

Trabalho desenvolvido por Lara et al. (2001) com as raças Suffolk, Ile de France, Poll Dorset e Santa Inês, revelou que a principal causa de mortalidade em rebanhos no estado de São Paulo era a verminose e que somente os animais da raça Suffolk morriam como uma consequência direta ou indireta de endoparasita gastrintestinais. Estes mesmos autores concluíram que animais da raça Santa Inês foram os mais resistentes, enquanto os da raça Suffolk, os mais suscetíveis.

2.2 Características de resistência à parasitose com informações genômicas

O diagnóstico correto dos animais acometidos por infecções parasitárias é o primeiro passo para a obtenção do sucesso no controle dessas enfermidades. Embora existam diferentes metodologias para este objetivo, alguns deles ainda são de baixa precisão ou se limitam ao ambiente laboratorial, outros tornam-se subjetivos em função do avaliador.

Sendo assim, é de grande relevância que diversas características influenciadas pelas parasitoses gastrintestinais sejam mensuradas, pois permite um aumento na eficiência do diagnóstico, e conseqüentemente, na identificação mais precisa dos indivíduos geneticamente resistentes.

Para seleção genética de animais que possuem maior resistência à parasitas, não deve haver erros na mensuração do fenótipo e este tem de ser fielmente mensurável. As estimativas de hereditariedade genética para a resistência aos helmintos são altamente variáveis e dependem do fenótipo medido. A contagem de ovos nas fezes (OPG), por exemplo, ter sido o fenótipo de escolha para avaliar a gravidade da infecção por helmintos, é influenciado pela estação do ano, e, não necessariamente, refletem a carga real parasitaria (SINGLETON et al., 2011). Medidas de parâmetros sanguíneos, tais como, hematócrito, e resposta imune, incluindo contagem de eosinófilos e concentrações de Imunoglobulina A (IgA) e Imunoglobulina E (IgE) também vêm

sendo investigados, no entanto, esses fenótipos podem variar com o tempo, com as espécies de helmintos e com a exposição prévia à doença (BISHOP, 2012). Apesar de variação nas estimativas de herdabilidade para esses fenótipos, a resistência dos animais aos parasitas é moderadamente herdáveis (BISHOP, 2012).

Segundo Benavides (2009), a maioria dos marcadores moleculares tipo microssatélites possui de 2 a 15 alelos, podendo haver alguns excedendo 15, porém com menor frequência. Esses marcadores em si não controlam características de interesse, pois estão localizados em regiões que não codificam nenhuma proteína. Entretanto, sua utilidade está no fato de que regiões muito próximas no cromossomo tendem a ser herdadas em blocos, e mesmo desconhecendo os genes responsáveis por uma determinada característica produtiva, é possível selecioná-la por meio de marcadores moleculares localizados próximos, uma vez que, durante o processo de recombinação, a ligação entre marcador e gene não será rompida, sendo herdada em conjunto. Esse princípio é chamado de desequilíbrio de ligação, pois, se todas as regiões de um determinado cromossomo fossem herdadas de forma independente, todas elas segregariam ao acaso (em equilíbrio de ligação).

A crescente disponibilidade de marcadores genéticos por meio de esforços de genotipagem levantou a possibilidade de encurtar o tempo necessário para selecionar animais para maior resistência à parasitose usando seleção assistida por marcador genético ou seleção genômica. Os estudos iniciais utilizando marcadores microssatélites demonstrou que a resistência dos animais aos helmintos é um traço poligênico, o que significa que a resistência é determinada por pequenas contribuições de vários genes. Esses estudos identificaram dois locos de características quantitativas (QTL) abrigando genes candidatos que parecem estar associados com a resistência aos helmintos; um no cromossomo 3, gene do Interferon (IFN-g), e o outro no cromossomo 20 adjacente ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) que contém muitos genes relacionados, incluindo as que codificam as proteínas MHC de classe II que medeiam a interação entre antígenos de helmintos (BISHOP, 2012).

Para análise de seleção e associação genômica o uso de marcadores microssatélites é menos eficiente que os marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) que existem distribuídos no genoma. Os resultados de um recente estudo de associação SNP realizada por Dervishi et al. (2011) demonstraram que as variantes do gene de IFN-g não contribuem para a resistência aos helmintos.

Um estudo de associação genômica foi realizado com ovinos utilizando um painel de 48.640 SNPs identificados e cinco SNPs foram validados e associados com a OPG do parasita *Trichostrongylus colubriformis* e dois SNPs que foram associados com OPG de *H. contortus*.

No entanto, nenhum desses SNPs foram identificados anteriormente perto de região de QTL relacionado com IFN-g e MHC. Com base na pequena contribuição aditiva desses SNPs, foi sugerido que existem, provavelmente, centenas de milhares de variantes, que contribuem para a resistência aos helmintos em ovinos (KEMPER et al., 2011), e é possível que diferentes subgrupos de genes conferem resistência ou susceptibilidade entre as diferentes raças.

Comparação de QTL e GWAS de estudos relacionados com a resistência à parasitas gastrintestinais fornecem evidências que o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) sobre o cromossomo 20 e interferon gama (IFN-g) sobre o cromossomo 03 (BISHOP e MORRIS, 2007; DOMINIK, 2005). O primeiro é uma característica de antígeno a células T, que são um grupo de glóbulos brancos (leucócitos) responsáveis pela defesa do organismo contra agentes desconhecidos, que desencadeiam o desenvolvimento de respostas imunológicas (SHER, 1992) e o último um antagonista de resposta forte ao Th2, ajuda a ativar células B, resultando na produção de anticorpos (KELLY, 1991).

Encontrar QTLs relacionados aos mecanismos biológicos de um indivíduo resistente a parasitose tem sido muito esperado pela ovinocultura. Não só estudos de associação genômica que visam marcadores relevantes associados a uma característica produtiva específica, permitindo a sua utilização em programas de melhoramento, mas também que permitam a identificação dos genes que contribuem para a expressão desse fenótipo. O marcador OAR6_81718546 está próximo de uma região de interesse que é o receptor alfa do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFRA), que havia sido relatado anteriormente por Beh et al. (2002), no entanto a distância deste gene marcador para o SNP é 5 Mpb, portanto, pouco provável que esteja em desequilíbrio de ligação. Outro marcador corresponde, OAR15_59871543 foi encontrado na posição 876.857 pb do cromossomo 15, que está associado a mucina de superfície (MUC15). As Mucinas codificam glicoproteínas epiteliais que compõem o muco na superfície dos tecidos epiteliais, agindo como uma barreira física contra bactéria, fungos patogênicos e vírus (GURURAJA et al., 1999; KAWAKUBO et al., 2004), e parasitas (BELL et al., 1984).

2.3 Marcadores moleculares

Ovinos possuem 26 pares de cromossomos autossomos e um sexual, assim já foram identificados 2.030 locos, dos quais 543 são genes, mas também possui 2.257 marcadores de microsatélites, e os SNPs significativos associados com características zootécnicas para ovinos ainda são poucos quando comparado aos 54.241 SNP no genoma da espécie (AMARILHO-SILVEIRA et al., 2015). Estas informações servem como ferramentas básicas para a busca de

locos responsáveis, ou situados próximos a genes responsáveis, por características de interesse econômico.

Os marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) são alterações elementares na sequência da molécula de DNA que ocorrem quando um único nucleotídeo difere entre cromossomos homólogos de diferentes indivíduos no mesmo loco. São frequentes por se tratarem de pequenas mutações pontuais, como substituição de uma base ou pequenos eventos de inserção ou deleção (FALEIRO, 2007). Têm sido utilizados para elaboração de mapas genéticos, para medir a estrutura genética de populações ou para realizar estudos funcionais.

As alterações de SNPs estão em todo genoma distribuído de maneira uniforme podendo estar presentes em diversas regiões do genoma, podendo ser em regiões codificadoras ou com função regulatória e em regiões que flanqueiam os genes, porém na grande parte dos casos são encontrados em regiões intergênicas, ainda sem função determinada. Segundo Iniesta et al. (2005) alteração de um único nucleotídeo quando ocorre em uma região codificante pode provocar uma troca de aminoácido da futura proteína resultante podendo levar a alterações em sua função.

Os polimorfismos de SNPs podem ser classificados de acordo com a sua forma de apresentação, denominadas como variações estruturais, quando as diferenças entre indivíduos ocorrem em mais de um par de bases ou de sítio único, quando as diferenças ocorrem em apenas um par de bases (FRAZER et al., 2009).

Os chamados de *Quantitative Trait Loci* (QTLs) indicam que dada região cromossômica, localizada entre dois marcadores testados, está significativamente ligada ao fenótipo. Uma vez localizado um QTL ligado ao fenótipo, é iniciado o processo de mapeamento fino, em que é testado um maior número de marcadores moleculares situados dentro daquela região. Procura-se obter um QTL que esteja localizado entre dois marcadores moleculares mais próximos e assim sucessivamente, até chegar a uma região onde provavelmente estará o gene que explica parte ou maioria da variação fenotípica da característica que está sendo estudada. Por isso tem-se a vantagem de trabalhar com esse tipo de modelo, onde há a maior probabilidade de encontrar associações entre marcadores e características de interesse, uma vez que a busca não se restringe a poucas regiões cromossômicas.

Em estudos com borregos Corriedale selecionados para resistência e susceptibilidade à nematoides gastrintestinais, Grasso et al. (2011) encontraram 7 SNPs de um total de 54.241, que apresentaram associação com as características selecionadas, e também a análise de diploide determinou que esses marcadores têm a capacidade de indicar se um ovino é resistente ou susceptível. Como a resposta imunológica é controlada por vários genes, que podem estar

localizados em diferentes cromossomos, os resultados encontrados até o momento são muitas vezes contraditórios. Segundo Bishop e Morris (2007), há uma grande variação na resposta de OPG em relação a polimorfismos genéticos em diferentes genes e regiões cromossômicas. Portanto, é provável que a seleção assistida por marcadores para resistência aos parasitas gastrintestinais em ruminantes seja determinada por vários genes, e não por um gene principal. O fato de a resistência estar ligada a vários genes pode ter desdobramentos práticos.

Na Austrália, Beh et al. (2002) não encontraram evidências da presença de genes principais associados com a resistência contra *Trichostrongylus colubriformis* em ovinos da raça Merino. Em outros estudos realizados na Grã-Bretanha, foram identificados QTLs nos cromossomos 2, 3, 14 e 20 associados à resistência às infecções naturais por nematódeos gastrintestinais em ovinos Scottish Blackface (DAVIES et al., 2006). Na Nova Zelândia, identificou-se um QTL localizado no cromossomo 8 associado à resistência contra infecções por *Trichostrongylus* spp. (CRAWFORD et al., 2006). Há existência de dois QTLs relacionados a resistência à endoparasitas detectado no cromossomo 25 em uma varredura do genoma para resistência ao *H. contortus* em cordeiros oriundos de retrocruzamento de Romane x Martinik Black Belly (SALLÉ et al., 2012). Os mesmos autores encontraram cinco QTLs de maior interesse nos cromossomos 5, 7, 12, 13 e 21 associado ao OPG e outros parâmetros medidos em 1000 cordeiros oriundo do retrocruzamento entre Martinik Black-Belly × Romane, para resistência ao *H. contortus*.

O uso de informações obtidas a partir de técnicas de genética molecular no melhoramento genético animal tem como principal vantagem a utilização direta da informação do material genético na seleção, permitindo melhorias na eficiência de seleção e diminuição no tempo de avaliação, em comparação com a seleção tradicional baseada essencialmente em dados fenotípicos. O uso de informações genéticas moleculares e fenotípicas para as avaliações caracteriza a seleção assistida por marcadores genéticos (DEKKERS, 2004).

Na busca por informações mais apuradas do genótipo dos animais, algumas pesquisas estão utilizando marcadores moleculares em conjunto com o desenvolvimento de técnicas capazes de detectar polimorfismos de genes que possibilita ampliar a capacidade de caracterizar a variação genética dentro e entre raças (TORO et al., 2009). Os estudos moleculares podem esclarecer a existência de gargalos populacionais, deriva genética e assinaturas de seleção, informar sobre eventos de domesticação, endogamia, introgressão e subestruturação populacional, e auxiliar decisões acerca da manutenção e manejo de populações (MEADOWS et al., 2005; TAPIO et al., 2006).

Informações de marcadores genéticos, os quais cobrem de forma densa o genoma, têm sido utilizadas a partir de um método proposto por Meuwissen et al. (2001), pelo qual pressupõe-se que os genes de interesse provavelmente apresentarão desequilíbrio de ligação com parte importante dos marcadores genéticos. A partir deste método, espera-se obter melhorias na seleção dos animais e na identificação de genes de interesse.

2.3.1 Controle de qualidade dos marcadores

Com os avanços da metodologia de seleção genômica e, portanto, das aplicações de estratégias envolvendo genotipagens, o significativo incremento no ganho genético anual em características de alto impacto econômico vem se tornando uma realidade. No entanto, avaliar a qualidade de marcadores por meio de alguns critérios de controle de qualidade é um passo crítico para garantir que as análises estatísticas sejam mais verdadeiras possíveis (YANG et al., 2011). A importância do controle de qualidade dos dados de genotipagem está no aumento na confiabilidade dos efeitos dos marcadores SNPs e valores genéticos genômicos preditos, pois a acurácia é reduzida quando este controle não é realizado ou é ineficiente (WIGGANS et al., 2009).

Dentre os critérios de controle de qualidade dos marcadores tipo SNPs, tem-se o *Call Rate (CR)*, que é a proporção de SNPs identificados com acurácia, ou seja, é a taxa de SNPs hibridizados e que tiveram seu genótipo estabelecido, reflete a qualidade da genotipagem e é representado pela razão entre o número de SNP detectado pelo total analisado. A remoção de marcadores de qualidade inferior é muito importante para os estudos GWAS, porque eles podem apresentar-se como os falsos positivos e reduzir a capacidade de identificar associações verdadeiras (ANDERSON et al., 2010).

Outra medida de controle de qualidade é a Frequência Alélica Mínima ou *Minor Allele Frequency (MAF)*, em que se determina a frequência mínima dos SNPs, ela reflete a qualidade da determinação do perfil de SNP e/ou erros na designação dos mesmos (TABANGIN et al., 2009). A frequência do menor alelo utiliza as frequências alélicas para verificar a ocorrência de alelos com baixa frequência ou monomórficos, os quais não são informativos, e assim haveria dificuldade em selecionar na população alelos que são encontrados em poucos indivíduos. Segundo Wiggans et al. (2009) e Vanraden et al. (2009) o critério de MAF deveria variar entre 2-5%, dependendo do número de amostras a serem genotipadas.

A existência do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) como controle de qualidade da genotipagem pode nos mostrar que os SNPs que apresentam desvios do EHW são desconsiderados das análises já que podem sinalizar problemas, como erros na determinação

do perfil de SNPs ou peculiaridades nos dados, o que tem levado esse parâmetro a ser utilizado no controle de qualidade dos genótipos (SALANTI et al., 2005; MCCARTHY et al., 2008), de acordo com as frequências alélicas, podendo identificar possíveis erros de genotipagem. Quando verificados desvios do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, alguma das pressuposições de população em equilíbrio (ausência de seleção) pode ter sido violada, ou seja, os alelos não estão segregando na população como esperado, pela ocorrência de um maior número de indivíduos homocigotos ou heterocigotos do que pela lei do Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Desvios do Equilíbrio de Hardy-Weinberg também podem estar relacionados a erros de genotipagem. Além disso, segundo Wiggans et al. (2009), desvios do Equilíbrio de Hardy-Weinberg podem indicar problemas em determinar acuradamente o genótipo do SNP.

2.4 Estudos de Associação Genômica Ampla - GWAS

Com a utilização da informação genômica, pode-se conhecer informações do genoma antes desconhecidas do melhoramento genético e, assim, tornou-se possível a investigação e o conhecimento sobre a arquitetura genética das características de interesse zootécnico. Sendo assim, estudos de associação genômica ampla (GWAS – Genome Wide Association Study) estão sendo utilizados na busca por variantes genéticas associadas com a expressão fenotípica de diversas características em diversas populações (WELLER e RON, 2010; VISSCHER et al., 2012; LIU et al., 2013; PONSUKSILI et al., 2014).

Os estudos à partir da GWAS tem como objetivo identificar variantes causais no genoma de um grande número de indivíduos, por meio dos marcadores SNPs para descobrir associações estatísticas significativas (p-valor) entre estas e os fenótipos de interesse, assim possibilitando investigar as regiões cromossômicas em que estas variantes significativas se encontram e relacioná-las com funções biológicas acessando banco de dados genômicos (Ex. NCBI, MCGS, SGPDB, QTLdatabase), na GWAS geralmente os SNPs são assumidos como efeitos fixos e analisados separadamente.

A GWAS é uma poderosa ferramenta que permite conhecer como a genética se manifesta por trás da expressão de fenótipos de importância econômica através dos estudos de associação com o fenótipo (CASAS et al., 2013). Essa ferramenta necessita e explora a existência de desequilíbrio de ligação (LD – Linkage Disequilibrium) entre SNPs e variantes causais (BOLORMA et al., 2013), sendo que, quanto maior a densidade dos painéis de marcadores, maiores tendem a ser os níveis de LD (RINCON et al., 2011). Assim, a utilização da GWAS visa identificar SNPs associados com a característica de interesse e explorar regiões do genoma em que esses SNPs estão inseridos, de modo a identificar genes e/ou locos de características

quantitativas (QTL – Quantitative Trait Loci) relacionados à expressão fenotípica de características (UTSUNOMIYA et al., 2013).

Trabalhos relacionados a associação genética ligada a resistência à parasitose tem sido realizado em ovinos (BISHOP e MORRIS, 2007, DAVIES et al., 2006, SALLE et al., 2012; CRAWFORD et al., 2006). Sallé et al. (2012) usando Illumina OvineSNP50 BeadChip encontraram marcadores relacionados a resistência à endoparasitas nos cromossomos 5, 12, 13 e 21.

2.5 Seleção Genômica Ampla - GWS

A seleção genômica ampla, proposta por Meuwissen et al. (2001) consiste na utilização simultânea de centenas ou milhares de marcadores tipo SNP, os quais cobrem o genoma de maneira densa, de forma que todos os genes de um caráter quantitativo estejam em desequilíbrio de ligação com pelo menos uma parte dos marcadores. Os estudos de GWS tem como objetivo identificar indivíduos superiores com base em seu mérito genético genômico (GEBV), calcular medidas de acurácia para estes valores e estimar parâmetros genéticos de interesse (h^2 , variância genética), utilizando os SNPs, geralmente assumidos como efeitos aleatórios, considerados simultaneamente nas análises, demandando o uso de métodos estatísticos específicos.

A revolução no melhoramento genético de animais, que vem sendo proporcionada pela adoção da seleção genômica, de forma mais ou menos intensa e com diferentes graus de sucesso, pelos diversos setores produtivos dos animais domésticos (VAN EENENNAAM et al., 2014), não é devida a uma metodologia estatística extraordinária que foi desenvolvida, mas sim, devida a uma poderosa idéia: regredir os fenótipos sobre todos os marcadores disponíveis usando um modelo linear (DE LOS CAMPOS et al., 2013).

Os métodos tradicionais de seleção usam o fenótipo para inferir sobre o efeito do genótipo dos indivíduos, já a GWS utiliza o genótipo, com efeito genético pré-estimado em uma amostra da população, para inferir sobre o fenótipo a ser expresso nos candidatos à seleção (RESENDE, 2008).

Métodos Bayesianos têm sido aplicados com sucesso em espécies de interesse zootécnico (LI et al., 2011; HE e LIN, 2011; SUN et al., 2011; BODDICKER et al., 2012; PETERS et al., 2012). Os modelos utilizados são uma solução para o problema da dimensionalidade (o número de observações é menor que o número de variáveis preditivas), conseguindo predições simultâneas para milhares de SNPs ao considerar os efeitos como aleatórios, embora, estes métodos tenham sido desenvolvidos para a predição de valores genéticos (MEUWISSEN et al.,

2001). Além dos efeitos aditivos, eles também podem levar em consideração efeitos não aditivos (GAO et al., 2014).

Na inferência Bayesiana, distribuições *a priori* são atribuídas para cada parâmetro. No caso, para o parâmetro β é atribuída uma distribuição não informativa (“flat”); e segue uma distribuição normal $N \sim (0, I\sigma_e^2)$, onde σ_e^2 é a variância do resíduo e considerada como desconhecida, com uma distribuição *a priori* Qui-quadrado escalonada invertida. A diferença entre os modelos Bayesianos está na distribuição a priori marginal que é assumida para o vetor de parâmetros.

Na metodologia aplicada ao melhor preditor não viesado através da regressão aleatória utilizando a inferência bayesiana, BRR (“*Baesian Ridge Regression*”) uma distribuição normal $N \sim (0, I\sigma_{\alpha i}^2)$, é atribuída como priori para σ , e para a variância $\sigma_{\alpha i}^2$ é usada uma distribuição Qui-quadrada escalonada invertida. Já através do método Bayes A, a priori para α é uma distribuição univariada τ com média zero. Neste modelo é assumida uma variância diferente para cada marcador, o que difere da metodologia Bayes B, pois *a priori* assumida para os marcadores é uma mistura de distribuições, tendo um ponto de massa em zero com probabilidade π e uma distribuição univariada τ com probabilidade $1 - \pi$ e média zero. Assim Bayes A é um caso especial de Bayes B, quando $\pi = 0$ (MEUWISSEN et al., 2001).

Pela metodologia intitulada de Bayes C, a priori assumida para os efeitos dos marcadores é uma mistura de distribuições, tendo um ponto de massa em zero com probabilidade π e uma distribuição normal univariada $N \sim (0, I\sigma_{\alpha i}^2)$, com probabilidade $1 - \pi$, a variância σ_{α}^2 segue uma distribuição Qui-quadrada escalonada invertida. Assim a metodologia anteriormente apresentada BRR é um caso especial de Bayes C quando $\pi = 0$ (HABIER et al., 2011). Em Bayes B e Bayes C, o valor de π pode ser tratado como desconhecido e ser inferido a partir dos dados, atribuindo uma distribuições beta a priori para π . Na metodologia dita LASSO Bayesiano, a distribuição a priori atribuída para α é a dupla exponencial, que tem uma maior concentração de massa em zero quando comparada como as distribuições normal e t. Este modelo usa o parâmetro λ que controla o nível do “*shrinkage*” aplicado aos efeitos dos SNPs. O valor de λ pode ser definido por validação cruzada ou inferido a partir dos dados. Para este último caso, uma distribuição beta ou gama é atribuída como priori ao parâmetro λ (PARK e CASELLA, 2008; DE LOS CAMPOS et al., 2009).

Os métodos bayesianos estão associados a sistemas de equações não lineares e as predições não lineares podem ser melhores quando os efeitos de QTL não são normalmente distribuídos, devido à presença de genes de efeitos maiores (REZENDE et al. 2010).

Segundo Resende et al. (2011) os métodos de estimação bayesianos podem ser com seleção direta de co-variáveis como Bayes B, Bayes $C\pi$, e BLASSO ou sem seleção direta de co-variáveis (BRR, Bayes A). Com distribuição normal dos efeitos dos QTL o método BRR é igualmente eficiente (RESENDE, 2008). De Los Campos et al. (2009) verificaram que o BLASSO apresentou performance superior ao BLUP para prever valor genômico.

Na estatística bayesiana, parâmetros como a variância explicada por um loco são assumidos, *a priori*, provir de uma determinada distribuição de probabilidade. Consequentemente a variância pode variar entre os locos, e combinando a informação a priori com a dos dados obtidos resulta em uma estimativa do parâmetro. Esse procedimento parece mais realista do que assumir que a variância entre os locos é fixa, como no caso do método BLUP (MEUWISSEN et al., 2001). A metodologia Bayes B apresenta uma priori mais realista porque espera-se que algumas regiões do genoma não carreguem nenhum QTL, assim algumas marcas deveriam ter estimativas de efeito iguais a zero (HEFFNER et al., 2009).

Comparando métodos bayesianos, Habier et al. (2011) relataram que o método Bayes A mostrou-se superior na maioria das situações, mas nenhum dos métodos bayesianos são claramente superiores em todas as situações. Entretanto, Bayes B, Bayes $C\pi$ e Bayes $D\pi$ apresentam a vantagem de propiciar informação sobre a arquitetura genética do caráter quantitativo e identificar as posições de QTL por modelagem da frequência de SNP não nulos. Também Mrode et al. (2010) concluíram pela superioridade do Bayes A e Fast Bayes B sobre o Bayes B. Os métodos de regressão explícita, o Bayes A, o LASSO bayesiano (BLASSO) e o BRR são os métodos favoritos quando o modelo poligênico infinitesimal se aplica.

O método BRR de *shrinkage* julga que os marcadores são tratados como efeitos aleatórios e têm os mesmos efeitos para todos os marcadores (MEUWISSEN et al., 2001). O método Bayes A proposto por MEUWISSEN et al. (2001) produz resultados similares ao método BLUP com variâncias heterogêneas, pois as variâncias dos segmentos cromossômicos diferem para cada segmento e são estimadas sob esse modelo, considerando a informação combinada dos dados (função de verossimilhança) e da distribuição *a priori* para estas variâncias.

O método Bayes B apresenta as mesmas suposições que o Bayes A para uma fração π dos SNPs e assume que $(1 - \pi)$ dos SNPs apresenta efeitos nulos. Um problema desse método é a escolha da fração π . No método Bayes B muitos efeitos de marcadores são assumidos como zero, *a priori*. Isso reduz o tamanho do genoma por meio da concentração nas partes do mesmo onde existem QTLs (RESENDE et al. 2010).

Para os efeitos dos QTLs, o método Bayes B usa uma distribuição *a priori* com alta densidade em $\sigma_{\beta}^2 = 0$ e distribuição qui-quadrado invertida para $\sigma_{\beta}^2 > 0$. Assim, considera que em muitos locos não existe variação genética, ou seja, não estão segregando. Assim, a distribuição *a priori* equivale a $\sigma_{\beta_i}^2 \sim \chi^{-2}(\nu, S^2)$ com probabilidade π e $\sigma_{\beta_i}^2 = 0$ com probabilidade $(1 - \pi)$, em que π depende da taxa de mutação do gene.

O método Bayes C permite especificar uma distribuição *a priori* para π , permitindo a modelagem da distribuição dupla exponencial. No método Bayes C uma variância comum é especificada para todos os locos.

Os Lasso bayesianos são vantajosos em relação aos métodos bayesianos de Meuwissen et al. (2001) por serem assintoticamente livres de informação *a priori*. A formulação bayesiana do Lasso (BLASSO) inclui um termo de variância comum para modelar ambos os termos, os resíduos e os efeitos genéticos dos marcadores (PARK e CASELLA, 2008; DE LOS CAMPOS et al., 2009). O Lasso Bayesiano é também interessante, pois usa amostragem de Gibbs, uma vez que se conhece a distribuição condicional completa.

Para diminuir a variabilidade e aumentar a acurácia, várias interações da validação cruzada são realizadas utilizando diferentes partições, e calcula-se a média dos resultados da validação gerados em cada rodada.

A validação cruzada consiste na reamostragem de grupos de indivíduos via procedimento Jacknife (HELTSHE e FORRESTER, 1983), conforme descrito por Resende et al. (2010). A metodologia generalizada do Jacknife baseia-se na divisão do conjunto de C dados amostrais em g grupos de tamanho igual a k, de forma que $C = gk$. Em cada um dos g grupos, k indivíduos são retirados para a formação da população de validação. Nesse processo, em cada subgrupo analisado a GWS é avaliado ao calcular a correlação entre o valor genético predito por esse método e o valor fenotípico observado nos indivíduos. Essa correlação é conhecida como capacidade preditiva, sendo dada teoricamente pela acurácia de seleção multiplicada pela raiz quadrada da herdabilidade individual.

3 Referências Bibliográficas

- AMARANTE, A. F. T., SALES, R. O. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Revista Brasileira Higiene e Sanidade Animal**, v.1, n.2, p.14–36, 2007.
- AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A. et al. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120, p.91-106, 2004.
- AMARILHO-SILVEIRA, F.; BRONDANI, W. C.; MOTTA, J. F.; FERREIRA, O. G. L.; LEMES, J. S. Resistência ovina frente a nematoides gastrintestinais. **Archivos de Zootecnia**, v.64, p.1-12. 2015.
- ANDERSON, C. A.; PETTERSSON, F. H.; CLARKE, G. M.; CARDON, L.R.; MORRIS, P.; ZONDERVAN, K.T. Data quality control in genetic case-control association studies. **Nature Protocols**, v.5, p.1564-1573, 2010.
- BEH, K. J.; HULME, D. J.; CALLAGHAN, M. J.; LEISH, Z.; LENANE, I.; WINDON, R. G.; MADDOX, J. F. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **Animal Genetics**, v.93, p.97-106, 2002.
- BELL, A. E.; ALLEN, A.; MORRIS, E. R.; ROSS-MURPHY, S. B. Functional interactions of gastric mucus glycoprotein. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.6, p.309-315, 1984.
- BENAVIDES, M. V. Marcadores moleculares para resistência. In: CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A. C. S.; MOLENTO, M. B. (Eds.). **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. p.508-548.
- BISHOP, S. C. Possibilities to breed for resistance to nematode parasite infections in small ruminants intropical production systems. **Animal**, v.6, p.741-747, 2012.
- BISHOP, S. C.; MORRIS, C. A. Genetics of disease resistance in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v.70, 48-59, 2007.
- BODDICKER, N.; WAIDE, E.; ROWLAND, R.; LUNNEY, J.; GARRICK, D.; REECY, J.; DEKKERS, J. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. **Journal of Animal Science**, v.90, p.1733-1746, 2012.
- BOLORMAA, S.; PRYCE, J. E.; KEMPER, K. E.; HAYES, B. J.; ZHANG, Y.; TIER, B. BARENDSE, W.; REVERTER, A.; GODDARD, M. E. Detection of quantitative trait loci in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using genome-wide association studies. **Genetics Selection Evolution**, v.45, 2013.
- CASAS, E.; SHACKELFORD, S. D.; KEELE, J. W.; STONE, R. T.; KAPPES, S. M.; KOOHMARAIE, M. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. **Journal of Animal Science**, v.78, p.560-569, 2013.

- CEZAR, A. S.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.38, p.2083-2091, 2008.
- CHARLES, T. P. Disponibilidade de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitas de ovinos deslançados no semi-árido pernambucano. **Ciência Rural**, v.25, n.3, p.437-442, 1995.
- CRAWFORD, A.; PATERSON, K.; DODDS, K.; TASCAN, D.; WILLIAMSON, P.; THOMSON, R.; BISSET, S. A.; BEATTIE, A. E.; GREER, G. J.; GREEN, R. S.; WHEELER, R.; SHAW, R. J.; KNOWLER, K.; MCEWAN, J.C. Discovery of quantitative trait loci for resistance to parasitic nematode infection in sheep: I. Analysis of outcross pedigrees. **BMC Genomics**, v.7, 2006.
- DAVIES, G.; STEAR, M. J.; BENOTHMAN, M.; ABUAGOB, O.; KERR, A.; MITCHELL, S.; BISHOP, S. C. Quantitative trait loci associated with parasitic infection in Scottish blackface sheep. **Heredity**, v.96, p.252-258, 2006.
- DE LOS CAMPOS, G.; HICKEY, J. M.; PONG-WONG, R.; DAETWYLER, H. D.; CALUS, M. P. L. Whole-Genome Regression and Prediction Methods Applied to Plant and Animal Breeding. **Genetics**, v.193, p.327-345, 2013.
- DE LOS CAMPOS, G.; NAYA, H.; GIANOLA, D.; CROSSA, J.; LEGARRA, A.; MANFREDI, E.; WEIGEL, K.; COTES, J. M. Predicting quantitative traits with regression models for dense molecular markers and pedigree. **Genetics**, v.182, p.375–385, 2009.
- DEKKERS, J. C. M.; VAN DER WERF, J. H. J. Strategies, limitations, and opportunities for marker-assisted selection in livestock. "Marker Assisted Selection (MAS) in Crops, Livestock, Forestry and Fish: Current Status and the Way Forward", **FAO Invited Book**. 2007.
- DEKKERS, J. C. Commercial application of marker and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. **Journal of Animal Science**, v.82, p.313-328, 2004.
- DOMINIK, S. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review. **Genetics Selection Evolution**, v.37, p.83-96. 2005.
- FALEIRO, F.G. **Marcadores Genético-Moleculares**: Aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina: Embrapa cerrados, 2007.102p.
- FRAZER, K. A.; MURRAY, S. S.; SCHORK, N. J.; TOPOL, E. J. Human genetic variation and its contribution to complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v.10, p.241-251, 2009.
- GAO, H.; WU, Y.; LI, J.; LI, H.; LI, J.; YANG, R. Forward lasso analysis for high-order interactions in genome-wide association study. **Briefings in Bioinformatics**, v.15, p.552-561, 2014.
- GILL, H. S., GRAY, G. D., HUSBAND, A. J., WATSON, D. L. Antibody-containing cells in the abomasal mucosa of sheep with genetic resistance to *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, v.56, p.41-47, 1994.
- GOFFAUX, F.; CHINA, B.; DAMS, L.; CLINQUART, A.; DAUBE, G. Development of a genetic traceability test in pig based on single nucleotide polymorphism detection. **Forensic Science International**, v.151, p.239-247, 2005.

- GRASSO, N.; IRIARTE, W.; CIAPPESONI, G. High throughput genotyping of nematode resistant/susceptible Corriedale sheep. **Revista Argentina de Produção Animal**, v.31, p.134, 2011.
- GRUNER, L.; BOUIX, J.; BRUNEL, J.C. High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in INRA 401 sheep. **Veterinary Parasitology**, v.119, p.51-58, 2004.
- GURURAJA, T. L.; LEVINE, J. H.; TRAN, D. T.; NAGANAGOWDA, G. A.; RAMALINGAM, K.; RAMASUBBU, N. Candidacidal activity prompted by N-terminus histatin-like domain of human salivary mucin (MUC7). **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1431, p.107-119, 1999.
- HABIER, D.; FERNANDO, R. L.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J. Extension of the bayesian alphabet for genomic selection. **BMC Bioinformatics**, v.12, p.1-12, 2011.
- HE, Q.; LIN, D.-Y. A variable selection method for genome-wide association studies. **Bioinformatics**, v.27, p.1-8, 2011.
- HEFFNER, E. L.; SORRELLS, M. E.; JANNINK, J. L. Genomic selection for crop improvement. **Crop Science**, v.49, p.1-12, 2009.
- HELTSHE, J. F.; FORRESTER, N. E. Estimating species richness using the Jackknife procedure. **Biometrics**, v.39, p.1-11, 1983.
- INIESTA, R.; GUINÓ, E.; MORENO, V. Análisis estadístico de polimorfismo genéticos em estúdios epidemiológicos. **Gaceta Sanitaria**, v.19, p.333-341, 2005.
- KAPLAN, R. M. A. Resistência aos medicamentos em nematóides de importância veterinária: um relatório de status. **Trends in Parasitology**, v.20, p.477-481, 2004.
- KAWAKUBO, M.; ITO, Y.; OKIMURA, Y.; KOBAYASHI, M.; SAKURA, K.; KASAMA, S. Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. **Science**, v.305, p.1003-1006, 2004.
- KELLY, E. A.; CRUZ, E. S.; HAUDA, K. M.; WASSOM D. L. IFN-gamma- and IL-5-producing cells compartmentalize to different lymphoid organs in *Trichinella spiralis*-infected mice. **The Journal of Immunology**, v.147, p.306–311, 1991.
- KEMPER, K. E.; EMERY, D. L.; BISHOP, S. C.; ODDY, H.; HAYES, B. J.; DOMINIK, S.; HENSHALL, J. M.; GODDARD, M. The distribution of SNP marker effects for faecal worm egg count in sheep, and the feasibility of using these markers to predict genetic merit for resistance to worm infections. **Genetics Research**, v.93, p.203-219, 2011.
- KRAWCZYK, A.; SLOTA, E. Genetic markers to gastrointestinal nematode resistance in sheep: a review. **Helminthologia**, v.46, p.3-8, 2009.
- LARA, A. M. C, VERÍSSIMO, C. J. GAMA, L.T, CUNHA, E. A, SANTOS, BUENO, M. S, SALES, L, OLIVEIRA, M.; SPÓSITO, E. F. Relação Entre Polimorfismos De Proteínas E Infecção Por Nematódeos Gastrintestinais Em Ovelhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. CD.

- LE JAMBRE, L.F. Anthelmintics resistance in gastrointestinal nematodes of sheep. In: DONALD, A.D., SOUTHCOTT, W.H., DINNEEN, J.K. (Eds). **The epidemiology and control of gastrointestinal parasites of sheep in Australia**. Melbourne: CSIRO, p.109-120, 1978.
- LI, J.; DAS, K.; FU, G.; LI, R.; WU, R. The bayesian lasso for genome-wide association studies. **Bioinformatics**, v.27, p.516-523, 2011.
- LIU, R.; SUN, Y.; ZHAO, G.; WANG, F.; WU, D.; ZHENG, M.; CHEN, J.; ZHANG, L.; HU, Y.; WEN, J. Genome-Wide Association Study Identifies Loci and Candidate Genes for Body Composition and Meat Quality Traits in Beijing-You Chickens. **Plos One**, v.8, 2013.
- MCCARTHY, M. I.; ABECASIS, G. R.; CARDON, L. R.; GOLDSTEIN, D. B.; LITTLE, J.; IOANNIDIS, J. P.; HIRSCHHORN, J. N. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. **Nature Reviews Genetics**, v.9, p.356-369, 2008.
- MCMANUS, C.; PAIM, T. P.; MELO, C. B.; BRASIL, B. S. A. F.; PAIVA, S. R. Selection methods for resistance to and tolerance of helminths in livestock. **Parasite**, v.21, 2014.
- MEADOWS, J. R.; LI, K.; KANTANEN, J.; TAPIO, M.; SIPOS, W.; PARDESHI, V.; GUPTA, V.; CALVO, J.H.; WHAN, V.; NORRIS, B. KIJAS, J.W. Mitochondrial sequence reveals high levels of gene flow between breeds of domestic sheep from Asia and Europe. **Journal of Heredity**, v.96, p.494-501, 2005.
- MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, v.157, p.1819-1829, 2001.
- MILLER, C. M.; WAGHORN, T. S.; LEATHWICK, D. M.; CANDY, P. M.; OLIVER, A. M. B.; WATSON, T. G. The production cost of anthelmintic resistance in lambs. **Veterinary Parasitology**, v.186, p.376-381, 2012.
- MILLER, H. Gastrointestinal mucus, a medium for survival and for elimination of parasitic nematodes and protozoa. **Parasitology**. V.94, p.77-100, 1987.
- MOLENTO, M. B., VERÍSSIMO, C. J. Método Famacha – Nova estratégia no controle de endoparasitoses em pequenos ruminantes. **Veterinária in Foco**, ed.1, p.17-18. 2003.
- MOLENTO, M.B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. Método FAMACHA como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.34, p.1139-1145, 2004.
- NOGUEIRA FILHO, A.; KASPRZYKOWSKI, J. W. A. O agronegócio da caprinovinocultura no Nordeste brasileiro. Fortaleza: ETENE, Série: **Documentos do ETENE**, n° 09, 2006.
- NUNES, A. P.; OLIVEIRA, A. C.; BERNE, M. E. A.; BORBA, M. S. S.; ECHEVARRIA, F.; VAZ, C. M.; CARVALHO, F. I. F. Estudo da variabilidade genética de resistência a nematódeos gastrintestinais em ovinos da raça Corriedale com marcadores RAPD. **Revista Brasileira Agrocência**, v.13, p.25-33, 2007.
- PAIVA, S. R. **Caracterização da diversidade genética de ovinos no Brasil com quatro técnicas moleculares**. 2005. 118p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

PARK, T.; CASELLA, G. The bayesian LASSO. **Journal of the American Statistical Association**, v.103, p.681-686, 2008.

PETERS, S.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D.; FERNANDO, R.; REECY, J.; WEABER, R.; SILVER, G.; THOMAS, M. Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. **Journal of Animal science**, v.90, p.3398-3409, 2012.

PONSUKSILI, S.; MURANI, E.; TRAKOOLJUL, N.; SCHWERIN, M.; WIMMERS, K. Discovery of Candidate Genes for Muscle Traits Based on GWAS Supported by eQTLanalysis. **International Journal of Biological Sciences**, v.10, p.327-337, 2014.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e Estatística na Análise de Experimentos e no Melhoramento Genético**. 1ª Ed. Embrapa Florestas, 2008. 362p.

RESENDE, M. D. V.; RESENDE JR, M. F. R. R.; AGUIAR, A. M.; ABAD, J. I. M.; MISSIAGGIA, A. A.; SANSALONI, C.; PETROLI, C.; GRATTAPAGLIA, D. **Computação da seleção genômica ampla (GWS)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 79p.

RINCON, G.; WEBER, K. L.; VAN EENENNAAM, A. L. V.; GOLDEN, B. L.; MEDRANO, J. F. Hot topic: Performance of bovine high-density genotyping platforms in Holsteins and Jerseys. **American Dairy Science Association**, v.94, 2011.

SALANTI, G.; AMOUNTZA, G.; NTZANI, E. Hardy-Weinberg equilibrium in genetic association studies: an empirical evaluation of reporting, deviations, and power. **European Journal of Human Genetics**, v.13, p.840-848, 2005.

SALLÉ, G.; JACQUIET, P.; GRUNER, L.; CORTET, J.; SAUVÉ, C.; PREVOT, F.; GRISEZ, C.; BERGEAUD, J.P.; SCHIBLER, L.; TIRCAZES, A.; FRANCOIS, D.; PERY, C.; BOUVIER, F.; THOULY, J. C.; BRUNEL, J. C.; LEGARRA, A.; ELSEIN, J.M.; BOUIX, J.; RUPP, R.; MORENO, C.R. A genome scan for QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **Journal of Animal Science**, v.90, p.4690-4705, 2012.

SHER, A.; COFFMAN, R. L. Regulation of immunity to parasites by T cells and T cell-derived cytokines. **Annual Review of Immunology**, v.10, p.385-409, 1992.

SINGLETON, D. R.; STEAR, M. J.; MATTHEWS, L. A mechanistic model of developing immunity to *Teladorsagia circumcincta* infection in lambs. **Parasitology** v.138, p. 322-332, 2011.

SOUSA, W. H.; MORAIS, O. R.; LOBO, R. N. B. Ovinos Santa Inês: Estado da Arte e perspectivas. In: Simpósio Internacional Sobre Caprinos E Ovinos De Corte (SINCORTE), 2., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: CEEI /EMEPA PB, 2003. p.501-522.

SUN, X.; HABIER, D.; FERNANDO, R. L.; GARRICK, D. J.; DEKKERS, J. C. Genomic breeding value prediction and QTL mapping of QTLMAS2010 data using Bayesian methods. **BMC Proceedings**, v.5, 2011.

TABANGIN, M. E.; WOO, J. G.; MARTIN, L. J. The effect of minor allele frequency on likelihood of obtaining false positives. **BMC Proceedings**. v.3, 2009.

TAPIO, M.; MARZANOV, N.; OZEROV, M.; CINKULOV, M.; GONZARENKO, G.; KISELYOVA, T.; MURAWSKI, M.; VIINALASS, H.; KANTANEN, J. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. **Molecular Biology and Evolution**, v.23, p.1776-1783, 2006.

TORO, M. A.; FERNÁNDEZ, J.; CABALLERO, A. Molecular characterization of breeds and its use in conservation. **Livestock Science**, v.120, p.174-195, 2009.

TU, W. Zero-inflated data. **Encyclopedia of Envirometrics**. Chichester: John Wiley, 2002. 2800p.

UTSUNOMIYA, Y.T.; CARMO, A.S.; CARVALHEIRO, R.; NEVES, H.H.R.; MATOS, M.C.; ZAVAREZ, L.B.; O'BRIEN, A.M.P.; SOLKNER, J.; McEWAN, J.C.; COLE, J.B.; TASSELL, C.P.V.; SCHENKEL, F.S.; SILVA, M.V.G.B.; PORTO NETO, L.R.; SONSTEGARD, T.S.; GARCIA, J.F. 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, 2013.

VAN EENENNAAM, A. L.; WEIGEL, K. A.; YOUNG, A. E.; CLEVELAND, M. A.; DEKKERS, J. C. M. Applied Animal Genomics: Results from the Field. **Annual Review of Animal Biosciences**, v.2, p.105-139, 2014.

VANRADEN, P. M.; VAN TASSELL, C. P.; WIGGANS, G. R.; SONSTEGARD, T. S.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; SCHENKEL, F. S. Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.16-24, 2009.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Revista Ciência Tecnologia Agropecuária**, v.2, p.49-56, 2008.

VISSCHER, P. M.; BROWN, M. A.; MCCARTHY, M. I.; YANG, J. Five Years of GWAS Discovery. **The American Journal of Human Genetics**, v.90, p.7-24, 2012.

WAKELIN, D. Imumunity and immunogenetics – new approaches to controlling worm infections in sheep. **Journal Bristh Veterinary**, v.151, p.111-112, 1995.

WELLER, J. I.; RON, M. Invited review: Quantitative trait nucleotide determination in the era of genomic selection. **Journal of Dairy Science**, v.94, 2011.

WIGGANS, G. R.; SONSTEGARD, T. S.; VANRADEN, P. M.; MATUKUMALLI, L. K.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; SCHENKEL, F. S.; VAN TASSELL, C. P. 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.

YANG, H. C., LIN, H. C., KANG, M., CHEN, M. H., LIN, C. W., LI, L. H., WU, J. Y., CHEN, Y. T., PAN, W. H. SNP Array Quality Control. **BMC Bioinformatics**, v.12, p.1-14, 2011.

CAPÍTULO I

Associação genômica ampla em ovinos de corte para características associadas a resistência à endoparasitas

35 breeders were used. The animals were genotyped with the panel SNP Chip Ovine of 50k. The
36 genome-wide association was carried out by regression corrected for random polygenic effects
37 aiming at the association between the marker and the phenotype, since the values of $-\log_{10}(p$ -
38 value) obtained for each SNP were plotted on Manhattan graphs. After identifying the
39 significant markers a search on NCBI (National Center for Biotechnology Information)
40 database was carried out, searching for genes already described to justify the association with
41 each trait, as well as linkage disequilibrium study between the significant marker and markers
42 close to it. The chromosomes 8 and 12 of meat sheep have significant markers for presence of
43 *Strongylus* eggs and the trait Log-OPG has markers on chromosomes 6 and 2, in addition
44 chromosome 2 also has markers associated with the body score condition and chromosome 21
45 has markers associated with bristled hair. It was found significant markers associated with traits
46 of resistance to endoparasites in meat sheep, thereby assisting in the understanding of the
47 genetic architecture of these traits.

48

49 **Kew Words:** endoparasites, GWAS, linkage disequilibrium, Manhattan plot, QTL

50

51 1. Introdução

52 A ovinocultura é uma atividade importante de produção de proteína de origem animal
53 para alimentação da população, porém um entrave na criação de ovinos é o prejuízo causado
54 pela verminose. Dentre os métodos complementares e integrado ao uso de fármacos no controle
55 de endoparasitas, existe a rotação de pastagens, descontaminação dos pastos, além da
56 identificação de animais resistentes para direcionar os acasalamentos. Todavia, dentre os
57 métodos apresentados o único que poderá promover mudanças duradouras seria a seleção de
58 animais geneticamente resistentes ao parasita, com base em características que podem estar
59 associadas com a resistência à endoparasitas, como ovos por grama de fezes (OPG), grau de
60 coloração da mucosa ocular, medido pelo método FAMACHA, escore da condição corporal,
61 entre outras.

62 A identificação dos principais genes e variantes que afetam as características de
63 resistência à endoparasitose seria de grande importância, visto que as verminoses
64 gastrintestinais possuem expressivo impacto econômico na ovinocultura. A seleção de animais
65 que possuam resistência à nemátodes é feita principalmente com base na utilização de
66 características indicadoras, tais como OPG (BISHOP e STEAR, 2001). No entanto, a coleta de
67 amostras e a quantificação de tais características indicadoras é um processo caro, demorado e
68 requer, geralmente, que o animal sofra o desafio parasitário. Portanto, seria vantajoso selecionar

69 animais diretamente para a resistência ao parasita sem o requisito de desafio do animal
70 (RIGGIO et al., 2013).

71 Os avanços na tecnologia de marcadores moleculares no DNA tornaram possível
72 identificar regiões genômicas ou locos de características quantitativas (QTLs) de características
73 complexas. Proporcionando aos programas de melhoramento genético, a incorporação dessas
74 informações de QTLs nas avaliações genética, visando aumentar o potencial e precisão na
75 seleção.

76 E com o desenvolvimento das tecnologias de genotipagem para centenas de milhares de
77 marcadores, em especial, os marcadores do tipo polimorfismos de nucleotídeo único (SNP),
78 estudos de associação genômica (*Genome Wide Association Studies - GWAS*) tornaram-se uma
79 técnica para identificar regiões cromossômicas associadas com características complexas em
80 diferentes espécies (PENG et al., 2010; BARSH et al., 2012).

81 O objetivo com esta pesquisa foi identificar SNPs associados com as características de
82 resistência à parasitas em ovinos de corte e explorar as regiões genômicas em torno deles de
83 modo a revelar genes descritos.

84

85 **2. Material e Métodos**

86 A pesquisa foi realizada com informações de 271 ovinos da raça Santa Inês, pertencentes
87 a 06 criatórios localizados na região Meio-norte do Brasil, com registros junto à Associação
88 Brasileira dos Criadores de Ovinos (ARCO). Os fenótipos foram coletados no período de
89 dezembro de 2013 à maio de 2014 em animais com idade superior a oito meses.

90 Foram registradas informações e características referentes à resistência à endoparasitas
91 gastrintestinais como escore da condição corporal (ECC), grau da coloração da mucosa
92 conjuntiva avaliado pelo cartão FAMACHA (FAMACHA), presença de pelo arrepiado
93 (PELO), peso corporal (PESO) e altura de cernelha (AC). Laboratorialmente foram feitas as
94 análises de parâmetros sanguíneos (hematócrito (HCT), contagem de células brancas (WBC),
95 contagem de células vermelhas (RBC), hemoglobina (HGB), plaquetas (PLT) além de
96 contagem de diferencial de células sanguíneas (Neutrófilo, Linfócito, Monócito e Eosinófilo) e
97 contagem de ovos por grama de fezes (OPG).

98 As amostras de fezes para determinação do OPG foram colhidas diretamente da ampola
99 retal. Para quantificar o número de ovos por grama de fezes, foi utilizada solução saturada de
100 cloreto de sódio (NaCl) e leitura ao microscópio em câmara McMaster (GORDON e
101 WHITLOCK, 1939). A coloração da conjuntiva ocular dos animais foi definida utilizando-se
102 um cartão de cores ilustrativo, no momento da avaliação se define a coloração da conjuntiva

103 ocular dos animais. No cartão estão presentes cinco categorias, variando de 1 (coloração
104 vermelho robusto) até 5 (coloração pálida, branco). O escore da condição corporal foi
105 mensurado por meio de avaliação visual e palpação com os dedos na região lombar, localizando
106 as apófises espinhosa e transversa segundo metodologia descrita por OSÓRIO e OSÓRIO
107 (2003). O processo embasou-se na detecção de deposição de gordura e músculo, tomando-se
108 por base notas de um a cinco, em que a condição corporal cinco indica deposição excessiva de
109 gordura no animal. O peso a idade adulta foi aferido em balança manual do tipo mecânica. A
110 altura da cernelha foi mensurada com auxílio de fita métrica graduada, enquanto o animal
111 encontrava-se em estação e correspondeu à altura desta até o solo.

112 As amostras de sangue foram coletadas da veia jugular, sendo realizada a antissepsia do
113 local (álcool iodado) e com auxílio de agulha acoplada diretamente em tubos a vácuo contendo
114 anticoagulante EDTA. O preparo dos esfregaços foi realizado no campo (Método de predileção)
115 com uso de uma lâmina limpa, sem resquícios de gordura ou outros materiais e uma distensora
116 de vidro transparente. Os parâmetros sanguíneos foram analisados pelo equipamento
117 hematológico packvet® pertencente ao Hospital Veterinário Universitário de Teresina da
118 Universidade Federal do Piauí. A contagem diferencial de células sanguíneas foi realizada por
119 meio de esfregaços sanguíneos, sem anticoagulante, corados com kit Panótico rápido LB e
120 foram determinados valores relativos e absolutos de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos,
121 monócitos (WILLARD e TVEDTEN, 2012). Após a análise de parâmetros sanguíneos o sangue
122 foi congelado em freezer -80°C para posterior extração de DNA e genotipagem.

123 Como efeitos fixos no modelo foi considerado o grupo contemporâneo com informação
124 de mês e ano de coleta, propriedade, mês e ano de nascimento, além de efeito de sexo do animal,
125 tipo de nascimento (TN) e a idade do animal assumida como co-variável com efeito linear.

126 As características que se refere a presença ou ausência da ocorrência de um fenótipo como
127 ovos do gênero *Strongylus*, e pelo arrediado por serem características binária, sendo atribuindo
128 o valor 1 (sucesso) ou valor 0 (fracasso) para os animais que possuíam ou não, foram
129 transformadas em probabilidade de ocorrência, dividindo-se o valor exponencial pelo valor
130 exponencial mais um, dado que assim assumiu a distribuição normal da mesma. A característica
131 ovos por grama de fezes (OPG) foi analisada através do valor do logaritmo da contagem dos
132 ovos somado do valor um, em escala transformada em $\log_{10}(\text{OPG} + 1)$.

133 A extração do DNA foi realizada com o Kit *Qiagen DNeasy Blood & Tissue* segundo o
134 protocolo estabelecido pelo fabricante. Terminada a extração, a qualidade do DNA foi
135 verificada em gel de agarose a 1% em tampão SB 1X por 60 minutos a 60V. Os géis foram,
136 posteriormente, visualizados e registrados em fotodocumentador (*L-PIX Loccus*

137 *Biotecnologia*). O DNA obtido foi estocado em freezer a -20°C até as análises subsequentes.
 138 Após a extração, foi realizado a quantificação do DNA, para isso foi utilizado o
 139 Fluorespectofotômetro NanoDrop 3300 com o kit intercalante AccueBlue dsDNA, que estima
 140 a concentração de DNA das amostras, essencial para preparação das amostras para
 141 genotipagem.

142 A genotipagem foi realizada utilizando o chip de alta densidade *BeadChip OvineSNP50k*
 143 contendo 54.241 SNPs uniformemente espaçados nos cromossomos. O chip de SNPs foi
 144 fabricado de acordo com a tecnologia Infinium da Illumina™, usando a plataforma iScan. O
 145 protocolo de genotipagem foi seguido de acordo com que foi estabelecido pelo fabricante
 146 (disponível em www.illumina.com).

147 O controle de qualidade dos genótipos foi realizado através do pacote HapEstXXR do
 148 programa estatístico R de modo que considerou-se SNPs localizados em cromossomos
 149 autossômicos e com “Genecall Score” maior que 0,70, *Minor Allele Frequency* - MAF < 0,05,
 150 além de *Call Rate* < 0,95 e *Equilíbrio de Hardy-Weinberg* - HWE < 10⁻⁵. Também foi calculado
 151 o desequilíbrio de ligação (r^2) entre os alelos por cromossomo dos ovinos através do pacote
 152 LDheatmap do ambiente estatístico R.

153 As análises de associação genômica ampla foram realizadas através do método de
 154 regressão corrigida para efeitos aleatórios poligênicos de acordo com o modelo proposto por
 155 Yu et al. (2006), através da função GWAS do pacote rrBLUP do programa estatístico R, que
 156 tem como o princípio o uso de modelos mistos, a partir do modelo descrito abaixo:

$$157 \quad y = \mu + Xb + Za + e,$$

158 em que: y é o vetor das observações das características estudadas, μ é a média das
 159 observações, X é o vetor do genótipo (SNP), b é o coeficiente de regressão, Z representa uma
 160 matriz de incidência para efeitos aditivos poligênicos nos animais, a é o vetor de efeitos
 161 aditivos poligênicos aleatórios com $a \sim N(0, G\sigma_g^2)$, onde G é a matriz de parentesco genômica
 162 (VAN RADEN, 2008), e e é o vetor de erros aleatórios, assume que se tem distribuição normal
 163 com média zero e variância igual a σ_e^2 : $e \sim N(0, \sigma_e^2)$ (YU et al., 2006).

164 O pacote rrBLUP do R para GWAS incorpora métodos para a obtenção de melhores
 165 estimativas lineares não-viesado (BLUE) de b (efeito fixo) e melhores preditores lineares não-
 166 viesado (BLUP) de u (efeito aleatório) como originalmente desenvolvido (KANG et al., 2008).
 167 A análise de associação (GWAS) foi realizada por modelo misto utilizando método EMMA
 168 (Efficient Mixed-Model Association) (KANG et al., 2008). Por fim, os valores de $-\log_{10}(p-$

169 valor) obtidos para cada SNP foram representados em um gráfico Manhattan, onde cada ponto
170 representa a posição do SNP segundo o cromossomo.

171 Após análise de associação buscou-se encontrar genes e/ou proteínas descritas na região
172 genômica onde foi localizado marcador SNP significativo com objetivo de aprofundar as
173 relações dos fenótipos com características de resistência à parasitose. Para isso foi realizada
174 pesquisa no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information-NCBI*
175 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=sheep>) e, também, na base de dados *SheepQTL*
176 *Database* (<http://www.animalgenome.org/sheep>) para buscar QTLs descritos nas regiões
177 cromossômicas com associações detectadas, sendo utilizado uma janela de 1Mb entorno do
178 SNP significativo, 500kb para ambos os lados.

179 A análise do desequilíbrio de ligação (LD) entorno do marcador significativo foi
180 realizada utilizando uma janela de 1Mb entorno do marcador significativo, através do programa
181 Haploview 4.2 (BARRET et al., 2005) e a medida utilizada foi o r^2 , que mede a correlação entre
182 alelos de dois marcadores, sendo que r^2 igual a 1 indica uma correlação perfeita entre os dois
183 locos. Por outro lado, r^2 igual a zero indica ausência de LD. De acordo com Ardlie et al., (2002),
184 o r^2 é corrigido para as respectivas frequências alélicas, sendo indicativo da quantidade de
185 informação de um loco que é explicada pelo outro.

186 As medidas de desequilíbrio de ligação D e r^2 foram calculadas como descrito por HILL
187 e ROBERTSON (1968):

$$188 \quad r^2 = \frac{D^2}{f(A)f(a)f(B)f(b)}$$

189 em que $D = f(AB) - f(A)f(B)$ e $f(AB), f(A), f(B), f(b)$ são as frequências observadas do
190 haplótipo AB e dos alelos A, a, B, e b, respectivamente.

191

192 **3. Resultado e Discussão**

193 Dentre os 54.241 marcadores do tipo SNP existentes no *OvineBeadChip*, 44.548
194 marcadores restaram após os critérios de qualidade impostos, esses foram utilizados na análise
195 de associação com as características ligadas a resistência dos animais à parasitose. A
196 distribuição dos SNPs por cromossomos varia do menor valor de 597 no cromossomo 24 até
197 4892 SNPs no cromossomo 1 (Tabela 1), resultado esse que corrobora com Garcia-Games et al.
198 (2012) que encontrou valores de SNP oscilando de 598 no cromossomo OAR24 a 4987 no
199 cromossomo OAR1.

200 O valor de r^2 é indicado para saber o desequilíbrio de ligação entre os marcadores, sendo
201 que, quanto maior o r^2 , maior o desequilíbrio de ligação entre os marcadores. Foi encontrado

202 níveis relativamente baixo de r^2 nos cromossomos estudados (Tabela1), isso é explicado por
203 tratar-se de animais da raça de ovinos Santa Inês, que é considerada uma raça naturalizada do
204 Brasil e ainda possui pouca seleção dentro da mesma.

205 Garcia-Games et al. (2012) estudando ovinos nativos da raça Churras na Espanha
206 encontraram valores de r^2 semelhantes com o presente estudo, isso pode ser reflexo que animais
207 nativos ou que sofreram menor seleção possuem valores baixos de r^2 . Outra explicação do valor
208 de r^2 ter sido baixo para esses animais consiste em que a raça de ovinos Santa Inês é formada
209 de animais naturalizados fundada por mistura de raças na sua composição genética, segundo
210 PAIVA (2005) é resultante de cruzamentos intercorrentes entre as raças Bergamácia, Morada
211 Nova, Somális. Entretanto Carneiro et al. (2010), que sugerem que o novo porte da raça pode
212 ser devido a cruzamentos com animais Suffok, esse processo de formação da raça foi verificado
213 por Brito et al. (2015), que ao estudarem a caracterização de cabras na América e Oceania,
214 encontraram resultados de menores desequilíbrio de ligação em animais nativos (selvagens)
215 que originaram de mistura de raças na composição genética.

216 Estes resultados podem ser explicados pois a população de ovinos no Brasil não passou
217 por um processo de seleção genética para identificação dos animais geneticamente superiores a
218 serem destinados para reprodução, o que indica que não existe um programa conciso de
219 melhoramento de ovinos no país, fato relatado por Rego Neto et al. (2014), que ao estudarem a
220 estrutura de população de ovinos Santa Inês no estado do Piauí constataram que existe
221 discrepância na estrutura populacional dessa raça.

222 **Tabela 1.** Resumo dos marcadores SNP analisados e desequilíbrio de ligação (r^2) entre
 223 marcadores para cada cromossomo ovino

CROMOSSOMO	Comprimento (kb)	SNP (n)	r^2 Média \pm Desvio Padrão
1	299592,5	4892	0,0113 \pm 0,0196
2	263106,1	4549	0,0120 \pm 0,0227
3	242554,0	4139	0,0120 \pm 0,0219
4	127111,6	2231	0,0146 \pm 0,0262
5	115958,4	1972	0,0141 \pm 0,0256
6	129012,8	2134	0,0133 \pm 0,0251
7	108670,6	1836	0,0142 \pm 0,0270
8	97781,1	1723	0,0136 \pm 0,0262
9	100700,7	1741	0,0146 \pm 0,0293
10	94097,2	1544	0,0160 \pm 0,0305
11	66863,5	976	0,0161 \pm 0,0312
12	86031,1	1428	0,0158 \pm 0,0292
13	88861,5	1398	0,0159 \pm 0,0301
14	87642,5	952	0,0163 \pm 0,0306
15	89836,1	1383	0,0150 \pm 0,0296
16	77042,2	1222	0,0167 \pm 0,0352
17	78441,8	1165	0,0156 \pm 0,0299
18	71850,3	1154	0,0153 \pm 0,0281
19	64794,6	1028	0,0159 \pm 0,0295
20	55366,6	921	0,0166 \pm 0,0321
21	55137,9	757	0,0184 \pm 0,0343
22	55018,3	897	0,0166 \pm 0,0319
23	66238,8	938	0,0155 \pm 0,0294
24	44235,1	597	0,0171 \pm 0,0326
25	48010,5	830	0,0170 \pm 0,0322
26	49820,9	758	0,0194 \pm 0,0364

224

225

226

227

228

O Desequilíbrio de Ligação (LD) representado pelo valor de r^2 diminuiu na medida em que a distância física entre os marcadores aumentou. De acordo com Kijas et al. (2012) e White et al. (2012) em ovinos domésticos o valor de LD expresso por r^2 é relativamente menor em comparação com outros mamíferos.

229

230

231

232

Através da GWAS verificou-se associação de alguns marcadores do tipo SNPs significativos em diversos cromossomos com características ligadas a resistência à parasitose que foram estudadas. As análises de associação possibilitaram identificar seis marcadores significativos para quatro características estudadas (Tabela 2).

233

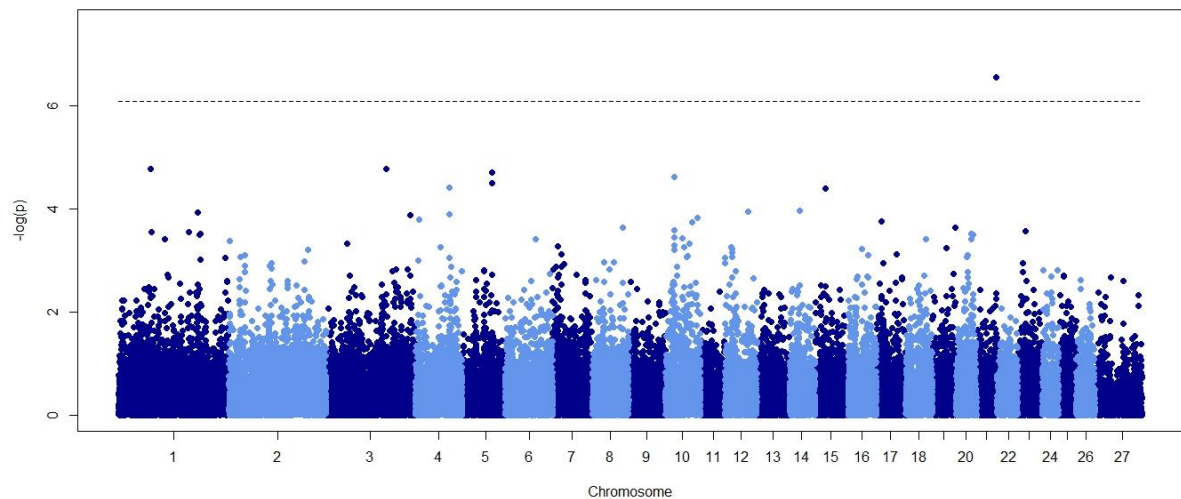
234

235

236 **Tabela 2.** Lista de SNPs significativos (com correção FDR para os p-valores) associados com
 237 características relacionadas à endoparasitas identificadas pela análise de associação do genoma

Nome SNP	Cromossomo	Posição (pb)	$-\log_{10}$ (p-valor)	Característica
OAR21_52583090.1	21	52583090	6,55	Pelo arrepiado
OAR12_17005059.1	12	17005059	6,03	Presença de Ovos do Gênero Strongylus
OAR8_91253490_X.1	8	91253491	5,79	Presença de Ovos do Gênero Strongylus
s23985.1	2	32997159	6,25	Escore Condição Corporal
s26633.1	6	43881022	6,91	LogOPG
OAR2_148350187.1	2	148350187	6,30	LogOPG

238 Para presença de pelo arrepiado nos ovinos da raça Santa Inês verificou-se um marcador
 239 (OAR21_52583090.1) significativo ($-\log_{10}P=6,55$) que está posicionado no cromossomo 21
 240 (Figura 1). Neste cromossomo foi encontrado o gene *Kaps*, presente na posição 49.148.500pb,
 241 responsável pela produção de proteínas associadas a queratina no pelo dos animais, essas
 242 proteínas são um dos principais componentes estruturais da fibra de lã dos ovinos (GONG et
 243 al., 2010). Uma variação nos genes KAP (KRTAPs) pode afetar a estrutura de *Kaps* e, portanto,
 244 as características da lã. No estudo de Gong et al. (2010) dentre os cinco SNPs encontrados na
 245 região de codificação desse mesmo gene, quatro eram SNPs não sinônimos que resultou em
 246 alterações de aminoácidos. O polimorfismo do comprimento afeta o conteúdo de cisteína do
 247 peptideo putativo e isso, juntamente com os SNPs podem ter um impacto sobre a estrutura de
 248 KAP5-4, e, portanto, afetam traços de lã, que confere a característica de eriçado ou arrepiado.

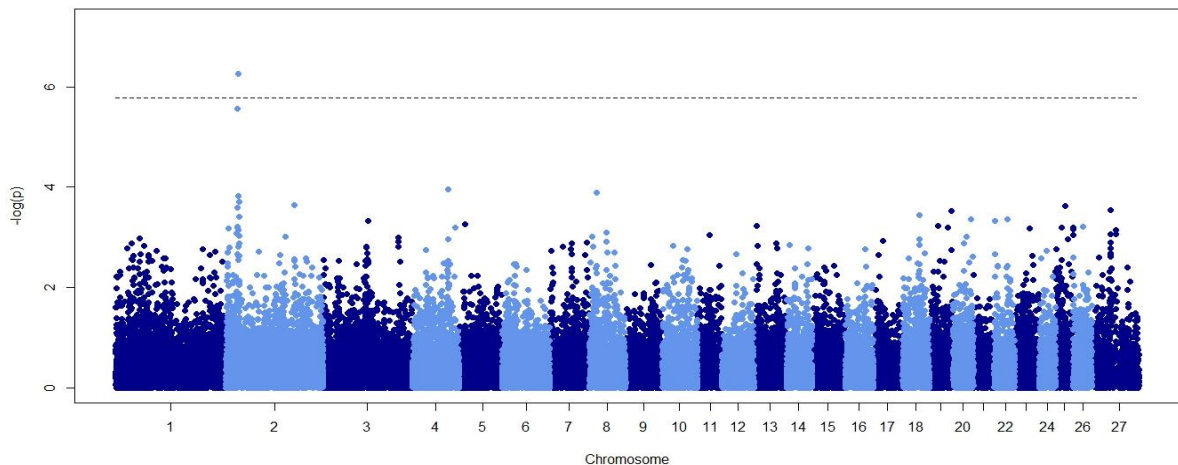


249 **Figura 1.** Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para presença de pelo
 250 arrepiado em ovinos de corte.
 251

252 Já para a característica de escore da condição corporal foi encontrado um marcador SNP
 253 significativo no cromossomo 2 (Figura 2). Na busca por genes encontrados anteriormente no
 254 cromossomo 2, o qual foi observado um SNP associado com o Escore da Condição Corporal
 255 (ECC), o achado corrobora com as informações contidas no banco de dados QTLdb para ovinos
 256

257 (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/traitmap?trait_ID=3142), aonde se
 258 encontrou um estudo com QTL para uma característica denominada *Conformation score* ou
 259 Escore de conformação (LAVILLE et al., 2004).

260 Em cordeiros genotipados por dois marcadores microssatélites (BM81124, BULGE20)
 261 flanqueando o gene da miostatina foram localizados QTL para conformação corporal no
 262 cromossomo 2 descrito por Marcq et al. (2002). Cavanagh et al. (2010) encontraram QTL no
 263 cromossomo 2 para característica de tamanho de carcaça. No cromossomo 2 dos ovinos na
 264 posição 118.140.420pb, é encontrado o gene da miostatina (MSTN), que é conhecido como
 265 fator de crescimento e diferenciação 8 (GDF8), e está relacionado com o crescimento muscular
 266 (McPHERRON et al., 1997), que pode estar relacionado com o fato do animal que encontra-se
 267 em estado de saúde favorável, ou seja sem infestação por endoparasita, pode ocorrer a expressão
 268 gênica de maneira mais coerente, fazendo assim que o animal não apresente deficiência no
 269 crescimento muscular e assim o fenótipo a ser mensurado possua maior pontuação na escala de
 270 escore corporal. Segundo Hope et al. (2013) animais que apresentavam o gene MSTN,
 271 obtiveram aumento significativo nos pesos proporcionais dos músculos do lombo e do quarto
 272 traseiro, exatamente nos locais aonde é realizada a mensuração do ECC.

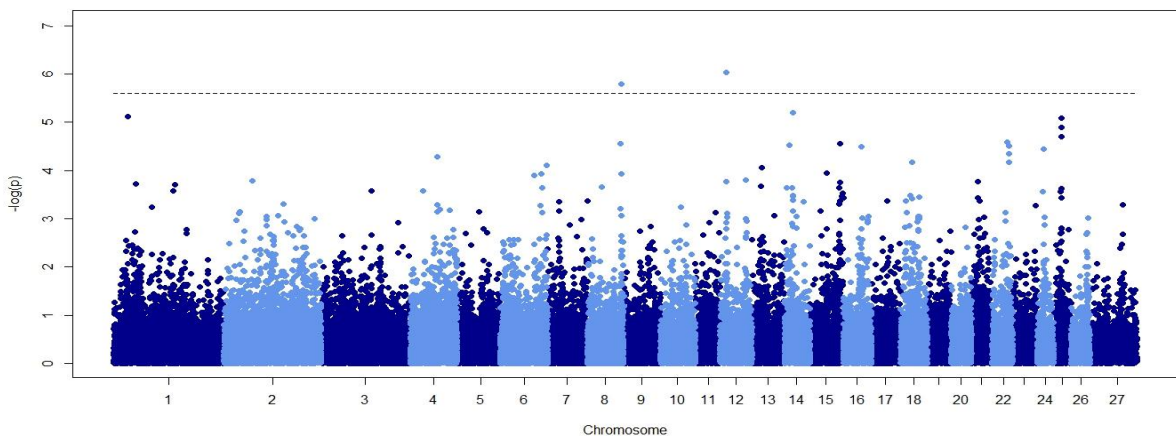


273 **Figura 2.** Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para característica de
 274 escore da condição corporal em ovinos de corte.
 275

276 Referente a característica da presença de ovos de parasita do gênero *Strongylus* foram
 277 encontrados dois marcadores significativos (OAR12_17005059.1, OAR8_91253490_X.1),
 278 respectivamente nos cromossomos 8 e 12 (Figura 3). Sendo que no cromossomo 8 de ovinos
 279 entre as posições 62,5 a 87,4 Mbp foi detectado um QTL referente a contagem de ovos de
 280 parasita nas fezes (OPG) descrito por Silva et al. (2012) que pode ser indicio que o marcador
 281 encontrado possa ser utilizado no futuro em programas de melhoramento genético na seleção
 282 assistida por marcadores. No cromossomo 12, entre as posições 63,5 a 71,5 Mpb, foi relatado
 283

284 por Beh et al. (2002) um QTL para característica de contagem de ovos por grama de fezes de
 285 *Trichostrongylus colubriformis*.

286 Utilizando a característica contagem de ovos do gênero *Strongylus*, Riggio et al. (2013)
 287 encontraram associação genômica com marcadores nos cromossomos 3, 6 e 21, no cromossomo
 288 6 existe o gene Fosfoproteína Segregada1 (SPP1), que é conhecido por estar envolvido na
 289 resposta imune, a qual regula positivamente a atuação do interferon gama (IFN-g) (LI et al.,
 290 2011). Regiões do cromossomo 6 foram relatados por Beh et al. (2002) e Beraldi et al. (2007),
 291 para a característica de contagem de ovos do gênero *Strongylus*. Além disso, esses autores
 292 identificaram regiões nos cromossomos 1 e 12, embora não significativo. No entanto, foi
 293 relatado que o cromossomo 12 possui marcadores significativos para a contagem de ovos
 294 *Strongylus* por Sallé et al. (2012). Davies et al. (2006) em ovelhas Blackface encontraram QTL
 295 para contagem de ovos de parasitas nas fezes dos gêneros *Nematodirus* e *Strongylus* no
 296 cromossomo 3.



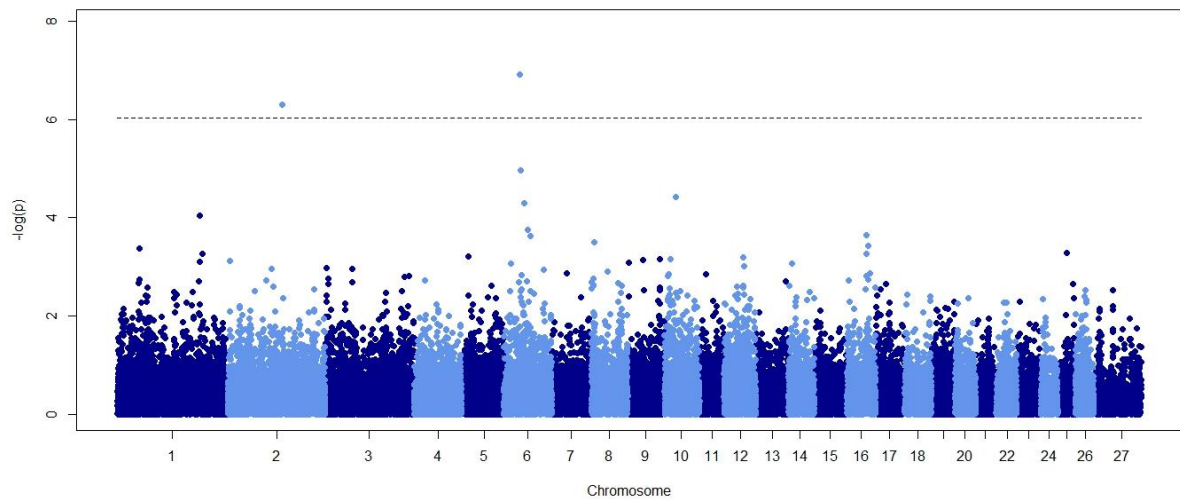
297

298 **Figura 3.** Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para presença de ovos do
 299 parasita do gênero *Strongylus* em ovinos de corte.

300

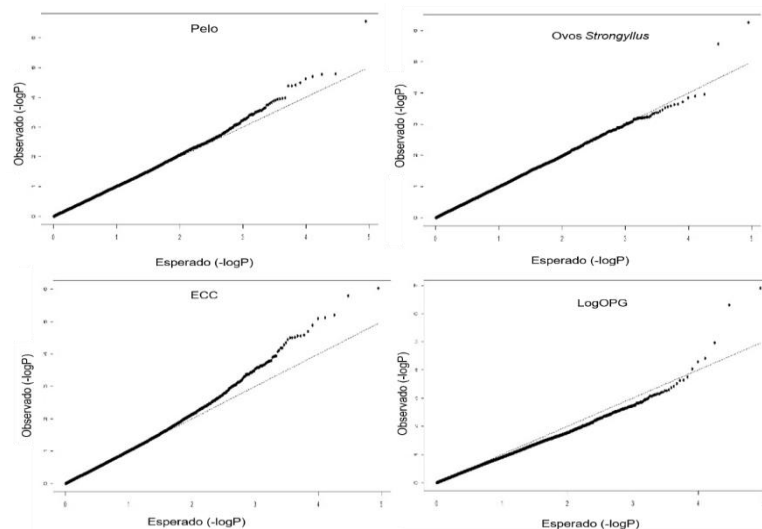
301 No que se refere a característica de LogOPG verificou-se dois marcadores significativos
 302 (s26633.1 e OAR2_148350187.1), posicionados no cromossomo 6 e 2 respectivamente (Figura
 303 4). A identificação de associações significativas de marcadores SNP para a característica de
 304 OPG no cromossomo 8 foram descritas em pesquisas com ovinos (CRAWFORD et al., 2006;
 305 MARSHALL et al., 2009; RIGGIO et al., 2013). Mais recentemente, pesquisas com GWAS
 306 usando painéis SNP de alta densidade se tornaram mais comuns, porém, poucos empregaram a
 307 técnica em ovinos (KEMPER et al, 2011, SALLÉ et al, 2012). Riggio et al. (2013) encontraram
 308 SNP significativo para característica OPG de Nematóide em cordeiros de 20 semanas de idade
 309 no cromossomo 2, o qual foi identificado pela abordagem GWAS e perto da região do QTL
 310 relatado por Davies et al. (2006) para a mesma característica em população de ovinos Scottish

311 blackface. Eles ainda identificaram três SNPs significativos associados a resistência à
 312 endoparasitas, em ovinos Scottish Blackface nos cromossomos 14 e 6, por meio de GWAS.



313 **Figura 4.** Gráfico Manhattan dos resultados da associação genômica para característica de
 314 LogOPG em ovinos de corte.
 315

316 Representativamente para todas as características analisadas é apresentado o gráfico
 317 quantil-quantil (Figura 5), usado para verificar o ajuste do modelo (SETTLES et al., 2009;
 318 ZANELLA et al., 2011). Este gráfico plota os valores de p esperado contra os valores de p
 319 observado. Os valores devem perfazer uma linha de 45 graus. O desvio da linha observada no
 320 final do gráfico é representação dos SNPs associados com fenótipo a ser testado. Dessa forma,
 321 os valores de p observados para cada SNP foram plotados em ordem crescente, $-\log_{10}(\text{p-valor})$,
 322 contra os valores de p esperados, amostrados de uma distribuição normal (PEARSON;
 323 MANOLIO, 2008).
 324



325 **Figura 5.** Gráfico quantil-quantil da distribuição dos valores observados para o estudo de
 326 associação genômica da característica presença de pelo arrepiado, presença de ovos do parasita
 327

do gênero *Strongylus*, escore da condição corporal e LogOPG comparado com a distribuição normal.

No gráfico quantil-quantil, para as características (Figuras 5), estão representados os \log_{10} (p-valor) observados e esperados para os 44.548 SNPs para as características que obtiveram SNP significativos. Nos níveis mais baixos de significância ($P > 0,001$), os valores observados foram praticamente iguais aos esperados, portanto, seguiram a distribuição da hipótese nula, de que não há associação entre estes SNPs e as características estudadas, destacando a parte final do gráfico que demonstra os pontos que representa os marcadores significativos para cada característica.

Na região do cromossomo 21 foi realizado um estudo de verificação de desequilíbrio de ligação através do programa Haploview 4.2, aonde foi pesquisada uma janela de 1Mb em torno do marcador significativo, assim com as informações do marcador encontrado (OAR21_52583090.1) para característica de pelo arrepiado foi verificado que não existe desequilíbrio de ligação entre os marcadores posicionados ao redor do referido marcador (Figura 6). Quando se encontra presença de alto valor de desequilíbrio de ligação entre dois SNP aumenta a chance de estudos mais aprofundados desta região.

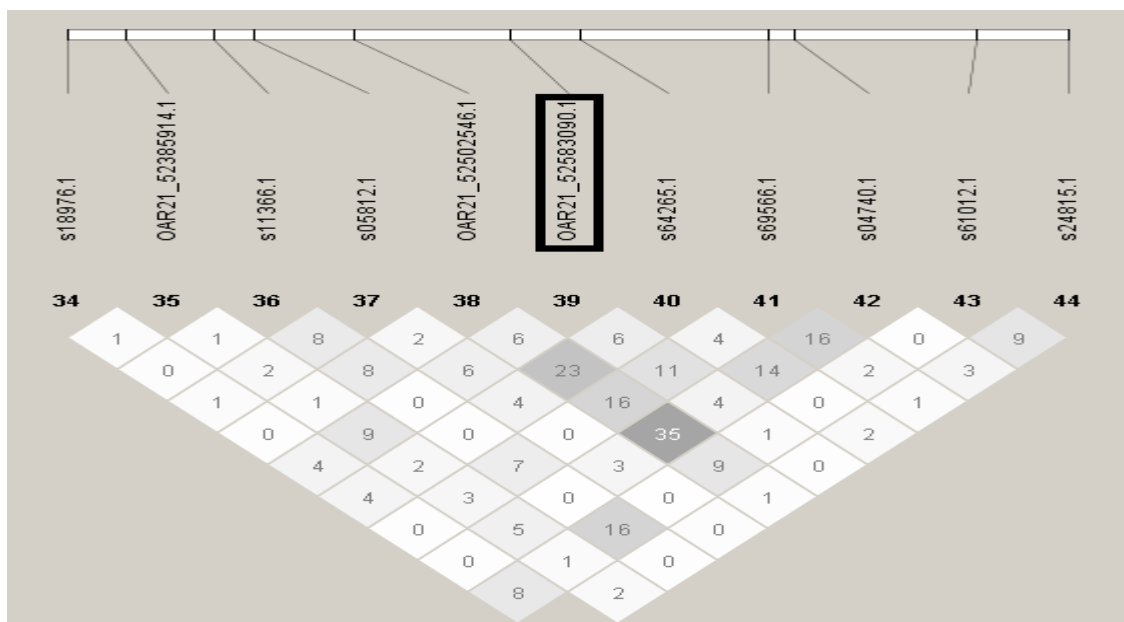
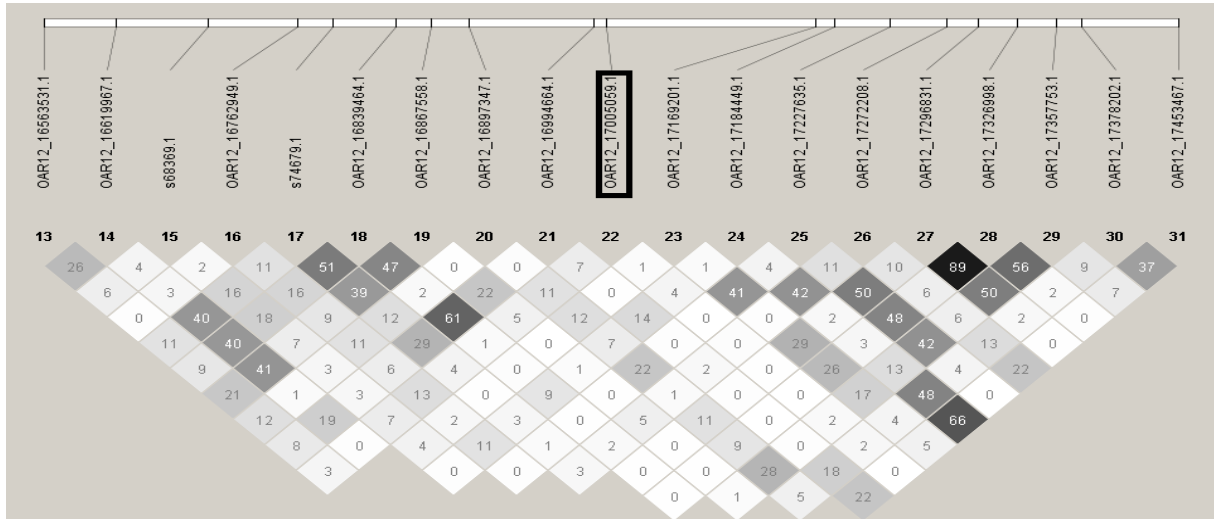


Figura 6. Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR21_52583090.1) no cromossomo 21 para a característica de presença de pelo arrepiado e os marcadores ao seu redor.

Analisando a Figura 7 foi observado que o marcador significativo encontrado para presença de ovos do gênero *Strongylus* no cromossomo 12 (OAR12_17005059.1) possui baixo desequilíbrio de ligação entre os marcadores ao seu redor, porém foi encontrado numa região próxima ao marcador significativo um grupo de marcadores com alto desequilíbrio ($r^2=0,89$),

353 entretanto, esses marcadores analisados não se encontram em regiões de QTL. O gene descrito
 354 mais próximo desse marcador encontra-se na posição 25109105pb e está relacionado a
 355 expressão da calpaína (CAPN2).

356

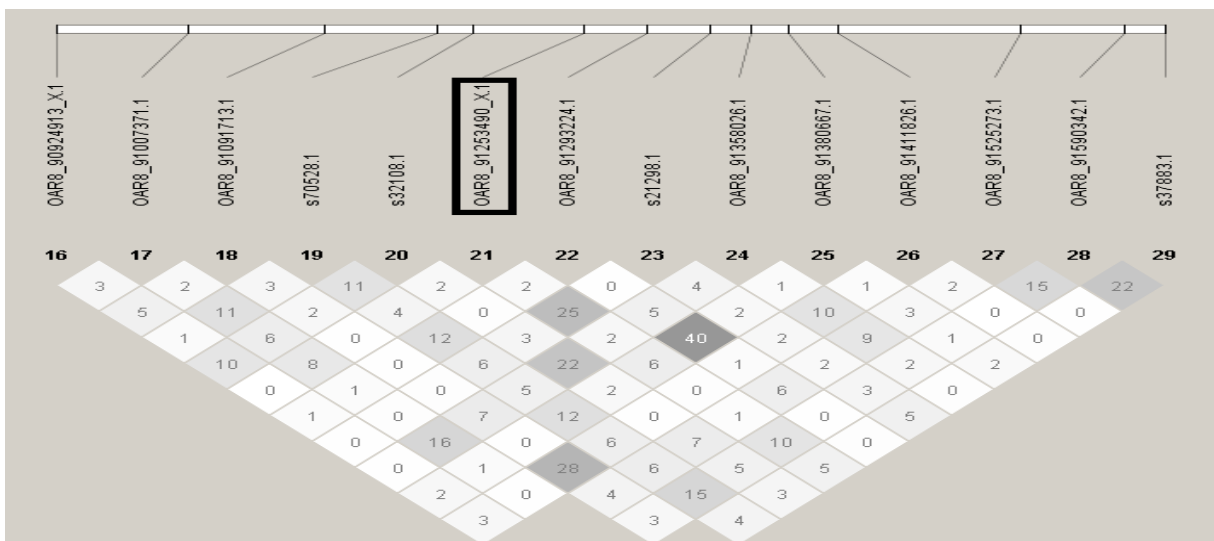


357

358 **Figura 7.** Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR12_17005059.1) no
 359 cromossomo 12 para a característica de presença de ovos do gênero *Strongylus* nas fezes de
 360 ovino e os marcadores ao seu redor.

361

362 O comportamento de r^2 no cromossomo 8 aonde o marcador significativo
 363 (OAR8_91253490_X.1) possui baixo desequilíbrio de ligação entre os marcadores ao redor
 364 também foi verificado (Figura 8). E foi observado que o marcador significativo e os marcadores
 365 próximos a sua localização não estão em desequilíbrio, o que pode ser indicativo de que
 366 segregam independentemente.



367

368 **Figura 8.** Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR8_91253490_X.1) no
 369 cromossomo 08 para a característica de presença de ovos do gênero *Strongylus* nas fezes de
 370 ovino e os marcadores ao seu redor.

371

372

373

374

375

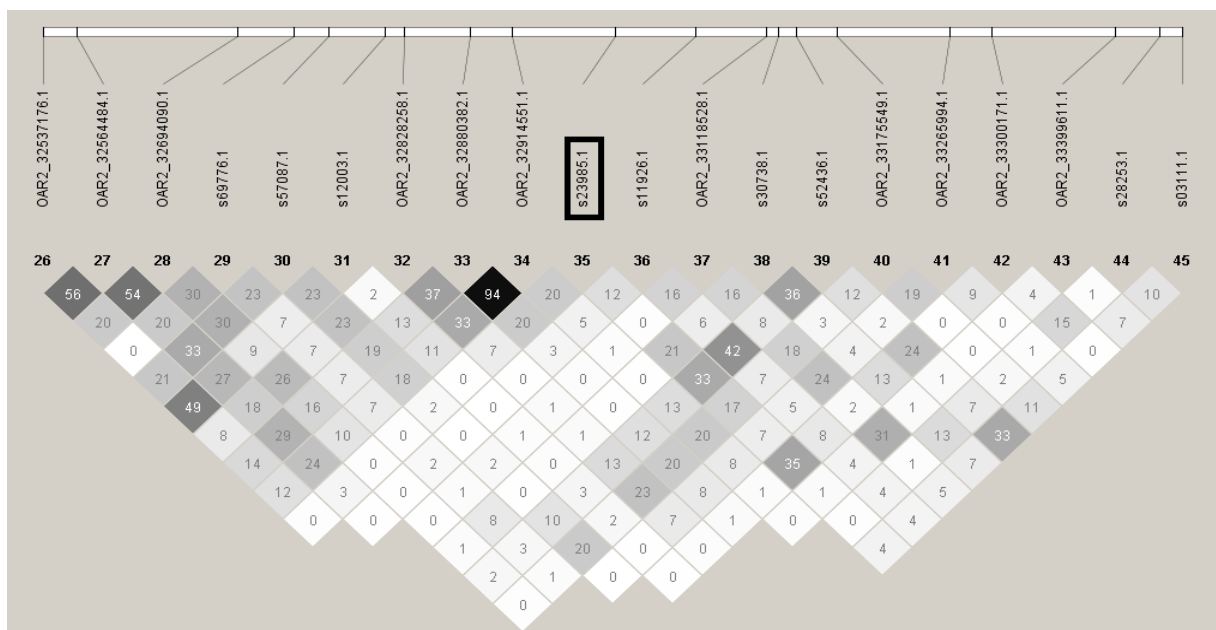
376

377

378

379

Para a característica de escore da condição corporal dos ovinos a qual foi encontrado um marcador significativo (s23985.1) no cromossomo 2 (Figura 9), foi realizada análise de desequilíbrio de ligação entre os marcadores ao redor do marcador s23985.1. Observou-se que o mesmo possui moderado desequilíbrio de ligação entre os marcadores s524436.1 ($r^2=0,33$) e marcador OAR2_3300171.1 ($r^2=0,35$), isso pode sugerir que esses marcadores possuem alelos que não segregam independentemente, ou seja, genes em que os alelos são associados aleatoriamente.



380

381

382

383

Figura 9. Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (s23985.1) no cromossomo 02 para a característica escore da condição corporal ovino e os marcadores ao seu redor.

384

385

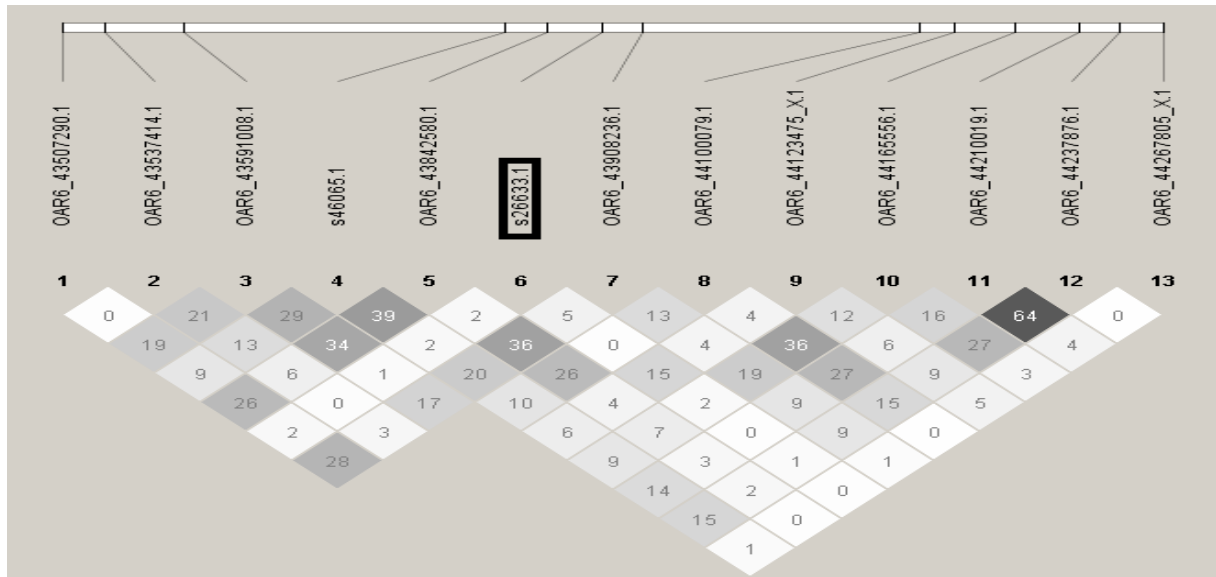
386

387

388

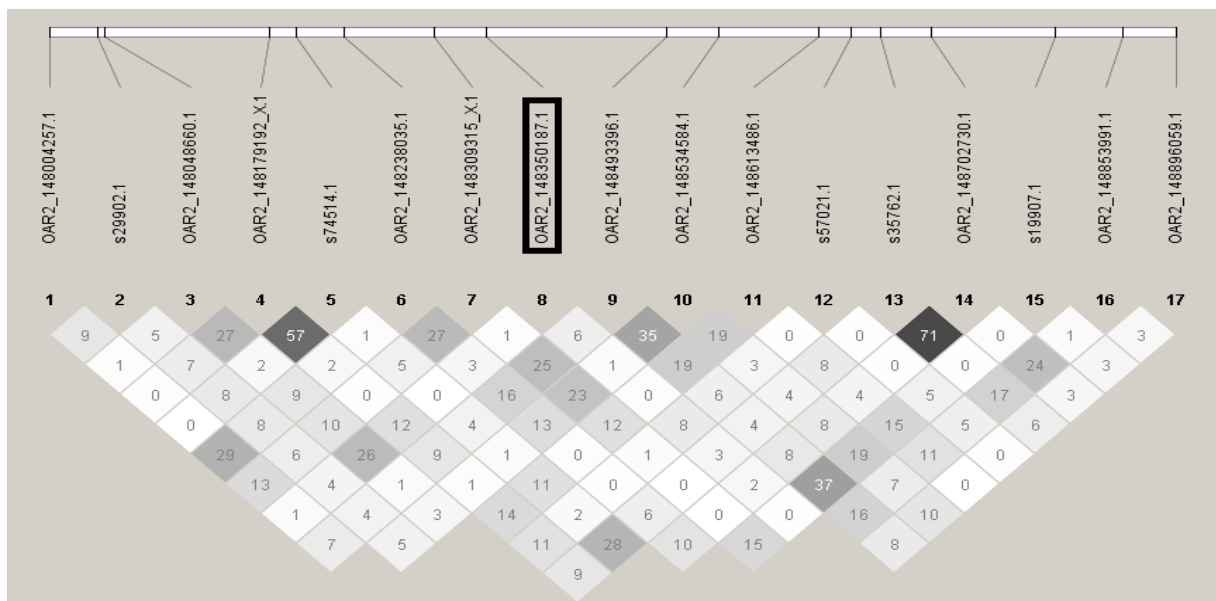
389

Para a característica de LogOPG dos ovinos foi encontrado um marcador significativo (s266331.1) no cromossomo 6 (Figura 10) e outro marcador significativo (OAR2_148350187.1) no cromossomo 2 (Figura 11), foram analisados o desequilíbrio de ligação entre o marcador significativo e os marcadores próximos observa-se que uma região próxima encontra-se marcadores com alto desequilíbrio de ligação entre si ($r^2=0,64$) e ($r^2=0,71$), isso pode sugerir que esses marcadores possuem alelos que não segregam independentemente.



390
391
392
393

Figura 10. Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (s26633.1) no cromossomo 6 para a característica LogOPG ovino e os marcadores ao seu redor.



394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405

Figura 11. Desequilíbrio de ligação (r^2) entre o SNP significativo (OAR2_148350187.1) no cromossomo 2 para a característica LogOPG ovino e os marcadores ao seu redor.

Estudos de varredura do genoma deve ser realizado para que possa encontrar genes próximos aos marcadores significativos e aprofundado estudo de desequilíbrio de ligação entre esses marcadores sejam relacionados a uma expressão genica da característica.

Os resultados obtidos neste estudo de associação genética pode ser um indicativo de novos QTLs para características relacionadas a resistência a endoparasitas em ovinos de corte, uma vez que nas pesquisas de banco de dados genético disponível não foi encontrado genes reportados a nenhuma resposta fisiológica próximos aos marcadores SNP significativos nos cromossomos citados.

406 **4. Conclusões**

407 Foram encontrados marcadores tipo SNP significativos que possuem associação
408 genômica com as características de escore da condição corporal no cromossomo 2, presença de
409 pelo arrepiado no cromossomo 21, presença de ovos do gênero *Strongylus* nos cromossomos 8
410 e 12 e LogOPG nos cromossomos 2 e 6 em ovinos de corte. Os marcadores encontrados podem
411 estar relacionados a novos QTL para as características avaliadas.

412

413

414 **5. Referências Bibliográficas**

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

417 BARRETT, J. C.; FRY, B.; MALLER, J.; DALY, M. J. Haploview: analysis and visualization
418 of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**. v.21, p.263-265, 2004.

419 BARSH, G.S.; COPENHAVER, G.P.; GIBSON, G.; WILLIAMS, S.M. Guidelines for
420 genome-wide association studies. **PLoS Genetics**, San Francisco, v.8, p.1-2, 2012.

421 BEH, K. J., HULME, D. J., CALLAGHAN, M. J., LEISH, Z., LENANE, I., WINDON, R. G.
422 et al. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to *Trichostrongylus*
423 *colubriformis* in sheep. **Animal Genetics**. v.93, p.97-106, 2002.

424 BERALDI, D., MCRAE, A. F., GRATTEN, J., PILKINGTON, J. G., SLATE, J., VISSCHER,
425 P. M. et al. Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the
426 free-living Soay sheep (*Ovis aries*). **Journal Parasitology** v.37, p.121-129, 2007.

427 BISHOP, S. C., STEAR, M. J. Inheritance of, and factors affecting, egg counts during early
428 lactation in Scottish Blackface ewes facing mixed, natural nematode infections. **Animal**
429 **Science**, v.73, p.389-395, 2001.

430 BRITO, L. F., JAFARIKIA, M., GROSSI, D. A., KIJAS, J. W., PORTO-NETO, L. R.,
431 VENTURA, R. V., SALGORZAEI, M., SCHENKEL, F. S. Characterization of linkage
432 disequilibrium, consistency of gametic phase and admixture in Australian and Canadian goats.
433 **BMC Genetics**, v.16, p.67-82, 2015.

434 CARNEIRO, H., LOUVANDINI, H., PAIVA, S.R., MACEDO, F., MERNIES, B.,
435 MCMANUS, C. Morphological characterization of sheep breeds in Brazil, Uruguay and
436 Colombia. **Small Ruminant Research**, v.94, p.58-65, 2010.

437 CAVANAGH, C. R.; JONAS, E.; HOBBS, M.; THOMSON, P. C.; TAMMEN, I.;
438 RAADSMA, H. W. Mapping Quantitative Trait Loci (QTL) in sheep. III. QTL for carcass
439 composition traits derived from CT scans and aligned with a meta-assembly for sheep and cattle
440 carcass QTL. **Genetics Selection Evolution** v. 42, p.36. 2010.

441 CRAWFORD, A.M. Discovery of quantitative trait loci for resistance to parasitic nematode
442 infection in sheep: I. Analysis of outcross pedigrees. **BMC Genomics**, v.7, p.1-10, 2006.

- 443 DAVIES, G.; STEAR, M. J.; BENOETHMAN, M.; ABUAGOB, O.; KERR, A.; MITCHELL,
444 S.; BISHOP, S. C. Quantitative trait loci associated with parasitic infection in Scottish blackface
445 sheep. **Heredity**, v.96, p.252-258, 2006.
- 446 GARCÍA-GÁMEZ, E.; SAHANA, G.; GUTIÉRREZ-GIL, B.; ARRANZ, J. J. Linkage
447 disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. **BMC Genetics**, v.13, p.43-
448 54, 2012.
- 449 GONG, H.; ZHOU, H.; PLOWMAN, J. E.; DYER, J. M.; HICKFORD, J. G. Analysis of
450 variation in the ovine ultra-high sulphur keratin-associated protein KAP5-4 gene using PCR-
451 SSCP technique. **Electrophoresis**, v.31, p.3545-3547, 2010.
- 452 GORDON, H.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep
453 faeces. **Journal Coun. Sci. Ind. Research**, Austrália, v.12, p.50-52, 1939.
- 454 HILL, W. G.; ROBERTSON, A. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and**
455 **Applied Genetics**, v.38, p.226-231, 1968.
- 456 HOPE, M.; HAYNES, F.; ODDY, H.; KOOHMARAIE, M.; AL-OWAIMER, A.; GEESINK,
457 G. The effects of the myostatin g+6723G>A mutation on carcass and meat quality of lamb.
458 **Meat Science**. v.1, p.118-22, 2013.
- 459 KANG, S., Zhao, X., XING, H., WANG, N., ZHOU, R., Chen, S., Li, W., ZHAO, J., DUAN,
460 Y., Sun, D., LI, Y. Efficient control of population structure in model organism association
461 mapping. **Genetics**, v.178, p.1709-1723, 2008.
- 462 KEMPER, K. E.; EMERY, D. L.; BISHOP, S. C.; ODDY, H.; HAYES, B. J.; DOMINIK, S.;
463 HENSHALL, J. M.; GODDARD, M. E. The distribution of SNP marker effects for faecal worm
464 egg count in sheep, and the feasibility of using these markers to predict genetic merit for
465 resistance to worm infections. **Genetics Research**, v.93, p.203-219, 2011.
- 466 KIJAS, J. W., LENSTRA, J. A., HAYES, B., BOITARD, S., NETO L. R. P., et al. Genome-
467 wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong
468 recent selection. **Plos Biology**. v.10, 2012.
- 469 LAVILLE, E.; BOUIX, J.; SAYD, T.; BIBÉ, B.; ELSESEN, J. M.; LARZUL, C.; EYCHENNE,
470 F.; MARCQ, F.; GEORGES, M. Effects of a quantitative trait locus for muscle hypertrophy
471 from Belgian Texel sheep on carcass conformation and muscularity. **Journal Animal Science**,
472 v.82, p.3128-3137, 2004.
- 473 MARCQ, F., C. LARZUL, V. MAROT, J. BOUIX, F. EYCHENNE, E. LAVILLE, B. BIBE´,
474 P. L. LEROY, M. GEORGES, AND J. M. ELSESEN. Preliminary results of a whole-genome scan
475 targeting QTL for carcass traits in Texel × Romanov intercross. Pages 323–326 in **Proc. 7th**
476 **World Cong. on Genetic Appl. Livest. Prod.**, Montpellier, France. 2002.
- 477 MARSHALL, K.; VAN DERWERF, J. H. J.; MADDOX, J. F.; GRASER, H. U., ZHANG, Y.;
478 WALKDEN-BROWN, S. W.; KAHN, L. A genome scan for quantitative trait loci for
479 resistance to the gastrointestinal parasite *Haemonchus contortus* in sheep. **Proc. Assoc. Advmt.**
480 **Anim. Breed. Genet.** v.16, p.115, 2009.
- 481 MCPHERRON, A. C.; LAWLER, A. M.; LEE, S. J. Regulation of skeletal muscle mass in mice
482 by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**, v.387, p.83-90. 1997.

- 483 **National Center for Biotechnology Information.** Disponível em:
484 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. permanent. Acesso em 09 de fevereiro de 2016.
- 485 OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M. **Produção de carne ovina: técnicas de avaliação “in**
486 **vivo” e na carcaça.** Pelotas, UFPEL, 2003. 73p.
- 487 PAIVA, S. R. **Caracterização da diversidade genética de ovinos no Brasil com quatro**
488 **técnicas moleculares.** 2005. 118p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) –
489 Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.
- 490 PEARSON, T.A.; MANOLIO, T.A. How to interpret a genome-wide association study.
491 **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 299, p.1335-1344, 2008.
- 492 PENG, G.; LUO, L.; SIU, H.; ZHU, Y.; HU, P.; ZHAO, J.; ZHOU, X.; REVELLE, J.D.;
493 AMOS, C.I.; XIONG, M. Gene and pathway-based second-wave analysis of genome-wide
494 association studies. **European Journal of Human Genetics**, v.18, p.111-117, 2010.
- 495 R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing. R
496 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, disponível em: [http://www.R-](http://www.R-project.org)
497 [project.org](http://www.R-project.org); último acesso: fevereiro de 2016.
- 498 REGO NETO, A. A.; SARMENTO, J. L. R.; SANTOS, N. P. S.; BIAGIOTTI, D.; SANTOS,
499 G. V.; CAMPELO, J. E. G.; SENA, L. S.; FIGUEIREDO FILHO, L. A. S. Estrutura e
500 distribuição geográfica do rebanho de ovinos Santa Inês no Estado do Piauí. **Revista Brasileira**
501 **Saúde e Produção Animal**, v.15, p.272-280, 2014.
- 502 RIGGIO, V., MATIKA, O., PONG-WONG, R., STEAR, M. J., BISHOP, S. C. Genome-wide
503 association and regional heritability mapping to identify loci underlying variation in nematode
504 resistance and body weight in Scottish Blackface lambs. **Heredity**, v.110, p.420-429, 2013.
- 505 SALLÉ, G.; JACQUIET, P.; GRUNER, L.; CORTET, J.; SAUVÉ, C.; PREVOT, F.; GRISEZ,
506 C.; BERGEAUD, J. P.; SCHIBLER, L.; TIRCAZES, A.; FRANCOIS, D.; PERY, C.;
507 BOUVIER, F.; THOULY, J. C.; BRUNEL, J. C.; LEGARRA, A.; ELSEN, J. M.; BOUIX, J.;
508 RUPP, R. MORENO, C. R. A genome scan for QTL affecting resistance to *Haemonchus*
509 *contortus* in sheep. **Journal Animal Science**, v.90, p.4690-4705, 2012.
- 510 SETTLES, M., ZANELLA, R.; MCKAY, S. D.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.;
511 WHITLOCK, R.; SCHUKKEN, Y.; VAN KESSEL, J. S.; SMITH, J. M.; NEIBERGS; H. A
512 whole genome association analysis identifies loci associated with *Mycobacterium avium* subsp.
513 paratuberculosis infection status in US Holstein cattle. **Animal Genetics**, v.40, p.655-662.
514 2009.
- 515 SILVA, M. V.; SONSTEGARD, T. S.; HANOTTE, O.; MUGAMBI, J. M.; GARCIA, J. F.;
516 NAGDA, S.; GIBSON, J. P.; IRAQI, F. A.; MCCLINTOCK, A. E.; KEMP, S. J.;
517 BOETTCHER, P. J. M. Identification of quantitative trait loci affecting resistance to
518 gastrointestinal parasites in a double backcross population of Red Maasai and Dorper sheep.
519 **Animal genetics**. v.43, p.63-71, 2012.
- 520 VAN RADEN, P. M. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. **Journal of Dairy**
521 **Science**, v.91, p.4414-4423, 2008.

- 522 WHITE, S. N., MOUSEL, M. R., HERRMANN-HOESING, L. M., REYNOLDS, J. O.,
523 LEYMASTER, K. A., et al. Genome-wide association identifies multiple genomic regions
524 associated with susceptibility to and control of ovine lentivirus. **Plos One**. v.7, 2012.
- 525 WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H. Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods.
526 5. ed. Missouri: **Elsevier Saunders**, 2012. 427p.
- 527 YU, J., PRESSOIR, G., BRIGGS, W. H., BI, I. V., YAMASAKI, M, DOEBLEY, J. F.,
528 MCMULLEN, M. D., GAUT, B. S., NIELSEN, D. M., HOLLAND, J. B., KRESOVICH, S.,
529 BUCKLER, E. S. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for
530 multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, v.38, p.200-208, 2006.
- 531 ZANELLA, R. **Identification of chromosomal regions associated with infectious diseases**
532 **in cattle**. 2011. 184p. Tese (Doutorado em Filosofia em Ciência Animal)- Washington State
533 University, Washington.

CAPÍTULO II

Seleção genômica ampla em ovinos de corte para características associadas à
resistência à endoparasitas

1 **Seleção genômica ampla em ovinos de corte para características associadas à resistência** 2 **à endoparasitas**

3 **Resumo:** O objetivo com esta pesquisa foi prever os valores genéticos genômicos para
4 características associadas à resistência à endoparasitas por diferentes métodos bayesianos de
5 predição genômica ampla em ovinos de corte. Foram utilizados fenotipos de presença de pelo
6 arrepiado e presença de ovos *Strongylus* nas fezes, Log do OPG, coloração da mucosa
7 (FAMACHA), e do escore da condição corporal (ECC) de 271 ovinos com registro na
8 Associação Brasileira de Criadores de Ovinos. Os animais foram genotipados com SNPChip
9 Ovine de 50k. Nas análises de seleção genômica foram utilizados 44.548 marcadores tipo SNPs.
10 Primeiramente cinco modelos para estimação dos efeitos dos marcadores foram testados:
11 Bayesin Ride Regression (BRR), Bayes A, Bayes B, Bayes C e Bayesian least absolut shrinkage
12 and selection operator (IBLASSO). Após realizada a validação cruzada, o modelo BRR foi
13 escolhido como o melhor devido a acurácia de predição e pelo fato de possuir menor número
14 de parâmetros a serem analisados. As correlações entre GEBV predito e observado foram
15 calculadas e utilizadas como indicadores de acurácia de predição dos modelos. Os modelos
16 genômicos bayesianos obtiveram acréscimo na acurácia de predição quando comparados ao
17 modelo tradicional utilizando a matriz de parentesco. Os valores genéticos genômico dos
18 animais foram calculados através do modelo BRR, além da estimação dos componentes de
19 variância e herdabilidade. Os valores de herdabilidade encontrados para as características
20 associadas a resistência à endoparasitas foram 0,556, 0,242, 0,254 e 0,244 para presença de
21 ovos do genero *Strongylus*, LogOPG, FAMACHA e ECC respectivamente. A correlação entre
22 os valores genético encontrados sugere que as características estudadas podem ser utilizadas
23 em programas de melhoramento genético para resistência à endoparasitas.

24
25 **Palavras-chave:** acurácia, modelos bayesianos, herdabilidade, valor genético genômico.

26
27 **Abstract:** The aim of this study was to assess the quality of genomic predictions for traits
28 related to resistance to gastrointestinal parasites in meat sheep. Phenotypes of presence of
29 bristled hair, presence of *Strongylus* eggs in the feces, Log- OPG, conjunctiva mucous colour
30 (FAMACHA) and the body condition score (BCS) of 271 sheep registered by the Brazilian
31 Association of Sheep Breeders were used. The animals were genotyped with the panel SNP
32 Chip Ovine of 50k. In genomic selection analyzes 54,241 markers SNPs type were used. Firstly
33 five models to estimate the effects of markers were tested: Bayesian Ride Regression (BRR),
34 Bayes A, Bayes B, Bayes C and Bayesian least absolut shrinkage and selection operator

35 (IBLASSO). After the cross-validation was carried out, BRR model was chosen as the best
36 because of its accuracy of prediction and because it had fewer parameters to be analyzed. The
37 correlations between predicted and observed GEBV were calculated and used as indicators of
38 prediction accuracy of the models. Bayesian genomic models have increased the prediction
39 accuracy when compared to the traditional model using the relationship matrix. Genomic
40 breeding values of the animals were calculated by the BRR model, in addition to the estimation
41 of variance components and heritability. The heritability values we found for the traits
42 associated with resistance to endoparasites were 0.556, 0.242, 0.254 and 0.244 for presence of
43 eggs of the genus *Strongylus*, Log-OPG, FAMACHA and BCS respectively. The correlation
44 between found breeding values suggests that the traits studied can be used in breeding programs
45 for resistance to endoparasites.

46

47 **Kew Words:** accuracy, bayesian models, genomic breeding value, heritability.

48

49 **1 Introdução**

50 As verminoses gastrintestinais têm impactado na ovinocultura, pois além do alto custo de
51 tratamento com anti-helmíntico, o desenvolvimento de resistência anti-helmíntica em
52 populações de nematoides tornou-se rapidamente um problema internacional (BESIER e
53 LOVE, 2003; BARTLEY et al., 2004). Este fato tem estimulado a busca por novas medidas de
54 controle, como a seleção de animais com resistência à endoparasitas (KEMPER et al., 2010).

55 Tradicionalmente, no melhoramento genético animal para características complexas, a
56 seleção era praticada somente com base nas informações de pedigree e fenotípicas dos animais.
57 De acordo com Dekkers (2007) e Meuwissen (2007), a seleção genômica comparada à
58 tradicional, fornece predições dos valores genéticos com maior acurácia, principalmente, para
59 as características que se expressam em um único sexo e/ou que sejam de baixa herdabilidade.
60 Além disso, com a seleção genômica é possível antecipar o processo de seleção, no caso de
61 características mensuradas tardiamente na vida do animal ou de mensuração difícil e de alto
62 custo.

63 Com a adoção da seleção genômica ampla, informações de marcadores moleculares
64 contidos no genoma dos animais foram acrescentados em consonância com a utilização de uma
65 metodologia estatística aprimorada e às informações dos fenótipos (MEUWISSEN et al., 2001).
66 Os marcadores moleculares do tipo de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) podem
67 fornecer informações que permita o desenvolvimento de catálogos densos de variação dentro

68 de uma espécie, juntamente com a tecnologia, técnicas estatísticas e os avanços da
69 bioinformática, levou à implementação de estudos de seleção genômica ampla.

70 Para avaliação dos dados genômicos, muitos métodos vêm sendo propostos, com o intuito
71 de estimar os efeitos dos marcadores, como exemplo os métodos Bayesianos. Os métodos
72 Bayesianos estão sendo explorados na seleção genômica ampla devido as incertezas acerca dos
73 efeitos dos SNPs que podem ser modeladas por distintas distribuições a priori.

74 A seleção genômica ampla tem como principais objetivos a alta eficiência seletiva e a
75 grande rapidez na obtenção de ganhos genéticos, pois a predição e seleção podem ser realizadas
76 em fases muito juvenis dos animais, antes mesmo que os animais manifestem a característica
77 (RESENDE et al., 2008). Várias abordagens analíticas foram propostas para a predição baseada
78 no genoma de valores genéticos, e estes diferem no que diz respeito às hipóteses acerca dos
79 efeitos dos marcadoras (DE LOS CAMPOS et al., 2009; HABIER et al., 2011; MEUWISSEN
80 et al., 2001). Por exemplo, pelo método “ridge regression” ou regressão de cumeeira assume que
81 todos os efeitos de marcadores são normalmente distribuídos e que estes efeitos dos marcadores
82 têm variância idêntica. Já o método Bayes A, os marcadores assumem variâncias diferentes e
83 são modelados como se segue uma distribuição χ^2 inversa. A priori em Bayes B assume que os
84 marcadores possuem variância igual a zero com probabilidade π , e o complemento com
85 probabilidade $(1 - \pi)$ segue uma distribuição χ^2 inversa (MEUWISSEN et al., 2001).

86 A definição da probabilidade π depende da arquitetura genética da característica,
87 sugerindo uma melhoria para o modelo de Bayes B, conhecido como Bayes $C\pi$. Em Bayes $C\pi$,
88 a probabilidade de mistura de π tem uma distribuição a priori uniforme (HABIER et al., 2011).
89 Uma desvantagem dos métodos Bayesianos é a necessidade para a definição da priori. A
90 exigência de uma priori para o parâmetro π é iludida no método Bayesian LASSO, que precisa
91 de menos informação (DE LOS CAMPOS et al., 2009; LEGARRA et al., 2010). Métodos de
92 previsão genômica de valores genéticos podem desempenhar de forma diferente para os
93 diferentes fenótipos (MEUWISSEN et al., 2001; USAI et al., 2009; HABIER et al., 2011). E
94 os resultados podem divergir devido às diferenças na arquitetura genética entre características
95 (HAYES et al., 2009). Portanto, é valioso comparar o desempenho entre os métodos com dados
96 reais e identificar aqueles que fornecem previsões mais precisas.

97 A acurácia na estimação dos valores genômicos é influenciada por diversos fatores, os
98 quais incluem a herdabilidade da característica, o tamanho da população de referência, o
99 método utilizado na estimação dos efeitos alélicos dos marcadores, desequilíbrio de ligação
100 entre marcadores e as características quantitativas (QTL) e a distribuição dos efeitos dos QTL
101 (BASTIAANSEN et al. 2012).

102 O objetivo com esta pesquisa foi prever os valores genéticos genômicos para
103 características associadas à resistência a endoparasitas por diferentes métodos bayesianos de
104 predição genômica ampla e aplicar o melhor modelo para determinação dos valores genéticos
105 genômicos em ovinos de corte.

106

107 2 Material e Métodos

108 A pesquisa foi realizada com informações de 271 fêmeas de ovinos da raça Santa Inês,
109 pertencentes a criatórios localizados no Piauí e Maranhão registrados junto à Associação
110 Brasileira dos Criadores de Ovinos (ARCO). Os dados foram coletados no período de dezembro
111 de 2013 à maio de 2014 em animais com idade superior a oito meses.

112 Foram registradas informações e características referentes à resistência dos animais ao
113 endoparasitismo (ovos por grama de fezes – OPG; presença de ovos do gênero *Strongylus*;
114 coloração da mucosa conjuntiva – FAMACHA; escore da condição corporal – ECC).

115 As amostras de OPG foram coletadas diretamente da ampola retal. Para quantificar o
116 número de ovos por grama de fezes, foi utilizada solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e
117 leitura ao microscópio em câmara McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939). A coloração da
118 conjuntiva ocular dos animais é definida utilizando-se um cartão de cores ilustrativo no
119 momento da avaliação. No cartão estão presentes cinco categorias, variando de 1 (coloração
120 vermelho robusto) até 5 (coloração pálida, branco). O escore da condição corporal foi
121 mensurado por meio de avaliação visual e palpação com os dedos na região lombar, localizando
122 as apófises espinhosa e transversa segundo metodologia descrita por OSÓRIO e OSÓRIO
123 (2003). O processo embasou-se na detecção de deposição de gordura e músculo, tomando-se
124 por base notas de um a cinco, em que a condição corporal cinco indica deposição excessiva de
125 gordura no animal.

126 Como efeitos fixos no modelo foi considerado o grupo contemporâneo com informação
127 de mês e ano de coleta, propriedade, mês e ano de nascimento, além de efeito de sexo do animal,
128 tipo de nascimento (TN) e a idade do animal assumida como co-variável com efeito linear.

129 A característica que se refere a presença ou ausência da ocorrência de um fenótipo como
130 ovos do gênero *Strongylus*, por ser uma característica binária, sendo atribuindo o valor 1
131 (sucesso) ou valor 0 (fracasso) para os animais que possuíam ou não, foram transformadas em
132 probabilidade de ocorrência, dividindo-se o valor exponencial pelo valor exponencial mais um,
133 dado que assim assumiu a distribuição normal da mesma. A característica ovos por grama de
134 fezes (OPG) foi analisada através do valor do logaritmo da contagem dos ovos somado do valor
135 um, em escala transformada em $\log_{10}(\text{OPG} + 1)$.

136 A genotipagem foi realizada utilizando o chip de alta densidade *BeadChip OvineSNP50k*
 137 contendo 54.241 SNPs uniformemente espaçados nos cromossomos. O chip de SNPs foi
 138 fabricado de acordo com a tecnologia Infinium da Illumina™, usando a plataforma iScan. O
 139 protocolo de genotipagem foi seguido de acordo com que foi estabelecido pelo fabricante
 140 (disponível em www.illumina.com).

141 O controle de qualidade dos genótipos foi realizado através do pacote HapEstXXR do
 142 programa estatístico R de modo que considerou-se SNPs localizados em cromossomos
 143 autossômicos e com “Genecall Score” maior que 0,70, *Minor Allele Frequency* - MAF < 0,05,
 144 além de *Call Rate* < 0,95 e *Equilíbrio de Hardy-Weinberg* - HWE < 10⁻⁵.

145 Os dados foram analisados utilizando o pacote Bayesian Generalized Regression-BGLR,
 146 disponível no ambiente estatístico R. Foram utilizadas 200.000 iterações Monte Carlo via
 147 Cadeias de Markov -MCMC, com período de burn-in de 30.000 amostras e os resultados foram
 148 armazenados a cada 5 ciclos.

149 Uma vez obtidos os fenótipos, para cada característica foi considerada uma análise GWS
 150 por meio de cada uma das metodologias propostas. Todas elas consideram o seguinte modelo
 151 sugerido por Meuwissen et al. (2001):

$$152 \quad \mathbf{y} = \mathbf{1}\mu + \sum_i \mathbf{x}_i g_i + \mathbf{e}, \quad [1]$$

153 em que: \mathbf{y} é o vetor de fenótipos, $\mathbf{1}$ é o vetor de mesma dimensão de \mathbf{y} com todas as entradas
 154 iguais a 1, μ é a média da característica estudada, g_i é o efeito aleatório do marcador SNP
 155 ($i=1,2,\dots,p$), \mathbf{x}_i é matriz de incidência de cada marcador i , e \mathbf{e} é o vetor de resíduos do modelo.

156

157

158 **Método RR-BLUP sob os enfoques bayesianos (BRR)**

159 Nesta abordagem, o modelo [1], o qual é representado matricialmente em [2], admite a
 160 pressuposição de que os efeitos de marcadores são considerados aleatórios, com distribuição
 161 normal e variância homogênea. Esta variância, bem como a variância residual, são consideradas
 162 desconhecidas e foram estimadas juntamente com os efeitos dos marcadores por meio da
 163 abordagem Bayesiana via algoritmo de Gibbs sample. O seguinte modelo linear misto geral foi
 164 ajustado para estimar os efeitos dos marcadores.

$$\mathbf{y} = \mathbf{Wb} + \mathbf{Xg} + \mathbf{e}, \quad [2]$$

165 em que: \mathbf{y} é um vetor de observações fenotípicas, \mathbf{b} é um vetor de efeitos fixos, \mathbf{g} é o
 166 vetor de efeitos dos marcadores assumidos como aleatórios e \mathbf{e} se refere ao vetor de erros
 167 aleatórios. \mathbf{W} e \mathbf{X} são as matrizes de incidência para \mathbf{b} e \mathbf{g} , respectivamente. A matriz de
 168 incidência \mathbf{X} contém os valores 0, 1 e 2, respectivamente para aa, aA e AA, conforme genótipo
 169 estabelecido para o marcador. Assim, as equações de modelo misto para a predição de \mathbf{g} por
 170 meio do método RR-BLUP equivalem a:

$$171 \begin{bmatrix} \mathbf{W}'\mathbf{W} & \mathbf{W}'\mathbf{X} \\ \mathbf{X}'\mathbf{W} & \mathbf{X}'\mathbf{X} + \mathbf{I} \frac{\sigma_e^2}{(\sigma_g^2/n)} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\mathbf{b}} \\ \hat{\mathbf{g}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{W}'\mathbf{y} \\ \mathbf{X}'\mathbf{y} \end{bmatrix},$$

172 em que: σ_g^2 se refere a variância genética da característica, σ_e^2 a variância residual e n é
 173 função do número total de marcadores ponderados por suas frequências alélicas, sendo dado
 174 por $n=2 \sum_i p_i(1-p_i)$, em que, p_i é a frequência do alelo i .

175 A partir das soluções dos efeitos dos marcadores estimados pelos diferentes modelos, os
 176 valores genéticos genômicos preditos (GEBV) foram calculados utilizando-se a seguinte
 177 fórmula:

$$178 \text{GEBV} = \sum_{j=1}^p X_{ij} g_j$$

179 em que:

180 X_{ij} é o genótipo marcador do indivíduo i para o marcador j , e g_j é o efeito estimado do
 181 marcador j .

182 **Método Bayes A**

183 Meuwissen et al. (2001) apresentam também uma metodologia para estimar por
 184 abordagem Bayesiana os parâmetros do modelo [1] estendido, no qual diferentes componentes
 185 de variância σ_{gi}^2 são atribuídos para cada marcador considerado na análise. Considerou-se, um
 186 modelo para σ_{gi}^2 com o intuito de realizar inferências a respeito destes parâmetros.

187 As distribuições utilizadas na construção da densidade *a posteriori* conjunta resultam em
 188 condicionais completas a posteriori com forma conhecida, o que possibilita a utilização de
 189 amostrador de Gibbs (GEMAN e GEMAN, 1984) para gerar amostras da densidade conjunta *a*
 190 *posteriori* (e por consequência, das marginais *a posteriori* de interesse). Ao final do processo
 191 MCMC, obtém as estimativas dos efeitos de cada marcador e, conseqüentemente, as estimativas
 192 dos valores genômicos de cada animal.

193

194 **Método Bayes B**

195 Adicionalmente aos modelos já apresentados, Meuwissen et al. (2001) desenvolveram
 196 uma abordagem Bayesiana alternativa. Os autores reconheceram como um problema no método
 197 Bayes A, o fato de que a distribuição das variâncias dos efeitos de marcadores não apresentavam
 198 um ponto de densidade no valor 0. O método Bayes B utiliza densidade *a priori* com ponto de
 199 densidade em $\sigma_{gi}^2 = 0$. Considera-se que $\sigma_{gi}^2 = 0$ com probabilidade π , enquanto $\sigma_{gi}^2 \sim inv - \chi^2(v,$
 200 $S)$ com probabilidade $1 - \pi$.

201

202 **Método Bayes C**

203 O método Bayes C π possui vantagem aos demais pois permite especificar uma
 204 distribuição a priori para π , permitindo a modelagem da distribuição dupla exponencial.
 205 Metodologia proposta por Habier et al. (2011), em que os efeitos dos SNPs têm variância
 206 comum, seguindo distribuição chi-quadrado invertida escalonada *a priori*, com v_g graus de
 207 liberdade e um parâmetro de escala σ_g^2 . Sendo assim, o efeito de um SNP utilizado com
 208 probabilidade $(1-\pi)$ é uma mistura de distribuições t de Student $t(0, v_g, \sigma_g^2)$. Assume-se que o
 209 parâmetro π tem uma distribuição uniforme (0,1) a priori.

210 **Método LASSO Bayesiano**

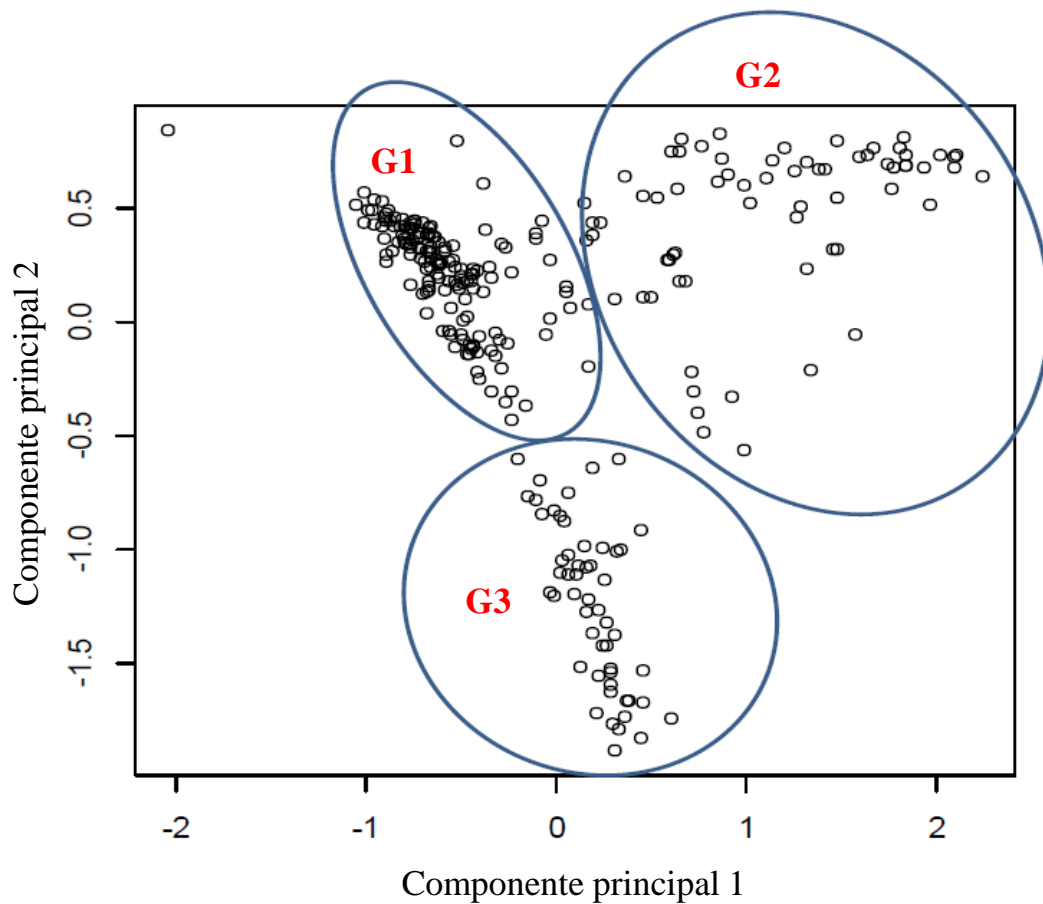
211 A versão Bayesiana da regressão LASSO (PARK e CASELLA, 2008) para seleção
 212 genômica foi idealizada por De Los Campos et al. (2009). De forma geral, esta consiste na
 213 obtenção de estimadores de coeficientes de regressão do modelo [1] que resolvam o seguinte
 214 problema de otimização: $\min\{[y - (\mathbf{1}\mu + \sum_i \mathbf{x}_i g_i)]' [y - (\mathbf{1}\mu + \sum_i \mathbf{x}_i g_i)] + \lambda \sum_i^p |g_i| \}$, em que
 215 $\sum_i^p |g_i|$ é a soma dos valores absolutos dos coeficientes de regressão e λ é o parâmetro que
 216 controla a força da regularização, de forma que quando $\lambda = 0$ não há regularização.

217

218 **Validação e comparação dos métodos**

219 Foi aplicada a metodologia de validação cruzada para avaliar a performance preditiva dos
 220 modelos. Para tanto, foi realizada a análise de componentes principais para a matriz de
 221 genótipos a fim de identificar subpopulações que sejam mais distantes geneticamente. Dessa
 222 forma, cada uma das subpopulações constitui um grupo de indivíduos utilizado na análise de
 223 validação cruzada. Esta é a forma de ser mais rigoroso em termos de avaliação da habilidade
 224 preditiva, pois estes grupos formados pelo agrupamento dos 2 primeiros componentes
 225 principais são distantes geneticamente. Desta forma, o conjunto original de dados genotípicos

226 contendo 271 animais foi dividido em três subgrupos (G1, G2 e G3) contendo 151, 67 e 53
 227 animais (Figura 1).



228

229 **Figura 1.** Subdivisão da população original em três grupos (G1, G2 e G3) utilizados na análise
 230 de validação cruzada para avaliar a performance preditiva dos modelos.
 231

232 Foram realizadas três análises para cada modelo considerado, de forma que em cada uma
 233 delas um subgrupo era removido e os dados do mesmo utilizados para a validação. Assim, a
 234 performance preditiva foi realizada por meio da correlação entre os valores fenotípicos
 235 corrigidos e os valores genéticos genômicos preditos. Como foram empregados três subgrupos
 236 de validação, obteve-se ao final três valores de correlações para cada modelo avaliado. As
 237 médias destes valores foram utilizadas como critério para indicar o melhor modelo em termos
 238 preditivos, ou seja, aquele com maior habilidade de prever o mérito genético dos indivíduos
 239 utilizando apenas informações genômicas (LEGARRA et al., 2008; VERBYALA et al., 2010;
 240 RESENDE et al., 2010).

241

242

243

3 Resultado e Discussão

244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276

As acurácias preditivas, estimadas com os diferentes modelos, não diferiram significativamente, os valores estão dentro do intervalo do desvio padrão dos modelos em todas características (Tabela 1). Segundo De Los Campos et al. (2013), nos estudos com dados reais as diferenças entre os modelos não têm sido sempre relevantes. Isso pode ser atribuído ao fato de haver grande número de parâmetros (P) a serem estimados a partir de um pequeno número (n) de amostras ($P > n$). Consequentemente, nessa situação, não se dispõe de número suficiente de informações para que o “aprendizado bayesiano” ocorra de modo pleno (GIANOLA, 2013), tornando mínima a influência da distribuição a priori. Sendo assim, resultados similares entre as metodologias são esperados.

Porem deve ser ressaltado o ganho de acurácia que obteve-se com os métodos bayesianos, pois a superioridade do método ao tradicional, qual utiliza a matriz de parentesco é absurdamente maior, assim deve-se ter uma atenção especial no método estudado. Ganhos superiores a 60% para as características de presença de ovos de *Strongylus*, além de ganhos acima de 100% nas acurácias das características relacionadas a Famacha, LogOPG e ECC fazem com que o método bayesiano seja o preferido a ser utilizado nas predições de valores genômicos.

Observou-se que para a característica quantitativa cujos genes possuem efeitos com distribuição uniforme a metodologia BRR, no geral, apresentou valores de acurácia semelhantes aos demais métodos testados e quando comparada com a análise tradicional baseada na matriz de parentesco o ganho da sua capacidade preditiva não diferiu dos demais modelos de enfoque bayesiano, ou seja, o ganho de acurácia foi semelhante em todos modelos (Tabela 1). A atenção maior para os modelos genômicos é que houve uma melhora na acurácia significativa em todas características estudadas em relação a maneira tradicional utilizando a matriz de parentesco (Tabela 1). MEUWISSEN et al. (2001), USAI et al. (2009) e CROSSA et al. (2010) apontam que os métodos bayesianos possuem superioridade em relação ao método BLUP, entretanto, uma distribuição de efeitos aleatórios mais complicada, como a utilizada em métodos bayesianos, só é útil quando os marcadores estão fortemente associados com o QTL (ZHONG et al., 2009; HABIER et al., 2010).

Zhong et al. (2009) afirmaram que a acurácia relativa dos métodos depende da magnitude dos efeitos dos marcadores, quando os marcadores estão em alto desequilíbrio com um pequeno número de QTL, os métodos bayesianos são mais acurados, enquanto o método RR-BLUP/BRR é mais acurado quando muitas marcas possuem efeitos pequenos.

Tabela 1. Valores de acurácia (R), desvio padrão da acurácia (SD) e ganho em acurácia (GR) proporcionado pela capacidade preditiva dos diferentes métodos testados em comparação com o modelo tradicional

	Bayes A		Bayes B		Bayes C		BLASSO		BRR		Matriz de Parentesco (A)
	R±SD	GR(%)	R±SD	GR(%)	R±SD	GR(%)	R±SD	GR(%)	R±SD	GR(%)	R±SD
Ovos <i>Strongylus</i>	0,18±0,08	67,5	0,17±0,08	63,0	0,18±0,08	67,6	0,18±0,77	73,0	0,17±0,63	62,5	0,10±0,17
LogOPG	0,02±0,05	189,7	0,02±0,05	193,5	0,01±0,05	157,8	0,01±0,05	156,0	0,02±0,04	201,9	-0,02±0,07
FAMACHA	0,01±0,03	117,5	0,02±0,03	175,7	0,01±0,04	130,7	0,02±0,04	171,2	0,01±0,04	131,6	-0,03±0,07
ECC	0,14±0,09	16190,1	0,14±0,09	17275,6	0,14±0,08	16883,7	0,16±0,06	18729,8	0,14±0,09	16405,7	-0,01±0,07

R: Acurácia do modelo testado; GR: Acréscimo da acurácia do modelo testado em relação ao modelo tradicional, utilizando a matriz de parentesco A

279 A superioridade do modelo BRR sobre os outros modelos bayesianos de seleção de
280 variáveis foi relatada por alguns autores (HAYES et al., 2009; LUAN et al., 2009; LEGARRA
281 et al., 2011). Segundo REZENDE et al. (2012), maiores acurácias de predição são esperadas
282 nos modelos que se utilizam de seleção de variáveis, isso aconteceria pelo fato desses modelos
283 diminuírem o problema de analisar maior número de marcadores que o número de animais
284 genotipados, o que pode acarretar na super ou subestimação dos efeitos dos SNPs por problemas
285 de multicolinearidade. As metodologias Bayesianas de seleção de marcadores, como é o caso
286 da BAYES C, oferecem uma suposição mais realista quanto à composição genética da
287 característica (VANRADEN et al., 2009; LEGARRA et al., 2011), entretanto o presente estudo
288 não obteve diferenças nas acurácias entre modelos, sugerindo que o modelo BRR por possuir
289 menor número de parâmetros a serem analisado foi o escolhido.

290 Uma vez identificado o método mais adequado, neste caso o BRR utilizou-se o conjunto
291 de dados completo para a estimação de componentes de variância e herdabilidade (Tabela 2) e
292 prever os valores genômicos dos animais.

293 As estimativas dos coeficientes de herdabilidade da resistência dos ovinos à endoparasitas
294 são de moderadas a alta magnitudes (0,24 a 0,56) e com valores similares, em magnitude, aos
295 da herdabilidade de caracteres de produção, sugerindo que se pode obter ganhos satisfatórios
296 quando realizando seleção para determinada característica.

297 Através da metodologia tradicional as estimativas de herdabilidade da característica que
298 envolve mensuração de OPG variaram de 0,14 a 0,44 (SAYERS et al., 2005). Esses valores de
299 estimativas de herdabilidade permitem de baixo a moderado progresso genético, ou seja,
300 possuem potencial para a seleção de animais resistentes a endoparasitas. Utilizando as
301 informações genômicas a estimativa de herdabilidade obtida para característica de LogOPG foi
302 de 0,24, valor menor que à observada por Van Wyk e Bath, (2002) que estimaram a
303 herdabilidade por metodologia REML e encontraram valor de 0,55, e por Santos (2014) que
304 encontrou valores de 0,36 a 0,75 testando diferentes modelos de predição utilizando a inferência
305 bayesiana. Bishop e Morris (2007) encontraram estimativas de herdabilidade variando de 0,2 a
306 0,4 para característica de LogOPG utilizando o método máximo verossimilhança.

307 Referente a característica ovos de *Strongylus*, Bishop et al. (2004) encontraram valores
308 de herdabilidade próximos a 0,5, resultado esse equivalente ao encontrado no presente estudo,
309 sendo uma estimativa de alta magnitude, que pode ser fielmente utilizada em programas de
310 seleção de animais direcionados a resistência à endoparasitas.

311 A estimativa de herdabilidade para a característica de FAMACHA utilizando informações
 312 genômicas foi o dobro que encontrada por Santos (2014) que obteve o valor de 0,12 para essa
 313 característica utilizando inferência bayesiana na estimação. Entretanto corrobora com Riley e
 314 Wyk (2009) que utilizando metodologia REML obteve valores no intervalo de 0,06 a 0,24.

315 Para a característica de ECC foi estimado pelo modelo valor de herdabilidade de 0,24
 316 (Tabela 2), valor esse maior que encontrado por Freitas et al. (2015) que observaram valor de
 317 0,13 para essa característica em estudo com animais Santa Inês utilizando a abordagem
 318 Bayesiana para estimação da herdabilidade.

319
 320 **Tabela 2.** Estimativas dos componentes de variância, ambiental (σ_e^2) e ativa (σ_u^2) e
 321 herdabilidade (h^2) obtidas via método BRR para as características relacionadas a resistência à
 322 endoparasitas em ovinos de corte

	σ_e^2	σ_u^2	h^2
Ovos Strongylus	0,01±0,002	0,014±0,004	0,56±0,59
LogOPG	2,351±0,276	0,749±0,249	0,24±0,47
FAMACHA	0,180±0,022	0,061±0,020	0,25±0,48
ECC	0,292±0,033	0,094±0,027	0,24±0,45

323
 324 Analisando a correlação entre os valores genéticos genômicos preditos para as
 325 características estudadas, foi encontrado correlação de -0,334 entre o escore da condição
 326 corporal (ECC) e a coloração ocular mensurada pelo FAMACHA, isso é indicativo que existe
 327 a probabilidade de alguns genes que influenciam as duas características, quando seleciona-se
 328 animais para uma dessas características também estará selecionando animais para a outra
 329 característica, isso deve-se a característica de FAMACHA estar mensurada em escala
 330 decrescente, sendo que quanto menor o número da escala, seleciona-se o melhor, e o ECC estar
 331 em escala crescente, ou seja, quanto maior o número do ECC, melhor será o animal (Tabela 3).
 332 Situação parecida ocorre entre as características ECC e LogOPG que obteve correlação entre
 333 os valores genéticos genômicos de -0,323, uma vez selecionado animais para melhor valor
 334 genético para a característica ECC também seleciona-se melhores animais para a característica
 335 LogOPG uma vez que são características inversamente proporcionais (Tabela 3).

336

337

338

339 **Tabela 3.** Correlação (acima da diagonal) e probabilidade (abaixo da diagonal) entre os valores
 340 genéticos das características relacionadas a resistência à endoparasitas obtidas via modelo BRR

	ECC	FAMACHA	Ovos <i>Strongylus</i>	LogOPG
ECC	1	-0,334	-0,006	-0,323
FAMACHA	<0,0001	1	0,007	0,366
Ovos <i>Strongylus</i>	0,99	0,90	1	0,016
LogOPG	<0,0001	<0,0001	0,80	1

341
 342 Entre as características de LogOPG e FAMACHA, observou-se que a correlação entre
 343 essas características é de magnitude positiva e moderada, podendo ser utilizada em programas
 344 de melhoramento genético para melhora na resistência à endoparasitas, isso porque melhorando
 345 para uma característica obtém-se melhora para a característica correlacionada (Tabela 3).

346 Após encontrar os valores genéticos genômicos dos animais pelo método BRR, foi
 347 realizado ranqueamento dos dez melhores animais para as características relacionadas a
 348 resistência à endoparasitas (Tabela 4), houve coincidências de quatro animais estarem entre os
 349 dez melhores valores genético preditos para FAMACHA e ECC, além de dois animais dos dez
 350 melhores estarem no ranqueamento dos valores genéticos para a característica de LogOPG,
 351 sugerindo que esses animais possam ser utilizados como reprodutores da próxima geração, caso
 352 se deseja melhorar as características do rebanho para a resistência à endoparasitas.

353
 354 **Tabela 4.** Ranqueamento dos 10 animais com melhores valores genéticos para as características
 355 relacionadas a resistência à endoparasitas

LogOPG	Ovos <i>Strongylus</i>	FAMACHA	ECC
152	229	44	44
13	264	76	129
147	74	39	65
44	269	271	158
40	176	134	271
228	210	19	105
230	63	239	203
153	267	203	39
27	107	33	186
76	255	65	249

356 **4 Conclusões**

357 O ganho em acurácia com os métodos Bayesianos para predição dos valores genéticos
 358 genômicos proporcionaram predição mais confiável que o método tradicional de predição dos
 359 valores genéticos utilizando a matriz de parentesco.

360 O método RR-BLUP sob os enfoques bayesianos (BRR) foi a mais adequada para
 361 estimação dos efeitos dos SNPs e dos valores genéticos genômicos para as características

362 relacionadas a resistência à endoparasitas por ser um método que dispõe de menor número de
363 parâmetros a serem estimados.

364

365 5 Referências Bibliográficas

366 BARTLEY, D. J.; JACKSON, F.; JACKSON, E.; SARGISON, N. Characterization of two
367 triple resistant field isolates of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farms. **Veterinary**
368 **Parasitology**. v.123, p.189-199, 2004.

369 BASTIAANSEN, J. W. M.; COSTER, A.; CALUS, M. P. L.; ARENDONK, J. A. M.;
370 BOVENHUIS, H. Long-term response to genomic selection: effects of estimation method and
371 reference population structure for different genetic architectures. **Genetics Selection**
372 **Evolution**. v.44, n.3, 2012.

373 BESIER, R. B.; LOVE, S. C. J. Anthelmintic resistance in sheep nematodes in Australia: the
374 need for new approaches. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.43, p.1383-
375 1391, 2003.

376 BISHOP S. C.; MORRIS C. A. Genetics of disease resistance in sheep and goats. **Small**
377 **Ruminant Research**, v.70, p.48-59, 2007.

378 BISHOP, S. C; JACKSON, F.; COOP, R. L.; STEAR, M. J. Genetic parameters for resistance
379 to nematode infections in Texel lambs. **Animal Science**. v.78, p.185-194. 2004.

380 CROSSA, J.; DE LOS CAMPOS, G.; PÉREZ, P.; GIANOLA, D.; BURGUEÑO, J.; ARAUS,
381 J. L.; MAKUMBI, D.; SINGH, R. P.; DREISIGACKER, S.; YAN, J.; ARIEF, V.; BANZIGER,
382 M.; BRAUN, H. J.; YAN, I. Prediction of genetic values of quantitative traits in plant breeding
383 using pedigree and molecular markers. **Genetics**. v.186, n.2, p.713-724, 2010.

384 DE LOS CAMPOS, G.; HICKEY, J.M.; PONG-WONG, R.; DAETWYLER, H.D.; CALUS,
385 M.P.L. Whole-Genome Regression and Prediction Methods Applied to Plant and Animal
386 Breeding. **Genetics**, v.193, p.327–345, 2013.

387 DE LOS CAMPOS, G.; NAYA, H.; GIANOLA, D.; CROSSA, J.; LEGARRA, A.;
388 MANFREDI, E.; WEIGEL, K.; COTES, J. M. Predicting quantitative traits with regression
389 models for dense molecular markers and pedigree. **Genetics**, v.182, p. 375–385, 2009.

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

392 FREITAS, A. P.; OLIVEIRA, E. J.; SIMILI, F. F.; EL FARO, L.; LIMA, M. L. P.; COSTA, R.
393 L. D.; PAZ, C. C. P. Critérios de seleção para características comportamentais de ovinos da
394 raça Santa Inês. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 53., 2015. Belo
395 Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: RSBZ, 2015. CD.

396 GELMAN, A.; CARLIN, J. B.; STERN, H. S.; RUBIN, D. B. Bayesian Data Analysis.
397 **Chapman & Hall**, London, 2004.

- 398 GEMAN, S.; GEMAN, D. Stochastic relaxation, Gibbs distributions and Bayesian restoration
399 of images. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, v.6, p.721-741, 1984.
- 400 GIANOLA, D.; PEREZ-ENCISO, M.; TORO, M. A. On marker-assisted prediction of genetic
401 value: beyond the ridge. *Genetics*. v.163, p.347-365, 2013.
- 402 GORDON, H.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep
403 faeces. *Journal Council Science Industrial Research*, v.12, p.50-52, 1939.
- 404 HABIER, D.; TETENS, J.; SEEFRIED, F. R.; LICHTNER, P.; THALLER, G. The impact of
405 genetic relationship information on genomic breeding values in German Holstein cattle.
406 *Genetic Selection Evolution*, v.42, p.5, 2010.
- 407 HABIER, D.; FERNANDO, R. L.; KIZILKAYA, K.; GARRICK, D. J. Extension of the
408 bayesian alphabet for genomic selection. *BMC Bioinformatics*, v.12, p.1-12, 2011.
- 409 HAYES, B. J.; BOWMAN, P. J.; CHAMBERLAIN, A. J.; GODDARD, M. E. Genomic
410 selection in dairy cattle: Progress and challenges. *Journal of Dairy Science*, v.92, p.433-443,
411 2009.
- 412 KEMPER, K. E.; PALMER, D. G.; LIU, S. M.; GREEFF, J. C.; BISHOP, S. C.; KARLSSON,
413 J. L. E. Reduction of faecal worm egg count, worm numbers and worm fecundity in sheep
414 selected for worm resistance following artificial infection with *Teladorsagia circumcincta* and
415 *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology*. v.171, p.238-246, 2010.
- 416 LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIE, C.; CROISEAU, P.; GUILLAUME, F.; FRITZ, S.
417 Improved Lasso for genomic selection. *Genetic Research*, v.93, p.77-87, 2010.
- 418 LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIE, C.; MANFREDI, E.; ELSEN, J. M. Performance of
419 genomic selection in mice. *Genetics*, v.180, p.611-618, 2008.
- 420 LUAN, T.; WOOLLIAMS, J. A.; LIEN, S.; KENT, M.; SVENDSEN, M.; MEUWISSEN, T.
421 H. E. The accuracy of genomic selection in Norwegian red cattle assessed by cross-validation.
422 *Genetics*. v.183, p.1119-1126. 2009.
- 423 MEUWISSEN, T. H. E. Genomic selection: marker assisted selection on genome-wide scale.
424 *Journal of Animal Breeding and Genetics*. v.124, p.321-322, 2007.
- 425 MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value
426 using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, v.157, p. 1819 – 1829, 2001.
- 427 OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M. **Produção de carne ovina: técnicas de avaliação “in
428 vivo” e na carcaça.** Pelotas, UFPEL, 2003. 73p.
- 429 PARK, T.; CASELLA, G. The bayesian LASSO. *Journal of the American Statistical
430 Association*, v.103, p.681-686, 2008.
- 431 R Development Core Team R: A language and environment for statistical computing. R
432 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (disponível em: [http://www.R-](http://www.R-project.org)
433 [project.org](http://www.R-project.org); último acesso: Dezembro 2015).

- 434 RESENDE, M. D. V. **Matemática e Estatística na Análise de Experimentos e no**
435 **Melhoramento Genético**. 1ª Ed. Embrapa Florestas, 2008. 362.p.
- 436 RESENDE, M. D. V.; RESENDE JR, M. F. R. R.; AGUIAR, A. M.; ABAD, J. I. M.;
437 MISSIAGGIA, A. A.; SANSALONI, C.; PETROLI, C.; GRATTAPAGLIA, D. **Computação**
438 **da seleção genômica ampla (GWS)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 79p.
- 439 RESENDE, M. F. R. JR.; MUÑOZ, P.; RESENDE, M. D. V.; GARRICK, D. J.; FERNANDO,
440 R. L. et al. Accuracy of genomic selection methods in a standard dataset of Loblolly Pine (*Pinus*
441 *taeda* L.). **Genetics**. v.190,p.1503–1510, 2012.
- 442 RILEY, D. G., VAN WYK, J. A. Genetic parameters for FAMACHA score and related traits
443 for host resistance/resilience and production at differing severities of worm challenge in a
444 Merino flock in South Africa. **Veterinary Parasitologic**. v.164, p.44–52, 2009.
- 445 SANTOS, G. V. **Modelos linear e de Poisson para genética da resistência a endoparasitas**
446 **em ovinos de corte**. 2014. 86f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal do
447 Piauí, Bom Jesus-PI.
- 448 SAYERS, G.; GOOD, B.; HANRAHAN, J. P.; RYAN, M.; SWEENEY, T. Intron of the
449 interferon gama gene: It's role i nematode resistance in Sulffolk and Texel sheep breeds.
450 **Research in Veterinary Science**. v.79, p.191-196, 2005.
- 451 TIBSHIRANI, R. Regression shrinkage and selection via the LASSO, **J. R. Stat. Soc. B**, v.58,
452 p.267-288, 1996.
- 453 USAI, M. G.; GODDARD, M. E.; HAYES, B. LASSO with cross-validation for genomic
454 selection. **Genetic Research**, v.91, p.427–436, 2009.
- 455 VAN WYK, J. A.; BATH, G. F. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep
456 and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**,
457 v.33, p.509-529, 2002.
- 458 VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy**
459 **Science**. v.91, p.4414–4423, 2008.
- 460 VANRADEN, P. M.; VAN TASSELL, C. P.; WIGGANS, G. R.; SONSTEGARD, T. S.;
461 SCHNABEL, R. D. Invited review: reliability of genomic predictions for North American
462 Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**. v.92, p.16-24, 2009.
- 463 VERBYALA, K. L.; CALUS, M. P. L.; MULDER, H. A.; HAAS, Y.; VEERKAMP, R. F.
464 Predicting energy balance for dairy cows using high density single nucleotide polymorphism
465 information. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.2757-2764. 2010.
- 466 ZHONG, S.; DEKKERS, J. C. M.; FERNANDO, R. L.; JANNINK, J. L. Factors affecting
467 accuracy from genomic selection in populations derived from multiple inbred lines: a Barley
468 case study. **Genetics**. v.182, n.1, p.355-364, 2009.

4 Considerações Finais

As características de resistência à endoparasitas em ovinos possuem associações genômicas em regiões cromossômicas específicas. No entanto maiores estudos ainda precisam ser realizados, uma vez que o número de animais genotipados foi pequeno e as pesquisas relacionadas ao tema ainda são incipientes.

O chip de SNP utilizado foi desenvolvido para animais de origem europeia, porém houve bom aproveitamento das informações, as constituições genéticas desses animais podem ter divergência dos animais utilizados na pesquisa, um aprofundamento sob esse enfoque deve ser realizado e solucionado.

Outras características relacionadas a resistência à endoparasitas devem ser mensuradas, como a resposta imunológica e hormonais, pois assim pode-se obter resultados mais acurados na resistência à parasitose.

O uso de informações genômicas além de trazer uma melhor acurácia no resultado, vem substituindo informações de pedigree, porém deve-se ter a preocupação com a coleta dessas informações pois são bases para o melhoramento genético.

Estudos adicionais são necessários para validar estas associações encontradas neste estudo, para que sejam introduzidas nos programas de melhoramento genético, visando o melhor entendimento dos mecanismos biológicos e da arquitetura genética destas características.