

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO**

Polyana Cristine Tizioto

**Genes candidatos para características de produção de carne em
famílias de referência da raça Nelore**

**São Carlos
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO**

Polyana Cristine Tizioto

Genes candidatos para características de produção de carne em famílias de referência da raça Nelore

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Genética e Evolução do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos para obtenção do título de mestre em Genética e Evolução.

Orientação: Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano

**São Carlos
2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

T625gc

Tizioto, Polyana Cristine.

Genes candidatos para características de produção de carne em famílias de referência da raça Nelore / Polyana Cristine Tizioto. -- São Carlos : UFSCar, 2010.
105 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Genética molecular. 2. Polimorfismo. 3. Zebu. 4. Nelore. 5. Carne bovina. I. Título.

CDD: 574.87328 (20^ª)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

GENES CANDIDATOS PARA CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO DE
CARNE EM FAMÍLIAS DE REFERÊNCIA DA RAÇA NELORE

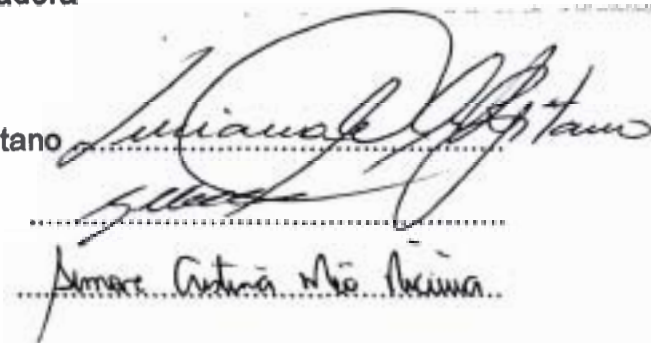
Dissertação de Mestrado de Polyana Cristine Tizioto

Banca Examinadora

Profa. Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano

Prof. Dr. Luiz Lehmann Coutinho

Profa. Dra. Simone Cristina Méo Niciura



Handwritten signatures of the three examiners: Luciana Correia de Almeida Regitano, Luiz Lehmann Coutinho, and Simone Cristina Méo Niciura.

**Dedico este trabalho aos meus pais
Antônio Celso e Rosemary Tizioto
pelo enorme esforço, apoio,
compreensão e amor.**

Agradecimentos

Agradeço à Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano pela orientação, paciência, ensinamentos e amizade.

Aos líderes e componentes da rede “Bife de qualidade”, na qual este projeto está inserido, pela participação e contribuição neste trabalho, em especial à Dra. Fabiane Siqueira, ao Dr. Sérgio Raposo de Meideiros, Dr. Antônio do Nascimento Rosa e Dr. Luiz Otávio Campos da Silva.

Ao Dr. Maurício Mello de Alencar e Dr. Rymer Ramiz Tullio pela essencial participação neste projeto e pelos ensinamentos.

À Embrapa pelo auxílio financeiro.

Aos funcionários da Embrapa, pela convivência, paciência, dedicação e atenção.

À FAPESP pela concessão da bolsa de mestrado e auxílio financeiro.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos pelos ensinamentos.

Aos meus pais Antônio Celso e Rosemary pelo esforço, apoio, incentivo e amor durante toda minha vida. Com certeza são os maiores responsáveis por esta conquista.

À minha irmã Pamela por me apoiar sempre.

À todos do Laboratório de Biotecnologia Animal da Embrapa Pecuária Sudeste. Em especial à Sarah pela amizade e incansável auxílio nas análises estatísticas e à Gisele e Adriana pela amizade, ensinamentos e apoio durante toda realização deste projeto. Ao João José pelo apoio no início do meu mestrado, aos amigos Gustavo, Suelen, Talita e Marcela pelas inúmeras ajudas e companheirismo. Todos vocês foram importantes nesta conquista.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
RESUMO	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. JUSTIFICATIVA.....	19
3. OBJETIVOS.....	20
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
4.1. A RAÇA NELORE NO BRASIL	20
4.2. CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA BOVINA	22
4.3. CARACTERÍSTICAS QUE INFLUENCIAM A QUALIDADE DA CARNE.....	23
4.4. ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA (EGS) E GORDURA INTRAMUSCULAR	24
4.5. ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL).....	25
4.6. CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO	25
4.7. MARCADORES MOLECULARES	26
4.8. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR).....	27
4.9. MICROSSATÉLITES.....	28
4.10. POLIMORFISMOS DE COMPRIMENTO DE FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO OU RFLP.....	29
4.11. SNP (SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS)	30
4.12. GENES CANDIDATOS PARA CARACTERÍSTICA DE PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA.....	31
4.12.1. GENE <i>PPARGC1A</i>	31
4.12.2. GENE <i>FABP4</i>	33
4.12.3. GENE <i>DDEF1</i>	34
4.12.4. GENE <i>PSMC1</i>	35
4.12.5. GENE DA <i>LEPTINA</i>	35
4.12.6. GENE <i>IGF-1</i>	36
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5.1. ANIMAIS.....	37
5.2. SELEÇÃO DE TOUROS.....	38
5.3. LINHAGENS AMOSTRADAS.....	38
5.4. COLETA DE AMOSTRAS E EXTRAÇÃO DO DNA.....	39
5.4.1. AMOSTRA PARA OBTENÇÃO DO DNA DOS TOUROS: SÊMEN CONGELADO.....	39
5.4.2. AMOSTRA PARA OBTENÇÃO DO DNA DOS NOVILHOS: SANGUE.....	40
5.5. MENSURAÇÃO DA ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA (EGS) E ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL)	42
5.5.1. OBTENÇÃO DAS IMAGENS DE ULTRASSOM.....	42
5.5.2. INTERPRETAÇÃO DAS IMAGENS DE ULTRASSOM.....	43

5.6.	PESAGEM DOS ANIMAIS E AJUSTE DOS PESOS.....	45
5.7.	ANÁLISE DOS POLIMORFISMOS	46
5.7.1.	GENE <i>PPARGC1A</i>	46
5.7.1.1.	Amplificação	46
5.7.1.2.	Digestão do produto da PCR	47
5.7.1.3.	Análise dos genótipos	47
5.7.2.	GENE <i>FABP4</i>	48
5.7.2.1.	Desenho de <i>primers</i>	48
5.7.2.2.	Amplificação	48
5.7.2.3.	Digestão do produto da PCR	49
5.7.2.4.	Análise dos genótipos	49
5.7.2.5.	Confirmação da região amplificada e dos genótipos observados pela genotipagem por PCR-RFLP	49
5.7.3.	GENE <i>DDEF1</i>	50
5.7.3.1.	Amplificação	50
5.7.3.2.	Análise dos genótipos	53
5.7.4.	GENE DA <i>LEPTINA</i>	53
5.7.4.1.	Amplificação	53
5.7.4.2.	Digestão do produto da PCR	54
5.7.4.3.	Análise dos genótipos	54
5.7.5.	GENE <i>PSMC1</i>	55
5.7.5.1.	Amplificação	55
5.7.5.2.	Digestão do produto da PCR	55
5.7.5.3.	Análise dos genótipos	56
5.7.6.	GENE <i>IGF-1</i>	56
5.7.6.1.	Amplificação	56
5.7.6.2.	Análise dos genótipos	57
5.8.	ANÁLISE DE RESULTADOS	57
5.8.1.	INVESTIGAÇÃO DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG.....	57
5.8.2.	EFEITO DOS MARCADORES SOBRE A CARACTERÍSTICA EGS E AOL.....	57
5.8.3.	EFEITO DOS MARCADORES SOBRE GANHO DE GORDURA.....	58
5.8.4.	EFEITO DOS MARCADORES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO PESO À DESMAMA E PESO AOS 18 MESES	58
5.8.5.	MODELO ESTATÍSTICO PARA EGS E AOL	59
5.8.6.	MODELO ESTATÍSTICO PARA GANHO DE GORDURA.....	59
5.8.7.	MODELO ESTATÍSTICO PARA AS CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO.....	60
5.8.8.	ESTIMATIVA DOS COMPONENTES DE VARIÂNCIA E DAS HERDABILIDADES (H^2).....	61
5.8.9.	MÉDIAS PARA CADA GENÓTIPO E DIFERENÇA ENTRE MÉDIAS	62
5.8.10.	ANÁLISE DO EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA.....	62
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
6.1.	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO DE CARNE.....	62
6.2.	FREQUÊNCIA ALÉLICA E GENOTÍPICA PARA OS TOUROS	64
6.3.	FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS NAS PROGÊNIES	65
6.4.	TESTE DO EQUILÍBRIO DE HARDY WEINBERG	67
6.5.	ANÁLISES DE VARIÂNCIA.....	67
6.6.	ESTIMATIVAS DOS COMPONENTES DE VARIÂNCIA E DAS HERDABILIDADES DAS CARACTERÍSTICAS ESTUDADAS	70
6.7.	ASSOCIAÇÃO DOS MARCADORES COM EGS E GANHO DE GORDURA.....	71
6.8.	MÉDIAS DA CARACTERÍSTICA EGS PARA OS GENÓTIPOS DO MARCADOR <i>FABP4</i>	77
6.9.	ASSOCIAÇÃO DOS MARCADORES COM AOL	79
6.10.	MÉDIAS DA CARACTERÍSTICA AOL PARA OS GENÓTIPOS DO MARCADOR <i>DDEF1</i>	83

6.11. ASSOCIAÇÃO DOS MARCADORES COM AS CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO PESO À DESMAMA E PESO AO SOBREANO.....	84
6.12. MÉDIAS DAS CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO PARA OS MARCADORES <i>DDEF1</i> E <i>IGF-1</i>	88
6.13. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA.....	90
6.13.1. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE EGS.....	90
6.13.2. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE GANHO DE GORDURA.....	91
6.13.3. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE AOL.....	91
6.13.4. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE PD.....	92
6.13.5. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE PS.....	93
6.13.6. EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE PS.....	93
6.14. TESTE DE COMPARAÇÃO DE MODELOS.....	94
<u>7. CONCLUSÃO.....</u>	<u>94</u>
<u>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</u>	<u>96</u>

Lista de Figuras

FIGURA 1. ANIMAIS DA RAÇA NELORE.....	21
FIGURA 2. PADRÃO DE HERANÇA DO MARCADOR RFLP	30
FIGURA 3. COLETA DE SANGUE ATRAVÉS DA PUNÇÃO DA VEIA JUGULAR	41
FIGURA 4. ELETROFORESE DE DNA GENÔMICO	42
FIGURA 5. ULTRASSONOGRRAFIA REALIZADA NO CORTE TRANSVERSAL DO MÚSCULO LONGISSIMUS ENTRE A 12ª E 13ª COSTELA	43
FIGURA 6. INTERPRETAÇÃO DA MEDIDA DE EGS ENTRE A 12ª E A 13ª COSTELA.....	44
FIGURA 7. INTERPRETAÇÃO DA IMAGEM QUE FORNECE A MEDIDA DE AOL.....	45
FIGURA 8. EXEMPLO DO PERFIL DE AMPLIFICAÇÃO DO ALELO A PARA O POLIMORFISMO NO GENE <i>DDEF1</i>	51
FIGURA 9. EXEMPLO DA REAÇÃO DE AMPLIFICAÇÃO PARA O ALELO G PARA O POLIMORFISMO NO GENE <i>DDEF1</i>	52
FIGURA 10. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>FABP4</i> PARA EGS2.	78
FIGURA 11. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>FABP4</i> PARA GANHO DE GORDURA	79
FIGURA 12. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>DDEF1</i> PARA A PRIMEIRA MEDIDA DE ÁREA DE OLHO (AOL1)	83
FIGURA 13. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>DDEF1</i> PARA A SEGUNDA MEDIDA ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL2).....	84
FIGURA 14. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>DDEF1</i> PARA A CARACTERÍSTICA PESO À DESMAMA (PD)	88
FIGURA 15. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>DDEF1</i> PARA A CARACTERÍSTICA PESO AO SOBREANO (PS)	89
FIGURA 16. GRÁFICO (BLOX PLOT) OBTIDO ATRAVÉS DO SOFTWARE SAS COM AS MÉDIAS DOS GENÓTIPOS DO GENE <i>IGF-1</i> PARA A CARACTERÍSTICA PESO AO SOBREANO (PS).....	90

Lista de tabelas

TABELA 1. LINHAGENS MATERNA E PARTERNA DOS TOUROS.....	39
TABELA 2. SEQUÊNCIA DOS <i>PRIMERS FOWARD</i> E <i>REVERSE</i> UTILIZADOS PARA AMPLIFICAÇÃO DO ÉXON 2 DO GENE <i>FABP4</i>	48
TABELA 3. SEQUÊNCIA DOS PRIMERS UTILIZADOS PARA AMPLIFICAÇÃO DA REGIÃO DO ÍNTRON 13 DO GENE <i>DDEF1</i>	52
TABELA 4. ESTRUTURA DOS DADOS (ESTATÍSTICAS DESCRITIVAS) DAS CARACTERÍSTICAS ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA (EGS), GANHO DE GORDURA (GGORD), ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL), PESO À DESMAMA (PD) E PESO AO SOBREANO (PS) DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	63
TABELA 5. FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS SNPs NOS GENES <i>PPARGC1A</i> , <i>FABP4</i> , <i>DDEF1</i> , <i>PSMC1</i> , <i>LEPTINA</i> E <i>IGF-1</i> OBSERVADAS PARA 30 TOUROS DA RAÇA NELORE.....	64
TABELA 6. FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS SNPs NOS GENES <i>PPARGC1A</i> , <i>FABP4</i> , <i>DDEF1</i> E <i>IGF-1</i> OBSERVADAS PARA OS NOVILHOS DESCENDENTES DE 20 TOUROS DA RAÇA NELORE.....	66
TABELA 7. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DA PRIMEIRA MEDIDA DE ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA, DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	67
TABELA 8. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DA SEGUNDA MEDIDA DE ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA (EGS2), DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	68
TABELA 9. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DO GANHO DE GORDURA, DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	68
TABELA 10. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DA PRIMEIRA MEDIDA DE ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL1), DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	69
TABELA 11. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DA SEGUNDA ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL2), DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	69
TABELA 12. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DA CARACTERÍSTICA PESO À DESMAMA AJUSTADO PARA 240 DIAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	70
TABELA 13. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA DA CARACTERÍSTICA PESO AO SOBREANO AJUSTADO PARA 450 DIAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	70
TABELA 14. ESTIMATIVAS DOS COMPONENTES DA (CO) VARIÂNCIA DO PAI, (CO)VARIÂNCIA DO ERRO E DA HERDABILIDADE (h^2) DA ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA (EGS), DA ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL), DO GANHO DE GORDURA (GGORD), DO PESO À DESMAMA (PD) E DO PESO AO SOBREANO (PS) EM 20 FAMÍLIAS DE MEIO IRMÃOS PATERNOS DA RAÇA NELORE.....	71
TABELA 15. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	72
TABELA 16. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	72
TABELA 17. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	72
TABELA 18. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	73

TABELA 19. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	73
TABELA 20. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	73
TABELA 21. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	74
TABELA 22. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE A CARACTERÍSTICA ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	74
TABELA 23. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE GANHO DE GORDURA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	74
TABELA 24. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE GANHO DE GORDURA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	75
TABELA 25. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE GANHO DE GORDURA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	75
TABELA 26. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE GANHO DE GORDURA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	75
TABELA 27. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA AS MEDIDAS DE ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTES À SEGUNDA ULTRASSONOGRÁFICA (EGS2) OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>FABP4</i>	77
TABELA 28. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA GANHO DE GORDURA OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>FABP4</i>	78
TABELA 29. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	79
TABELA 30. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	80
TABELA 31. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	80
TABELA 32. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL1) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	80
TABELA 33. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	81
TABELA 34. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	81
TABELA 35. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	81
TABELA 36. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA (AOL2) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	82

TABELA 37. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA A PRIMEIRA MEDIDA DE ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL1) OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>DDEF1</i>	83
TABELA 38. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA A SEGUNDA MEDIDA DE ÁREA DE OLHO DE LOMBO FINAL (AOL2) OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>DDEF1</i>	83
TABELA 39. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE PESO À DESMAMA (PD) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	84
TABELA 40. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE PESO À DESMAMA (PD) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	85
TABELA 41. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE PESO À DESMAMA (PD) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	85
TABELA 42 RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE PESO À DESMAMA (PD) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	85
TABELA 43. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>PPARGC1A</i> SOBRE PESO AO SOBREANO (PS) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	86
TABELA 44. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>FABP4</i> SOBRE PESO AO SOBREANO (PS) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE.....	86
TABELA 45. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>DDEF1</i> SOBRE PESO AO SOBREANO (PS) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	86
TABELA 46. RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA INCLUINDO O EFEITO DO MARCADOR <i>IGF-1</i> SOBRE PESO AO SOBREANO (PS) EM BOVINOS DA RAÇA NELORE	86
TABELA 47. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA A CARACTERÍSTICA DE PESO À DESMAMA OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>DDEF1</i>	88
TABELA 48. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA A CARACTERÍSTICA DE PESO AO SOBREANO OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>DDEF1</i>	89
TABELA 49. MÉDIA E ERRO PADRÃO PARA A CARACTERÍSTICA DE PESO AO SOBREANO OBSERVADOS PARA CADA GENÓTIPO DO GENE <i>IGF-1</i>	89
TABELA 50. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CARACTERÍSTICA ESPESURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA REFERENTE À SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>FABP4</i>	91
TABELA 51. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE GANHO DE GORDURA PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>FABP4</i>	91
TABELA 52. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE À PRIMEIRA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i>	92
TABELA 53. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA ÁREA DE OLHO DE LOMBO REFERENTE A SEGUNDA MEDIDA ULTRASSONOGRÁFICA PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i>	92
TABELA 54. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CARACTERÍSTICA PESO À DESMAMA PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i>	92
TABELA 55. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CARACTERÍSTICA PESO AO SOBREANO PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>DDEF1</i>	93
TABELA 56. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA CARACTERÍSTICA PESO AO SOBREANO PARA O EFEITO DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA DO MARCADOR <i>IGF-1</i>	93

Resumo

Para que a produção de carne se mantenha competitiva no mercado, é fundamental que o produtor brasileiro esteja atento aos critérios requeridos pelos consumidores dos mercados locais e internacionais. Um dos fatores que determina a qualidade da carne bovina é a genética, sendo, portanto necessário conduzir estudos no Brasil relacionados à variação genética de características que influenciam a qualidade da carcaça e da carne bovina para que se possam delinear programas de melhoramento no sentido de aperfeiçoar tais atributos. A espessura de gordura subcutânea (EGS) e a área de olho de lombo (AOL) são características de mensuração tardia, por isso, a investigação de marcadores moleculares associados com essas características pode ajudar na inclusão das mesmas em programas de melhoramento. Em bovinos, alguns polimorfismos já foram relacionados com características de produção de carne. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de polimorfismos nos genes candidatos *PPARGC1A* (*peroxisome proliferative active receptor gamma coactivator 1A*), *FABP4* (*fatty acid binding protein 4*), *DDEF1* (*development and differentiation enhancing factor 1*), *Leptina*, *PSMC1* (*proteasome 26S subunit, ATPase, 1*) e *IGF-1* (*insulin-like growth factor*) e associá-los com características de produção de carne em famílias de referência da raça Nelore. Foram utilizados 270 novilhos machos, descendentes de 20 touros, escolhidos para representar a variabilidade dentro da raça Nelore. Os touros foram genotipados para todos marcadores para investigar a distribuição alélica dentro da raça. Os SNPs dos genes *Leptina* e *PSMC1* apresentaram-se fixados na amostra, sendo assim, estes não foram genotipados na progênie, enquanto os demais marcadores foram genotipados para toda população. A investigação dos efeitos dos marcadores sobre as características foi realizada através de um modelo misto, incluindo efeitos fixos e aleatórios, utilizando o método de máxima verossimilhança restrita. Foi encontrada uma associação significativa ($P < 0,05$) entre o marcador *FABP4* e EGS e associação sugestiva ($P < 0,10$) entre ganho de gordura no confinamento e este marcador. Foi encontrada associação significativa entre o polimorfismo no gene *DDEF1* e AOL, peso à desmama (PD) e peso ao sobreano (PS) e associação sugestiva entre o polimorfismo do gene *IGF-1* e PS em bovinos da raça Nelore.

Palavras-chave: Carne; características de produção; polimorfismo; Nelore; *Bos indicus*.

Abstract

To remain competitive in the market of meat production, it is crucial that the Brazilian producer is aware of the criteria used by consumers for local and international markets. One factor that determines the beef quality is genetics, so it is necessary to conduct studies in Brazil to understand the genetic variation of carcass and meat quality traits in order to outline plans to improve such attributes. Backfat thickness (BFT) and ribeye area (RAE) are characteristics of late measurements, so the investigation of molecular markers associated with these characteristics can help in their inclusion in breeding programs. In cattle, some polymorphisms have been related to characteristics of meat production. Thus, this work aimed to assess the presence of polymorphisms in candidate genes *PPARGC1A* (peroxisome proliferative active receptor gamma coactivator 1A), *FABP4* (fatty acid binding protein 4), *DDEF1* (development and differentiation enhancing factor 1), Leptin, *PSMC1* (proteasome 26S subunit, ATPase, 1) and *IGF-1* (insulin-like growth factors) and associate them with production traits in reference families of Nellore breed. We used 280 steers descendants of 20 sires, that were chosen to represent the variability in Nellore. The sires were genotyped for all markers to investigate their allelic distribution within the race. The SNPs of the leptin and *PSMC1* genes showed no variability in the bulls, so these were not genotyped in the progeny. The other markers were genotyped for the whole population. The investigation of the effects of markers on the characteristics was performed using a mixed model, including fixed and random effects, using the restricted maximum likelihood method. There was a significant association ($P < 0,05$) between *FABP4* and BFT and a suggestive association ($P < 0,10$) between fat gain in the feedlot and these marker. Significant association was found between RAE, weaning weight (WW) and yearling weight (YW) and the *DDEF1* gene and a suggestive association between the *IGF-1* gene and YW in this sample of Nellore cattle.

Key-Words: Beef; production traits; polymorphism; Nellore; *Bos indicus*.

1. Introdução

O rebanho de bovinos brasileiro é constituído principalmente por raças zebuínas, sendo a raça Nelore a que apresenta maior destaque. Segundo Restle et al. (2000) considerando toda extensão do território brasileiro, a raça Nelore se destaca em número de animais e tem sido fundamental em cruzamentos com as raças de origem européia. O gado Nelore é de origem Indiana e adaptou-se bem ao Brasil devido às condições climáticas do país serem semelhantes às condições encontradas na Índia.

As raças zebuínas apesar de estarem incluídas em programas de melhoramento e sendo selecionadas principalmente para características de crescimento, reprodutivas e morfológicas, foram menos intensamente selecionadas para alguns atributos de valor econômico, entre eles, a qualidade de carne, especialmente no que diz respeito à maciez das fibras musculares.

O Brasil, no cenário mundial, apresenta o segundo maior rebanho de gado bovino, com cerca de 160 milhões de animais, em 2007. É o terceiro maior produtor mundial de carne bovina (7,8 milhões de toneladas de equivalente-carcaça), perdendo apenas para Estados Unidos e União Européia (ANUALPEC, 2008).

Ainda que o Brasil esteja consolidado no comércio internacional de carne bovina, sua competitividade se reduz aos preços baixos da *commodity* frente à concorrência e à variação cambial (FAVA NEVES et al. 2003). Há alguns anos, o consumo de carne bovina vem perdendo espaço para as carnes de aves e suínos, devido à falta de qualidade do produto que tem sido oferecido ao consumidor (RESTLE et al. 2001).

Com a atual realidade econômica do país, é necessário que o produtor de carne bovina mantenha-se competitivo, investindo em eficiência produtiva para aumentar a lucratividade. Para isso, há alternativas disponíveis ao produtor rural, como por exemplo, o uso do confinamento e conseqüente aumento do ganho de peso, melhor aproveitamento da terra e melhoria da qualidade de carcaça e da carne dos animais (ARBOITTE et al. 2004).

Na visão social, investir na melhoria da qualidade de carne bovina pode contribuir na geração de novos empregos, tanto no campo, pelo uso da tecnologia e intensificação dos sistemas produtivos, quanto na indústria de processamento, no

trabalho de corte e embalagem, e ainda na produção de insumos e prestação de serviços.

Sendo o Brasil um dos principais produtores de carne bovina do mundo, é necessário preocupar-se com as características que influenciam a qualidade da carcaça e da carne bovina, visando assim atender as exigências dos consumidores, tanto dos frigoríficos que compram carcaças bovinas, como dos consumidores dos cortes da carne bovina.

Restle et al. (1996) mencionam que os frigoríficos, costumam pagar melhores preços por animais de maior peso porque assim têm maior rendimento de carne por unidade de animal. Entretanto alguns estudos relacionam os elevados pesos de abate dos animais com queda na maciez da carne. Além do maior rendimento, os frigoríficos requerem quantidade e distribuição adequada de gordura na carcaça.

Especificamente no caso das carnes, os principais atributos de qualidade valorizados pelo consumidor, segundo Leidenz (2000) e Fava Neves et al. (2003), são a palatabilidade (representada por maciez, sabor e suculência), a aparência (cor, firmeza e marmorização), a conveniência (produto cortado ou fatiado), a nutrição e saúde (teores de ferro, zinco, colesterol, etc.) e a segurança alimentar (ausência de patógenos e de resíduos). No Brasil, apesar de todos os fatores terem relevância, o preço ainda é o quesito que mais determina o consumo.

Segundo Ribeiro et al. (2002), diversos estudos têm demonstrado que a maciez da carne é uma das condições mais desejáveis pelos consumidores e, na contemporânea indústria da carne, a variação encontrada na maciez tem sido assinalada como o problema central na qualidade final do produto. Oliveira (2000) propõe que a criação dos mercados comuns e ampliação da possibilidade de exportação de carne fresca brasileira acentuam o problema de maciez da carne, uma vez que o Brasil tem o risco de ser conhecido como um produtor de carne de baixa qualidade (dura, escura, pouco suculenta, etc.).

Outro fator notável na carne como produto é a coloração que, na carne fresca, é determinada de acordo com a proporção das mioglobinas (oximioglobina e metamioglobina). A oximioglobina é a responsável por atribuir à carne uma aparência de frescor, pois se torna vermelha quando o músculo é exposto ao oxigênio (SEIDEMAN et al. 1984; LAWRIE, 1985, citados por RIBEIRO et al. 2002).

A composição em aminoácidos essenciais, lipídeos, vitaminas e sais minerais da carne bovina confere a esse alimento alto valor nutricional na composição da dieta humana (COSTA et al. 2002 a). Segundo Arboitte et al. (2004) a quantidade de lipídeos e colesterol presentes na carne bovina tem recebido crescente atenção, devido à preocupação do excesso de ingestão de calorias e seu possível efeito nocivo à saúde humana.

A espessura de gordura subcutânea é um dos parâmetros para avaliação da carcaça bovina que influencia diretamente a classificação e pagamento da carcaça nos frigoríficos brasileiros (ROCHA, 1999). Apesar da gordura na carne normalmente não ser desejada para consumo humano, pelo fato de seu consumo excessivo poder causar doenças coronárias, nas últimas décadas, a gordura subcutânea ou de cobertura vem sendo considerada como um importante fator na qualidade final da carne. Isso porque a quantidade de gordura subcutânea afeta a velocidade de resfriamento da carcaça, funcionando como isolante térmico, impedindo que a carne sofra mudança brusca de temperatura, que resultaria em excessiva contração das fibras musculares e consequente redução na maciez da carne. (FELÍCIO, 1997)

O investimento na produção de carne de alto valor qualitativo permitirá ao país explorar áreas de mercado de alto valor agregado, tanto no âmbito nacional quanto internacional. Um dos fatores que determinam a qualidade de carne bovina é a genética, além de diversos fatores ambientais. O melhoramento genético animal permite a mudança da composição genética das populações bovinas, basicamente explorando a variabilidade biológica dos animais dentro das espécies. Dentre as estratégias do melhoramento genético está a seleção para características de interesse econômico dentro de uma raça ou população. Inicialmente esta alternativa depende da variação genética existente para as características nos rebanhos bovinos disponíveis para reprodução e, posteriormente, da determinação de critérios de seleção a serem utilizados nos programas, por meio de avaliação genética, e/ou assistida por marcadores moleculares. Portanto, a quantificação da variação genética existente e a prospecção de genes ou segmentos genômicos que influenciam as características desejadas na população de interesse são fundamentais para o estabelecimento de critérios quantitativos e moleculares para a seleção.

Uma vez que não há pouca disponibilidade dessas informações para raça Nelore no Brasil, é necessário formar uma estrutura experimental para produzir os dados especialmente para tal finalidade, permitindo controlar os fatores ambientais que afetam as características de produção.

É indiscutível que os programas de melhoramento genético tradicionais promoveram progressos no desempenho produtivo e reprodutivo de bovinos, porém estes possuem limitações quando se trata da seleção de características de difícil mensuração ou de mensuração tardia e de características que possuem baixa herdabilidade. Neste âmbito, os marcadores moleculares podem auxiliar o melhoramento genético animal.

Marcadores moleculares podem ser definidos como variações na sequência do DNA, entre indivíduos que são herdadas de acordo com os princípios da herança Mendeliana. Os marcadores moleculares disponíveis podem ser diferenciados pela tecnologia utilizada para revelar a variabilidade das sequências de DNA, e assim variam quanto à aptidão de detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, etc.

As análises do genoma bovino, incluindo mapeamento de QTLs (*Quantitative trait loci*), SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) e, mais recentemente, a genotipagem em larga escala, poderão contribuir para a seleção precoce de bovinos. Assim com o uso dos marcadores moleculares pretende-se aumentar a eficiência da seleção, antecipando o tempo de seleção, ou aumentando a acurácia da seleção (DAVIS; DANISE, 1998). Deve-se lembrar que a seleção assistida por marcadores pode auxiliar a seleção tradicional, mas não substituí-la, pois o máximo benefício será obtido quando as duas estratégias forem utilizadas simultaneamente.

Marcadores microssatélites também denominados SSR (do inglês *Simple Sequence Repeats*) são regiões no genoma que apresentam sequência de uma a seis bases repetidas em *tandem*. Regiões microssatélites podem ser encontrados em todos os lugares do genoma, tanto em regiões codificantes, como em não codificantes, e apresentam alta frequência nos genomas de eucariotos. Por causa da alta taxa de mutação, os microssatélites podem exercer um papel significativo na evolução do genoma, criando e mantendo a variação genética quantitativa (TÓTH et al. 2000). No que diz respeito ao melhoramento genético animal, os marcadores microssatélites têm sido utilizados para o mapeamento

genético, identificação de locos que podem influenciar características quantitativas, ou seja, para identificação de QTLs, e também em exames de paternidade, que auxiliam, na construção de pedigrees.

Em bovinos, alguns polimorfismos de único nucleotídeo ou SNPs foram relacionados com características de produção de carne. Os SNPs são abundantes fontes de variação genética presentes em indivíduos de uma mesma espécie (JORDAN et al. 2002). Vários estudos têm sido desenvolvidos para identificação de SNPs, incluindo estudos sobre genes específicos para características produtivas (NICKERSON et al. 1998).

O gene *PPARGC1A* (*peroxisome proliferative active receptor gamma coactivator 1A*) localizado no cromossomo 6 de bovinos (BTA 6) é um gene candidato posicional e funcional para influenciar o desenvolvimento da obesidade. Este tem tido SNPs associados à qualidade de carne e às características de gordura em suínos (STACHOWIAK et al. 2007). Outros estudos têm associado o gene *PPARGC1A* com a produção de gordura no leite em bovinos (WEIKARD et al. 2005).

Proteínas de ligação de ácidos graxos, FABP (do inglês *fatty acid binding proteins*) são proteínas citoplasmáticas, pequenas e altamente conservadas, que ligam longas cadeias de ácidos graxos e outros ligantes hidrofóbicos (Kaikaus et al. 1990). Segundo Michal et al. (2006), as principais funções destas proteínas são captação de ácidos graxos, transporte e metabolismo. O gene *FABP4* que está localizado no BTA 14, codifica uma destas proteínas (*fatty acid binding protein 4*). Proteínas ligadoras de ácidos graxos desempenham um importante papel na regulação da homeostase de lipídios e glicose através da interação com receptores *peroxisome proliferatoractivated* (PPARs), que estão localizados no núcleo celular.

Estudo conduzido por King et al. (1999) indica que *DDEF1* é uma importante proteína de transdução de sinal envolvida na adipogênese. O gene *DDEF1* (*development and differentiation enhancing factor 1*), também conhecido como Arf-GAP, está localizado no BTA 14. Veneroni et al. (2008) identificaram um SNP no íntron 13 do gene *DDEF1* e investigaram a possível associação deste com espessura de gordura em bovinos da raça Canchim.

O proteosoma 26S é uma protease dependente de ATP que possui papel fundamental em muitas vias regulatórias, como a regulação do ciclo celular, diferenciação e apoptose (GUO et al. 2008). O gene *PSMC1* (*proteasome 26S subunit, ATPase, 1*) foi mapeado no cromossomo 10 de bovinos e há relatos de

associação de um SNP (G/A) localizado no íntron 9 com diversas características, entre elas, espessura de gordura (GUO et al. 2008).

O gene da *Leptina* (“gene da obesidade”) localizado no cromossomo 4 de *Bos taurus* (BTA 4) é um gene considerado candidato para qualidade de carne, principalmente para teor de gordura na carne e no tecido subcutâneo. A *Leptina* é sintetizada e expressa predominantemente nos adipócitos, e está relacionada com o sistema que regula em longo prazo a gordura corporal. Estudos têm encontrado associações entre concentração de *Leptina* sérica e depósito de gordura e características de carcaça em bovinos (TANIGUCHI et al. 2002). Alguns SNPs têm sido relatados no gene da *Leptina*. Associações entre polimorfismos moleculares do gene da *Leptina* e características de carcaça ou de qualidade de carne têm sido descritas em bovinos.

O fator de crescimento semelhante à insulina -1 ou *IGF-1* (do inglês *insulin-like growth factors*) tem papel na regulação do crescimento e do metabolismo, na reprodução, lactação e função imune (MCGUIRE et al. 1992). O gene *IGF-1* foi mapeado no cromossomo 5 de bovinos e estudos como o de Casas et al. (2000) têm identificado QTLs na vizinhança do gene *IGF-1*, associado com níveis de gordura e características de carcaça.

Estudos com diferentes populações são necessários para caracterizar adequadamente a significância estatística e a magnitude do efeito das associações de polimorfismos em genes candidatos com características economicamente importantes de populações bovinas, antes que essas informações possam ser usadas eficientemente pelos produtores (SCHENKEL et al. 2005).

2. Justificativa

A raça Nelore é de extrema importância para agropecuária brasileira devido aos seus altos índices de desempenho produtivo e reprodutivo. Apesar de estar incluída em programas de melhoramento no Brasil, está sendo pouco selecionada para características que influenciam a qualidade da carne. A investigação da presença de polimorfismos em genes candidatos e o estudo da associação entre estes marcadores e características de produção de carne em populações de animais Nelore podem contribuir para gerar um conhecimento novo, que futuramente pode ser empregado para auxiliar os programas de melhoramento

na seleção precoce de animais com base nestas características. Estudos sobre o papel de genes candidatos para características de produção de carne de bovinos da raça Nelore ainda são incipientes, razão pela qual propusemos a realização dessa pesquisa.

3. Objetivos

O presente projeto teve por objetivo avaliar a presença de polimorfismos nos genes candidatos *PPARGC1A*, *FABP4*, *DDEF1*, *PSMC1*, *Leptina* e *IGF-1* em famílias de referência da raça Nelore e relacioná-los com as características de produção de carne EGS, ganho de gordura, AOL, PD e PS.

4. Revisão Bibliográfica

4.1. A Raça Nelore no Brasil

Os bovinos podem ser classificados em dois grandes grupos de acordo com sua origem e distribuição geográfica: o tipo *Bos taurus*, representado pelos bovinos europeus, e o tipo *Bos indicus*, originário da Ásia. Animais *Bos indicus*, quando comparados com animais *Bos taurus* apresentam maior tolerância ao calor, resistência a parasitas e fertilidade (MARQUES, 1976).

O germoplasma de bovinos pertencentes ao grupo *Bos taurus* foi introduzido no Brasil há cerca de 460 anos. No século XIX animais *Bos indicus* foram importados da Índia e, desde então, os zebuínos vêm dando sustentação à pecuária de corte e leite no Brasil (MAGNABOSCO et al. 1997).

Em seu país de origem a raça Nelore (Figura 1) era utilizada para produção de leite, porém no Brasil, foi incluída em programas de melhoramento genético para produção de carne. Esta raça constitui um grande patrimônio genético para a bovinocultura brasileira como produtora de carne e devido aos índices de desempenho econômicos notáveis (COSTA et al. 2007).

É provável que o primeiro rebanho de zebuínos no Brasil tenha sido estabelecido em 1826 na fazenda Santa Cruz, no Rio de Janeiro, cujo proprietário era Dom Pedro I. Estima-se que o número de zebuínos importados da Índia para o Brasil aproxima-se de 7.000 cabeças de animais.

O rebanho brasileiro atual é constituído principalmente por raças zebuínas (cerca de 80%), sendo a raça que apresenta maior expressão a Nelore, devido ao seu papel fundamental para a pecuária de corte nacional. Animais da raça Nelore se adaptaram muito bem em nosso país, devido às semelhanças das condições ambientais locais com as da Índia, caracterizadas pelo clima predominantemente tropical (MAGNABOSCO et al. 1997).

Dentre as características adaptativas da raça Nelore, podemos citar que esta apresenta maior resistência natural a parasitas e resistência ao calor quando comparada com raças de origem europeia.

As linhagens dentro da raça Nelore podem ser divididas em importada e nacional. A linhagem importada é constituída por animais genearcas trazidos para o Brasil e que se destacaram pelas características fenotípicas que possuíam. Estes animais contribuíram significativamente para a caracterização do rebanho brasileiro. As principais linhagens predominantes da raça Nelore são: Karvardi, Taj Mahal, Golias, Godhavari e Rastan (MAGNABOSCO et al. 1997).



Figura 1. Animais da raça Nelore

4.2. Características da carcaça bovina

À medida que a demanda interna por carne bovina aumenta, as exigências quanto à qualidade do produto também aumentam. Por outro lado, para manter e ampliar a posição do Brasil como um dos países que mais produz e exporta carne bovina, é necessário adequar a produção brasileira de carne aos padrões e exigências estabelecidos pelos importadores (PEROTTO et al. 1999).

O que se busca em bovinos de corte, para se obter bom rendimento da carcaça segundo Moletta (1990), é que os animais sejam capazes de direcionar grande quantidade de energia alimentar para produção de carne comercializável, sendo assim, estes animais têm que apresentar um grande potencial para ganho de peso, boa relação músculo: osso e proporções adequadas de gordura corporal.

As características da carcaça bovina são importantes quando se quer avaliar a qualidade do produto final de um sistema de produção. O rendimento de carcaça e dos cortes comerciais, além do peso de carcaça são medidas de interesse dos frigoríficos para avaliação do valor do produto adquirido e dos custos operacionais, uma vez que carcaças com pesos diferentes requerem a mesma quantidade de mão-de-obra e tempo necessário para processamento. O peso de carcaça normalmente requerido pelos frigoríficos é acima de 230 kg, entretanto carcaças acima de 180 kg têm sido aceitas pelos açougues e supermercados (COSTA et al. 2002 b).

Segundo Perotto et al. (1999), o valor comercial de uma carcaça bovina, além de ser influenciado por características como peso, conformação e rendimento, é influenciado também pela quantidade de gordura subcutânea e o marmoreio. Estes fatores podem ser modificados pelo manejo dos animais, como por exemplo, a duração do confinamento, a proporção de concentrado da dieta, pela seleção ou pelos cruzamentos.

Características importantes da carcaça, como a carne aproveitável, a cobertura de gordura, os subprodutos da desossa, a maciez, entre outras, estão intimamente relacionadas à idade de abate do animal, ao seu grau de acabamento e ao seu peso de carcaça (MORRIS et al., 1993).

4.3. Características que influenciam a qualidade da carne

A importância da pecuária de corte para o agronegócio brasileiro aumenta à medida que cresce o consumo de carne, o que é acompanhado por aumento no nível de exigência do mercado consumidor (COSTA et al. 2007).

Para avaliar a qualidade da carne bovina, além de medidas físicas, químicas e microbiológicas, são desejáveis informações obtidas em análises sensoriais. A cor, maciez, sabor e suculência, são características determinantes para qualidade da carne.

Quando o consumidor compra um corte de carne, ele deseja que esta provenha de um animal saudável e possua atributos desejados para melhor apreciação. Consumidores da carne bovina levam em conta também a aparência do produto, visualizada através, por exemplo, da distribuição e quantidade de gordura do corte da carne, embalagem, higiene etc. (FELÍCIO, 1998).

A cor da carne, relacionada ao frescor do produto, é influenciada por diversos fatores como espécie e idade do animal, corte da carne, capacidade de retenção de água, grau de deterioração da carne, quantidade de gordura, etc. A suculência, que aumenta o sabor e contribui para a maciez da carne, é influenciada pela quantidade de água retida no produto acabado e quantidade de gordura. A maciez da carne, muito requerida pelos consumidores, está relacionada a diferentes fatores, como idade do animal, sexo e localização do músculo. Outros fatores importantes para a maciez é o estado da carne no processo industrial de abate e a temperatura a que a carne fica exposta nos frigoríficos (FELÍCIO, 1999).

A gordura subcutânea, além de ser um componente notável no sabor da carne bovina, atua como isolante térmico sendo um fator importante na conservação da carne.

Estudos que objetivam avaliar a qualidade da carne são planejados para avaliação tanto das propriedades da carne fresca, como características da carne pronta para ser consumida. Após o abate do animal, na análise da cor da carne fresca, é medido o pH e/ou é utilizado um valor obtido por colorimetria. A gordura subcutânea pode ser medida diretamente em um corte específico, porém pode também ser medida no animal vivo através de imagens obtidas por ultrassonografia. A maciez da carne é influenciada pelo grau de marmorização da carne fresca (quantidade de gordura intramuscular) e é estimada através da força

de cisalhamento da carne assada e análise sensorial. A suculência é julgada através do acabamento, teor de lipídios intramusculares, análise sensorial e capacidade de retenção de água (FELÍCIO, 1998).

4.4. Espessura de gordura subcutânea (EGS) e gordura intramuscular

O tecido adiposo é um tipo especializado de tecido conjuntivo com predominância de células adiposas, conhecidas como adipócitos, que armazenam gorduras neutras e servem como reservatório de energia. Os adipócitos preenchem o espaço entre os tecidos, proporcionando um efeito anti - choque, isolante térmico e fonte de calor ao corpo (SARCINELLI et al. 2007).

Segundo Sarcinelli et al. (2007) a gordura apresenta importância no sabor, maciez e suculência na carne. De acordo com a localização de deposição na carcaça pode-se classificar a gordura em externa (subcutânea), interna (envolvendo os órgãos e vísceras), intermuscular (ao redor dos músculos) e intramuscular (gordura entremeada às fibras musculares conhecida também como marmoreio). Segundo Perón et al. (1993), a raça do animal e o estado fisiológico e nutricional influenciam o tamanho de cada depósito de gordura.

A espessura de gordura subcutânea é importante na conservação da carne, pois diminui os efeitos *post – mortem*, atuando como isolante térmico impede que as fibras musculares sofram intensa contração e reduz as perdas por desidratação durante o resfriamento, ajudando a conservar assim a cor e maciez da carne.

A gordura intramuscular ou marmoreio favorece a mastigação devido à ação lubrificante das gorduras e influencia o sabor e a suculência da carne. O marmoreio é um requisito para classificação de carcaças principalmente em mercados externos, como o Norte-Americano.

Por quantidade e distribuição de gordura ter um importante impacto na qualidade da carcaça e da carne de bovinos, valores ideais de gordura são um dos principais objetivos para melhorar a rentabilidade da indústria da carne. Segundo Felício (1993) apesar de haver registros de coeficientes de herdabilidade na faixa de 0,10 a 0,60 para características como gordura subcutânea e intramuscular, concentração de mioglobina e maciez da carne, é pouco provável que os criadores selecionem ou orientem acasalamentos com base nessas características, com

tantas outras, produtivas e reprodutivas, a serem consideradas em programas de melhoramento genético de bovinos de corte. Sendo assim, o desenvolvimento de marcadores moleculares associados a essas características auxilia a incorporar a seleção para as mesmas no melhoramento tradicional. O mapeamento de QTLs e a identificação de genes candidatos podem promover um progresso em direção a este objetivo, já que a mensuração da gordura de animais ocorre tardiamente (BASARAB et al. 2004).

4.5. Área de Olho de lombo (AOL)

A conformação da carcaça expressa o desenvolvimento das massas musculares, e o acabamento expressa a distribuição e a quantidade de gordura de cobertura da carcaça. Uma maneira de estimar o desenvolvimento muscular é através da observação da área da seção transversal do músculo *Longissimus* (entre a 12^a e 13^a costela), que é denominado de área de olho de lombo. Assim, a área do músculo *Longissimus* tem sido utilizada como um índice de musculosidade do animal e como indicador de rendimentos dos cortes de alto valor comercial. Segundo Figueiredo (2001) estudos indicam que quanto maior a área de olho de lombo (AOL), maior será o rendimento da carcaça em cortes comercializáveis

Segundo Luchiari Filho (2000) a avaliação ultrassonográfica feita entre a 12^a e 13^a costela para obtenção das medidas de espessura de gordura subcutânea e da área de olho de lombo, tem sido aceita e utilizada como indicadores da composição da carcaça. Além disso, a avaliação ultrassonográfica permite a coleta de medidas fenotípicas, inclusive para estudo de associação com marcadores moleculares, *in vivo*.

É pouco provável que os produtores orientem acasalamentos com base nesta característica, uma vez que esta é de mensuração tardia e implica em investimento razoável. Neste âmbito, estudos têm sido conduzidos para desenvolver marcadores moleculares associados com AOL.

4.6. Características de crescimento

A avaliação da eficiência produtiva é importante para a exploração de bovinos de corte e pode ser quantificada, por exemplo, pela quantidade de

quilogramas de bezerras desmamadas por vaca durante o ano, o que pode refletir a rentabilidade do rebanho.

Ao avaliar características de crescimento como o peso à desmama e peso ao sobreano avalia-se o potencial genético de crescimento do indivíduo (Souza et al. 2000). A identificação de marcadores associados com características de crescimento pode ajudar na seleção de reprodutores a fim de produzir rebanhos mais rentáveis e pode permitir estabelecer um perfil produtivo para características economicamente importantes desde o nascimento.

Segundo Pereira (1994), o peso à desmama é uma medida importante em bovinos de corte, uma vez que, ao desmame do animal têm-se os primeiros dados sobre seu desempenho que também permite avaliar a habilidade materna das vacas.

O peso ao sobreano é importante por ser a última pesagem realizada pela maioria dos criadores antes que os animais sejam vendidos, sendo assim o peso mais próximo do peso ao abate, apresentando maiores correlações com este. (DIAZ et al. 2009)

4.7. Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são variantes na sequência de DNA e são utilizados para acompanhar a dinâmica dos genes em populações.

Os marcadores moleculares podem estar ligados a locos que determinam características de interesse, situação em que podem ser utilizados na seleção assistida por marcadores (ALZATE-MARIN et al. 2005). A base teórica da seleção assistida por marcadores é que genes de efeito significativo podem ser alvos específicos na seleção.

Marcadores moleculares têm outras contribuições no melhoramento genético, pois através destes são feitas análises de paternidade, que fornecem informações exatas de pedigree, auxiliando assim na correta estimativa do valor genético, além de serem utilizados para o diagnóstico de doenças monogênicas.

A seleção assistida por marcadores pode utilizar tanto marcadores diretos como indiretos. Os marcadores indiretos estão ligados a genes de interesse e fornecem o genótipo do marcador, porém nem sempre é possível inferir com certeza o genótipo do gene ligado.

Diversos estudos vêm sendo realizados a fim de determinar marcadores moleculares constituídos de polimorfismos em genes que tenham efeito em características de interesse comercial em bovinos. A frequência desses marcadores muda consideravelmente entre raças e populações. A grande promessa dos marcadores moleculares na pecuária é que estes tenham uma aplicação direta na seleção precoce de animais, a fim de aumentar a frequência do alelo favorável para características de interesse ou auxiliar na introgressão do alelo favorável na população.

Segundo Vignal et al. (2002) dois pontos têm que ser considerados quando se utilizam marcadores moleculares para estudos genéticos. Do ponto de vista de biólogos moleculares o procedimento de genotipagem deve ser mais simples e ter menor custo possível, uma vez que gera uma grande quantidade de dados é necessário. Já do ponto de vista de estatísticos, de acordo com o tipo de análise a ser executada, algumas características são importantes como relações de dominância, neutralidade e posição no mapa.

Técnicas que utilizam como base a reação em cadeia da polimerase (PCR) têm acelerado o desenvolvimento de novos sistemas para obtenção de marcadores de DNA, tal como microssatélites, RFLP, etc. (SALLA et al. 2002).

4.8. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A reação em cadeia da polimerase (PCR) em inglês *Polymerase Chain Reaction* tem revolucionado a análise do DNA (EDWARDS et al. 1991). Esta técnica permite, através da replicação do DNA *in vitro*, a produção de milhões de cópias de um gene ou de um fragmento específico do DNA, fazendo clones deste fragmento, sem o uso de um organismo vivo, por exemplo, uma bactéria. A reação de PCR utiliza-se de um aparelho conhecido como termociclador, que permite programar as temperaturas necessárias para que ocorram as diferentes etapas da reação, em períodos de tempo controlados.

A reação de PCR ocorre em diversas etapas, na primeira etapa ocorre a desnaturação do DNA, em que as amostras são aquecidas a aproximadamente 95°C por alguns minutos, permitindo que haja a separação das fitas do DNA. A seguir, a temperatura decresce para a temperatura em que ocorre o anelamento dos iniciadores (*primers*) de DNA. Estes iniciadores são uma sequência de cerca de vinte

nucleotídeos, que têm sequência definida de acordo com a região do DNA que se deseja amplificar. Os iniciadores se ligarão na fita de DNA, marcando as extremidades da sequência alvo. Após este passo, haverá a extensão, fase em que a enzima Taq DNA polimerase irá adicionar nucleotídeos a partir da extremidade 3' de cada um dos primers. A Taq polimerase é uma polimerase de DNA termo-estável, isolada do organismo *Thermus aquaticus*, que se mantém ativa em temperaturas elevadas.

Essas etapas são repetidas cerca de trinta vezes (trinta ciclos) para se obter inúmeras cópias da sequência que se deseja amplificar, permitindo assim, a visualização e análise deste fragmento de DNA por separação eletroforética, por exemplo.

4.9. Microssatélites

Um DNA microssatélite é uma classe de DNA repetitivo com base em repetições de poucos nucleotídeos, geralmente dinucleotídeos. O tipo mais comum é a repetição em *tandem* de Citosina e Adenina, ou seja, repetição CA. A detecção destes segmentos repetitivos é feita através da PCR utilizando *primers* que contêm parte da sequência franqueadora de cópia única. Uma alta proporção de *primers* para amplificação de locos microssatélites revela pelo menos três alelos, caracterizados por produtos de amplificação de tamanhos diferentes (GRIFFITHS et al. 1999).

Os microssatélites são encontrados em abundância no genoma de eucariotos, podendo ocorrer em qualquer região do genoma, porém, estudos revelam que DNAs microssatélites são menos abundantes em éxons do que em regiões não codificadoras (HANCOCK, 1995). Dentre todos os tipos de marcadores moleculares, os microssatélites apresentam maior conteúdo informativo por loco, já que estes são multialélicos.

Segundo Tóth et al. (2000) dois modelos têm sido propostos para a geração e instabilidade dos microssatélites: erro da DNA polimerase e recombinação desigual.

Os marcadores microssatélites têm herança codominante e pelo fato de possuírem muitos alelos segregando, são adequados para realização de testes de paternidade.

Além disso, estes marcadores são utilizados para construção de mapas genéticos que permitem a cobertura do genoma, localização de regiões genômicas que controlam características quantitativas de interesse econômico (identificação de QTLs), a quantificação do efeito dessas regiões na característica de interesse e a possibilidade do uso dessa informação em programas de melhoramento genético (LEE, 1995).

4.10. Polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição ou RFLP

A técnica de análise de polimorfismos de comprimento de fragmento de DNA (RFLP, do inglês “Restriction Fragment Length Polymorphism”) foi possível devido ao descobrimento das endonucleases de restrição.

Essas enzimas são produzidas por bactérias como defesa do organismo contra fagos e cortam o DNA em sequências alvo de quatro ou mais bases. A enzima age como uma tesoura, cortando o DNA do fago e assim inativando-o. Qualquer molécula de DNA, de vírus até seres humanos, contém sítios alvos das endonucleases de restrição puramente ao acaso e assim pode ser cortado em fragmentos definidos (GRIFFITHS et al. 1999).

Segundo Griffiths et al. (1999), a presença ou ausência do sítio de restrição pode ser tratada como dois alelos, que pode ser denominado de alelo + ou -. A presença do alelo (+) em alguns indivíduos e a ausência (-) em outros gera um “*restriction fragment length polymorphism*” ou RFLP (Figura 2).

RFLPs podem medir a diversidade genética entre populações ou espécies. A diferença de sítios de restrição é efetivamente uma diferença no DNA, então medir o número total de RFLP, representa uma medida de diferença genética. Assim, RFLPs são importantes em estudos de evolução (GRIFFITHS et al.1999). A adaptação do método para utilização da técnica de amplificação do DNA *in vitro*, a PCR, tem sido utilizada na genotipagem de variações entre indivíduos.

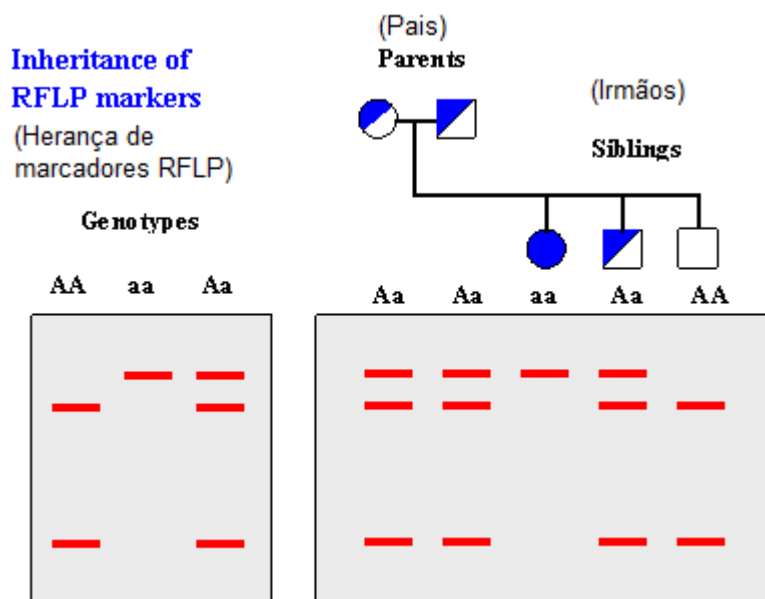


Figura 2. Padrão de herança do marcador RFLP

À esquerda a figura apresenta os três genótipos possíveis do marcador RFLP representado. À direita pode ser observado o padrão de herança do marcador RFLP. Quando os pais são heterozigotos (Aa) podem ser gerados filhos com os três genótipos possíveis (AA, aa e Aa) do marcador representado.

Retirada de:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/probe/IMG/RFLP_genotyping.gif

4.11. SNP (*Single nucleotide polymorphisms*)

SNPs são polimorfismos de única base, ou seja, mutações de ponto na sequência de DNA, com uma alternativa usual de dois nucleotídeos possíveis em uma determinada posição. São uma forma abundante de variação no genoma e se diferenciam de mutações raras por o alelo menos abundante estar presente em uma frequência de 1% ou mais. Uma ampla gama de áreas da genética pode se beneficiar enormemente do estudo de SNPs (BROOKES, 1999).

A origem de SNPs está em variações individuais, procedentes de mutações de ponto (substituições, adições ou deleções de nucleotídeos). Embora, em princípio, em cada posição de um trecho de sequência, qualquer uma das quatro bases de nucleotídeos possíveis possa estar presente, na prática os SNPs são geralmente bialélicos, pois a probabilidade de duas mutações independentes ocorrerem em uma única posição é muito baixa (VIGNAL et al. 2002).

Segundo Kao et al. (2000), nos últimos anos tem havido um interesse crescente em polimorfismos de nucleotídeo único. O SNP é o polimorfismo mais

comum encontrado no genoma humano e acredita-se que este seja responsável por 90% do total de variação inter-individual.

Diversas estratégias vêm sendo utilizadas para identificar e genotipar SNPs, as principais são baseadas na comparação de sequências *locus* – específicas. Quando o alvo é uma região definida, por exemplo, contendo genes candidatos, a estratégia mais simples, é a realização de sequenciamento de produtos de PCR obtidos de diferentes indivíduos. Entretanto, em larga escala, esta estratégia tende a ser cara e é limitada a regiões em que dados de sequência estão disponíveis. Para genotipagem de SNPs, podem ser utilizadas técnicas como PCR-RFLP, que utiliza enzimas de restrição capazes de detectar o polimorfismo, no caso, o SNP, através do padrão de fragmentos gerados pela digestão do produto da PCR dos alelos alternativos, ARMS-PCR (*ARMS- amplification refractory mutation system*) que é uma adaptação da técnica de PCR, onde *primers* com extremidades 3' complementares ao alelo normal ou mutado (alelo específicos) permitem a identificação do genótipo. Há tecnologias que permitem genotipar vários SNPs em uma única reação. Os chips de SNPs podem conter em sua plataforma milhares de sequências de fragmentos contendo SNPs, permitindo uma análise em larga escala.

4.12. Genes candidatos para característica de produção de carne bovina

Diversos genes têm sido elencados como candidatos para características de produção de carne bovina. Estes genes podem estar localizados em regiões nas quais já foram identificados QTLs para características de produção e/ou são candidatos funcionais. Alguns destes genes candidatos são: *PPARGC1A*, *FABP4*, *DDEF1*, *Leptina*, *PSMC1* e *IGF-1*.

4.12.1. Gene *PPARGC1A*

O gene *Peroxisome proliferative active receptor gamma coactivator 1A* (*PPARGC1A*) de bovinos está organizado em 13 éxons compreendendo 6.261 pb e é expresso em diferentes níveis em um grande número de tecidos. Segundo Soria et al. (2009) o gene *PPARGC1A* é expresso preferencialmente em tecidos de alta atividade metabólica, tais como fígado e coração.

O *PPARGC1A* é um coativador do subconjunto de genes de fosforilação oxidativa que controla o transporte e a oxidação de glicose e lipídeos, está envolvido na formação de fibras musculares esqueléticas e na biogênese mitocondrial (SORIA et al. 2009).

Coativador refere-se a uma proteína ou um complexo de proteínas que aumenta a taxa de transcrição através da interação com fatores de transcrição. Estes geralmente funcionam como complexos multiproteicos que contêm proteínas individuais que medeiam o encaixe de fatores de transcrição e outras que medeiam funções necessárias para a transcrição propriamente dita, incluindo modificação de histonas e remodelamento de cromatina. Estudos da regulação de linhagens de células adiposas, especialmente na divergência das vias da gordura branca e marrom, levaram a descoberta de um coativador com um grau surpreendente de regulação em diferentes tecidos e estados fisiológicos, o *PPARGC1A*, que está envolvido em múltiplas respostas biológicas relacionadas com a homeostase energética, regulação térmica e metabolismo da glicose (PUIGSERVER e SPIEGELMAN, 2003).

Weikard et al. (2005) identificaram o gene *PPARGC1A* em bovinos como um gene candidato localizado em uma região do cromossomo 6 subjacente a um QTL previamente descrito para deposição de gordura no leite. Este gene também é candidato posicional e funcional para influenciar o desenvolvimento da obesidade, de acordo com o mapa genético da obesidade (SNYDER et al. 2004). Estudos como o realizado por Puigserver e Spiegelman (2003) mostram que o gene *PPARGC1A* possui papel fundamental para ativar uma variedade de receptores hormonais nucleares e fatores de transcrição que regulam a homeostase energética e está envolvido com os mecanismos de adipogênese e gliconeogênese, sendo assim, candidato para afetar a quantidade e distribuição de gordura corporal.

O gene *PPARGC1A* de humanos foi mapeado em uma região previamente associada com concentração de insulina sérica e obesidade, polimorfismos deste gene foram associados com resistência à insulina, suscetibilidade a diabetes tipo II (SUN et al. 2006) e indicadores de obesidade (SEMPLE et al. 2003).

Em suínos, o gene *PPARGC1A* tem sido estudado por ser um gene candidato para características de produção. Stachowiak et al. (2007) realizaram um estudo e encontram associação de um SNP com características de gordura.

Weikard et al. (2005) encontram um SNP localizado no íntron 9 do gene *PPARGC1A* em bovinos (número de acesso no GeneBank: AY547554) e associaram com características de produção de leite. Recentemente Soria et al. (2009) identificaram dois SNPs no gene *PPARGC1A* de bovinos, localizados no éxon 8.

4.12.2. Gene *FABP4*

Proteínas FABPs são membros de uma família de proteínas que ligam lipídeos (LBP: *lipid – binding proteins*). As proteínas FABPs podem ser divididas em dois grupos: algumas são associadas com membrana plasmática e outras com proteínas intracelulares ou citoplasmáticas. Nove FABPs citoplasmáticas tecido-específica já foram identificadas (CHMURZYNSKA, 2006).

O gene *FABP4* também conhecido como *Adipocyte FABP* (A-FABP) está localizado no cromossomo 14 de bovinos, no qual há relatos de QTLs para características de produção, tem 5.591pb, está organizado em 4 éxons e 5 íntrons e é expresso no tecido adiposo. Codifica uma pequena proteína citoplasmática (14–15 kDa) que liga longas cadeias de ácidos graxos e outros ligantes hidrofóbicos e desempenha papel na regulação da homeostase de lipídeos e glicose. A proteína *FABP4* ativa uma isoforma de receptores PPAR - gama (*peroxisome proliferator activated receptors*) que por sua vez regula a transcrição do gene *FABP4*. Membros da família PPAR são receptores nucleares que regulam a transcrição de genes envolvidos no metabolismo lipídico. Estudos têm demonstrado que *FABP4* desempenha um papel crítico na absorção de ácidos graxos e no metabolismo. Em adição, o gene *FABP4* parece estar envolvido na hidrólise de lipídeos (MICHAL et al.2006).

Em suínos o *FABP4* é um forte gene candidato posicional para o QTL descrito para deposição de ácidos graxos e crescimento (OJEDA et al. 2006). Há relatos que a proteína *FABP4* está relacionada à diabetes e obesidade em humanos e ratos e que mutações diminuem o nível de *FABP4* resultando em menor risco de doenças coronárias e diabetes tipo 2 (TUNCMAN et al. 2006).

Michal et al. (2006) associaram SNPs localizados no gene *FABP4* com marmoreio e deposição de gordura subcutânea em bovinos descendentes do cruzamento de Wagyu x Limousin. Hoashi et al. (2008) associaram um SNP

localizado no éxon 2 do gene *FABP4* de bovinos “Japanese Black cattle”, caracterizado por uma substituição de uma adenosina por uma guanina que causa a substituição do aminoácido isoleucina por valina com efeito na composição dos ácidos graxos na carne.

4.12.3. Gene *DDEF1*

O gene *DDEF1*, conhecido também como Arf-GAP e ASAP1 codifica uma proteína ligante de SH3 Src (*Src homology 3*) e está localizado no cromossomo 14 de bovinos, no qual há inúmeros relatos de QTL para deposição de gordura e características de crescimento. Proteínas que interagem com domínios SH3 tipicamente têm uma sequência consenso PXXP (P= prolina e X= qualquer outro amino ácido). Resíduos adjacentes de prolina formam contatos com a estrutura SH3 e essa interação determina a especificidade entre a proteína e um domínio SH3 encontrado em numerosas proteínas de transdução de sinal, envolvidas no crescimento e diferenciação celular.

A proteína codificada pelo gene *DDEF1* é ativadora do fator de GTPases ou Guanosina trifosfatases (domínio Arf-GAP) que ribosila ADP. Várias proteínas de transdução de sinal envolvidas na diferenciação de fibroblastos em adipócitos têm sido avaliadas utilizando culturas de tecidos de diversas linhagens celulares como sistema modelo. Estudo conduzido por King et al. (1999) indica que *DDEF1* é uma importante proteína de transdução de sinal envolvida na diferenciação de fibroblastos em adipócitos e possivelmente de outros tipos celulares, sendo assim esse gene está envolvido no processo de adipogênese.

A expressão ectópica do *DDEF1* em fibroblastos resultou na diferenciação de uma fração significativa da cultura em adipócitos. Este fenótipo parece estar relacionado à indução do fator de transcrição PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptor γ*), uma vez que células “DEF-1 NIH 3T3” que apresentaram expressão ectópica (uma linhagem celular contínua de alta inibição de contato estabelecida a partir de culturas de embriões de camundongo NIH Swiss) demonstraram nível aumentado de RNAm PPAR γ quando tratadas com ativadores de ligantes PPAR γ e induziram a diferenciação celular (KING et al. 1999).

4.12.4. Gene *PSMC1*

Proteassomas estão distribuídos em células eucarióticas em alta concentração e clivam peptídeos em um processo ATP/ubiquitina – dependente. O proteassoma 26S ATP dependente é um complexo de múltiplas subunidades, consistindo de um catalisador 20S e dois módulos regulatórios, chamados PA700 (GUO et al. 2008). O complexo PA700 é composto de subunidades que são classificados em dois subgrupos, um subgrupo de pelo menos 6 ATPases que contêm um domínio AAA (ATPases associadas com diversas atividades celulares) que constituem uma família de genes que codificam peptídeos homólogos conservados durante a evolução e um subgrupo de pelo menos 15 não ATPases (TANAHASHI et al. 1998). O gene *PSMC1* (*proteasome 26S subunit, ATPase, 1*) é um gene desta família e desempenha papel central em muitas vias regulatórias, como a regulação do ciclo celular, diferenciação e apoptose (GUO et al. 2008)

O gene *PSMC1* contém 10 éxons e 11 íntrons em 9.855 pb. Guo et al. (2008) mapearam o gene *PSMC1* em bovinos no cromossomo 10 e descobriram que este gene é expresso principalmente no pulmão, testículo e baço. Além disso, os autores identificaram um SNP (transição A/G) no íntron 9 e associaram este SNP com diversas características de interesse econômico em bovinos, tais como, consumo diário de ração, características de crescimento, deposição de gordura e área de olho de lombo.

4.12.5. Gene da *Leptina*

O gene *ob* também conhecido como gene da obesidade ou gene da *Leptina* codifica uma proteína de 16-kDa que tem, entre outras, função de regular a adiposidade, ou seja a proporção de gordura no organismo.

A *Leptina* é uma proteína envolvida no crescimento e metabolismo de animais que desempenha um importante papel no consumo de alimentos, no metabolismo energético, no crescimento e na reprodução em ruminantes (Choudhary et al. 2005). Portanto, o gene da *Leptina* pode ser referido como um dos fatores genéticos que controla características determinantes da qualidade de carne como a espessura de gordura e o marmoreio (TANIGUCHI, et al. 2002).

O gene da *Leptina*, foi mapeado no cromossomo 4 de bovinos (STONE et al. 1996, POMP et al. 1997), este possui três éxons e dois íntrons. A *Leptina*, que tem sido implicada no controle da ingestão de alimentos e na composição corporal em mamíferos, é secretada predominantemente por adipócitos e transportada através da circulação sanguínea para o cérebro, onde atua nos receptores do hipotálamo para diminuir o apetite.

A proteína *Leptina* tem efeito direto sobre tecidos como o músculo esquelético, onde desempenha um papel importante na síntese de glicogênio e transporte de glicose. A expressão do gene da *Leptina* está altamente correlacionada com massa corporal gorda e tamanho de adipócitos, contribui para variação do apetite, o balanço energético e composição corporal. Este gene é considerado um modificador do metabolismo (CERÓN-MUÑOZ et al. 2008).

Diversos estudos têm associado polimorfismos no gene da *Leptina*, com deposição de gordura na carcaça em gado de corte e com as características de balanço energético, produção de leite, peso vivo e fertilidade em gado leiteiro.

Geary et al. (2003) conduziram um estudo que investigou níveis séricos da *Leptina* como indicador da composição de carcaça em gado de corte e concluíram que há uma correlação positiva entre concentração de *Leptina* e marmoreio e deposição de gordura.

Pomp et al. (1997) indentificaram um polimorfismo caracterizado por uma transição de uma citosina para timina localizado no íntron 2 do gene da *Leptina*. Liefers et al. (2002) associaram este polimorfismo com características de produção de leite.

4.12.6. Gene *IGF-1*

O gene *IGF-1*, do inglês *Insulin-like growth factor 1*, localiza-se no cromossomo 5 de bovinos, possui 73.000 pb e está organizado em 6 éxons e 7 íntrons. A proteína codificada pelo gene *IGF-1* é semelhante à insulina em função e estrutura e é um membro de uma família de proteínas envolvida na mediação do crescimento e desenvolvimento, desempenhando papel na diferenciação celular, embriogênese, crescimento e regulação do metabolismo. Possui peso molecular de 7,5 kDa e é constituída de 70 aminoácidos.

O gene *IGF-1* é considerado como um marcador candidato para níveis de crescimento e características de produção de carne em bovinos (Siadkowska et al. 2006). Segundo Islam et al. (2009), diversos estudos têm identificado regiões de QTL associadas com níveis de gordura e características de carcaça na vizinhança do gene *IGF-1* em gado de corte.

Siadkowska et al. (2006) mostraram que o gene *IGF-1* influencia o consumo e a conversão alimentar. Segundo Wood et al. (2004) estudos demonstram que o gene *IGF-1* tem associação com uma série de características de produção de carne bovina, incluindo consumo alimentar residual, gordura da carcaça, ganho médio diário, peso vivo e peso de carcaça.

Um microssatélite de repetição (CA)_n localizado na região promotora do gene do *IGF-1* foi associado com peso ao nascimento e ganho de peso no primeiro ano de vida de bovinos da raça Hereford (MOODY et al. 1996). Ge et al. (2001) não observaram esse polimorfismo em uma população da raça Angus, porém identificaram outro polimorfismo do tipo SNP, também localizado nesta região, e associaram com ganho de peso durante os primeiros 20 dias. Islam et al. (2009) associaram este mesmo SNP com deposição de gordura e características de carcaça em bovinos de corte.

5. Material e Métodos

5.1. Animais

Foram utilizados aproximadamente 270 novilhos machos, descendentes de 20 touros registrados da raça Nelore, que compõem famílias de meio – irmão produzidas através de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Os animais foram criados na base física da Embrapa Pecuária Sudeste, localizada na cidade de São Carlos, na Embrapa Gado de Corte, situada no município de Campo Grande e em uma propriedade particular do Estado de Mato Grosso do Sul. Foram confinados nas duas unidades da Embrapa e avaliados para características de eficiência alimentar, crescimento, deposição de gordura, além de medidas de composição e qualidade da carcaça e da carne. A produção e avaliação fenotípica dos animais foram realizadas no âmbito do projeto em rede (**Rede Bife de**

Qualidade) – Projeto Componente: “Genética quantitativa e molecular de características de qualidade da carne e de eficiência alimentar na raça Nelore”.

5.2. Seleção de touros

A seleção dos touros foi realizada a partir de consultas aos catálogos das principais centrais de inseminação artificial do país. A partir de um número total de 616 touros Nelore das variedades mocha e aspada foram eleitos para a composição desta amostra 20 touros ativos na população, ou seja, que têm sêmen disponível no mercado, cujo valor não excede R\$ 50,00 a dose, a fim de representar touros acessíveis ao produtor típico da raça, cujas genealogias são representativas das principais linhagens que compõem a raça Nelore, de uso comercial mais frequente dentro da raça. A escolha foi feita de maneira minimizar o grau de parentesco entre eles.

5.3. Linhagens amostradas

A Tabela 1 apresenta as linhagens materna e paterna de cada touro. A primeira coluna (1 a 20) está representando os touros utilizados para gerar as famílias de meio - irmãos utilizadas neste estudo.

Tabela 1. Linhagens materna e parterna dos touros

Touro	Linhagem materna	Linhagem paterna
1	Padhu/Akasamu	Godar
2	Nagpur Imp	Garoto
3	Lemgruber	Lemgruber
4	Mocho (GR)	Taj Mahal
5	IZ	Taj /Golias
6	Karvadi	Rastã
7	Taj Mahal	Karvadi Imp.
8	Taj Mahal	Taj Mahal
9	Karvadi	Karvadi
10	Karvadi	Nagpu
11	Akasamu	Kurupathy
12	Taj Mahal	Taj Mahal
13	Taj Mahal	Golias
14	Golias	-
15	Lengruber	-
16	IRCA	-
17	IZ	IZ
18	Godar Imp.	Taj Imp.
19	Padhu	Taj Mahal
20	Karvadi	-

5.4. Coleta de amostras e Extração do DNA

5.4.1. Amostra para obtenção do DNA dos touros: Sêmen congelado

As amostras utilizadas para obtenção de DNA dos touros foram palhetas de sêmen congelado, provenientes de centrais de inseminação. Para extração do DNA, foi utilizado o método de desproteínação com solventes orgânico.

Para lavagem do sêmen, a palheta foi descongelada à temperatura ambiente e o conteúdo transferido para um microtubo de 1,5 mL. Foi adicionado tampão de digestão contendo 10 mM de Tris-HCl, 10 mM de EDTA, 50 mM de NaCl e 20% de SDS . A amostra foi homogeneizada e submetida à centrifugação (16.000 g por 5 minutos) para que o sobrenadante fosse removido. Para lise dos espermatozóides adicionou-se ao pellet, tampão de digestão, 40 mM de DTT e 0,4 mg/mL de proteinase K, e o conteúdo foi incubado durante a noite a 56° C. Para extração do DNA foi adicionado fenol: clorofórmio: álcool: Isoamílico (25:24:1), e a amostra foi centrifugada (16.000 g por 5 minutos) para separação das duas fases. A

fase aquosa superior foi transferida para um novo tubo. Para precipitação do DNA foi adicionado isopropanol 100% e a amostra foi centrifugada (16.000 g por 15 minutos), após, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se etanol 70%. A amostra foi centrifugada a 16.000 g por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. Após a secagem do pellet, o DNA foi ressuscitado com TE (Tris-EDTA) e RNase.

5.4.2. Amostra para obtenção do DNA dos novilhos: sangue

Para os novilhos descendentes dos 20 touros foram coletadas amostras de 5 ml de sangue dos animais, por punção da veia jugular, em tubos para coleta a vácuo contendo EDTA potássico (K3), conforme pode ser observado na Figura 3. As amostras foram mantidas refrigeradas até o início do processo de extração. As extrações de DNA foram realizadas a partir de leucócitos através do método *salting out* de acordo com os protocolos descritos por Regitano (2001).

A lise das células vermelhas foi realizada por repetidas lavagens em tampão contendo 10 mM Tris-HCl pH 7,6; 5 mM MgCl₂ e 10 mM NaCl até obtenção de pellet com apenas com células brancas. Os leucócitos foram recuperados do precipitado por centrifugação a 700 g por 10 minutos. Estes foram ressuscitados com tampão de digestão contendo 10 mM Tris-HCl pH 8,0; 10 mM EDTA pH 8,0; 100 mM NaCl; 20% SDS e proteinase K. A solução foi incubada a 55 °C por 6 horas ou durante a noite.

Após a incubação, para precipitação de proteínas, adicionou-se 5 mM NaCl e TE pH 7,6 (10mM Tris-HCl e 1mM EDTA), os tubos contendo a amostra foram agitados por inversão até a formação de coágulos de proteínas, as amostras foram colocadas em gelo por 10 minutos e centrifugadas por 15 minutos a 16.000 g.

O sobrenadante foi retirado e transferido para um novo tubo, do qual adicionou-se o dobro do volume da amostra de etanol absoluto gelado para precipitação do DNA. As amostras foram homogeneizadas por inversão e submetidas à centrifugação (16.000 g por 15 minutos), após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e em seguida o pellet foi lavado com etanol 70% gelado e submetido novamente à centrifugação (16.000 g por 5 minutos). O sobrenadante foi descartado e após a secagem do pellet para ressuscitar o DNA adicionaram-se 250 µL da solução de TE e RNase (10 µg).

Após a quantificação por espectrofotometria utilizando o aparelho Nanodrop, as amostras foram diluídas para se obter uma concentração final de 40 ng/ μ L e conservadas em freezer – 20 C°. As amostras de DNA foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1% e coradas com brometo de etídeo para que fosse analisada a integridade do DNA. As amostras de DNA genômico foram analisadas sob iluminação UV (Figura 4).



Figura 3. Coleta de sangue através da punção da veia jugular

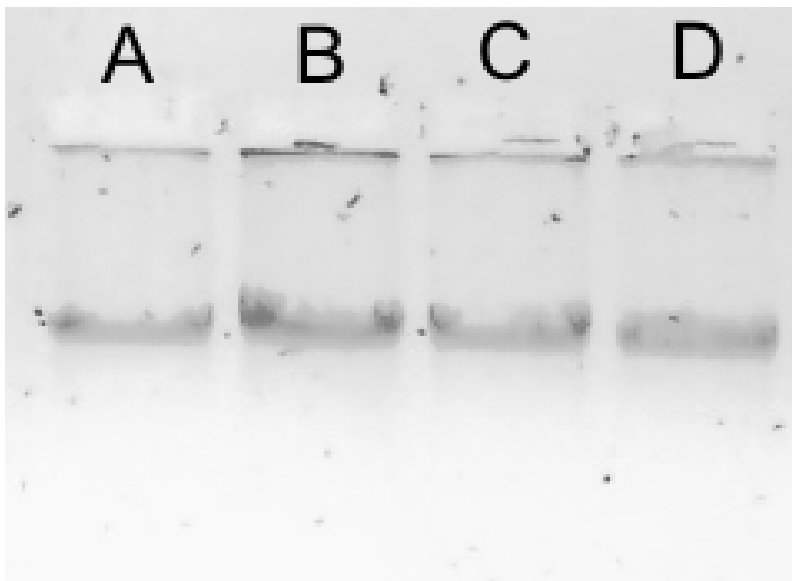


Figura 4. Eletroforese de DNA genômico

5.5. Mensuração da espessura de gordura subcutânea (EGS) e área de olho de lombo (AOL)

5.5.1. Obtenção das imagens de ultrassom

Para mensurar a EGS e AOL *in vivo*, foram feitas medidas ultrassonográficas. A primeira medida foi obtida quando os animais apresentaram aproximadamente 18 meses de idade, antes de entrarem no confinamento, e a segunda medida quando os animais estavam confinados em média por 55 dias.

Para isso, foi utilizado um equipamento de ultrassom Piemedical Scanner 200 Vet, com transdutor linear de 18 cm e 3,5 MHz. Os animais foram colocados em troncos de contenção para que fosse possível obter as imagens ultrassonográficas.

As imagens que fornecem as medidas de EGS e AOL foram obtidas no corte transversal do músculo *Longissimus*, entre a 12^a e 13^a costela do animal conforme pode ser observado na Figura 5. Essas imagens foram analisadas e interpretadas para obtenção das medidas de EGS expressa em milímetros (mm) e AOL em centímetros quadrado (cm²).

O ganho de gordura foi calculado subtraindo-se a quantidade de gordura que o animal possuía na segunda medida ultrassonográfica da quantidade de gordura que o animal possuía na primeira medida ultrassonográfica.



Figura 5. Ultrassonografia realizada no corte transversal do músculo *Longissimus* entre a 12^a e 13^a costela

5.5.2. Interpretação das imagens de ultrassom

Para obter as medidas de EGS e AOL foi utilizado o programa ODT (*Open data transfer*) para análises das imagens, que acompanha o equipamento de ultrassom. Para as análises de medida de EGS, a camada de gordura subcutânea foi delimitada e o programa informou a quantidade de gordura em mm (Figura 6).

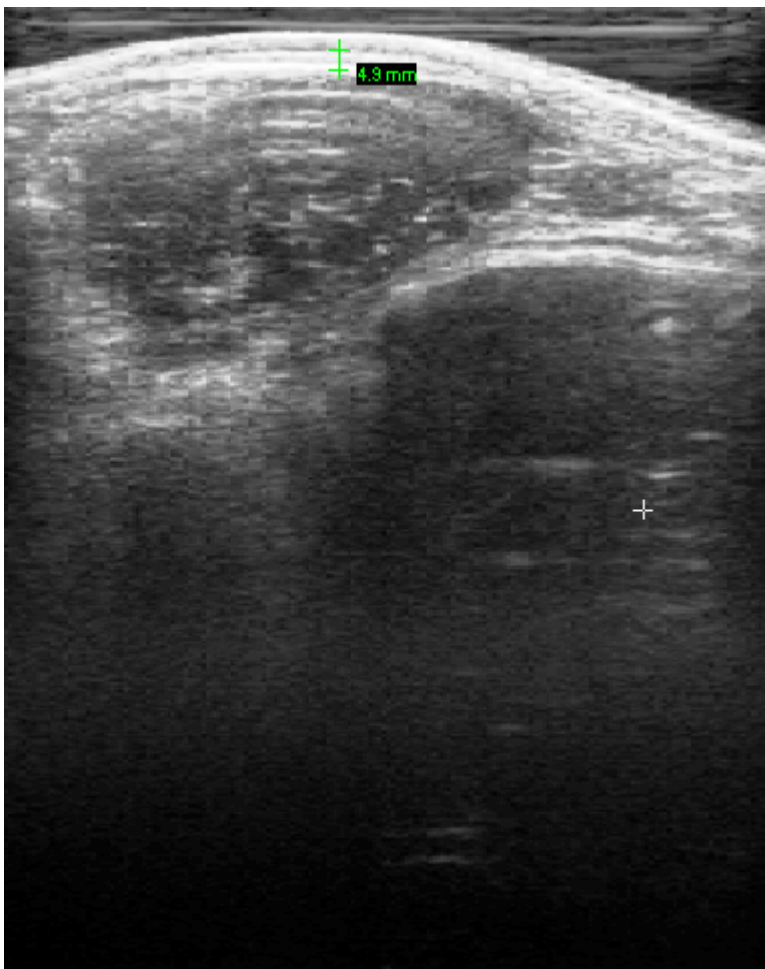


Figura 6. Interpretação da medida de EGS entre a 12^a e a 13^a costela

A AOL foi delimitada na imagem de ultrassom e o programa nos forneceu um valor expresso em cm^2 (Figura 7).



Figura 7. Interpretação da imagem que fornece a medida de AOL

5.6. Pesagem dos animais e ajuste dos pesos

Os animais foram pesados quando desmamados e quando atingiram uma média de 16 meses para obtenção do peso à desmama (PD) e ao sobreano (PS), respectivamente.

Os pesos à desmama foram ajustados para 240 dias, e o pesos ao sobreano foram ajustados para 450 dias, seguindo a fórmula de ajuste de pesos utilizada pelo programa de melhoramento da Embrapa CNPGC, conforme representado a seguir.

Fórmula utilizada para ajustar o peso à desmama para 240 dias:

$$\frac{PD - 30}{ID} \times 240 + 30$$

Fórmula utilizada para ajustar o peso ao sobreano para 450 dias:

$$\frac{PS - PD}{IS - ID} \times (450 - IS) + PS$$

PD=Peso ao desmame

PS= Peso ao sobreano

ID= Idade ao desmame

IS= Idade ao sobreano

5.7. Análise dos polimorfismos

Os SNPs propostos nos genes *PPARGC1A*, *FABP4*, *Leptina* e *PSMC1* foram genotipados pela técnica PCR – RFLP, e o SNP no gene *DDEF1* foi genotipado pela técnica ARMS-PCR. O microssatélite *IGF-1* foi genotipado por eletroforese capilar utilizando-se o sequenciador automático ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems), as reações de PCR foram feitas em um termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorff), conforme descrito a seguir:

5.7.1. Gene *PPARGC1A*

5.7.1.1. Amplificação

Para o gene *PPARGC1A* a região de 179 pares de bases do íntron 9 que contém o polimorfismo (c.1892+19T>C) foi amplificada pela reação de PCR utilizando os primers descritos em Weikard et al. (2005), sendo um dos *primers* (*reverse*) marcado com fluorescência (FAM).

Após testes para estabelecer as concentrações dos reagentes e a temperatura de amplificação específica dos primers foram estabelecidas as seguintes concentrações: tampão de reação 1X, 1,5 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 0,1 mM de cada dNTP, 0,25 µM de cada *primer*, 1 unidade da enzima Taq

DNA polimerase e 25 ng de DNA. A água miliQ autoclavada foi adicionada para completar o volume final de 15 μ L.

A amplificação da região que contém o íntron 9 do gene *PPARGC1A* constou das seguintes etapas: 5 minutos a 95°C para a desnaturação inicial das fitas do DNA, seguidos de 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 49°C (temperatura de anelamento dos *primers* F e R), 45 segundos a 72°C, após os 35 ciclos o produto da amplificação foi submetido à etapa de extensão final por 10 minutos a 72°C.

5.7.1.2. Digestão do produto da PCR

Os produtos da amplificação do íntron 9 do gene *PPARGC1A* foram digeridos com a enzima *BsuRI*. O volume final da reação de digestão foi de 10 μ L, sendo 8 μ L do produto da PCR e 2 μ L de Mix de digestão que continha 1 U da enzima *BsuRI*, tampão da enzima contendo 10 mM Tris-HCl (pH 8,5), 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 0,1 mg/ml BSA (soroalbumina bovina). A reação de digestão ocorreu durante 3 horas a 37°C.

5.7.1.3. Análise dos genótipos

A enzima *BsuRI* reconhece um sítio de quatro bases: GGCC e o cliva. Animais que apresentam o genótipo TT, possuem uma substituição de uma base citosina por uma timina. Essa alteração suprime o sítio de restrição da enzima na região do íntron 9 do gene *PPARGC1A* amplificada, resultando em um padrão com apenas o fragmento amplificado pela PCR (179 pares de bases). Animais com o genótipo CC são caracterizados por possuírem o sítio de restrição da enzima e apresentam um padrão de restrição de 2 fragmentos (20 e 159 pares de bases).

A análise dos produtos de PCR e digestão foi realizada no sequenciador ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems). Os genótipos foram determinados com a utilização do programa GeneScan (versão 3.7.1).

5.7.2. Gene *FABP4*

5.7.2.1. Desenho de *primers*

O SNP no éxon 2 do gene *FABP4* foi genotipado utilizando os primers descritos na Tabela 2. Os primers foram desenhados com auxílio do software Primer 3 plus, disponível on line (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>). A qualidade dos *primers* foi verificada pelo software OligoAnalyzer do site <http://www.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer/> Foi escolhido o melhor par de *primers* desenhado, ou seja, o par que apresentou ΔG maior que 0 (ideal para que não ocorram reações espontâneas), que não formasse *hairpin* (*primers* que não fossem auto complementares) e que formasse amplicons menores que 600 pb.

Tabela 2. Sequência dos *primers forward* e *reverse* utilizados para amplificação do éxon 2 do gene *FABP4*

Primer	Sequência
F	5'AATACACACACACACACCTGCTC 3'
R	5'AATACACACACACACACCTGCTC 3'

5.7.2.2. Amplificação

As concentrações ideais da PCR foram estabelecidas com: tampão de reação 1X, 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM de cada dNTP, 0,4 μM de cada *primer*, 1 unidade de enzima Taq DNA polimerase e 100 ng de DNA em volume final de 20 μL .

As etapas para amplificação da região que contem o SNP do éxon 2 do gene *FABP4* constaram das seguintes etapas: 2 minutos a 94°C para a desnaturação inicial das fitas do DNA, seguidos de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 60°C (temperatura de anelamento dos *primers*), 30 segundos a 72°C,

após os 35 ciclos o produto da amplificação foi submetido à etapa de extensão final por 7 minutos a 72°C.

5.7.2.3. Digestão do produto da PCR

Os produtos da amplificação do éxon 2 do gene *FABP4* foram digeridos com a enzima *NmuCI*. O volume final da reação de digestão foi de 12 µL, sendo 10 µL do produto da PCR e 2 µL de Mix de digestão que continha 1 U da enzima *NmuCI*, tampão da enzima contendo 10 mM Tris-HCl (pH 8,5), 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl e 0,1 mg/ml BSA. A reação de digestão ocorreu durante 3 horas a 37°C.

5.7.2.4. Análise dos genótipos

A endonuclease de restrição *NmuCI* reconhece o sítio de cinco bases: GTCAC na sequência do DNA e o cliva. Animais que apresentam o genótipo GG, possuem uma substituição de uma base adenina por uma guanina, que produz um sítio de restrição adicional na região amplificada e apresentam um padrão de restrição com 3 fragmentos (72, 121 e 160 pares de bases). Animais com o genótipo AA são caracterizados pelo padrão de restrição de 2 fragmentos (160 e 193 pares de bases).

Os fragmentos gerados foram separados em gel de agarose 3%, com tampão de eletroforese [1x Tris Borato EDTA pH 8,3 (TBE)] e corados com Brometo de Etídeo incorporado no gel. Após submetidos a eletroforese, os fragmentos foram analisados sob iluminação UV e registrados por uma câmera fotográfica digital. Os tamanhos dos fragmentos foram estimados por comparação com padrão de tamanhos conhecidos.

5.7.2.5. Confirmação da região amplificada e dos genótipos observados pela genotipagem por PCR-RFLP

Foram sequenciadas três amostras de DNA dos touros que apresentaram genótipos diferentes para confirmar o padrão de restrição observado.

Para as reações de PCR feitas para sequenciamento do DNA houve uma modificação da massa do DNA utilizado na PCR de 100 ng para 200 ng e o volume final foi alterado para 30 µL. As reações de PCR foram purificadas através do kit *ExoSAP*. Para purificação foram adicionados 2 µL de *ExoSAP* a 5 µL de produto da PCR, a mistura foi colocada no termociclador durante 15 minutos a 37°C e 15 minutos a 80°C .

As reações de sequenciamento foram realizadas segundo o protocolo adaptado descrito por Regitano (2001) utilizando o *Kit ABI PRISM® Big Dye terminator v. 3.1 cycle sequencing* da Applied Biosystem. Para o mix da reação de sequenciamento adicionaram-se 2 µL de água, 2 µL de Big dye (que contem DNA polimerase, ddNTPs e dNTPs), 2 µL de tampão (Mg⁺² e Tris-HCl), 2 pmol de *primer* e 2 µL de produto de PCR.

As condições para reação de sequenciamento constaram de: pré - incubação de 94 °C por 2 minutos e 25 ciclos de 96 °C por 20 segundos, 60 °C por 10 segundos (temperatura de anelamento do *primer*) e 60 °C por 4 segundos.

Os produtos de sequenciamento foram purificados para evitar que os reagentes não incorporados interferissem na leitura do sequenciamento, para isso foi adicionados 40 µL de isopropanol 65% à temperatura ambiente (TA) e vortexou-se a mistura, após incubou-se no escuro à TA por 15 minutos. Passado este tempo, centrifugou-se por 25 minutos a 16000 g à TA e o sobrenadante foi descartado por inversão. Foram adicionados 200 µL de etanol 60%, à TA, e centrifugou-se por 5 minutos a 16000 g à TA e o sobrenadante foi descartado (a lavagem com etanol 60% foi repetida duas vezes). As reações ficaram no escuro para secar durante 1 hora e depois foram armazenadas em freezer -20°C. A análise do sequenciamento foi feita no sequenciador ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems).

5.7.3. Gene *DDEF1*

5.7.3.1. Amplificação

O SNP do gene *DDEF1* (*DDEF1_g.279401A>G*) descrito por Veneroni et al. (2008), foi genotipado pela metodologia de ARMS adaptada por Buitkamp e Semmer (2004).

Esta técnica de ARMS adaptada se diferencia da técnica de ARMS convencional por utilizar somente três *primers*, sendo um *primer outer forward* marcado com fluorescência (HEX), e dois *primers* alelo - específicos, um para cada alelo (no caso deste SNP A e G). Um dos *primers* alelo-específico, neste caso, o *primer* para o alelo G, tem um cauda na extremidade 5' com 4 nucleotídeos a mais, o que permite diferenciar os dois genótipos. Em homozigotos AA (Figura 9), foi observado um pico de 250 pb, através do software GeneScan (Figura 8), se o animal fosse homozigoto GG era observado um pico de 254 pb e nos heterozigotos observávamos dois picos, um de 250 pb e outro de 254 pb. Porém durante a genotipagem, foi observado um padrão de amplificação inespecífica, sendo que todos os animais apareciam como heterozigotos. Para solucionarmos este problema, foram feitas duas reações de PCR para cada animal, uma reação adicionando o *primer* para o alelo A e outra para o alelo G e assim conseguiu-se um padrão de amplificação específica. Para controle positivo da PCR, adicionamos um *primer* externo *reverse*, o que nos permitiu verificar quando a reação de PCR funcionava, através da amplificação da região delimitada pelos *primers* externos de 570 pb.

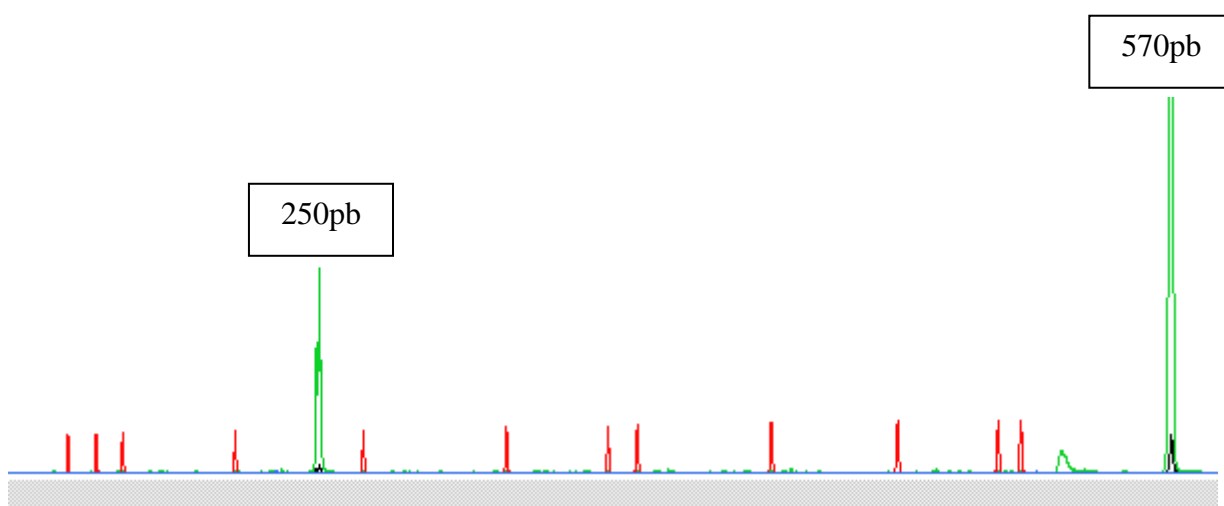


Figura 8. Exemplo do perfil de amplificação do alelo A para o polimorfismo no gene *DDEF1*

A figura evidencia que o animal tem o alelo A. À direita da Figura podemos observar o controle da reação através do pico de amplificação dos *primers* externos.

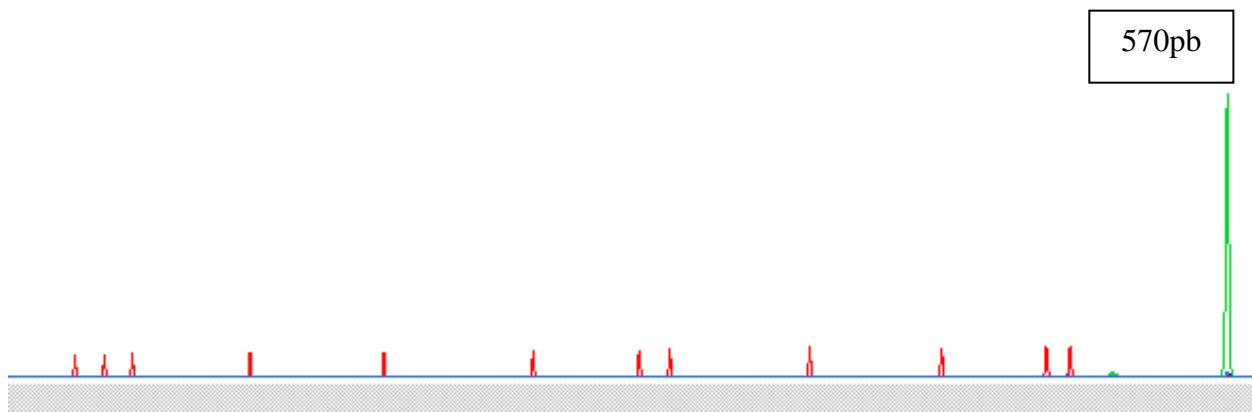


Figura 9. Exemplo da reação de amplificação para o alelo G para o polimorfismo no gene *DDEF1*, em animal homocigoto AA

A figura mostra um animal homocigoto AA, evidenciando que o animal não tem o alelo G. Podemos observar que a reação de PCR funcionou porque à direita observamos o pico controle da amplificação dos *primers* externos.

Os *primers* utilizados nesta reação estão descritos na Tabela 3 (G.B. Veneroni, comunicação pessoal, 2009).

Tabela 3. Sequência dos primers utilizados para amplificação da região do íntron 13 do gene *DDEF1*

Primer	Sequência
<i>DDEF1</i> In R alelo G	5'ATATGGGAATCCTAGAGAGGAGACGTAAC 3'
<i>DDEF1</i> In R alelo A	5'GGGAATCCTAGAGAGGAGACGTAAT 3'
<i>DDEF1</i> Outer F	5'GACTAGAAATAGGAGACCCGGACC 3'
<i>DDEF1</i> outer R	5'GCCTTCCTCAAACCACACAT 3'

Foram estabelecidas as condições necessárias para reação de ARMS-PCR a serem utilizadas para amplificação do íntron 13 do gene *DDEF1*:

Mix para o alelo A: tampão de reação 1X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de cada dNTP, 0,1 μM do *primer* externo, 0,15 μM do *primer* para o alelo A, 0,1 μM do *primer* reverse, 0,5 U de enzima Taq DNA polimerase, 0,5 μL de *Dimethyl Sulfoxide* para biologia molecular 99,9% (DMSO), utilizado para aumentar a especificidade da reação e 40 ng de DNA. A água foi adicionada para completar o volume final de 10 μL.

Mix para o alelo G: tampão de reação 1X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de cada dNTP, 0,1 μM do *primer outer*, 0,1 μM do *primer* para o alelo G, 0,1 μM do *primer reverse*, 0,5 U de enzima Taq DNA polimerase, 0,5 μL de DMSO, utilizado para aumentar a especificidade da reação e 40 ng de DNA. A água foi adicionada para completar o volume final de 10 μL.

O programa do termociclador montado para amplificação da região que contém o polimorfismo no íntron 13 do gene *DDEF1* constou das seguintes etapas: 2 minutos a 94°C para a desnaturação inicial das fitas do DNA, seguidos de 33 ciclos de 30 segundos a 94°C, 20 segundos a 61°C (temperatura de anelamento dos *primers*) e 30 segundos a 72°C.

5.7.3.2. Análise dos genótipos

A análise dos produtos da PCR foi realizada no sequenciador ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems). Os genótipos foram determinados com a utilização do programa GeneScan (versão 3.7.1).

5.7.4. Gene da *Leptina*

5.7.4.1. Amplificação

A região do gene da *Leptina* que contém o polimorfismo localizado no íntron 2 foi amplificada por meio da reação de PCR, utilizando os primers descritos por Liefers et al. (2002). Para otimizar a reação foram feitos testes com diferentes

concentrações dos componentes da PCR e um gradiente para verificar qual a melhor temperatura para anelamento dos primers .

Através dos testes realizados para otimizar a reação foram estabelecidas as seguintes concentrações para os reagentes: tampão de reação 1X, 1,94 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 0,04 μM de cada *primer*, 0,65 U da enzima Taq DNA polimerase e 120 ng de DNA. A água foi adicionada para atingir o volume final da reação de 18 μL.

As etapas para amplificação do fragmento de 422 pares de bases contendo o íntron 2 do gene da *Leptina* foram: desnaturação inicial a 94 °C por 2 minutos, seguido de 35 ciclos a 94, 55 e 72 °C por 1 minuto cada e a última etapa de extensão final a 72 °C por 15 minutos como descrito por Liefers et al. (2002). Para verificar a qualidade da amplificação, foi realizada uma eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídeo.

5.7.4.2. Digestão do produto da PCR

Os produtos da amplificação do íntron 2 do gene da *Leptina* foram digeridos com a enzima *Sau3AI*(+/-). O volume final da reação de digestão foi de 12 μL, sendo 10 μL do produto da PCR e 2 μL de Mix de digestão que continha 1 U da enzima *Sau3AI*(+/-), tampão da enzima contendo 10 mM TrisHCl; 50 mM NaCl; 10 mM MgCl₂; 10 mM 2-mercaptoetanol; 0,1 mg/ml de BSA. A reação de digestão ocorreu durante 3 horas a 37°C

5.7.4.3. Análise dos genótipos

O sitio composto pelas bases GATC é reconhecido pela enzima *Sau3AI*, que cliva o DNA neste ponto. Animais que apresentam o genótipo TT, possuem uma substituição de uma base citosina por uma timina, o que resulta em mais um sítio de restrição na região do íntron 2 amplificada, apresentando um padrão de restrição com 3 fragmentos (34, 85 e 303 pares de bases). Animais com o genótipo CC são caracterizados pelo padrão de restrição de apenas dois fragmentos (34 e 388 pares de bases).

Os fragmentos gerados foram separados em gel de agarose 3%, com tampão de eletroforese [1 x Tris Borato EDTA pH 8,3 (TBE)] e corados com brometo de etídeo incorporado no gel. Após submetidos a eletroforese, os fragmentos foram analisados sob iluminação UV e registrados por uma câmera fotográfica digital. Os tamanhos dos fragmentos foram estimados por comparação com padrão de tamanhos conhecidos.

5.7.5. Gene *PSMC1*

5.7.5.1. Amplificação

Para a amplificação do íntron 9 do gene *PSMC1*, que contém o polimorfismo na posição 216 no fragmento de PCR, foram utilizados *primers* descritos por Guo et al. (2008). As concentrações estabelecidas para amplificação da região do íntron 9 do gene *FABP4* foram: tampão de digestão 1X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,07 mM de cada dNTP, 0,21 µM de cada *primer*, 1 unidade de enzima Taq DNA polimerase e 50 ng de DNA. A água foi adicionada para completar o volume final de 15 µL.

A amplificação da região que contém o íntron 9 do gene *FABP4* constou das seguintes etapas: 5 minutos a 95°C para a desnaturação inicial das fitas do DNA, seguidos de 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 60°C (temperatura de anelamento dos *primers* F e R), 45 segundos a 72°C, após os 35 ciclos o produto da amplificação foi submetido à etapa de extensão final por 10 minutos a 72°C.

5.7.5.2. Digestão do produto da PCR

Os produtos da amplificação do íntron 9 do gene *FABP4* foram digeridos com a enzima *MvaI*. O volume final da reação de digestão foi de 12 µL, sendo 10 µL do produto da PCR e 2 µL de Mix de digestão que continha 1 U da enzima *MvaI*, tampão da enzima contendo 10 mM Tris-HCl (pH 8,5), 10 mM MgCl₂, 100 mM e KCl, 0,1 mg/ml BSA. A reação de digestão ocorreu durante 3 horas a 37°C.

5.7.5.3. Análise dos genótipos

A enzima *MvaI* reconhece o sítio composto pelas cinco bases CCAGG e cliva o DNA neste ponto. Animais que apresentam o genótipo GG, possuem uma substituição de uma base adenina por uma guanina, e perdem um sítio de restrição na região do íntron 9 amplificada e apresentam um padrão de restrição com 4 fragmentos (13, 83, 128 e 285 pares de bases). Animais com o genótipo AA são caracterizados pelo padrão de restrição de 5 fragmentos (13, 83, 87, 128 e 198 pares de bases).

Os fragmentos gerados foram separados em gel de agarose 3%, com tampão de eletroforese [1 x Tris Borato EDTA pH 8,3 (TBE)] e corados com brometo de etídeo incorporado no gel. Após submetidos a eletroforese, os fragmentos foram analisados sob iluminação UV e registrados por uma câmera fotográfica digital. Os tamanhos dos fragmentos foram estimados por comparação com padrão de tamanhos conhecidos.

5.7.6. Gene *IGF-1*

5.7.6.1. Amplificação

Para amplificação da região promotora do gene *IGF-1*, que contém o microssatélite de repetição (CA)_n foram utilizados primers descritos por Bishop et al. (1994), sendo que o *primer forward* foi marcado com fluorescência (FAM), foram estabelecidas as seguintes concentrações:

Tampão de reação 1 X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 0,1 μM de cada *primer*, 0,5 unidade de enzima Taq DNA polimerase e 20 ng de DNA. A água era adicionada para completar o volume final de 5 μL.

As etapas para amplificação da região que contém o microssatélite localizado na região promotora do gene *IGF-1* constaram das seguintes etapas: 3 minutos a 94°C para a desnaturação inicial das fitas do DNA, seguidos de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 56°C (temperatura de anelamento dos *primers* F e R), 30 segundos a 72°C, após os 30 ciclos o produto da amplificação foi submetido à etapa de extensão final por 45 minutos a 72°C.

5.7.6.2. Análise dos genótipos

A análise dos produtos da PCR foi realizada no sequenciador ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems). Os genótipos foram determinados com a utilização do programa GeneScan (versão 3.7.1).

5.8. Análise de Resultados

5.8.1. Investigação do equilíbrio de Hardy-Weinberg

Os desvios das frequências observadas em relação às esperadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg foram analisados pelo teste de probabilidade, de acordo com Raymond e Rousset (1995), através do programa Genepop, disponível on line (<http://genepop.curtin.edu.au/>).

5.8.2. Efeito dos marcadores sobre as características EGS e AOL

Para verificar os efeitos do ambiente e efeitos genéticos que influenciam a característica de carcaça EGS e AOL foram feitas análises de variância pela metodologia dos quadrados mínimos. Assim, foram formados quatro grupos de contemporâneos (GC) compostos pelas variáveis local de nascimento e local de confinamento.

Nas análises para avaliar a influência dos marcadores sobre EGS e AOL utilizou-se um modelo animal com os efeitos fixos de grupo de contemporâneos e genótipos e a idade do animal na data da medida (efeito linear) como covariável, além do efeito aleatório do touro. As análises foram feitas pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) utilizando o procedimento PROC MIXED do programa Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute Inc., 2000).

Foram realizadas análises individuais para cada marcador (*FABP4*, *PPARGC1A*, *DDEF1* e *IGF-1*). Alelos e genótipos com frequência igual ou inferior a 1% foram excluídos de todas as análises.

5.8.3. Efeito dos marcadores sobre ganho de gordura

Para verificar os efeitos do ambiente e efeitos genéticos que influenciam a característica ganho de gordura durante o período de aproximadamente 55 dias de confinamento, foram feitas análises de variância pela metodologia dos quadrados mínimos.

Nas análises para avaliar a influência dos marcadores sobre ganho de gordura utilizou-se um modelo animal com os efeitos fixos de local de confinamento e genótipos, além do efeito aleatório do touro. As análises foram feitas pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) utilizando o procedimento PROC MIXED do programa Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute Inc., 2000).

Foram realizadas análises individuais para cada marcador (*FABP4*, *PPARGC1A*, *DDEF1* e *IGF-1*). Alelos e genótipos com frequência igual ou inferior a 1% foram excluídos de todas as análises.

5.8.4. Efeito dos marcadores sobre as características de crescimento peso à desmama e peso ao sobreano

Para verificar a influência dos efeitos do ambiente e efeitos genéticos sobre as características de crescimento peso à desmama e peso ao sobreano, foram feitas análises de variância pela metodologia dos quadrados mínimos.

Para avaliar a influência dos marcadores sobre as características de crescimento utilizou-se um modelo animal com os efeitos fixos de local de nascimento e genótipos e a idade do animal na data da pesagem (efeito linear) como covariável, além do efeito aleatório do touro. O local de confinamento não foi incluído uma vez que as pesagens foram feitas antes dos animais serem confinados. As análises foram feitas pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) utilizando o procedimento PROC MIXED do programa Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute Inc., 2000).

Foram realizadas análises individuais para cada marcador (*FABP4*, *PPARGC1A*, *DDEF1* e *IGF-1*). Alelos e genótipos com frequência igual ou inferior a 1% foram excluídos de todas as análises.

5.8.5. Modelo estatístico para EGS e AOL

O modelo estatístico utilizado para investigar associação entre o marcador e as características EGS e AOL foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + GC_i + M_j + T_k + b_1(l_{ijkl}) + e_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijklm} = Observação no m-ésimo indivíduo, de idade l, filho do k-ésimo touro, do j-ésimo genótipo para o marcador, pertencente ao i-ésimo grupo de contemporâneos.

μ = Média Geral

GC_i = Efeito fixo do i-ésimo grupo de contemporâneos

M_j = Efeito fixo do j-ésimo genótipo para o marcador

T_k = Efeito aleatório do k-ésimo pai do animal

b_1 = Coeficiente de regressão sobre a idade do animal

l_{ijkl} = l-ésima idade do animal na data da medida

e_{ijklm} = erro aleatório a cada observação ijklm, suposto normalmente distribuído com media zero e variância σ^2

5.8.6. Modelo estatístico para ganho de gordura

O modelo estatístico utilizado para investigar associação entre o marcador e ganho de gordura foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + LC_i + M_j + T_k + e_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijklm} = Observação no m-ésimo indivíduo, filho do k-ésimo touro, confinado no i-ésimo local, do j-ésimo genótipo para o marcador.

μ = Média Geral

LC_i = Efeito fixo do i-ésimo local de nascimento

M_j = Efeito fixo do j-ésimo grupo genótipo para o marcador

T_k = Efeito aleatório do k-ésimo pai do animal

e_{ijkl} = erro aleatório a cada observação ijkl, suposto normalmente distribuído com media zero e variância σ^2

5.8.7. Modelo estatístico para as características de crescimento

O modelo estatístico utilizado para investigar a associação entre o marcador e as características de crescimento peso à desmama e peso ao sobreano foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + LN_i + M_j + T_k + b_1(I_{ijkl}) + e_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijklm} = Observação no m-ésimo indivíduo, de idade I, filho do k-ésimo touro, do j-ésimo genótipo para o marcador, pertencente ao i-ésimo local de confinamento.

μ = Média Geral

LN_i = Efeito fixo do i-ésimo local de nascimento

M_j = Efeito fixo do j-ésimo genótipo para o marcador

T_k = Efeito aleatório do k-ésimo pai do animal

b_1 = Coeficiente de regressão sobre a idade do animal

l_{ijkl} = l-ésima idade do animal na data da pesagem

e_{ijkl} = erro aleatório a cada observação ijklm, suposto normalmente distribuído com media zero e variância σ^2

5.8.8. Estimativa dos componentes de variância e das herdabilidades (h^2)

Procedimentos de modelos mistos podem ser utilizados para analisar dados e produzir estimativas da variância genética. As herdabilidades das características EGS e AOL foram estimadas utilizando os componentes de (co)variância de touro e do erro obtidos através do procedimento PROC MIXED do SAS. A herdabilidade (h^2) foi estimada pela (co)variância entre meio irmãos paternos, considerando que determinado número de touros é escolhido aleatoriamente na população e cada um deles é acasalado com um certo número de vacas, produzindo assim um determinado número de novilhos por touro. A variância entre touros (σ^2_s) é devida ao fato de que os grupos de descendentes diferem entre si, sendo estes grupos constituídos de famílias de meio-irmãos paternos e, portanto, o componente de variância entre touros é equivalente à (co)variância entre meio-irmãos paternos. Como proposto Giannoni e Giannoni (1989), a h^2 é obtida através da seguinte fórmula:

$$h^2 = \frac{4 \times (\text{co}) \text{ variância do touro}}{(\text{co}) \text{ variância do touro} + (\text{co}) \text{ variância do erro}}$$

ou

$$h^2 = \frac{4 \times \sigma^2_s}{\sigma^2_s + \sigma^2_r}$$

5.8.9. Médias para cada genótipo e diferença entre médias

Foram calculadas através do procedimento GLM do SAS as médias das características para cada genótipo para os marcadores que tiveram efeito significativo ($P < 0,05$) ou sugestivo ($P < 0,10$) com alguma característica estudada. A comparação estatística entre as médias foi realizada através da aplicação do Teste de Tukey.

5.8.10. Análise do efeito de substituição alélica

Quando foi observado efeito sugestivo ou significativo ($P < 0,10$ e $P < 0,05$, respectivamente) de genótipo de marcador, foi estimado o efeito de substituição alélica, como desvio do alelo mais frequente, através da substituição do efeito de genótipo de marcador no modelo estatístico por covariáveis representando o número de cada alelo no genótipo. Foi realizada a comparação do modelo contendo o efeito de genótipo de marcador com o modelo contendo as covariáveis através do teste de razão de verossimilhança (MOOD et al. 1974). Esta comparação mostra se o modelo reduzido, que contém as covariáveis, é tão bom quanto o modelo contendo o genótipo do marcador, fornecendo a informação se outros efeitos além dos aditivos estão influenciando a variação na característica.

6. Resultados e discussão

6.1. Estatística descritiva das características de produção de carne

A Tabela 4 apresenta os dados de estatística descritiva das características estudadas.

Tabela 4. Estrutura dos dados (estatísticas descritivas) das características espessura de gordura subcutânea (EGS), ganho de gordura (Ggord), área de olho de lombo (AOL), peso à desmama (PD) e peso ao sobreano (PS) de bovinos da raça Nelore

Característica	N	GC	Valor			
			Média ± DP	CV (%)	Mínimo	Máximo
EGS1(mm)	262	4	3,45 ± 1,23	35,72	1,5	7
EGS2(mm)	243	4	5,4 ± 1,44	26,74	2,3	11
Ggord(mm)	241	.	1,87 ± 0,99	53,25	0	4,5
AOL1 (cm ²)	265	4	47,09 ± 6,35	13,49	33,4	66,2
AOL2 (cm ²)	238	4	51,89 ± 6,61	12,73	32,4	69
PD (kg)	253	.	187,10 ± 32,48	17,35	112	275
PS (Kg)	253	.	250,05 ± 30,98	12,39	175	325

N = Número de animais com medida; GC = número de grupo de contemporâneos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; EGS1 e AOL1= estimativa de espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo referentes à primeira medida ultrassonográfica quando os animais atingiram aproximadamente 18 meses de idade; EGS2 e AOL2 = estimativa de espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo referentes à segunda medida ultrassonográfica quando os animais estavam confinados em média por dias; Ggor= ganho de gordura dos animais no período entre a primeira e a segunda medida ultrassonográfica; PD= peso à desmama ajustado para 240 dias; PS= peso ao sobreano ajustado para 450 dias.

Figueiredo (2001) avaliou animais da raça Nelore com cerca de 18 meses na data da medida ultrassonográfica e observou médias para EGS e AOL inferiores às encontradas neste estudo, para EGS encontrou média de 2,41 mm, desvio padrão de aproximadamente 0,85, coeficiente de variação de 32,21, sendo o valor mínimo 0,6 mm e o valor máximo de 5,10 mm. Para AOL observou média de 42,57cm², desvio padrão de aproximadamente 5,9, coeficiente de variação de 13,87, sendo o valor mínimo de 25,48 cm² e o valor máximo de 65,70 cm². Silva et al. (2003) avaliaram animais da raça Nelore com aproximadamente 24 meses, alimentados com altas proporções de concentrado, e encontraram médias superiores às encontradas neste trabalho para EGS e AOL. Para EGS encontraram

média de 7,4 mm, sendo o valor mínimo 3,1 mm e o valor máximo de 13,5 mm e para AOL média de 57,4 cm², sendo o valor mínimo 46,37 cm² e o valor máximo de 66,79 cm², esta diferença pode ser devida à alimentação dos animais.

Souza et al. (2000) observaram média para peso à desmama inferior à observada neste trabalho de 153,33± 42 para animais da raça Nelore. Bocchi et al. (2004) observaram média de 161 Kg para peso à desmama (205 dias) de animais da raça Nelore em diferentes regiões do Brasil. As diferenças de médias encontradas neste trabalho em relação à outros trabalhos com a raça Nelore, podem ser devidas as distintas formas utilizadas para ajustar os pesos, além de diferenças genéticas e de ambiente.

6.2. Frequência alélica e genotípica para os touros

Como os touros componentes deste projeto foram escolhidos para representar a variabilidade da raça Nelore, inicialmente avaliou-se a distribuição alélica dos polimorfismos propostos em trinta touros que serão utilizados em todas as estações de monta do macroprojeto da Embrapa no qual este trabalho está inserido, incluindo os 20 touros utilizados na primeira estação de monta que originou a população estudada neste trabalho. Na Tabela 5 são apresentadas as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos dos genes *PPARGC1A*, *FABP4*, *DDEF1*, *PSMC1*, *Leptina* e *IGF-1*.

Tabela 5. Frequências alélicas e genotípicas dos SNPs nos genes *PPARGC1A*, *FABP4*, *DDEF1*, *PSMC1*, *Leptina* e *IGF-1* observadas para 30 touros da raça Nelore

Gene	BTA	Localização do SNP/ microsatélite	Referências	Frequências (%)				
				Alélicas		Genotípicas		
PPARGC1A	6	intron 9	Weikard et al. (2005)	C	T	CC	CT	TT
				80	20	63,34	33,33	3,33
FABP4	14	exon 2	Hoashi et al. (2008)	A	G	AA	AG	GG
				18,33	81,67	23,33	6,67	70
DDEF1	14	intron 13	Veneroni et al. (2008)	A	G	AA	AG	GG
				90	10	83,34	13,33	3,33
Lep	4	intron 2	Pomp et al. (1997)	C	T	CC	CT	TT
				100	0	100	0	0
PSMC1	10	intron 9	Guo et al. (2008)	A	B	AA	AB	BB
				100	0	100	0	0
IGF-1	5	região promotora	Bishop et al (1994)	225	229	225/225	225/229	229/229
				81,67	18,33	83,34	13,33	3,33

Como observado na Tabela 5, os SNPs dos genes *PSMC1* e *Leptina* apresentaram - se fixados na amostra dos touros. Considerando que a frequência alélica e genotípica encontrada é uma estimativa para as principais linhagens da raça Nelore e, portanto representa uma estimativa de distribuição alélica na raça, optou-se por não realizar a genotipagem destes polimorfismos em toda população.

Os polimorfismos testados neste estudo foram previamente descritos para populações *Bos taurus*, à exceção do polimorfismo no gene *DDEF1*, que foi descrito em população obtida pelo cruzamento de *Bos taurus* e *Bos indicus* (Veneroni et al. 2009). Como observado, dois SNPs testados nesta população da raça Nelore (*Bos indicus*) não foram polimórficos. Isto sugere que estes polimorfismos surgiram após a diferenciação de bovinos em *Bos taurus* e *Bos indicus*.

Liefers et al. (2002) observaram os três genótipos para o mesmo SNP do gene da *Leptina* estudado neste trabalho, observando as seguintes frequências: 81,3% para o genótipo CC ; 18,5% para o genótipo CT e 0,2% para o genótipo TT; para a raça de gado leiteiro Holstein-Friesian. Em nosso estudo encontramos o genótipo CC fixado na amostra de touros Nelore.

Guo et al. (2008) observaram em bovinos *Bos taurus* todos os genótipos para o SNP do gene *PSMC1*, com frequência de 42,71% para o alelo A e 57,29% para o alelo B. Veneroni et al. (2009) observaram frequência de 74,45% para o alelo B e 25,54% para o alelo A em bovinos cruzados (*Bos indicus* x *Bos taurus*) da raça Canchim. Em nossa amostra de touros, o genótipo BB encontrou-se fixado. Guo et al. (2008) associaram o alelo B como favorável para deposição de gordura, porém, Veneroni et al. (2009) não encontraram associação significativa entre o SNP do gene *PSMC1* e EGS em bovinos da raça Canchim.

6.3. Frequências alélicas e genotípicas nas progênes

Como os SNPs dos genes da *Leptina* e *PSMC1* encontraram - se fixados na amostra de touros, optou-se por não realizar a genotipagem dos novinhos para estes marcadores. Sendo assim, a Tabela 6 apresenta as frequências alélicas e genotípicas apenas para os marcadores *FABP4*, *DDEF1*, *PPARGC1A* e *IGF-1* observadas nas progênes.

Tabela 6. Frequências alélicas e genotípicas dos SNPs nos genes *PPARGC1A*, *FABP4*, *DDEF1* e *IGF-1* observadas para os novilhos descendentes de 20 touros da raça Nelore

Gene	Frequências (%)				
	Alélicas		Genotípicas		
<i>PPARGC1A</i>	C	T	CC	CT	TT
	85,4	14,6	72,2	26,36	1,44
<i>FABP4</i>	A	G	AA	AG	GG
	17,51	82,49	1,9	31	67,1
<i>DDEF1</i>	A	G	AA	AG	GG
	83	17	68,83	28,34	2,83
<i>IGF-1</i>	225	229	225/225	225/229	229/229
	73,55	26,45	54,34	38,41	7,25

Weikard et al. (2005) observaram frequências semelhantes às frequências observadas neste estudo para os alelos C e T do SNP do gene *PPARGC1A* para uma população representativa de bovinos leiteiros alemães. Khatib et al. (2007) avaliaram duas população independentes: a população de *design* de filhas “University of Wisconsin (UW)” e a população de *design* de netas “Cooperative Dairy DNA Repository (CDDR)”, que são populações de pesquisas constituídas de gado leiteiro e encontram frequência de aproximadamente 66% para o alelo C e 35% para o alelo T.

Para o SNP do gene *FABP4*, Cho et al. (2008) avaliaram 22 animais da raça de gado nativo coreano e encontraram frequência de 22,73% para os genótipos AA e GG e 54,54% para o genótipo AG, enquanto neste trabalho encontramos o genótipo GG mais frequente, apresentando frequência de 66,79%.

Para o SNP do gene *DDEF1*, G.B. Veneroni (2009) (comunicação pessoal) encontrou frequência de 35,65% para o alelo A e 63,35% para o alelo G, em bovinos da raça Canchim. Neste estudo, utilizando animais da raça Nelore, encontramos o alelo A como o mais frequente (83%), o que pode sugerir que a raça Nelore contribuiu em maior grau para transmissão do alelo A nos cruzamentos realizados para formação da raça sintética Canchim.

O microsatélite localizado na região promotora do gene *IGF-1* possui alelos de tamanho entre 225pb e 231pb, podendo ser encontrados alelos para este marcador de 225, 227, 229 e 231pb. Nesta população da raça Nelore encontramos somente dois alelos: 225 e 229, sendo o mais frequente o alelo 225, resultados concordantes com Rosa (1997) e Conde et al. (2000).

6.4. Teste do Equilíbrio de Hardy Weinberg

Comparando as frequências de heterozigotos esperadas e observadas, através de um teste exato de probabilidade, constatou-se que a heterozigosidade observada não é significativamente diferente da esperada, indicando que os locos testados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg na população estudada. Assim, podemos inferir que esses marcadores se comportam como polimorfismos fenotipicamente neutros para as características sob seleção nos programas de melhoramento da raça Nelore.

6.5. Análises de variância

A Tabela 7 apresenta um resumo da análise de variância da característica EGS medida antes dos animais entrarem no confinamento. Os efeitos local de nascimento, local de confinamento e pai incluídos no modelo foram significativos ($P < 0,05$ ou $P < 0,01$), e o efeito de idade na data da medida foi sugestivo ($P < 0,10$).

Tabela 7. Resumo das análises de variância da primeira medida de espessura de gordura subcutânea (EGS1), de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		EGS1	
Local de Nascimento	2	0.0002***	4,95***
Local de Confinamento	1	<0,0001***	64,10***
Pai	19	0,0124**	1,10**
Idade	1	0,0868*	1,68*
Resíduo	247	-	0,57
R ²			0,65

R² = coeficiente de determinação; Idade = idade do animal na mensuração; * $P < 0,10$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,01$.

A Tabela 8 apresenta um resumo da análise de variância da característica EGS, medida quando os animais estavam confinados cerca de 55 dias. Os efeitos local de nascimento, local de confinamento e pai incluídos no modelo foram significativos ($P < 0,05$ ou $P < 0,01$).

Tabela 8. Resumo das análises de variância da segunda medida de espessura de gordura subcutânea (EGS2), de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		EGS2	
Local de Nascimento	2	0,0131**	6,00**
Local de Confinamento	1	<0,0001***	26,88***
Pai	19	0,0013***	3,44***
Idade	1	0,3848	1,05
Resíduo	232	-	1,40
R ²			0,38

R² = coeficiente de determinação; Idade = idade do animal na mensuração; * P < 0,10; **P < 0,05; *** P < 0,01.

O resumo da análise de variância para ganho de gordura está apresentado na Tabela 9. Os efeitos local de confinamento e pai incluídos no modelo foram significativos (P<0,05 ou P<0,01).

Tabela 9. Resumo das análises de variância do ganho de gordura, de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		Ganho de gordura	
Local de confinamento	1	0,0025***	8,36***
Pai	19	0,0379**	1,51**
Resíduo	232	-	0,89
R ²			0,18

R² = coeficiente de determinação; * P < 0,10; **P < 0,05; *** P < 0,01.

A Tabela 10 apresenta o resumo da análise de variância da característica AOL medida antes dos animais entrarem no confinamento. Os efeitos local de nascimento e de local de confinamento incluídos no modelo foram significativos (P<0,05 ou P<0,01) e o efeito do pai foi sugestivo (P<0,10).

Tabela 10. Resumo das análises de variância da primeira medida de área de olho de lombo (AOL1), de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		AOL1	
Local de Nascimento	2	0,0012***	194,07***
Local de Confinamento	1	0,0280**	137,66**
Pai	19	0,0524*	45,60*
Idade	1	0,5237	11,48
Resíduo	223	-	28,16
R²			0,36

R² = coeficiente de determinação; Idade = idade do animal na mensuração; * P < 0,10; **P < 0,05; *** P < 0,01.

O resumo da análise de variância da característica AOL medida quando os animais estavam confinados em média por 55 dias está apresentado na Tabela 11. Nessa medida, apenas o efeito local de confinamento incluído no modelo foi significativo (P < 0,01).

Tabela 11. Resumo das análises de variância da segunda medida de área de olho de lombo (AOL2), de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		AOL2	
Local de Nascimento	2	0,2408	58,70
Local de Confinamento	1	<0,0001***	524,20***
Pai	19	0,1515	36,61
Idade	1	0,7339	3,26
Resíduo	223	-	27,81
R²			0,42

R² = coeficiente de determinação; Idade = idade do animal na mensuração; * P < 0,10; **P < 0,05; *** P < 0,01.

A Tabela 12 apresenta um resumo da análise de variância da característica peso à desmama ajustado para 240 dias. Os efeitos local de nascimento, idade ao desmame incluídos no modelo foram significativos (P < 0,01).

Tabela 12. Resumo das análises de variância da característica peso à desmama ajustado para 240 dias de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		PD	
Local de Nascimento	1	<0,0001***	62060,64***
Pai	19	0,3158	521,49
Idade	1	0,0002***	6389,47***
Resíduo	232	-	432,74
R²			0,61

R² = coeficiente de determinação; Idade = idade do animal na pesagem;* P < 0,10; **P < 0,05; *** P < 0,01.

O resumo da análise de variância da característica peso ao sobreano ajustado para 450 dias está apresentado na Tabela 13. O efeito local de nascimento incluído no modelo foi significativo (P<0,01).

Tabela 13. Resumo das análises de variância da característica peso ao sobreano ajustado para 450 dias de bovinos da raça Nelore

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P	Quadrados médios
		OS	
Local de Nascimento	1	<0,0001***	13115,99***
Pai	19	0,3994	444,92
Idade	1	0,2974	518,12
Resíduo	232	-	454,44
R²			0,56

R² = coeficiente de determinação; Idade = idade do animal na pesagem;* P < 0,10; **P < 0,05; *** P < 0,01.

6.6. Estimativas dos componentes de variância e das herdabilidades das características estudadas

As estimativas dos componentes de variância e das herdabilidades das características estudadas obtidas através da análise pelo procedimento MIXED do SAS e dos cálculos de herdabilidade estão apresentadas na Tabela 14

Tabela 14. Estimativas dos componentes da (co) variância do pai, (co)variância do erro e da herdabilidade (h^2) da espessura de gordura subcutânea (EGS), da área de olho de lombo (AOL), do ganho de gordura (Ggord), do peso à desmama (PD) e do peso ao sobreano (PS) em 20 famílias de meio - irmãos paternos da raça Nelore

Característica	Estimativa		
	(Co) variância do Pai	(Co) variância do erro	h^2
EGS	0,052	0,575	0,33
Ggord	0,034	0,87	0,15
AOL	3,13	24,19	0,45
PD	10,67	442,2	0,09
PS	2,043	439,9	0,018

Segundo Boligon et al. (2006) as estimativas de herdabilidade para características de produção são importantes para programas de melhoramento, pois características de baixa herdabilidade não apresentam resposta satisfatória à seleção dos animais, exceto quando a intensidade de seleção é alta.

As herdabilidades encontradas neste trabalho para EGS e AOL foram superiores às encontradas por Figueiredo (2001) em bovinos da raça Nelore e por Karsburg et al. (2004) em bovinos da raça Santa Gertrudis e foram semelhantes as encontradas por Cyrillo et al. (2005), em bovinos da raça Nelore. Os valores de herdabilidade estimados para o presente conjunto de dados indicam que estas características devem responder à seleção, porém são de mensuração tardia.

As herdabilidades estimadas para pesos à desmama e ao sobreano foram baixas e consideravelmente menores do que as relatadas na literatura para a raça Nelore (BIFFANI et al. 1999, GARNERO et al. 2001 e PEDROSA et al. 2008). Esse resultado sugere que efeitos do ambiente desempenham papel importante na variação fenotípica total dessas características. Apesar da amostra de touros ter sido escolhida para representar a variabilidade genética da raça, os valores de variância de touro foram reduzidos para essas características.

6.7. Associação dos marcadores com EGS e ganho de gordura

As Tabelas 15 a 18 resumem as análises de variância obtidas para cada marcador para a primeira medida de EGS. Como pode ser observado, não foi

encontrada associação significativa entre nenhum marcador e a primeira medida de EGS.

Tabela 15. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à primeira medida ultrassonográfica (EGS1) em bovinos da raça Nelore

EGS1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,001***
<i>PPARGC1A</i>	2	0,4993
Idade	1	0,1140

GC= Grupo de contemporâneos; *PPARGC1A* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 16. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à primeira medida ultrassonográfica (EGS1) em bovinos da raça Nelore

EGS1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,001***
<i>FABP4</i>	2	0,3688
Idade	1	0,1265

GC= Grupo de contemporâneos; *FABP4* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 17. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à primeira medida ultrassonográfica (EGS1) em bovinos da raça Nelore

EGS1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,001***
<i>DDEF1</i>	2	0,8512
Idade	1	0,1572

GC= Grupo de contemporâneos; *DDEF1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 18. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à primeira medida ultrassonográfica (EGS1) em bovinos da raça Nelore

EGS1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<.0001***
<i>IGF-1</i>	2	0,5027
Idade	1	0,1420

GC= Grupo de contemporâneos; *IGF-1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

As Tabelas 19 a 22 resumem as análises de variância obtidas para cada marcador para a segunda medida de EGS. Foi encontrada associação significativa entre o marcador *FABP4* e EGS2 (Tabela 20).

Tabela 19. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à segunda medida ultrassonográfica (EGS2) em bovinos da raça Nelore

EGS2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>PPARGC1A</i>	2	0,7368
Idade	1	0,5346

GC= Grupo de contemporâneos; *PPARGC1A* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 20. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à segunda medida ultrassonográfica (EGS2) em bovinos da raça Nelore

EGS2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,001***
<i>FABP4</i>	2	0,0402**
Idade	1	0,5229

GC= Grupo de contemporâneos; *FABP4* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 21. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à segunda medida ultrassonográfica (EGS2) em bovinos da raça Nelore

EGS2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>DDEF1</i>	2	0,4599
Idade	1	0,5923

GC= Grupo de contemporâneos; *DDEF1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 22. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre a característica espessura de gordura subcutânea referente à segunda medida ultrassonográfica (EGS2) em bovinos da raça Nelore

EGS2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>IGF-1</i>	2	0,6444
Idade	1	0,6083

GC= Grupo de contemporâneos; *IGF-1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Os resumos das análises de variância obtidas para cada marcador para ganho de gordura (Ggord.) estão apresentados nas Tabelas 23 a 26. Como pode ser observado na Tabela 24, foi encontrado um efeito sugestivo do marcador *FABP4* sobre ganho de gordura.

Tabela 23. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre ganho de gordura em bovinos da raça Nelore

Ggord.		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de confinamento	1	0,0006***
<i>PPARGC1A</i>	1	0,5480

*P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 24. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre ganho de gordura em bovinos da raça Nelore

GGord.		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de confinamento	1	0,0003***
<i>FABP4</i>	1	0,0929*

*P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 25. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre ganho de gordura em bovinos da raça Nelore

Ggord.		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de confinamento	1	0,0005***
<i>DDEF1</i>	1	0,2747

*P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 26. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre ganho de gordura em bovinos da raça Nelore

Ggord.		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de confinamento	1	0,0008***
<i>IGF-1</i>	1	0,7404

*P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Trabalhos em diversas espécies têm associado o gene *PPARGC1A* com o metabolismo energético. Esterbauer et al. (2002) associaram este gene com índices de obesidade e Lai et al. (2008) associaram com diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares em humanos. Stachowiak et al. (2007) associaram o gene *PPARGC1A* com características de produção em suínos, Erkens et al. (2009) identificaram um SNP na região promotora do gene *PPARGC1A* em suínos e não encontraram associação com qualidade de carne e deposição de gordura. Weikard et al. (2005) e Schennink et al. (2009) encontram associação significativa entre o gene *PPARGC1A* e deposição de gordura no leite. White et al (2006), Soria et al. (2009) e Tizioto et al. (2009) investigaram a associação de polimorfismos neste gene e não encontraram associação significativa com características de crescimento e de carcaças em bovinos. Em nosso estudo, concordando com os

resultados da literatura, não encontramos associação significativa entre o SNP do íntron 9 do gene *PPARGC1A* de bovinos e EGS em famílias da raça Nelore.

O gene *FABP4* é um candidato posicional e funcional para afetar a deposição de gordura, tendo sido associado com características de gordura e composição de ácidos graxos na carne. Hoashi et al. (2008) encontraram associação entre o gene *FABP4* e composição de ácido palmitoleico e ácido linoleico, presentes na gordura intramuscular em bovinos. Michall et al. (2006) encontraram associação significativa entre este gene e escores de marmoreio e deposição de gordura subcutânea em animais F2 originados do cruzamento Wagyu x Limousin. Cho et al. (2008) encontraram associação entre dois SNPs localizados no gene *FABP4* e deposição de gordura em bovinos nativos coreanos, sendo que um dos SNPs é o mesmo abordado neste estudo. Em um estudo conduzido recentemente no laboratório de Biotecnologia Animal da Embrapa Pecuária Sudeste, mesmo laboratório onde foi conduzido este estudo, foi encontrada associação significativa entre o SNP localizado no éxon 2 do gene *FABP4* com EGS em animais da raça Canchim (TIZIOTO 2009, dados não publicados). Na população da raça Nelore estudada neste trabalho, apesar de não ter sido observado efeito significativo entre o marcador *FABP4* e a primeira medida de EGS, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) deste marcador sobre a segunda medida de EGS e efeito sugestivo ($P < 0,10$) sobre ganho de gordura no confinamento. Este resultado contrastante entre as duas medidas de EGS realizadas neste trabalho pode ser decorrente da baixa exposição do potencial genético dos animais na primeira medida que foi tomada no início do confinamento. Há ainda que se considerar que as avaliações de deposição de gordura foram realizadas *in vivo*, medida esta que apesar de apresentar alta correlação com a deposição de gordura avaliada após o abate, possui limitações de sensibilidade quando há pouca gordura.

Na população estudada, não encontramos associação entre o gene *DDEF1* e EGS. Casas et al. (2009) associaram o gene *DDEF1* com escores de marmoreio em animais derivados de diversas raças bovina e G.B.Veneroni (2009) (comunicação pessoal) encontrou associação sugestiva $P < 0,10$ entre o gene *DDEF1* e EGS em animais da raça Canchim.

Diversos trabalhos associaram polimorfismos do gene *IGF-1* com características de crescimento como, por exemplo, Conde et al. (2000) e Ge et al. (2001). Há evidências que o gene *IGF-1* também pode estar associado com

consumo de alimento residual (WOOD et al. 2004). Islam et al. (2009) associaram um SNP localizado na região promotora do gene *IGF-1*, mesma região onde está localizado o microssatélite utilizado neste estudo, e associaram com deposição de gordura e características de carcaça. Estando o microssatélite na mesma região deste SNP, há alta probabilidade de estar em desequilíbrio de ligação com o SNP e se comportar como um marcador indireto, porém neste estudo não foi encontrada associação significativa entre o microssatélite do gene *IGF-1* e EGS e ganho de gordura.

6.8. Médias da característica EGS para os genótipos do marcador *FABP4*

As médias dos genótipos do gene *FABP4*, que apresentou efeito significativo sobre a segunda medida de EGS, estão apresentadas na Tabela 27 e Figura 10.

Tabela 27. Média e erro padrão para as medidas de espessura de gordura subcutânea referentes à segunda ultrassonografia (EGS2) observados para cada genótipo do gene *FABP4*

Genótipo <i>FABP4</i>	N	Média EGS2	Erro padrão
AA	5	3,42	0,63
AG	83	5,41	0,16
GG	180	5,48	0,11

Foi observada diferença significativa entre as médias dos genótipos AA e AG ($P=0,0026$) e AA e GG ($P=0,0015$) para a característica EGS2. Não houve diferença significativa entre as médias dos genótipos AG e GG ($P=0,7351$), sugerindo efeito de dominância.

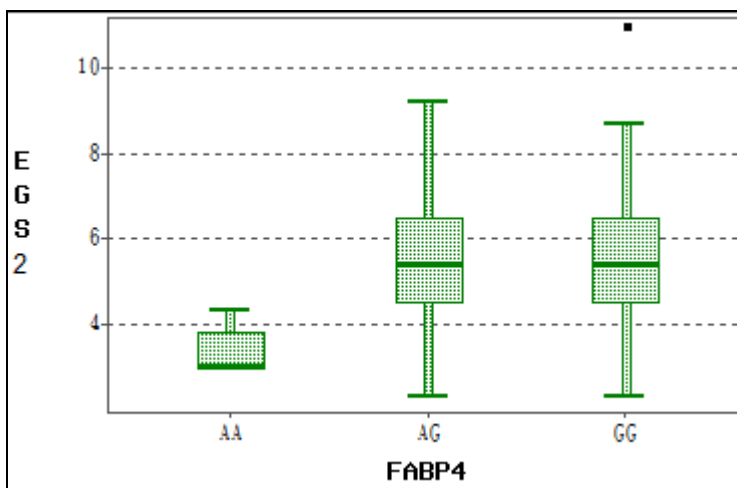


Figura 10. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *FABP4* para EGS2.

As médias dos genótipos do gene *FABP4* para ganho de gordura estão apresentadas na Tabela 28 e Figura 11.

Tabela 28. Média e erro padrão para ganho de gordura observados para cada genótipo do gene *FABP4*

Genótipo <i>FABP4</i>	N	Média GGord	Erro padrão
AA	5	0,98	0,44
AG	83	1,87	0,11
GG	180	1,91	0,08

Foi observada diferença significativa entre as médias dos genótipos AA e GG ($P=0,0410$), diferença sugestiva entre os genótipos AA e AG ($P=0,0536$). Não houve diferença significativa entre as médias dos genótipos AG e GG ($P=0,7933$), consistente com a sugestão de efeito de dominância observada para a característica EGS2.

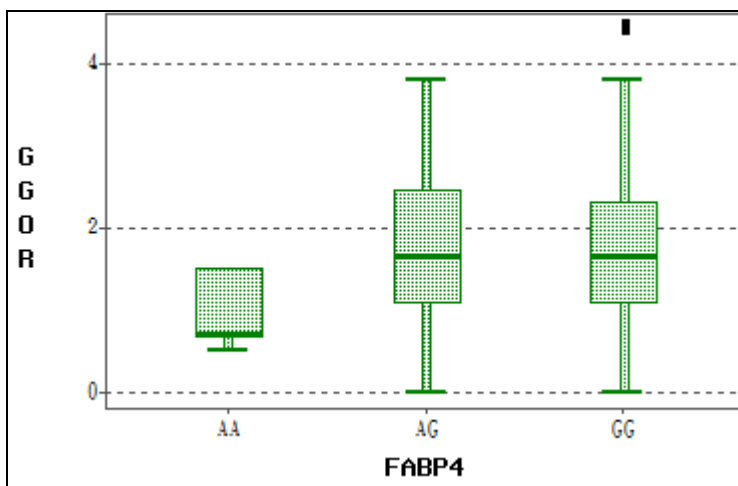


Figura 11. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *FABP4* para ganho de gordura

6.9. Associação dos marcadores com AOL

As Tabelas 29 a 32 resumem as análises de variância obtidas para cada marcador para a primeira medida de AOL. Como pode ser observado na Tabela 31, foi encontrada associação significativa $P < 0,05$ somente entre o gene *DDEF1* e a primeira medida de AOL.

Tabela 29. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre área de olho de lombo referente à primeira medida ultrassonográfica (AOL1) em bovinos da raça Nelore

AOL1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>PPARGC1A</i>	2	0,5697
Idade	1	0,4393

GC= Grupo de contemporâneos; *PPARGC1A* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; * $P < 0,10$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,01$

Tabela 30. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre área de olho de lombo referente à primeira medida ultrassonográfica (AOL1) em bovinos da raça Nelore

AOL1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>FABP4</i>	2	0,1563
Idade	1	0,4904

GC= Grupo de contemporâneos; *FABP4* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 31. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre área de olho de lombo referente à primeira medida ultrassonográfica (AOL1) em bovinos da raça Nelore

AOL1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>DDEF1</i>	2	0,0158**
Idade	1	0,4950

GC= Grupo de contemporâneos; *DDEF1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 32. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre área de olho de lombo referente à primeira medida ultrassonográfica (AOL1) em bovinos da raça Nelore

AOL1		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>IGF-1</i>	2	0,77
Idade	1	0,4693

GC= Grupo de contemporâneos; *IGF-1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Os resumos das análises de variância obtidas para cada marcador para segunda medida de AOL estão apresentados nas Tabelas 33 a 36. A associação significativa, encontrada entre a primeira medida e o gene *DDEF1* foi confirmada nas análises realizadas com a segunda medida de AOL (Tabela 35).

Tabela 33. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre área de olho de lombo referente à segunda medida ultrassonográfica (AOL2) em bovinos da raça Nelore

AOL2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>PPARGC1A</i>	2	0,4121
Idade	1	0,6888

GC= Grupo de contemporâneos; *PPARGC1A* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 34. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre área de olho de lombo referente à segunda medida ultrassonográfica (AOL2) em bovinos da raça Nelore

AOL2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>FABP4</i>	2	0,8706
Idade	1	0,6779

GC= Grupo de contemporâneos; *FABP4* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 35. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre área de olho de lombo referente à segunda medida ultrassonográfica (AOL2) em bovinos da raça Nelore

AOL2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>DDEF1</i>	2	0,0103**
Idade	1	0,9564

GC= Grupo de contemporâneos; *DDEF1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 36. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre área de olho de lombo referente à segunda medida ultrassonográfica (AOL2) em bovinos da raça Nelore

AOL2		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>IGF-1</i>	2	0,4396
Idade	1	0,8982

GC= Grupo de contemporâneos; *IGF-1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Não foi encontrada associação significativa entre o gene *PPARGC1A* e AOL, resultado concordante com White et al. (2006), Soria et al. (2009) e Tizioto et al. (2009) que investigaram a associação entre SNPs deste gene e AOL em outras raças de bovinos.

Não foi encontrada associação significativa entre o gene *FABP4* e AOL, concordando com os resultados obtidos por Hoashi et al. (2008) e Rezende et al. (2008).

Não há relatos de associação do gene *DDEF1* com AOL, sendo este trabalho o primeiro que investigou esta associação e observou efeito significativo. A AOL é uma característica correlacionada com musculosidade e por isso pode influenciar na qualidade da carcaça. A associação entre um marcador e AOL pode contribuir para seleção precoce, já que esta característica é de mensuração tardia (quando o animal atinge cerca de 18 meses ou após o abate) e conseqüentemente contribuir para o melhoramento animal, possibilitando incluir esta característica em programas de melhoramento.

Apesar de haver relatos de associação entre o gene *IGF-1* e características de crescimento, não foi observada associação significativa entre o gene *IGF-1* e AOL, concordando com este resultado Islam et al. (2009), que também não encontraram associação significativa em bovinos Angus, Charolês e cruzados.

6.10. Médias da característica AOL para os genótipos do marcador *DDEF1*

As médias associadas aos genótipos do gene *DDEF1*, que apresentou efeito significativo com área de olho de lombo, estão apresentadas nas Tabelas 37 e 38 e Figuras 12 e 13.

Tabela 37. Média e erro padrão para a primeira medida de área de olho de lombo (AOL1) observados para cada genótipo do gene *DDEF1*

Genótipo <i>DDEF1</i>	N	Média AOL1	Erro padrão
AA	170	46,83	0,47
AG	70	48,13	0,74
GG	7	41,81	2,58

Foi observada diferença sugestiva entre as médias dos genótipos AA e GG ($P=0,0576$), diferença significativa entre as médias dos genótipos AG e GG ($P=0,0197$) e não houve diferença significativa entre as médias do genótipo AA e AG ($P=0,1393$) para a característica AOL1, sugerindo efeito de dominância.

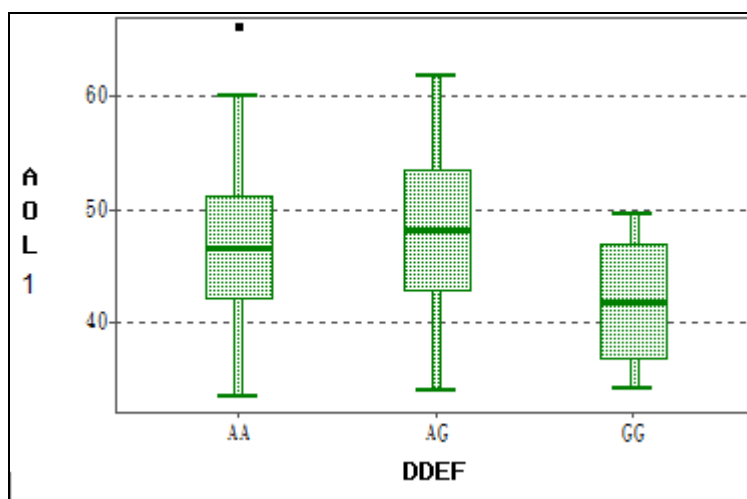


Figura 12. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *DDEF1* para a primeira medida de área de olho (AOL1)

Tabela 38. Média e erro padrão para a segunda medida de área de olho de lombo final (AOL2) observados para cada genótipo do gene *DDEF1*

Genótipo <i>DDEF1</i>	N	Média AOL2	Erro padrão
AA	170	51,77	0,50
AG	70	53,14	0,80
GG	7	45,28	2,43

Foi observada diferença significativa entre as médias dos genótipos AA e GG ($P=0,0097$) e AG e GG ($P=0,0024$). A diferença entre as médias dos genótipos AA e AG, não foi significativa ($P=0,1477$), sugerindo efeito de dominância.

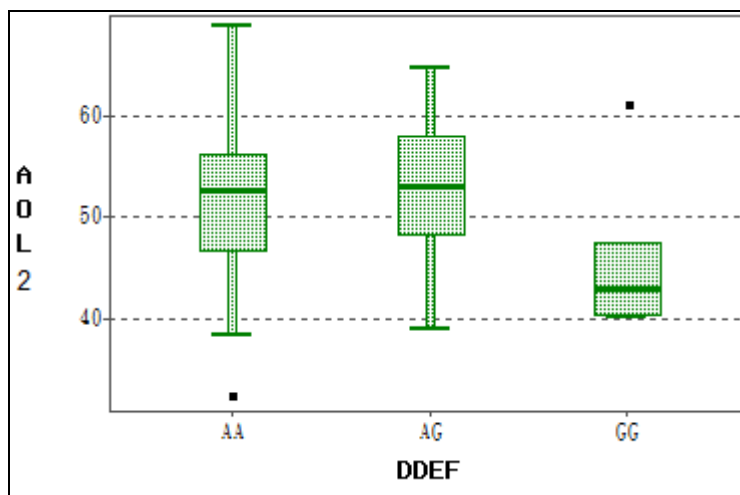


Figura 13. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *DDEF1* para a segunda medida área de olho de lombo (AOL2)

6.11. Associação dos marcadores com as características de crescimento peso à desmama e peso ao sobreano

As Tabelas 39 a 42 resumem as análises de variância obtidas para cada marcador para peso à desmama. Foi encontrada associação significativa ($P<0,01$) entre o gene *DDEF1* e peso à desmama (PD).

Tabela 39. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre peso à desmama (PD) em bovinos da raça Nelore

PD		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
PPARGC1A	2	0,2855
Idade	1	<0,0001***

GC= Grupo de contemporâneos; *PPARGC1A* = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; * $P<0,10$; ** $P<0,05$; *** $P<0,01$

Tabela 40. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre peso à desmama (PD) em bovinos da raça Nelore

PD		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>FABP4</i>	2	0,7635
Idade	1	<0,0001***

GC= Grupo de contemporâneos; *FABP4* = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 41. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre peso à desmama (PD) em bovinos da raça Nelore

PD		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>DDEF1</i>	2	0,0021***
Idade	1	<0,0001***

GC= Grupo de contemporâneos; *DDEF1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 42. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre peso à desmama (PD) em bovinos da raça Nelore

PD		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>IGF-1</i>	2	0,5593
Idade	1	<0,0001***

GC= Grupo de contemporâneos; *IGF-1* = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Os resumos das análises de variância obtidas para cada marcador para peso ao sobreano (PS) estão apresentados nas Tabelas 43 a 46. Foi encontrada associação significativa (P<0,05) entre o gene *DDEF1* e PS e associação sugestiva (P<0,10) entre PS e o gene *IGF-1*.

Tabela 43. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *PPARGC1A* sobre peso ao sobreano (PS) em bovinos da raça Nelore

OS		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>PPARGC1A</i>	2	0,7736
Idade	1	0,1185

PPARGC1A = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 44. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *FABP4* sobre peso ao sobreano (PS) em bovinos da raça Nelore

OS		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>FABP4</i>	2	0,5222
Idade	1	0,1060

FABP4 = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 45. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *DDEF1* sobre peso ao sobreano (PS) em bovinos da raça Nelore

OS		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>DDEF1</i>	2	0,0109**
Idade	1	0,0954*

DDEF1 = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Tabela 46. Resumo das análises de variância incluindo o efeito do marcador *IGF-1* sobre peso ao sobreano (PS) em bovinos da raça Nelore

PS		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de Nascimento	2	<0,0001***
<i>IGF-1</i>	2	0,0711*
Idade	1	0,0974*

IGF-1 = marcador; Idade = Idade do animal na data da pesagem; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

O gene *PPARGC1A* é candidato para características como peso corporal e obesidade, porém, não encontramos associação significativa entre este gene e peso à desmama e peso ao sobreano em bovinos da raça Nelore, resultado concordante com os obtidos por Soria et al. (2009), que não encontram associação entre dois SNPs localizados no gene *PPARGC1A* e o último peso vivo de bovinos da raça Brangus, e Tizioto et al. (2009) que não encontraram associação do gene *PPARGC1A* e peso aos 18 meses em bovinos da raça Canchim. Wu et al. (2006) não encontraram associação entre o gene *PPARGC1A* e características de crescimento em galinhas.

O cromossomo 14 no qual o gene *FABP4* e *DDEF1* estão localizados a 41,955 Mb e 9,726 Mb respectivamente, apresenta QTLs para características de crescimento como média de peso corporal, peso corporal à desmama (200 dias) e peso corporal ao abate (cattle QTL Database: <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>).

Não encontramos associação entre o gene *FABP4* e peso à desmama e peso ao sobreano. Em um estudo conduzido por Cho et al. (2008) não foi observada associação significativa entre dez SNPs localizados no gene *FABP4* e peso de carcaça em bovinos nativos coreanos, sendo que um dos SNPs estudados é o mesmo abordado neste trabalho. Não foi encontrada associação significativa entre peso aos 18 meses e o gene *FABP4* em bovinos da raça Canchim (TIZIOTO et al. 2009, dados não publicados).

Veneroni et al. (2009) (comunicação pessoal) investigaram a associação do gene *DDEF1* com peso aos 18 meses em bovinos da raça Canchim e não observaram associação significativa. Não havia descrição, até o presente momento, de associação entre o gene *DDEF1* e peso à desmama e peso ao sobreano em bovinos. No presente estudo demonstramos esta associação em bovinos da raça Nelore. A identificação de marcadores associados com características de crescimento pode ajudar na seleção de reprodutores a fim de produzir rebanhos mais rentáveis e pode permitir estabelecer um perfil produtivo para características economicamente importantes desde o nascimento.

O gene *IGF-1* é candidato para características de crescimento em bovinos, uma vez que desempenha papel na regulação do crescimento e no desenvolvimento. Foi observada, neste trabalho, associação sugestiva entre o gene *IGF-1* e peso ao sobreano em bovinos da raça Nelore. Diversos estudos têm

relatado a associação do gene *IGF-1* com características de crescimento em bovinos. Moody et al.(1996) associaram o gene *IGF-1* com peso ao nascimento e Pereira et al. (2005) encontraram associação significativa entre o gene *IGF-1* e peso ao nascimento e ao sobreano em bovinos da raça Canchim.

6.12. Médias das características de crescimento para os marcadores *DDEF1* e *IGF-1*

As médias associadas aos genótipos do gene *DDEF1* para peso à desmama e peso ao sobreano estão apresentadas nas Tabelas 47 e 48 e Figuras 14 e 15, respectivamente.

Tabela 47. Média e erro padrão para a característica de peso à desmama observados para cada genótipo do gene *DDEF1*

Genótipo <i>DDEF1</i>	N	Média PD	Erro padrão
AA	170	185,24	2,45
AG	70	192,72	3,76
GG	7	170,80	14,46

Foi observada diferença sugestiva entre as médias observadas para os genótipos AA e AG ($P=0,0968$), não houve diferença significativa entre as médias observadas para os genótipos AA e GG ($P=0,3258$) e AG e GG ($P=0,1436$).

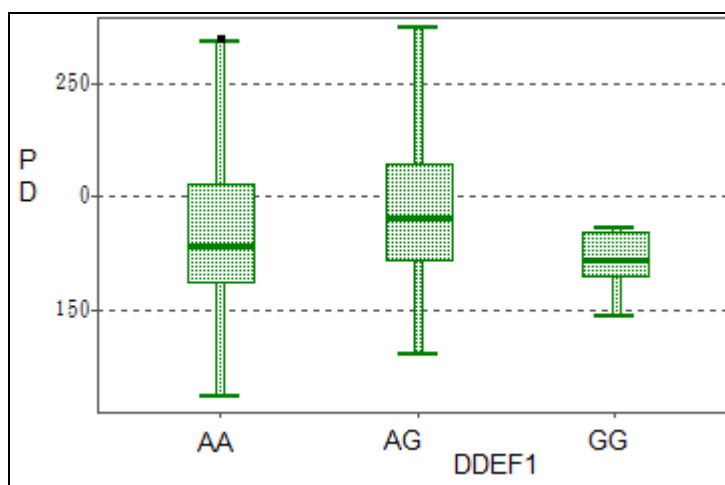


Figura 14. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *DDEF1* para a característica peso à desmama (PD)

Tabela 48. Média e erro padrão para a característica de peso ao sobreano observados para cada genótipo do gene *DDEF1*

Genótipo <i>DDEF1</i>	N	Média PS	Erro padrão
AA	170	250,33	2,32
AG	70	254,06	3,56
GG	7	217,00	13,71

Foi observada diferença significativa entre as médias observadas para os genótipos AA e GG ($P=0,0209$) e AG e GG ($P=0,0095$) não houve diferença significativa entre as médias observadas para os genótipos AA e AG ($P=0,2672$), sugerindo efeito de dominância.

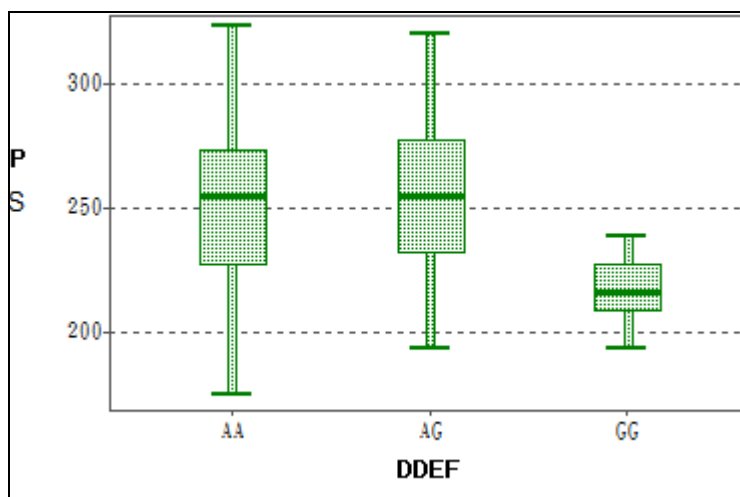


Figura 15. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *DDEF1* para a característica peso ao sobreano (PS)

As médias dos genótipos do gene *IGF-1* para peso ao sobreano, estão apresentadas na Tabela 49 e Figura 16.

Tabela 49. Média e erro padrão para a característica de peso ao sobreano observados para cada genótipo do gene *IGF-1*

Genótipo <i>IGF-1</i>	N	Média PS	Erro padrão
225/225	150	252,67	2,63
225/229	106	245,99	3,11
229/229	20	256,31	7,70

Não houve diferença significativa entre as médias observadas para os genótipos 225/225 e 225/229 ($P=0,1023$), 225/225 e 229/229 ($P=0,6559$) e 225/229 e 229/229 ($P=0,2155$).

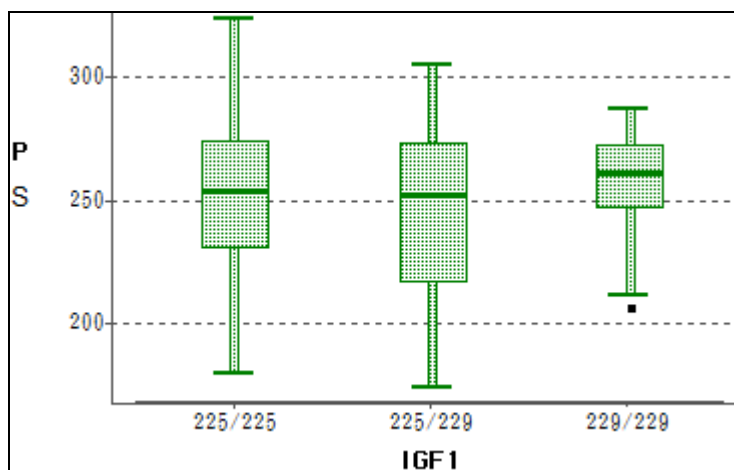


Figura 16. Gráfico (Blox Plot) obtido através do software SAS com as médias dos genótipos do gene *IGF-1* para a característica peso ao sobreano (PS)

6.13. Efeito de substituição alélica

Os genitores transmitem alelos e não genótipos aos seus descendentes. A análise do efeito de substituição alélica possibilita designar um valor associado a cada alelo que o indivíduo possui. Esta medida é designada com a média do efeito de um alelo na população (FALCONER E MACKAY, 1996).

Foi calculado o efeito de substituição alélica, para os marcadores que apresentaram efeito significativo ou sugestivo para as características estudadas.

6.13.1. Efeito de substituição alélica do marcador *FABP4* sobre EGS.

A Tabela 50 apresenta o resumo da análise de variância referente à segunda medida de espessura de gordura subcutânea para o efeito de substituição alélica do marcador *FABP4*. Não foi observado efeito significativo de substituição de alelo para o marcador *FABP4* sobre EGS2.

Tabela 50. Resumo da análise de variância da característica espessura de gordura subcutânea referente à segunda medida ultrassonográfica para o efeito de substituição alélica do marcador *FABP4*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>KFABP4-ALELOA</i>	1	0,1904
ID	1	0,5644

GC= Grupo de contemporâneos; ID= Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

6.13.2. Efeito de substituição alélica do marcador *FABP4* sobre ganho de gordura

A Tabela 51 apresenta o resumo da análise de variância de ganho de gordura para o efeito de substituição alélica do marcador *FABP4*. Não foi observado efeito significativo de substituição de alelo para o marcador *FABP4* sobre ganho de gordura.

Tabela 51. Resumo da análise de variância de ganho de gordura para o efeito de substituição alélica do marcador *FABP4*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de confinamento	2	0,0006***
<i>KFABP4-ALELOA</i>	1	0,2453

*P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

6.13.3. Efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1* sobre AOL

A Tabela 52 apresenta o resumo da análise de variância da característica área de olho de lombo inicial para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*. Não foi observado efeito significativo de substituição de alelo do marcador *DDEF1* sobre AOL1.

Tabela 52. Resumo da análise de variância da área de olho de lombo referente à primeira medida ultrassonográfica para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>KDDEF1-ALELOG</i>	1	0,6286
ID	1	0,4106

GC= Grupo de contemporâneos; ID= Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

A Tabela 53 apresenta o resumo da análise de variância referente à segunda medida de área de olho de lombo para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*. Não foi observado efeito significativo de substituição de alelo para o marcador *DDEF1* sobre AOL2.

Tabela 53. Resumo da análise de variância da área de olho de lombo referente a segunda medida ultrassonográfica para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
GC	3	<0,0001***
<i>KDDEF1-ALELOG</i>	1	0,9432
ID	1	0,8181

GC= Grupo de contemporâneos; ID= Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

6.13.4. Efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1* sobre PD

A Tabela 54 apresenta o resumo da análise de variância da PD para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*. Não foi observado efeito significativo de substituição de alelo para o marcador *DDEF1*.

Tabela 54. Resumo da análise de variância da característica peso à desmama para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
LOCAL NASCIMENTO	2	<0,0001***
<i>KDDEF1-ALELOG</i>	1	0,2926
ID	1	<0,0001***

GC= Grupo de contemporâneos; ID= Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

6.13.5. Efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1* sobre PS

A Tabela 55 apresenta o resumo da análise de variância da característica PS para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*. Não foi observado efeito significativo de substituição de alelo para o marcador *DDEF1* para PS.

Tabela 55. Resumo da análise de variância da característica peso ao sobreano para o efeito de substituição alélica do marcador *DDEF1*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de nascimento	2	<0,0001***
<i>KDDEF1</i> -ALELOG	1	0,4653
ID	1	0,1366

ID= Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

6.13.6. Efeito de substituição alélica do marcador *IGF-1* sobre PS

A Tabela 56 apresenta o resumo da análise de variância da característica PS para o efeito de substituição alélica do marcador *IGF-1*. Foi observado efeito significativo P<0,05 de substituição de alelo para o marcador *IGF-1* para a característica PS.

Tabela 56. Resumo da análise de variância da característica peso ao sobreano para o efeito de substituição alélica do marcador *IGF-1*

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de P
Local de nascimento	2	<0,0001***
<i>KIGF-1</i> -ALELO229	1	0,0171**
ID	1	0,0910

ID= Idade do animal na data da medida; *P<0,10; **P<0,05; ***P<0,01

Para o marcador *IGF-1*, a média do efeito de substituição alélica foi igual a 6,9 Kg. Esse valor verificado para média do efeito do alelo 229 indicou uma correlação negativa deste alelo sobre a característica PS. Assim, os resultados sugerem que a substituição de um alelo 225 por um alelo 229 pode conduzir à uma diminuição de 6,9 Kg na média de PS dessa população da raça Nelore.

6.14. Teste de comparação de modelos

Nos testes de razão de verossimilhança entre os modelos estatísticos que consideram o efeito fixo de genótipo e o modelo incluindo as covariáveis referentes ao número de cada alelo no genótipo, dos marcadores que apresentaram efeito significativo ou sugestivo para alguma característica, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre todos eles, com exceção dos modelos para a característica ganho de gordura. Isto indica que na maioria das vezes, o modelo com o genótipo para o marcador, apresentou melhor ajuste para as características estudadas do que o modelo reduzido, só com efeitos de substituição de alelos. Estes resultados sugerem que os efeitos que influenciam as características abordadas neste estudo não são puramente aditivos. A ausência de significância da comparação de modelos para o efeito do polimorfismo no gene *FABP4* sobre a característica ganho de gordura poderia ser interpretado como ausência de desvio de dominância. Entretanto, esse resultado parece conflitante com as estimativas de diferenças entre médias para os genótipos do *FABP4* (Figura 10 e Tabela 28). É possível que essa inconsistência seja decorrente do baixo suporte estatístico para associação entre o marcador *FABP4* e ganho de gordura (Tabela 24). A avaliação dessa associação em um maior número de indivíduos poderia contribuir para compreensão dessa associação.

7. Conclusão

Os resultados indicam que a abordagem de genes candidatos requer a investigação de polimorfismos específicos de *Bos indicus*, uma vez que encontramos dois polimorfismos (*Leptina* e *FABP4*) descritos para populações *Bos taurus* fixados em nossa amostragem.

Não foi encontrada associação significativa entre os marcadores moleculares abordados neste estudo e a primeira medida de EGS, porém esses resultados podem ser decorrentes da baixa exposição do potencial genético em função da medida ter sido tomada ao início do confinamento. Foi encontrada associação significativa do *FABP4* sobre a segunda medida de EGS e associação sugestiva sobre ganho de gordura no confinamento.

Foi encontrada associação significativa entre o gene *DDEF1* e as características de produção AOL, peso à desmama e peso ao sobreano.

O gene *IGF-1* mostrou ter efeito sugestivo sobre peso ao sobreano nessa população da raça Nelore. Mais estudos de associação entre estes genes e características de produção devem ser realizados em outras populações da raça Nelore. Caso estas associações sejam comprovadas em outras populações, esta informação pode ser utilizada para seleção destas características em programas de melhoramento da raça Nelore.

8. Referências Bibliográficas

ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção Assistida por Marcadores Moleculares Visando ao Desenvolvimento de Plantas Resistentes a Doenças, com Ênfase em Feijoeiro e Soja. **Fitopatol. bras.**, v.30, n.4, 2005.

ANUALPEC 2008. **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: Angra FNP, 2008.

ARBOITTE, M. Z.; RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C; BRONDANI, I. L.; PACHECO, P. S.; MENEZES, L. F. G de; PEROTTONI, J. Composição Física da Carcaça, Qualidade da Carne e Conteúdo de Colesterol no Músculo *Longissimus dorsi* de Novilhos 5/8 Nelore - 3/8 Charolês Terminados em Confinamento e Abatidos em Diferentes Estádios de Maturidade. **Rev. Bras. Zootec.** v.33, n.4, p.959-968, 2004.

BASARAB, C.LI.J.; SNELLING, W.M.; BENKEL, B.; KNEELAND, J.; MURDOCH, B.; HANSEN, C.; MOORE, S.S. Identification and fine mapping of quantitative trait loci for backfat on bovine chromosomes 2, 5, 6, 19, 21, and 23 in a commercial line of *Bos Taurus*. **J Anim Sci.**, v. 82, p. 967-972, 2004.

BIFFANI, S.; MARTINS FILHO, R.; MARTINI, A. et al. Fatores ambientais e genéticos que influenciam o desenvolvimento ponderal até o desmame de animais criados no Nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Zootec.**, v.28, p.693-700, 1999.

BISHOP, M.D.; KAPPES, S.M.; KEELE, J.W.; STONE, R.T.; SUNDEM, S.L.F.; HAWKINS, G.A.; SOLINAS TOLDO, S.; FRIES, R.; GROSS, M.D.; YAOO J.; BEATTIE, C.W. A genetic linkage map for cattle. **Genetics**, v. 136, p. 619-639, 1994.

BOCCHI, A.L.; TEXEIRA, R.A.; ALBUQUERQUE, L.G. Idade da vaca e mês de nascimento sobre o peso ao desmame de bezerros nelore nas diferentes regiões brasileiras. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 26, n. 4, p. 475-482, 2004.

BOLIGON, A.A.; RORATO, P.R.N.; WEBER, T.; EVERLING, D.M.; LOPES, J.S. Herdabilidades para ganho de peso da desmama ao sobreano e perímetro escrotal ao sobreano e tendências genética e fenotípica para ganho de peso da desmama ao sobreano em bovinos Nelore-Angus. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.4, p.1323-1328, 2006.

BROOKES, A.J. The essence of SNPs. **Gene**. v. 8, p.177-86, 1999.

BUITKAMP, J. e SEMMER, J. A robust, low- to medium-throughput prnp genotyping system in sheep. **BMC Infectious Diseases**, v.4, p. 30, 2004.

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 alternative forms of myostatin. **J. Anim Sci.**, v. 78, p. 560–569, 2000.

CASAS, E.; WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; BENNETT, G.L.; SMITH, T.P.L. Association Of Single Nucleotide Polymorphisms In Candidate Genes Residing Under Quantitative Trait Loci In Beef Cattle. **Plant & Animal Genomes XVII Conference**, 2009.

CERÓN-MUÑOZ, M.; TRUJILLO-BRAVO, E.; CORRALES, J.D. Leptin gene polymorphisms and beef Longissimus muscle association in Hartón Del Valle and Blanco Orejinegro cattle. **Livestock Research for Rural Development**, v. 20, n.7, 2008.

CHMURZYNSKA, A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. **J Appl Genet**. v. 47, n.1, p. 39-48, 2006.

CHO, S.; PARK, T.S.; CHEONG, H.S.; NAMGOONG, S.; PARK, B.L.; LEE, H.W.; HAN, C.S.; CHEONG, I.C.; KIM, H.; SHIN, H.D. Identification of genetic polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. **BMB Rep**. v.41, n.1, p.29-34, 2008.

CHOUDHARY, V.; KUMAR, P.; BHATTACHARYA, T.K.; BHUSHAN, B.; SHARMA, A. DNA polymorphism of leptin gene in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Genet. Mol. Biol.**, v. 28, n.4, 2005.

CONDE, S.B.; GUIMARÃES, S.E.F.; EUCLYDES, R.F.; SILVA, L.O.C.; EUCLYDES FILHO, K. Associação de polimorfismos do microssatélite flanqueador do gene IGF-I e do gene do hormônio do crescimento bovino (bGH) com características ponderais na raça Nelore.; In: Simpoósio Nacional de Melhoramento Animal; In: III Simpósio Nacional de Melhoramento Animal. **Anais...** Belo Horizonte, 2000.

COSTA, E. C. da; RESTLE, J.; BRONDANI, I. L.; PEROTTONI, J. FATURI, C.; MENEZES L. F. G. de. Composição Física da Carcaça, Qualidade da Carne e Conteúdo de Colesterol no Músculo *Longissimus dorsi* de Novilhos Red Angus Superprecoces, Terminados em Confinamento e Abatidos com Diferentes Pesos. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, n.1, p.417-428, 2002 a.

COSTA, E.C. da; RESTLE, J.; VAZ, F.N.; ALVES FILHO, D.C.; BARNARDES, R.A.L.C.; KUSS, F. Características da Carcaça de Novilhos Red Angus Superprecoces Abatidos com Diferentes Pesos. **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.1, p.119-128, 2002 b.

COSTA, D.; ABREU, J.B.R. de; MOURÃO, R. de C.; SILVA, J.C.G. da; RODRIGUES, V.C.; SOUSA, J.C.D. de; MARQUES, R.A.F. de S. Características de carcaça de novilhos inteiros Nelore e F1 Nelore X Holandês. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 687-696, 2007.

CYRILLO, J.N.S.G.; MERCADANTE, M.E.Z.; SILVA, S.L.E.; RAZOOH, A.G.; FIGUEIREDO, L.A.de; SILVA, J.A.V. Estimativas de parâmetros para pesos, alturas, escores visuais e características de carcaça obtidas por ultra-som em bovinos Nelore. XIX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. **BIOTAM Nueva Serie**. Edición Especial, 2005.

DAVIS, G. P; DANISE S. K. The Impact of Genetic Markers on Selection. **J. Anim. Sci.** v. 76 p. 2331–2339, 1998.

DIAZ, I.D.P.S.; ARAÚJO NETO, F.R.; OLIVEIRA, H.N.; BARROZO, D.; LÔBO, R.B.; BEZERRA, L.A.F. Interação genótipo-ambiente para o peso ao sobreano em bovinos da raça Nelore em duas estações de nascimento. In: 46º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...**Maringá, 2009.

EDWARDS, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 6, 1991.

ERKENS, T.; ROHRER, A.; ZEVERENI, V.; PEELMAN, L.J. SNP detection in the porcine *PPARGC1A* promoter region and 3'UTR, and an association analysis in a Landrace-Duroc-Yorkshire population. **Czech J. Anim. Sci.**, v.54, n.9, p. 408-416, 2009.

ESTERBAUER, H.; OBERKOFER, H.; IGLSEDER, B.; HEDEGGER, M.; WOLFSGRUBER, P.; PAULWEBER, B.; FASTNER, G.; KREMLER, F.; PATSCH, W. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 gene locus: associations with obesity indices in middle-aged women. **Diabetes**. v.51, n.4, p.1281-1286, 2002.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4th Ed. Edinburg: Longman, 1996. 464p.

FAVA NEVES, M.; SCARE, R. F.; CAVALCANTI, M. da R. Comercialização internacional de produtos animais provenientes de pastagens, 2003. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em 22 de setembro de 2008.

FELÍCIO, P.E. Fatores Ante e Post Mortem que Influenciam na Qualidade da Carne Vermelha. In: Simpósios da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...**Rio de Janeiro – RJ, p. 43-52, 1993.

FELÍCIO, P.E. Qualidade da carne bovina: características físicas e organolépticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36. Porto Alegre, 1999. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. p.89-97.

FELÍCIO, P. E. Fatores ante e post mortem que influenciam na qualidade da carne bovina. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Eds.) **Produção do novilho de corte**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", p. 79-97, 1997.

FELÍCIO, P.E.. Avaliação da qualidade da carne bovina. In: Simpósio sobre Produção Intensiva de Gado de Corte, 1998, Campinas. **Anais...** São Paulo: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal (CBNA), p.92-99, 1998.

FIGUEIREDO, L. G. G. **Estimativas de parâmetros genéticos de características de carcaças feitas por ultra-sonografia em bovinos da raça Nelore**. Pirassununga, 2001. 67p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

- GARNERO, A.V.; GUNSKI, R.J.; SCHWENGBER, E.B. et al. Comparación entre critérios de selección para características de crecimiento correlacionados com edad al primer parto en la raza Nelore. **Liv. Res. Rural Develop.**, v.13, 2001.
- GE, W.; DAVIS, M.E.; HINES, H.C.; IRVIN, K. M.; SIMMEN, R. C. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. **J. Anim Sci.**, v. 79, p.1757-1762, 2001
- GEARY, T.W.; McFADIN, E.L.; MacNEIL, M.D.; GRINGS, E.E.; SHORT, R.E.; FUNSTON, R.N.; KEISLER, D.H. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. **J. Anim Sci.**, v.81. p.1-8, 2003.
- GIANNONI, M. A.; GIANNONI, M. L. **Genética e melhoramento de rebanhos nos trópicos**. 2. ed. São Paulo :Nobel, 1989. 463p.
- GUO, H.; LIU, W.S.; TAKASUGA, A.; EYER, K.; LANDRITO, E.; XU, S.Z.; GAO, X.; REN, H.Y.; Mapping Expression, and Association Study of the bovine *FABP4* Gene. **Springer Science**, v. 46, p. 347-355, 2008.
- GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C.; GELBART, W.M. **An introduction to Genetic Analysis**. Sétima edição. New York. W.H. Freeman, 1999.
- HANCOCK J.M. The contribution of slippage-like processes to genome evolution. **J. Mol. Evol.**, v.41, p.1038–1047, 1995.
- HOASHI, S.; HINENOYA, T.; TANAKA, A.; OHAKI, H.; SASAZAKI, S.; TANIGUCHI, M.; OYAMA, K.; MUKAI, F.; MANNEN, H. Association between fatty acid compositions and genotypes of *FABP4* and *LXR-alpha* in Japanese Black cattle. **BMC Genetics**, v. 9, p. 2156-2159, 2008.
- ISLAM, K.K.; VINSKY, M.; CREWS, R.E.; OKINE, E.; MOORE, S.S.; CREWS JR, D.H.; LI, C. Association analyses of a SNP in the promoter of IGF1 with fat deposition and carcass merit traits in hybrid, Angus and Charolais beef cattle. **Animal Genetics**, v.40, p. 766-769, 2009.
- JORDAN, B.; CHAREST, A.; DOWD, J. F; BLUMENSTIEL, J.P.; YEH, R. F.; OSMAN, A.; HOUSMAN, D. E.; LANDERS, J.E. Genome complexity reduction for SNP genotyping analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 99, n.5, p. 2942-2947, 2002.
- KAUKAUS R.M.; BASS N.M.; OCKNER R.K. Functions of fatty acid binding proteins. **Experientia** v.46, p. 617–30, 1990.
- KAO, S.L.; CHONG, S.S.; LEE, C.G. The role of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in understanding complex disorders and pharmacogenomics. **Ann Acad Med Singapore**. v.9, n.3, p.376-382, 2000.

KARSBURG, J.H.; FERRAZ, J.B.S.; MOURÃO, G.B.; FIGUEIREDO, L.G.G.; MATTOS, E.C.de; ELER, J.P. Estimação de componentes de variância e parâmetros genéticos para características de crescimento e de carcaça em bovinos da raça Santa Gertrudis. In: V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, **Anais...** Pirassununga, 2004.

KHATIB, H.; ZAITOUN, I.; WIEBELHAUS – FINGER, J.; CHANG, Y.M.; ROSA, G.J.M. The Association of Bovine *PPARGC1A* and *OPN* Genes with Milk Composition in Two Independent Holstein Cattle Populations. **J. Dairy Sci.** v.90, p.2966–2970, 2007.

KING, F.J.; HU, E.; HARRIS, D.F. et al. DEF-1, a novel Src SH3 binding protein that promotes adipogenesis in fibroblastic cell lines. **Mol Cell. Biol.** v.19. p. 2330-7, 1999.

LAI, C.Q.; TUCKER, K.L.; PARNELL, L.D.; ADICONIS, X.; BAILO, B.G.; GRIFFITH, J.; MEYSANI, M.; ORDOVÁS, J.M. *PPARGC1A* Variation Associated With DNA Damage, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. **Diabetes**, v. 57, p. 809-816, 2008.

LAWRIE, R. A. **Meat Science**. 4 ed. New York: Pergamon Press, p. 451, 1985.

LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. **Adv. Agron.**, v.55, p.263-344, 1995.

LIEFERS, S. C.; TE PAS, M. F. W.; VEERKAMP, R. F.; VAN DER LEND, T. Associations between Leptin Gene Polymorphisms and Production, Live Weight, Energy Balance, Feed Intake, and Fertility in Holstein Heifers, **J. Dairy Sci.** v.85, p.1633–1638, 2002.

LEIDENZ, N. H. Parâmetros de qualidade de carne para o início do milênio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DAS RAÇAS ZEBUÍNAS, 4. **Anais...** Uberaba: ABCZ, p. 243-259, 2000.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. 1.ed. São Paulo: 2000. 134p.

MAGNABOSCO, C.U.; CORDEIRO, C.M.T.; TROVO, J.B.F. et al. **Catálogo de linhagens do germoplasma zebuino: raça Nelore**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1997.

MARQUES, D.C. **Criação de bovinos**. 3 ed. Nobel, 1976.

MCGUIRE, M.A.; VICINI, J.L.; BAUMA, D.E.; VEENHUIZEN, J.J. Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. **J. Anim Sci.** v. 70, p. 2901-2910, 1992.

MICHAL, J.J.; ZHANG, Z.W.; GASKINS, C.T.; JIANG, Z. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. **Animal Genetics**, v. 37, p. 400-402, 2006.

MOLETTA, J.L. **Desempenho em confinamento e características de carcaça e da carne de diferentes grupos genéticos de bovídeos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pósgraduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil, 1990.

MOOD, A. M., GRAYBILL, F. A., BOES, D. C. **Tests of hypotheses**. In **Mood AM, Graybill FA and Boes DC (Eds) Introduction to the theory of statistics**. McGraw-Hill, Tokyo, p 401-470, 1974.

MOODY, D.E.; POMP, D.; NEWMAN, S.; MACNEIL, M. D. Characterization of DNA polymorphism in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line I Herefords. **J. Anim Sci.** , v. 74, p. 1784-1793, 1996.

MORRIS, C.A.; BAKER, R.L.; BASS, J.J. et al. Carcass composition in weight-selected and control bulls from a serial slaughter experiment. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.44, n.2, p.199-213, 1993.

NICKERSON, D. A.; TAYLOR, S. L.; WEISS, K.M.; CLARK, A.G.; HUTCHINSON, R.G.; STENGARD, J.; SALOMA, A. V.; VARTIAINEN, E.; BOERWINKLE, E. AND SING, C. F. DNA sequence diversity in a 9.7 – kb region of the human lipoprotein lipase gene. **Nature Genetics**. v.19, p. 216-217,1998.

OJEDA, A.; ROZAS, J.; FOLCH, J.M.; PÉREZ-ENCISO, M. Unexpected High Polymorphism at the *FABP4* Gene Unveils a Complex History for Pig Populations. **Genetics**, v.174, p. 2119-2127, 2006.

OLIVEIRA, A. L. Maciez da carne bovina. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n. 33, p. 7-18, 2000.

PEDROSA, V.B.; ELER, J.P.; SILVA, M.R.; RIBEIRO, S.; FERRAZ, B.S.; BALIEIRO, J.C.C. Estimativas dos parâmetros genéticos do peso adulto, altura de garupa e peso ao sobreano em animais da raça Nelore. In: VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. **Anais...**São Carlos, 2008.

PERÓN, A.J.; FONTES, C.A.A.; LANA, R.P. et al. Tamanho de órgãos internos e distribuição da gordura corporal em novilhos de cinco grupos genéticos, submetidos a alimentação restrita e *ad libitum*. **Rev. Bras. Zootec.**, v.22, n.5, p.813- 819, 1993.

PEREIRA, J.C.C. Saiba o valor correto de cada termo usado para o melhoramento genético. **DBO - Nelore**, Mar., p. 19-34, 1994.

PEROTTO, D.; MOLETTA, J.L.; CUBAS, A.C. Características da carcaça de bovinos Canchim e Aberdeen Angus e de seus cruzamentos recíprocos terminados em confinamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, 1999 .

POMP D, ZOU T, CLUTTER A C AND BARENDSE W. Rapid communication: Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR- based polymorphism. **J. Anim Sci.** v.75, p.1427, 1997.

PEREIRA, A.P.; ALENCAR, M.M.; OLIVEIRA, H.N.; REGITANO, L.C.A. Association of GH and *IGF-1* polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. **Genet. Mol. Biol.** v. 28, n. 2, 2005

PUIGSERVER P E SPIEGELMAN BM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. **Endocr Ver.**, v. 24, p.78–90, 2003.

RAYMOND, M. & ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): A population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 86, p. 248-249, 1995.

REGITANO, L.C.A. Introdução ao uso de marcadores moleculares **In:** Regitano Lca And Coutinho LL (Eds.) *Biologia molecular aplicada à produção animal*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.16, 2001.

RESTLE, J.; KEPLIN, L.A.S.; VAZ, F.N. et al. Qualidade da carne de novilhos Charolês confinados e abatidos com diferentes pesos. **Ciência Rural**, v.26, n.3, p.463-466, 1996.

RESTLE, J.; VAZ, F. N.; FEIJÓ, G. L. D.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; BERNARDES, R. A. C.; FATURI, C.; PACHECO, P. S. Características de Carcaça de Bovinos de Corte Inteiros ou Castrados de Diferentes Composições Raciais Charolês X Nelore. **Rev. Bras. Zootec.**, v.29, n.5, p.1371-1379, 2000.

RESTLE, J.; CERDÓTES, L.; VAZ, F. N.; BRONDANI, I. L. Características de Carcaça e da Carne de Novilhas Charolês e 3/4 Charolês 1/4 Nelore, Terminadas em Confinamento. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n.3, p. 1065-1075, 2001.

REZENDE, F.M.de; FERRAZ, J.B.S.; SILVA, S da L.; BALIEIRO, J.C.; ELER, J.P.; MEIRELLES, F.V.; TAROUCO, J.U.; MARTINS, F.R.; PEDROSA, V.B. Influência de alguns polimorfismos genéticos sobre características de carcaça em bovinos da raça Nelore. **Anais do VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal**. São Carlos, 2008

RIBEIRO, F. G.; LEME, P. R.; BULLE, M. L de M.; LIMA, C. G. DE, SILVA, S. da L. E, PEREIRA, A. S. C.; LANNA, D. P. D. Características da Carcaça da Carne de Tourinhos Alimentados com Dietas de Alta Energia. **Ver. Brás. Zootec.** v.31, n. 2, p.749-756, 2002.

ROCHA, C. E. **Fatores que influenciam características e valor da carcaça em um rebanho de bovinos da raça nelore**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1999. 95p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Estadual Paulista, 1999.

ROSA, A.J de M. **Caracterização da raça Nelore e teste de paternidade por marcadores moleculares**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós graduação em Ciência Animal e Pastagens, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 1997, 114p.

SALLA, M.F.S.; RUAS, C de F.; RUAS, P.M.; CARPENTIERI-PIPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 24, n. 1, 2002 .

Sarcinelli, M.F.; Venturini, K.S.; Silva, L.C. da **Estrutura da Carne**. Boletim Técnico - PIE-UFES:01807 - Editado: 22/06/2007.

SAS Institute Inc. **SAS procedures guide**. 8. ed. Cary, 2000.

SCHENKEL, F. S.; MILLER, S. P.; YE, X.; MOORE, S. S.; NKRUMAH, J. D.; LI, C.; YU, J.; MANDELL, I. B.; WILTON, J. W.; WILLIAMS, J. L. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **J. Anim. Sci.** n. 83, v.9, p. 2009 - 2020, 2005.

SCHENNINK, A.; BOVENHUIS, H.; LÉON –KLOOSTERZIEL, K.M.; VAN ARENDONK, J.A.M.; VISKER, M.H.P.W. Effect of polymorphisms in the *FASN*, *OLR1*, *PPARGC1A*, *PRL* and *STAT5A* genes on bovine milk-fat composition. **Animal Genetics**, v.40, n.6, p. 909-916, 2009.

SEIDEMAN, S. C.; CROSS, H. R.; SMITH, G. C. et al. **Journal of Food Quality**, v.6, p.211, 1984.

SEMPLE, R.K.; CROWLEY, V.C.; SEWTER, C.P.; LAUDES, M.; CHRISTODOULIDES, C.; CONSIDINE, R.V.; VIDAL-PUIG, A.; O'RAHILLY, S. Expression of the thermogenic nuclear hormone receptor coactivator PGC-1 α is reduced in the adipose tissue of morbidly obese subjects. **International Journal of Obesity**, v. 28, p.176-179, 2003.

SIADKPWSKA, E.; ZWIERZCHOWSKI, L.; OPRZADEK, J.; STRALKOWSKA, N.; BAGNICKA, E.; KRYZEWSKI, J. Effect of polymorphism in *IGF-1* gene on production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. **Animal Science Papers and Reports**, v.24, n.3, p.225-237, 2006.

SILVA, S.da L.; LEME, P.R.; PEREIRA, A.S.C.P.; PUTRINO, S.M. Correlações entre características de carcaça avaliadas por ultra-som e pós-abate em novilhos Nelore, alimentados com altas proporções de concentrado. **R. Bras. Zootec.** v.32, n.5 , p. 1236-1242, 2003.

Snyder EE, Walts B, Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T, and Bouchard C. The human obesity gene map: the 2003 update. **Obes Res.**, v. 12, p. 369–439, 2004.

SORIA, L.A.; CORVA, P.M.; BRANDA SICA, A.; VILLARREAL, E.L.; MELUCCI, L.M.; MEZZADRA, C.A.; PAPALEO MAZZUCCO, J.; FERNÁNDEZ MACEDO, G.; SILVESTRO, C.; SCHOR, A.; MIQUE, M.C. Association of a novel polymorphism in the bovine *PPARGC1A* gene with growth, slaughter and meat quality traits in Brangus steers. **Molecular and Cellular Probes**, v. 23, n. 6, p. 304-308, 2009.

SOUZA, J.C.; RAMOS, A.A.; SILVA, L.O.C.; EUCLIDES FILHO, K.; ALENCAR, WECHSLER, F.S.; FERRAZ FILHO, P.B. Fatores ambientais sobre o peso ao desmame de bezerros da raça Nelore em regiões tropicais brasileiras. **Cienc. Rural**, v.30 n.5, 2000.

STACHOWIAK, M.; SZYDLOWSKI, M.; CIESLAK, J.; SWITONSKI, M.; SNPs in the porcine *PPARGC1A* gene: Interbreed differences and their phenotypic effects. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 12, n. 2, p.231-239, 2007.

STONE R T, KAPPES S M AND BEATTIE C. The bovine homolog of the obese gene map chromosome 4. **Mammalian genome**. n.7, p.399-400, 1996.

SUN, L.; YANG, Z.; JIN, F.; ZHU, X.Q.; QU, Y.C.; SHI, X.H.; WANG, L. The Gly482Ser variant of the *PPARGC1* gene is associated with Type 2 diabetes mellitus in northern Chinese, especially men. **Diabet Med.**, v.23, n.10, p.1085-1092, 2006.

TANAHASHI, N.; SUZUKI, M.; FUJIWARA, T.; TAKAHASHI, E.; SHIMBARA, N.; CHUNG, C.H.; TANAKA, K.; Chromosomal localization and immunological analysis of a family of human 26S proteasomal ATPases. **Biochem Biophys Res Commun** v. 243, n.1, p. 229-232, 1998.

TANIGUCHI, Y.; ITOH, T.; YAMADA, T.; SASAKI, Y. Genomic Structure and Promoter Analysis of the Bovine Leptin Gene. **IUBMB Life**. v. 53, n.2 p.131-135, 2002.

TIZIOTO, P. C., VENERONI, G. B., MEIRELLES, S. L., IBELLI, A. M. G., OLIVEIRA, H. N., ALENCAR, M. M., REGITANO, L. C. A. Estudo da associação entre um SNP do gene *PPARGC1A* com espessura de gordura subcutânea, área de olho de lombo e peso aos 18 meses em uma população de bovinos da raça Canchim. In: Workshop da Rede Genômica Animal. **Anais...** Fortaleza, 2009.

TÓTH, G.; GÁSPÁRI, Z.; JURKA, J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. **Genome Research**, v. 10, p. 967-981, 2000.

TUNCMAN, G.; ERBAY, E.; HOM, X.; DE VIVO, I.; CAMPOS, H.; RIMM, E.B.; HOTAMISLIGIL, G.S. A genetic variant at the fatty acid-binding protein *aP2* locus reduces the risk for hypertriglyceridemia, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.103, p. 6970–6975, 2006.

VENERONI, G.B, MEIRELLES, S.L, GOUVEIA, J.J.S., SANTIAGO, A.C., OLIVEIRA, H.N., ALENCAR, M.M., REGITANO, L.C.A. Identificação de SNPs no gene *DDEF1* bovino. In: 54° Congresso Brasileiro de Genética. **Anais...** Salvador. p.231, 2008.

VENERONI, G. B., MEIRELLES, S. L., IBELLI, A. M. G., TIZIOTO, P. C., OLIVEIRA, H. N., ALENCAR, M. M., REGITANO, L. C. A. Um SNP do gene *FABP4* não afeta a variação da espessura de gordura subcutânea, área de olho de lombo e peso aos 18 meses em bovinos da raça Canchim. In: I Jornada Científica Embrapa, 2009, São Carlos. In: I Jornada Científica Embrapa. **Anais...** São Carlos, 2009.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genet. Sel. Evol.** v.34, p. 275-305, 2002.

WEIKARD, R.; KUHN, C.; GOLDAMMER, T.; FREYER, G.; SCHWERIN, M.; The bovine *PPARGC1A* gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. **Physiological Genomics.** v.21, p.1-13, 2005.

WHITE, S.N.; CASAS, E.; ALLAN, M.F.; KEELE, J.W.; SNELLING, W.M.; WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; SMITH, T.P.L. Evaluation in beef cattle of six deoxyribonucleic acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associated with postweaning growth. **J. Anim Sci.** v. 85, p.1-10, 2006.

WOOD, B.J.; ARCHER, J.A.; VAN DER WERF, J.H.J. Response to selection in beef cattle using *IGF-1* as a selection criterion for residual feed intake under different Australia breeding objectives. **Livestock Production Science.** v. 91, p. 69-81, 2004.

WU, G.Q.; DENG, X.M.; LI, J.Y.; LI, N.; YANG, N. A Potential Molecular Marker for Selection Against Abdominal Fatness in Chickens. **Poultry Science,** v. 85, p.1896–1899, 2006.