



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

**POLIMORFISMOS DO GENE *DGAT1* (REGIÃO 5'UTR) EM
BOVINOS NELORES (PO) E MISTIÇOS (SRD), E SUA
RELAÇÃO COM A CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL E
ABERTURA BI ISQUIÁTICA.**

GOIÂNIA

© 2017

KÉLIA MARGARIDA BARROS FREIRE

**POLIMORFISMOS DO GENE *DGATI* (REGIÃO 5'UTR) EM
BOVINOS NELORES (PO) E MESTIÇOS (SRD), E SUA
RELAÇÃO COM A CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL E
ABERTURA BI ISQUIÁTICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação Mestrado em Genética - MGene,
Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC
Goiás, como parte das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Genética.

Orientador: Dr. Alex Silva da Cruz

Co-orientador: Aparecido Divino da Cruz, PhD.

GOIÂNIA

@ 2017

F866p

Freire, Kelia Margarida Barros

Polimorfismo do gene DGAT1 (REGIÃO 5'UTR) em bovinos Nelore (PO) e mestiços(SRD), e sua relação com a circunferência escrotal abertura bi isquiática[manuscrito]/ Kelia Margarida Barros Freire.-- 2017. 64 f.; il. 30 cm

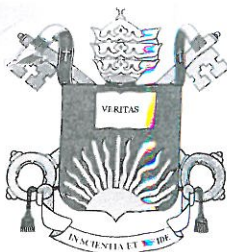
Texto em português com resumo em inglês

Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Genética, Goiânia, 2017

Inclui referências f. 50-57

1. Polimorfismo (Genética). 2. Genoma. 3. Interação genótipo-ambiente. 4. Bovino - Reprodução. I.Cruz, Aparecido Divino da. II.Pontifícia Universidade Católica de Goiás. III. Título.

CDU: 575.111(043)



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 134/2017


MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: KELIA MARGARIDA BARROS FREIRE

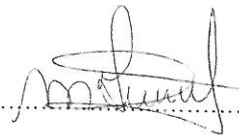
DEFENDIDA EM 15 DE MARÇO DE 2017 E Aprovada COM CONCEITO B

O título foi alterado (X) não () sim _____

BANCA EXAMINADORA

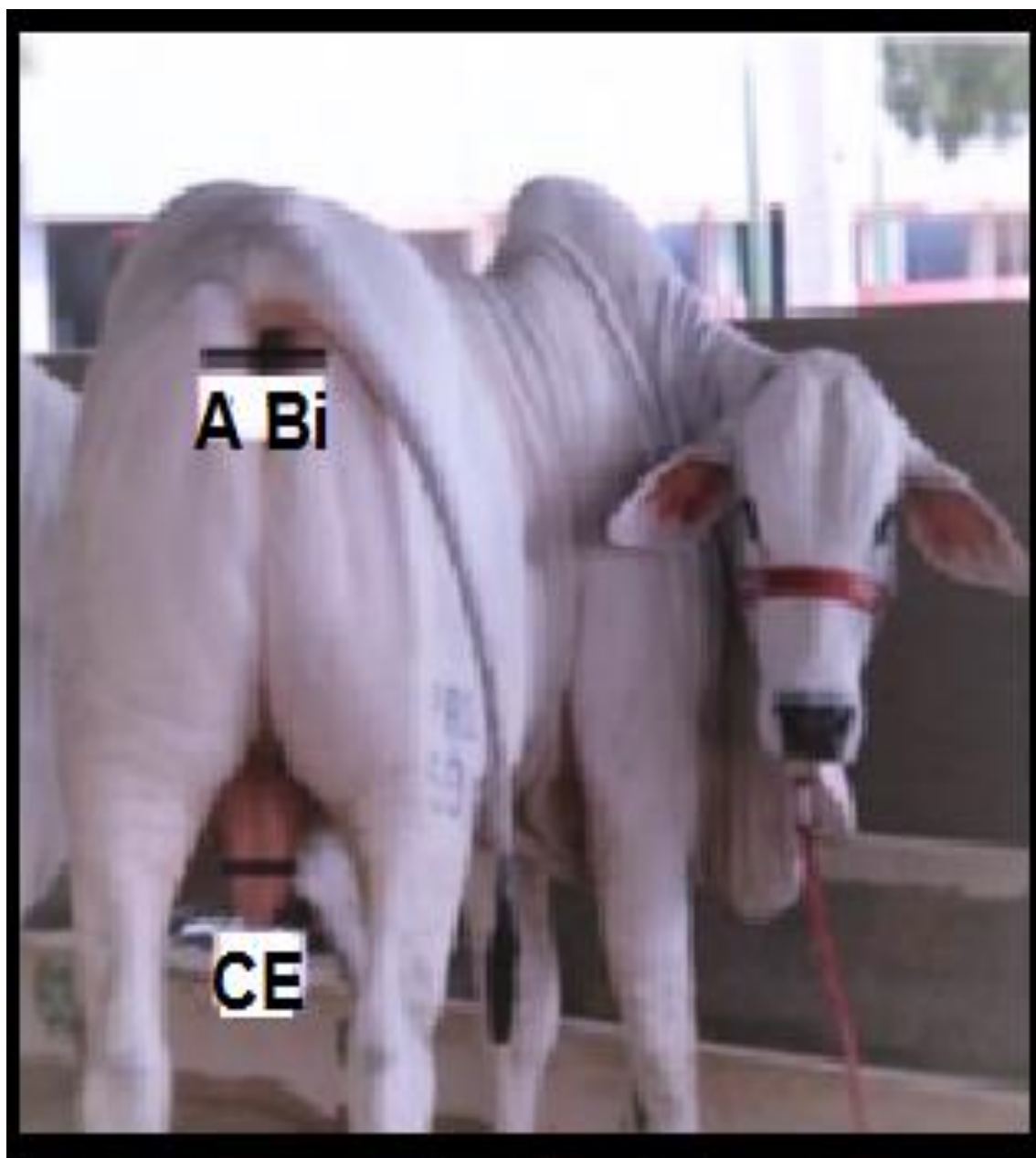

.....
Prof. Dr. Alex Silva da Cruz
PUC Goiás (Presidente)


.....
Prof. Dr. Claudio Carlos da Silva
PUC Goiás


.....
Prof. Dra. Maria Ivete de Moura
Membro externo(UFG)



Dedico este trabalho aos apaixonados por bovinos, essa espécie que sempre serviu ao ser humano.



Arquivo próprio, 2017.

Agradecimentos

Agradeço a Deus primeiramente, por iluminar meus passos me amparado, e colocando anjos na minha caminhada acadêmica.

A minha família expresse os meus mais profundos agradecimentos. Sem o apoio dessas pessoas esse trabalho não teria sido realizado. Em especial, Carlos Henrique Freire, Yolanda Barros Margarida Freire e Karla Barros Margarida Freire, são verdadeiramente os motivadores do meu crescimento acadêmico.

Aos meus genitores Vicente Lopes de Barros e Dilena Margarida Barros, de quem herdei esse amor pelos bovinos, agradeço do fundo do meu coração.

Ao meu orientador: Dr. Alex Silva da Cruz, pela orientação, assim como o meu Co-orientador Aparecido Divino da Cruz, PhD, por dar asas a minha imaginação, e juntos consolidaram a realização desta dissertação.

Os professores, Dra. Maria Ivete Moura e Dr. Claudio Carlos Silva, por gentilmente aceitarem participar da banca julgadora e contribuírem com meu crescimento acadêmico.

Em especial, os meus mais sinceros agradecimentos, dedico à Professora Dra. Marilma Pacheco Chediak Côrrea (*In memoriam*), a quem devo este título, pois foi ela quem deslumbrou em mim a possibilidade desta conquista.

A Msc. Fernanda Ribeiro Godoy, do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás (UFG), agradeço pelo auxílio na realização da metodologia proposta e por compartilhar seus conhecimentos de forma saudosa e gentil.

Aos Pecuaristas Sr. Ricardo Yano e Paula Muniz Yano, que gentilmente disponibilizaram seus animais para coleta de material e dados zootécnicos indispensáveis para a realização desta dissertação.

Aos colegas do Núcleo de Pesquisas Replicon, especialmente aos amigos: Danilo Conrado Silva, Jakeline Soares, Lilian Souza Teodoro e Alessandra Malta, em especial, os meus singelos agradecimentos.

Por fim, agradeço à todos que acreditam que os sonhos são realizáveis, especialmente: Osvaldo de Carvalho Viana e Sandra Aparecida Gonçalves.

"Meus estudos científicos têm me proporcionado grande satisfação e eu estou convencido que não demorará muito para que o mundo inteiro reconheça os resultados de meu trabalho."

(Gergor Mendel)

Sumário

Lista de Figuras	x
Lista de Quadros.....	xi
Lista de Siglas.....	xii
Lista Tabelas.....	xiii
Resumo	xiv
Abstract	xv
1- Introdução.....	16
2- Referencial Teórico	18
2.1- Pecuária de corte no Brasil	18
2.2- Melhoramento genético de bovinos: Uma abordagem clássica e molecular	19
2.3- Uso de marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético de bovinos de corte.....	21
2.4- Marcadores do tipo SNPs	23
2.5- Genes associados a fenótipos de interesse econômico em bovinos de corte	25
2.5.1-O Gene <i>DGATI</i>	25
2.5.2- Região 5'UTR.....	27
2.6- Características morfométricas de bovinos de corte usadas em programas de melhoramento genético.....	29
2.6.1 A circunferência escrotal (CE).	29
2.6.2- Abertura bi isquiática (ABi).	30
2.7- Efeito fundador no gado Nelore	31
3- Objetivos	32
3.1- Geral	32
3.2- Específicos	32
4- Materiais e Métodos	33
4.1- Identificação do tipo de estudo e descrição do grupo amostral	33
4.1.1-Descrição dos Animais do estudo	33
4.1.2-Descrição dos animais do grupo 2.....	35
4.2- Coleta dos dados morfométricos	35
4.2.1- Circunferência escrotal.....	35
4.2.2 -Abertura bi isquiática	37
4.3- Coleta de sangue e extração do DNA	38

4.4 - Avaliações dos SNPs e amplificação por PCR em tempo real	39
4.5- Análise dos dados	41
5- Resultados	42
5.1- Avaliações fenotípicas	42
5.2- Avaliação genômica.....	45
6- Discussão.....	47
7- Conclusões	49
8- Referências Bibliográficas	50
9- Apêndices	58
Apêndice 01- Protocolo de extração de DNA.....	58
Apêndice 02- Relação de Touro x Vaca	59
Apêndice 03 - Principais Touros Genearcas, formadores do rebanho Brasileiro.	60

Lista de Figuras

Figura 1: Cartograma - Efetivo de bovinos e cabeças abatidas, segundo as UF	18
Figura 2: Posição do SNP no gene <i>DGATI</i>	28
Figura 3: Posição do SNP no gene <i>DGATI</i>	28
Figura 4: Posição do SNP no gene <i>DGATI</i>	28
Figura 5: Animais Nelores (PO) avaliados neste trabalho.	33
Figura 6: Procedimento de mensuração da circunferência escrotal.	36
Figura 7: Procedimento de mensuração da abertura bi isquiática externa. Trena Bosch GLM50. Sistema digital de mensuração.	37
Figura 8: Procedimento de coleta de sangue por punção da artéria coccígea media. Sistema à vácuo.....	38

Lista de Quadros

Quadro 1: Principais ferramentas genético-moleculares associados a marcadores moleculares.	22
Quadro 2: Principais genes candidatos para o desenvolvimento de marcadores moleculares em bovinos de corte.	26
Quadro 3: Os quatros SNPs presente na região 5' UTR gene <i>DGATI</i> em <i>Bos t. taurus</i>	27
Quadro 4: Circunferência escrotal (cm) de machos	30
Quadro 5: Estratificação de parentesco dos animais usados no estudo, relação pai x mãe.	34
Quadro 6: Alelo selvagem, côr verde + ; Alelo mutante Côr rosa –	46

Lista de Siglas

A	-	Adenina
ABCZ	-	Associação Brasileira Criadores de Zebu
Abi	-	Abertura Bi isquiática
ABIEC	-	Associação Brasileira Importadores e Exportadores de Carne
BTA	-	<i>Bos taurus</i> autossômico
C	-	Citosina
CE	-	Circunferência Escrotal
<i>DGATI</i>	-	Diacyl O-gliceroltransferase
DNA	-	Ácido desoxirribonucleico
FAO	-	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
G	-	Guanina
IBGE	-	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kb	-	Quilo <i>byte</i>
LD	-	Desequilíbrio de ligação
LE	-	Equilíbrio de ligação
MAS	-	Seleção assistida por marcadores
ONU	-	Organização das Nações Unidas
Pb	-	Pares de bases
PCR	-	Reação em cadeia da polimerase
PO	-	Puro de origem
qRT-PCR	-	PCR quantitativo em tempo real
QTL	-	Lócus de características quantitativas
RFLP	-	Polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição
RNA	-	Ácido ribonucleico
SNP	-	Polimorfismo nucleotídeo único
SRD	-	Sem raça definida
T	-	Timina
Utr	-	Região não traduzida
UF	-	Unidade Federativa

Lista Tabelas

Tabela 1: Padrão dos polimorfismos por substituição de nucleotídeos (SNPs) da interleucina 8 que serão avaliados nos bovinos.	39
Tabela 2: Componentes da reação de PCR em tempo real.	39
Tabela 3: Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores da amplificação e das sondas VIC e FAM usados no estudo.....	40
Tabela 4: Condições de termociclagem, utilizadas na reação de PCR em tempo real para a amplificação da região de interesse.	40
Tabela 5: Mensurações morfométricas, Abi e CE, dos 73 bovinos Nelores	42
Tabela 6: Análise descritiva dos animais do estudo.	45
Tabela 7: Frequência alélica e genotípica para os polimorfismos analisados para os dois grupos testados.	46

Resumo

Com o desenvolvimento dos vários ramos da Ciência Genética e a decodificação do genoma humano e animal (bovinos), nossos animais de produção estão sendo avaliados por marcadores moleculares, que fazem a leitura do genoma e o traduz em quatro letras: AT-CG. As variações são analisadas como regiões monomórficas e polimórficas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar os “Polimorfismos do Gene *DGAT1* e sua relação com a abertura bi isquiática externa (ABI) e o circunferência escrotal (CE)”. Foram analisados 109 bovinos, sendo 73 bovinos da raça Nelore (PO) e 36 bovinos sem raça definida (SRD), com idade ajustada para 550 dias, pertencentes a diferentes criadores do Estado de Goiás. A análise dos dados morfométricos pelo teste T de *Student*, comparando os grupos Nelore PO e bovinos SRD, não indica que as diferenças encontradas são substantivamente importantes para as variáveis ABI e CE ($p \leq 0,0001$). Na análise genômica, o teste do Qui-quadrado não foi significativo ($p \geq 0,05$), revelando, portanto, que os grupos de Nelore PO e de animais SRD não diferem quanto às frequências genóticas e alélicas encontradas. Nessa situação, não foram observados até o momento variações na frequência alélica e genotípica para os animais amostrados e para os três SNPs usados no estudo: rs471462296, rs456245081 e rs438495570. O genótipo dos bovinos amostrados não apresentou influência sobre as características avaliadas, existindo, portanto, outros efeitos genéticos e não genéticos que afetam as características estudadas em Nelore, as quais merecem ser investigadas.

Palavras-Chaves: Decodificação. Fenótipo. Gado. Genoma. Genótipo. Seleção.

Abstract

After the opening of diverse branches of Genetics Science, and the decoding of human and animal (bovine) genome, our production animals are being evaluated by molecular markers, which read the genome and translate it in four letters: AT-CG. The variations are analyzed as monomorphic and polymorphic regions. The aim of this research was to evaluate the “polymorphisms of the gene *DGAT1* and its relation to the external sciatic bi opening and the scrotal circumference”. 109 animals have been analyzed, n= 73 Nelores bovines and n= 36 with no determined breed (NDB), with the age adjusted to 550 days, owned by breeders from the state of Goiás. In the morphometric data analysis through the test T of Student, comparing the groups Nelores PO and Bovine NDB, The analysis of morphometric data through the test T of Student comparing the groups Nelore PO and Bovine NDB does not indicate that the identified differences are substantially important to the variables ABi and CE ($p \leq 0,0001$). In the genomic analysis, the test Chi-square was not relevant ($p \geq 0,05$), revealing, this, that the groups of Nelore PO and of animals of NDB do not differ when it comes to the obtained genotypic and allelic frequencies. In this situation, we have observed so far variations in the allelic and genotypic frequencies for the sampled animals and the three SNP used in the study: rs471462296, rs456245081 and rs438495570. The genotype of the sampled bovines did not affect the evaluated characteristics, revealing there are, this, other genetic and non-genetic effects which affect the characteristics studied in Nelore, which deserve to be investigated.

Key-words: Cattle. Decoding. Genome. Genotype. Phenotype. Selection.

1- Introdução

O bovino doméstico (*Bos taurus*) é descendente do *Bos primigenius* (Auroque) e estabelecido nos continentes asiático e europeu. A domesticação do Auroque ocorreu há mais de 10.000 anos atrás e, por formas primitivas de seleção, o Auroque divergiu aos dois maiores grupos de bovinos: O *Bos taurus taurus* (Europeu) e o *Bos taurus indicus* (Indiano), (ESTPHEN, et al., 2015).

O bovino (*Bos taurus*) é uma espécie animal convergente à evolução do ser humano (*Homo sapiens*), correspondendo principalmente ao fornecimento de carne, de leite e derivados, além de tração animal, vestuário e medicamentos (CANAVAZ, et al., 2012).

De acordo com a FAO, a pecuária brasileira aumentará a produção de carne em aproximadamente 37% até o ano de 2024, sem elevar a área de produção a “pasto” de bovinos. Estas recomendações são embasadas nas necessidades de preservação dos recursos naturais, sustentabilidade econômica e no crescente aumento da demanda por alimentos impulsionada pelo crescimento populacional com previsões para o ano de 2050 atingir cerca de 9 bilhões de habitantes. Ainda, seguindo esse princípio “Os sistemas de alimentação devem ser mais inteligentes e mais eficientes para alimentar o futuro”, afirmou o diretor-geral da Organização da ONU para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2016).

Em 2015 o Brasil apresentou um rebanho de bovinos constituído por animais puros e cruzados, e de diferentes aptidões sendo composto por aproximadamente 215,020 milhões de animais, é caracterizado por aproximadamente de 80% de bovinos Zebu (*Bos indicus*), Fonte (IBGE, 2015). Entretanto, mesmo apresentando um grande rebanho comercial, a pecuária brasileira caracteriza-se por apresentar uma alta amplitude composta por criadores pouco tecnicizados (maioria) e por criadores altamente tecnicizados (minoria) que destinam seu produto na atenção do mercado externo (QUEIROZ, 2012).

Neste cenário, vários autores reportam que a genética aliada à seleção de animais superiores ao nível de produção é o principal caminho a ser percorrido por melhoristas a fim de alcançar altos níveis produtivos (QUEIROZ, 2012). Nas últimas décadas foi observado exemplos de que a genética (quantitativa) pode ser aplicada como forma de seleção em rebanhos comerciais, resultando em benefícios econômicos. Além disso, também demonstraram que programas de seleção e de melhoramento genético de bovinos estão na fase de maior contribuição científica em função do uso de marcadores genético-moleculares associados aos diferentes fenótipos manifestados pelos bovinos.

O objetivo deste trabalho é caracterizar o polimorfismo do gene *DGATI* em bovinos da raça Nelore (PO) e SRD (Sem raça definida), relacionando as características morfométricas: abertura bi isquiática externa (A.Bi) e circunferência escrotal (CE).

2- Referencial Teórico

2.1- Pecuária de corte no Brasil

A expansão agrícola brasileira, principalmente o desenvolvimento da pecuária de corte, tem contribuído para aumentar o número efetivo de bovinos. Segundo dados do (IBGE, 2015), o Brasil tem aproximadamente 222.116.362 milhões de cabeças de bovinos, detentor do segundo maior rebanho comercial mundial, sendo 80% de bovinos corte. O Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina, com 7.2 mil toneladas de equivalente-carcaça, atrás dos Estados Unidos, com 11.816 mil toneladas. É também o segundo em número de abates (40,1 milhões de animais), atrás da China (42,4 milhões de animais), (IBGE, 2015).

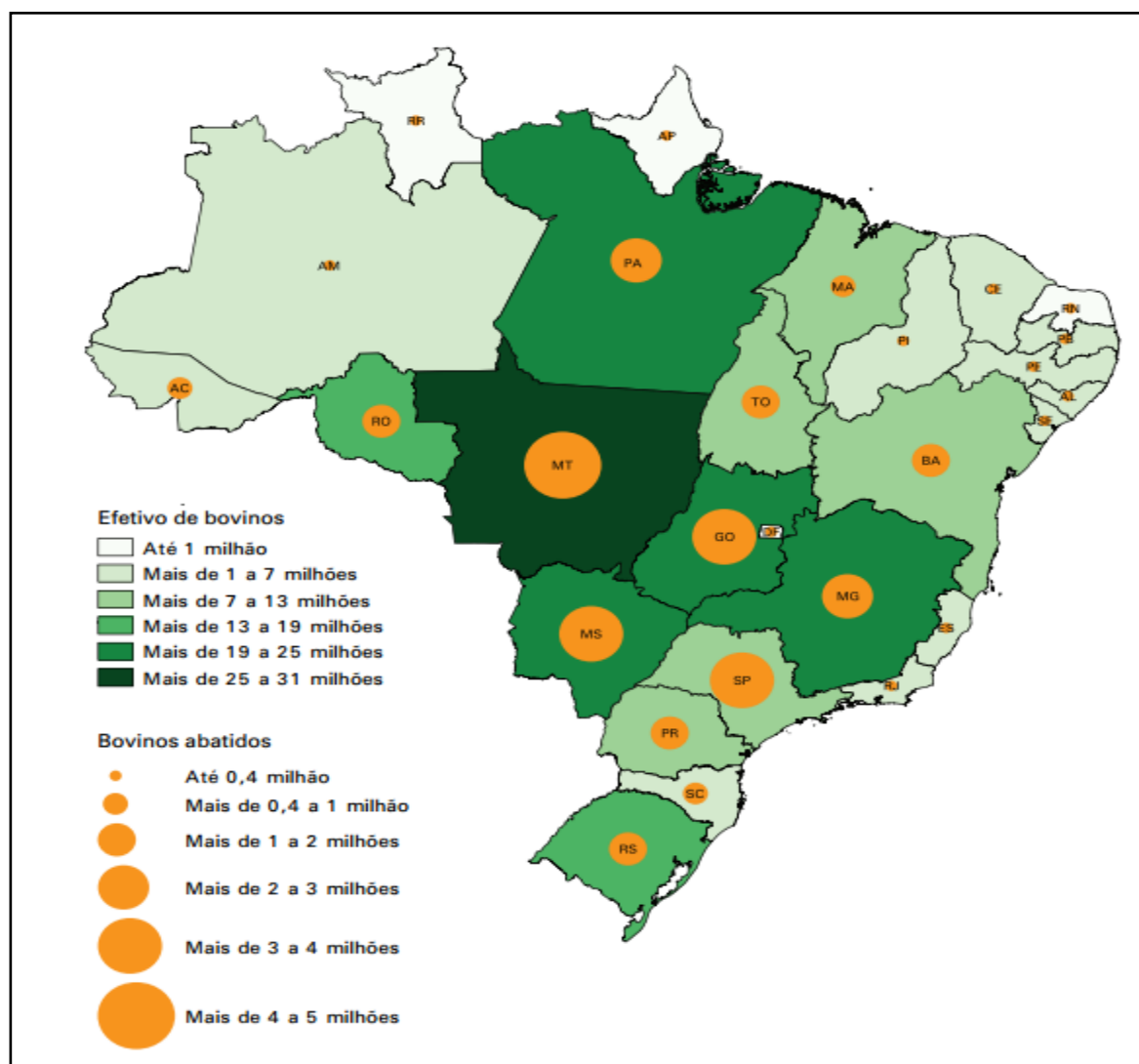


Figura 1: Cartograma - Efetivo de bovinos e cabeças abatidas, segundo as UF
Fonte: IBGE, 2015.

Considerando-se a importância econômica da pecuária de corte no Brasil (ARAÚJO et al., 2012), e sua posição no ranking mundial em termos de produção e exportação (ABIEC, 2015), fica evidente a demanda para o aumento da produção e qualidade da carne. Embora o Brasil ocupe uma posição de destaque no cenário econômico mundial, a pecuária de corte nacional é caracterizada por apresentar baixa produtividade e variação na qualidade da carne produzida, fatores que podem fazer com que a competitividade deste setor no mercado globalizado seja comprometida (FERNANDES et al., 2009).

Esta situação é desafiadora para o planejamento da atividade de pecuária em médio e em longo prazo que objetiva a elevação dos índices de produção de forma sustentável (ONU,2017) Só com o uso de biotecnologias, entre elas o melhoramento genético que conseguiremos este objetivo.

2.2-Melhoramento genético de bovinos: Uma abordagem clássica e molecular

O melhoramento genético aplicado às características de interesse econômico em bovinos tradicionalmente vem sendo praticado pela humanidade há cerca de 10.000 anos, os primeiros animais que temos conhecimento de seleção foram as cabras e os cachorros,(LUPTON, 2005).

Para,(ANDERSEN, 2006), a domesticação, sobretudo à aplicada aos bovinos, foi caracterizada por eleição de características fenotípicas desejáveis e pela seleção de indivíduos que apresentassem estas características.

De acordo com (REZENDE, 2011), a seleção artificial permitiu ao homem relacionar várias raças e linhagens de animais domésticos. Com o conhecimento das leis da hereditariedade, o homem passou a controlar os acasalamentos nas espécies domesticadas, selecionando os melhores reprodutores para as características desejadas. Sendo maior valor para as características monogênicas e menor para as poligênicas, segundo os princípios do melhoramento proposto por (FERREIRA& GRALTAPAGLIA ,1998), os quais ressaltaram a influência do meio ambiente e do tempo para a prática da seleção, como fatores determinantes ao sucesso do melhoramento genético de recursos vegetais e animais.

Avanços na prática de melhoramento genético de bovinos com aptidão para corte e para leite observados nas últimas duas décadas foram determinantes para a separação desta

prática por seleção clássica e por seleção moderna. Dessa forma, a seleção clássica é baseada em observações de fenótipos, anotações de características produtivas de interesse econômico e descarte dos animais com características inadequadas. Por outro lado, a seleção moderna é realizada mediante o emprego de ferramentas moleculares e conhecimentos aplicados ao genoma estrutural e funcional, associados a características de interesse econômico (GARCIA, 2006).

O emprego do melhoramento genético de bovinos de corte, através da seleção clássica, permitiu para grande parte dos produtores nacionais, uma considerável evolução das características produtivas desejáveis. Isso foi alcançado através de diversos programas de âmbito nacional realizados por associações de criadores de raças especializadas, destacando os testes de progênies aplicados em animais zebuínos pela ABCZ. Essa estratégia foi iniciada na década de 70 e buscavam a determinação de parâmetros genéticos, que poderiam ser usados pelos associados a programas de melhoramento de bovinos de corte e direcionando a seleção de características produtivas (CARDOSO,2007).

Do exposto, características como o ganho em peso se tornou a principal característica produtiva a ser considerada em programas de melhoramento genético clássico e, de forma dependente ao ganho em peso estão: o rendimento de carcaça e maciez da carne, (SILVA, 2012).

Dessa forma, a necessidade em se produzir alimentos de qualidade e em quantidade suficiente para atender a demanda a população brasileira e mundial, impõem ao setor produtivo de carne bovina e derivados a necessidade de se produzir de forma cada vez mais eficiente, pressionando os pesquisadores a buscarem melhorias constantes nas práticas de manejo e nos critérios de seleção de características de interesse econômico, (LOPES, 2012).

Nesse contexto, a aplicação de ferramentas moleculares e o conhecimento do genoma de animais domésticos contribuíram para contornar as limitações do melhoramento genético clássico, (COUTINHO,2010). As estratégias usadas para alcançar este objetivo foram subsidiadas pela necessidade em se encontrar pontos de referência nos genótipos de animais produtivos associados às características de interesse econômico. Sendo assim a era da prática de seleção e melhoramento genético clássico de bovinos iniciou a busca por marcadores moleculares associando estes com variações estruturais presentes em genes expressos ou em um ou mais segmentos da molécula de DNA, transformando o melhoramento genético clássico em melhoramento genômico, (LOPES, 2012).

Para (GODOY,2014), a Genômica diminuiu o prazo dos progressos genéticos, proporcionando estratégias de seleção mais eficientes. Dentre as técnicas usadas pela

Genômica podemos citar:

1. Desenvolvimento de Marcadores Moleculares,
2. Construção de Mapas de Ligação,
3. Mapeamento de QTL,
4. Análise de Expressão Gênica (Transcriptoma),
5. Análise das Proteínas (Proteômica)
6. Análise do Metabolismo (Metabolômica)
7. Sequenciamento de DNA/RNA (Sequenciamento de Nova Geração),
8. Bioinformática

O benefício econômico do melhoramento genômico, foi impulsionado com a parceria entre as instituições de pesquisa e a indústria da carne, ao desenvolverem projetos de seleção genômicas em bovinos em todo o mundo, apresentando grandes perspectivas sobre a qualidade da carne, produzindo produtos diferenciados, (REZENDE, 2015).

2.3-Uso de marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético de bovinos de corte

No ano de 1998, (FERREIRA & GRALTAPAGLIA 1998), relataram os marcadores moleculares estão associados as alterações estruturais de regiões gênicas e segregam para as características monogênicas e poligênicas, apresentando distribuições observadas compatíveis com as distribuições esperadas e, definiram o conceito de marcador molecular como marcador genético.

Em bovinos, os marcadores genético-moleculares são ferramentas usadas para estudar o genoma, ou melhor, estudar o DNA, auxiliando na estimativa da diversidade genética, a fim de definir a direção de cruzamentos ou a seleção de progenitores de um animal. Neste contexto, diversos marcadores genético-moleculares foram empregados a programas de seleção e melhoramento genético dos bovinos, (JOHNSTON,& GRASER, 2010). No quadro 1, estão descritos cronologicamente, as principais ferramentas genético-moleculares usados em bovinos associados a marcadores moleculares, adaptado de (BORÉM E CAIXETA,2016).

Ano	Ferramentas genético moleculares	Autor/ Marca
1959	Marcadores baseados em izoenzimas	MARKET & MOLLER
1968	Enzimas de Restrição	LINN & ARBER, MESELSON & YUAN
1970	Polimorfismo no comprimento de fragmentos de Restrição (RFLP, do ingles <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>)	GRODZICKER et al.
1980	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do ingles <i>Polymerase Chain Reaction</i>).	KERY MULIS et al.
1987	Repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente intercaladas (CRISPR, do ingles <i>Clustere d Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>)	ISHINO
1990	Polimorfismo de DNA amplificados randomicamente (RAPD, do ingles <i>Random Amplified Polimorphic DNA</i>)	WILLIAMS et al.
1992	Microssatelites	OSTRANDER; et al.
1993	PCR em tempo real	KENNETH J. L
1995	Amplificação de longos fragmentos polimorficos (AFLP- <i>Amplified Fragment Lenght Polymorphisms</i>)	VOS, et al.,
2000	Varição do número de repetições em tandem (VNTRs - <i>variable number tandem repeat</i>)	VOS, et al.,
2009	Sequenciamento de DNA*	CATTLE WOLE- GENOME CONSORTIUN
2009	Identificação de SNP's	CATTLE WOLE- GENOME CONSORTIUN
2010	SNP's Chips (illumina 3k)	ILLUMINA®
2012	SNP's Chips (illumina 50k)	ILLUMINA®
2013	SNP's Chips (illumina HD)	ILLUMINA®
2014	Axiom® Genome-Wide BOS 1 Bovine Array	AFFYMETRIX®
2015	Sequenciamento de genoma total*	ILLUMINA®

Quadro 1: Principais ferramentas genético-moleculares associados a marcadores moleculares.
Fonte: Adaptado do livro: marcadores moleculares de BORÉM e CAIXETA, (2016).

2.4- Marcadores do tipo SNPs

Os marcadores do tipo SNPs são resultantes de variações na estrutura molecular da molécula de DNA a nível de uma base nitrogenada e apresentam uma frequência menor ou igual a 1% em uma dada população, (KWOK,1999). A busca de SNPs para serem usados em programas de melhoramento genético foi focada em polimorfismos na molécula de DNA presentes em regiões codificadoras, que podem resultar em substituição de aminoácidos na sequência polipeptídica a ser formada, ou devido ao fato do código genético ser degenerado. Essas mutações podem não resultar em alterações da sequência polipeptídica, entretanto elas podem alterar a estrutura e a estabilidade do RNA mensageiro e por consequência afetar a proteína produzida, (BORÉM E CAIXETA, 2016).

Outro sítio alvo de identificação de SNPs são as regiões não traduzidas do RNA mensageiro (5' UTR e 3' UTR), (MEIRA,2014). Nestas regiões, a presença de SNPs nas sequências de bases nitrogenadas podem promover formas alternativas de processamentos do RNA mensageiro, alterando o estabelecimento de códons de iniciação/terminação e alterações no nível de expressão de genes, (GUIMARÃES; COSTA, 2002).

Foram identificados SNPs presentes em regiões não codificadoras. Estas regiões quando polimórficas podem provocar alterações fenotípicas e alterar padrões de transcrição de RNAs intrônicos, e por consequência alterar a expressão de proteínas reguladoras da transcrição, (NAKAYA et al., 2007).

Entre as principais vantagens atribuídas aos SNPs, destacam-se a alta frequência alélica, não sofrerem influência do ambiente e capacidade de serem analisados em qualquer estágio de desenvolvimento do indivíduo (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Marcadores moleculares do tipo SNPs são distribuídos em três formas: 1ª funcional, sendo diretamente responsável pela alteração fenotípica (característica qualitativa) ou serem parcial (característica quantitativa); 2ª Marcadores em desequilíbrio de ligação (LD, do inglês *Linkage Disequilibrium*) e o 3ª Marcadores em equilíbrio de ligação (LE, do inglês *Linkage Equilibrium*– LE). Nesta situação os marcadores funcionais (característica qualitativa) estão fortemente associados com os marcadores LD e apresentam uma forte associação entre genótipo e fenótipo na população como um todo, enquanto os marcadores parciais (característica quantitativa) estão associados com os LE e estão mais sujeitos à recombinação homóloga. Desse modo, a ligação entre marcadores LE funcionais, apresentam variações no padrão de herança devendo ser calculados novamente a cada geração. Esta propriedade

ressaltou a busca por SNP sem LD associados a locos genéticos funcionais,(da CRUZ, 2015).

A aplicação de marcadores moleculares em programas de melhoramento genético animal permitiu a identificação de padrões nos genótipos de diferentes indivíduos e sua associação a fenótipos de interesse (O' BRIEN, GRAVES, 1991.), além de possibilitar a estimativa de parâmetros populacionais de frequências alélicas e genotípicas. Estas informações permitiram a comparação destas frequências entre populações e revelou diferenças nas composições genéticas que poderiam contribuir para as variações fenotípicas, (MOODY et al.,1996). Contudo, para a identificação das regiões do DNA responsáveis por fenótipos de interesse econômico, os sistemas de melhoramento genético animal evoluiu para a localização de QTLs em animais participantes de programas de acasalamentos direcionados, (HALEY, 1995). Porém, a grande limitação deste método foi a dificuldade de se constituir famílias para o estudo e no elevado custo para a manutenção dos bovinos principalmente devido ao grande intervalo entre gerações.

Para contornar esta situação, os melhoristas buscaram genes candidatos objetivando elucidar as vias metabólicas e os mecanismos fisiológicos envolvidos com a manifestação das características de produção associadas a estes genes, e na tentativa de se pesquisar variações nos genes presentes em indivíduos que apresentam fenótipos diferentes, (WOMACK, 1993). Esta estratégia se mostrou mais vantajosa quando comparada ao mapeamento de QTLs, devido ao fato de não ser obrigatório a genotipagem de um grande número de animais e de famílias numerosas. De forma complementar, nos estudos de (VAZ PORTUGAL,2002), foi proposto o amplo emprego de marcadores moleculares em programas de melhoramento genético de bovinos, assim esta prática passou a ser conhecida como seleção assistida por marcadores (MAS, do inglês *Marker Assisted Selection*).

O desenvolvimento da MAS em programas de melhoramento de bovinos evoluiu em três momentos: 1ª detecção, avaliação do tipo de marcador; 2ª localização das regiões cromossômicas ligadas às características de interesse QTL (*quantitative trait loci*) ou (características quantitativas) e 3ª detecção da associação do marcador ao fenótipo em populações experimentais e posteriormente a validação dos marcadores em rebanhos comerciais, (QUEIROZ, 2012).

O uso da MAS em programas de melhoramento genético de bovinos foi determinante para a elucidação de marcadores do tipo SNPs em LD (desequilíbrio de ligação), associados a QTLs funcionais e a genes candidatos, esta estratégia foi fortalecida através do Projeto Genoma Bovina (2009). Existem 9.714.791 SNPs identificados no genoma bovino,

possibilitando um amplo advento da genética aplicada ao melhoramento.

2.5- Genes associados a fenótipos de interesse econômico em bovinos de corte

Com o desenvolvimento das práticas de seleção e melhoramento genético gerado pela aplicação dos métodos genético-moleculares diversos genes foram identificados associados as características de produção de carne em bovinos (QUEIROZ, et al., 2012). Entre eles estão os genes: *CAST*(calpastatina), *CAPNI* (calpaína 1), *LEP* (leptina), *TG* (tiroglobulina), *FABP4* (proteína ligante de ácido graxo 4), *GHI*(hormônio do crescimento), *IGF1* (fator semelhante à insulina 1),*MSTN* (miostatina) e *DGATI* (diacilglicerol O-aciltransferase 1), considerados *gold standard* e tradicionalmente usados nos programas de seleção e melhoramento genético. O Quadro 2 demonstra, resumidamente, a ação dos genes supracitados associados a diferentes características apresentadas por bovinos de corte.

2.5.1-O Gene *DGATI*

O gene *DGATI* do bovino tem, aproximadamente, 8.6 Kb e compreende 17 exons, medindo em média 121.8 pb, está localizado no cromossomo BTA 14. A associação deste gene com fenótipo de interesse econômico em bovinos, foi identificado por uma substituição de uma lisina por uma alanina na proteína codificada por este gene, afetando a produção de leite de bovinos da raça holandêsa, (da CRUZ, 2015).

O gene codifica uma enzima formada por 489 aminoácidos, envolvida na biossíntese de triglicerídeos, que se expressa em muitos tecidos, com os mais altos níveis de expressão no intestino, testículo, tecido adiposo, glândulas mamárias e tecido epitelial (CASES et al., 1998).

O *DGATI* é tradicionalmente conhecido como marcador posicional e funcional para o QTL de produção de leite e ao aumento da gordura do leite em bovinos, (GRISART et al., 2004).

Em bovinos de corte o *DGATI* foi observado associado à homeostase energética (HAVEL, 2001), na síntese de triglicerídeos (MOORE et al.,2003) e associado a deposição de gordura na carcaça (marmoreio) (THALLER et al., 2003). Estudos de associação em diferentes populações de bovinos apoiaram a eleição do *DGTAI* como candidato funcional às características ligadas a deposição de gordura em raças bovinas de aptidão de

corde,(THALLER et al., 2003; KÜHN et al.,2004; TANTIA et al., 2006).

Gene	Breve descrição	Autor	Chr
CAST*	Relacionado às características correlacionadas com maciez da carne.	BISHOP et al., 1993	BTA 7
CAPNI*	Relacionado às características correlacionadas com maciez da carne.	SMITH et al., 2000	BTA 29
LEP*	Gene associado à característica de adaptação a períodos de subnutrição.	CATUNDA et al., 2014	BTA 4
FABP4	Deposição de gordura intramuscular (marmoreio)	YONEKURA et al., 2016	BTA 14
GHI*	Desempenha papel determinante no crescimento muscular e no desenvolvimento corporal.	DOLMATOVA et al., 2011	BTA 19
GHRH	Peso da carcaça resfriada e área do músculo <i>longissimus</i> .	CHOENG et al, 2006	BTA 13
GHR	Peso corporal, ganho médio diário, ingestão de MS e conversão alimentar.	SHERMAN et al, 2008	BTA 20
IGF1*	Desempenha papel determinante no crescimento muscular e no desenvolvimento corporal.	NEDBAL ET AL., 2000	BTA 5
IGFBP-3	Peso ao nascimento	CHOUDHARY et a,2007	BTA 4
	Teor de gordura de carne	SUN et al, 2002	
	Gordura na carcaça	BUCHANAN et al, 2002	
MSTN	Relacionado ao estabelecimento da musculatura	IWASAKI et al., 2013.	BTA 2
NPY	Crescimento e peso corporal	SHERMAN et al, 2008	BTA 4
POUIF 1	Gordura intramuscular	THOMAS et al, 2007	BTA 1
	Características de crescimento	XUE et al, 2006	
SCD	Influência do conteúdo de gordura monoinsaturada(MUFA) no marmoreio.	TANIGUCHI et al,2004	BTA 26
TG	Quantidade de gordura no músculo <i>longissimusdorsi</i>	THALLER et al,2004	BTA 14
	Espessura de toucinho	CASAS et al ,2005	
DGATI*	Deposição de gordura intramuscular (marmoreio)	GRISART et al., 2001	BTA 14
		WIBOWO et al, 2008	

Quadro 2: Principais genes candidatos para o desenvolvimento de marcadores moleculares em bovinos de corte.
Fonte: QUEIROZ, 2012

2.5.2- Região 5'UTR

Os SNPs estão presentes ao longo de todo o gene, tanto nas regiões codantes (éxons) e também nas regiões não codantes (íntrons e regiões 5' UTR e 3'UTR). Polimorfismo nas regiões não codantes dos genes podem afetar na quantidade de proteínas que serão geradas. São também atribuídos aos polimorfismos presentes em regiões não codantes a capacidade de gerar processamento alternativo no RNA mensageiro, gerando ou eliminando códon de terminação, alterando também os códon de iniciação e modificando o padrão de expressão de genes quando identificamos o SNPs em sequência promotoras (GUIMARÃES; COSTA, 2002). Com a descoberta de que íntrons podem originar RNAs intrônicos, que exercem função de regulação da expressão de proteínas reguladoras de transcrições genômicas, os polimorfismos presentes nas regiões não codantes do gene passaram a ser cada vez mais descritos (NAKAYA et al., 2007).

Foram descrito quatro SNPs na região 5' UTR do gene *DGATI* na espécie *Bos taurus*, conforme apresentado nos Quadros 3 e Figuras 2, 3, 4.

SNPs	Troca de base
rs437338829	A/C/G
rs456245081	A/G
rs471462296	A/G
rs438495570	C/G

Quadro 3: Os quatro SNPs presente na região 5' UTR gene *DGATI* em *Bos t. taurus*.
Fonte: SNP'S

Os SNPs na região 5' e 3' UTR do gene *DGATI* está sendo estudado nos mais diversos tipos de animais de produção. Exemplo é o trabalho de (SCATA, et al., 2009), que encontraram um SNP na região 5' UTR , em raças raras de ovinos que possui maior teor de gorduras no leite.

Neste mesmo estudo foi realizado com bovinos nas raças taurinas Holandês (leite) e Angus, Aberdeen-Angus e Hereford (corte) onde os quatro SNPs da região 5'UTR apresentaram-se altamente polimórficos, entretanto, pouco se sabe da relação destes SNPs da região 5' UTR com fenótipo em *Bos taurus indicus*.

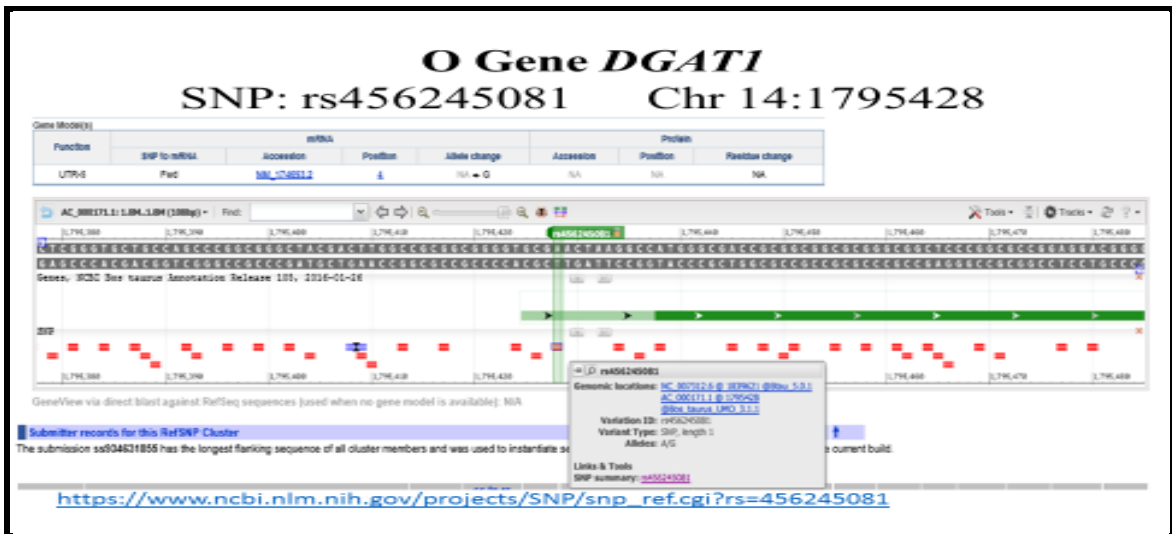


Figura 2: Posição do SNP no gene *DGATI*
 Fonte: NCBI.

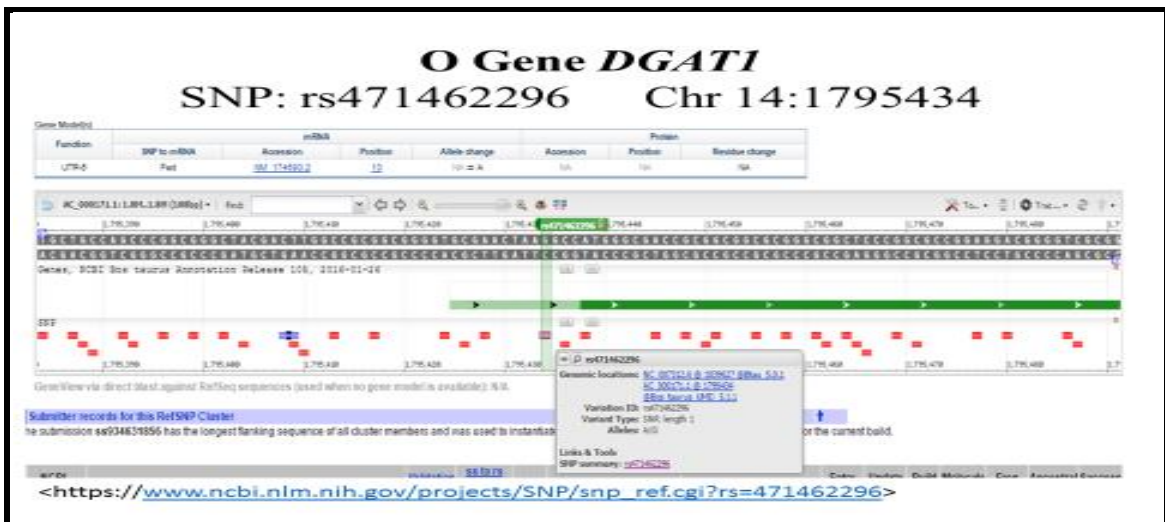


Figura 3: Posição do SNP no gene *DGATI*
 Fonte: NCBI.

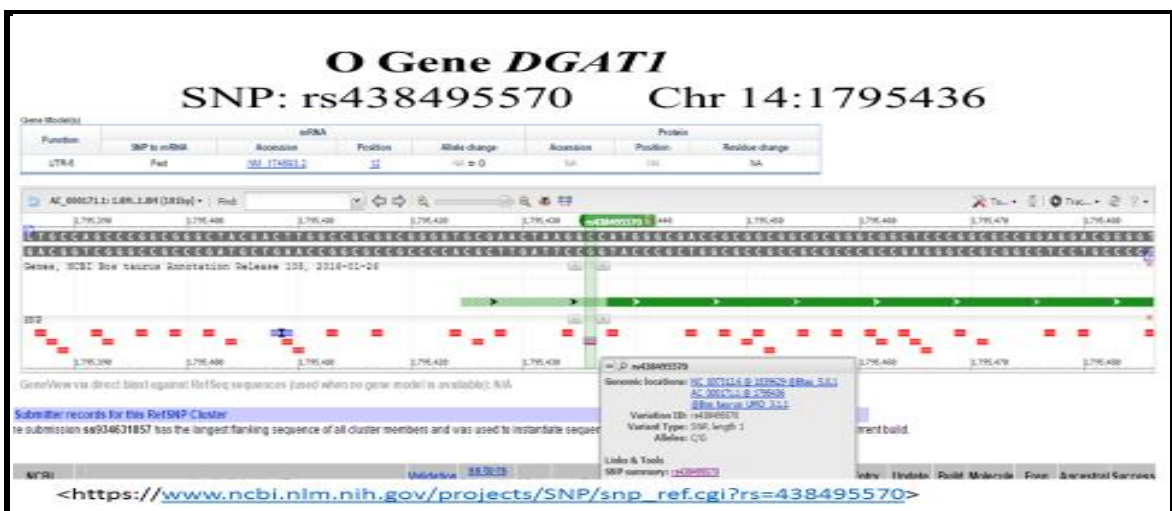


Figura 4: Posição do SNP no gene *DGATI*
 Fonte: NCBI.

2.6-Características morfométricas de bovinos de corte usadas em programas de melhoramento genético

2.6.1 A circunferência escrotal (CE).

O CE, é uma característica de fácil mensuração, com alta herdabilidade e vem sendo amplamente estudado por diversos autores em animais da raça Nelore (VASCONCELOS, 2001; SILVA et al. 2002; VIU et al., 2006). Ele está correlacionado com o ganho em peso de bovinos e nas características reprodutivas dos machos como: volume testicular, formato testicular e defeitos espermáticos. E na precocidade sexual das fêmeas, (QUEIROZ,2012).

O CE de animais da raça Nelore, encontraram ponto de inflexão (máximo crescimento) aos 13,09 meses de idade. De acordo com os autores, tal fato evidenciaria que o maior crescimento do parênquima testicular ocorre próximo aos 12 meses de idade, sugerindo o início do período pré-púbere. Em muitos programas de melhoramento de Nelore, o CE tem sido medido aos 18 meses. Entretanto, alguns estudos sugerem que a seleção por meio do CE deve ser realizada em idades mais jovens, para, dessa forma, acelerar, o ganho genético e reduzir os custos com a manutenção de animais improdutivos (SILVA,2002).

O aumento dos testículos apresentam um comportamento sigmoide em função da idade, com uma fase inicial lenta, seguida de um pico que coincide com a puberdade e, posteriormente, um crescimento mais lento até estacionar na idade adulta ,(SIQUEIRA et al.,2013).

O zebu tem maior resistência a altas temperaturas ambientais, uma vez que estudos mostram que a relação entre o comprimento da artéria e o volume testicular é maior para Nelore, intermediário para cruzado e menor para Angus, o que possibilita maior eficiência na termorregulação testicular, (COSTA E SILVA, et al., 2015).

O tamanho do CE e a faixa etária podem definir a pressão de seleção de acordo o ganho genético e o descarte dos touros. No Quadro 4 os bovinos foram descartados por idade e tamanho do CE. (COSTA E SILVA, et al., 2015) .

Idade (meses)	Perímetro Escrotal (cm)	Descarte (▲▲ pressão)	Descarte (▲ pressão)	Descarte (▼ pressão)
9 (8,6 ± 0,7)	18,0 ± 1,7	18,0	16,3	15,4
10 (10,6 ± 0,5)	20,0 ± 2,2	20,0	17,8	15,6
12 (12,4 ± 0,5)	22,5 ± 2,8	22,5	19,7	16,9
18 (18,2 ± 0,2)	28,5 ± 3,3	28,5	25,2	21,9
24 (23,3 ± 0,6)	33,0 ± 2,8	33,0	30,2	27,4
36 (35,8 ± 0,6)	33,1 ± 2,5	33,1	30,6	28,1
48 (48,0 ± 0,5)	34,7 ± 2,4	34,7	32,3	29,9
60 (59,9 ± 0,3)	35,1 ± 2,6	35,1	32,5	29,9
>60 (90,5 ± 21,4)	37,2 ± 2,4	37,2	34,8	32,4

Fonte: adaptado de CBRA, 2013.

Quadro 4: Circunferência escrotal (cm) de machos
Fonte: COSTA E SILVA et al, 2015.

2.6.2- Abertura bi isquiática (ABi).

A curvatura dos ossos ísquio e púbis são diferenciados na fêmea e no macho. A obliquidade da entrada da pelve, isto é, a inclinação da pelve é maior na fêmea do que no macho, FAÍSCA, (2002). A área pélvica é considerada como a variável de maior influência nas distocias de parto em vacas, OLIVEIRA(2009.). Em touros é também uma região muito importante, pois é dos membros posteriores que vem a força para o salto da monta. E tanto na vaca como no boi é onde estão localizados os principais cortes de carnes.

A pelvimetria é uma ferramenta de grande utilidade que vem sendo utilizada na tentativa da redução da incidência de partos distócicos em rebanhos bovinos a várias décadas (OLIVEIRA,2009;DEUTSCHER,1985), indicando que o crescimento da pelve bovina é linear e estimado por 0,27 cm²/dia entre 10 e 14 meses de idade e de que a herdabilidade da área pélvica é alta, com estudos relatando uma variação entre 0,53, 0,60-0,67, 0,41-0,61 e 0,37 em fêmeas. Novilhas devem ser avaliadas para o tamanho de pelve através da pelvimetria direta antes da estação de monta ou na época de reprodução da propriedade. Foram mensurados 908 bovinos machos da raça Nelore com 378 dias de idade, encontrando um valor de 0,07 a 0,09 cm de largura da ABi, e uma média herdabilidade de 0,14, (CYRILLO et al., 2001).

O aumento da área pélvica dos animais provavelmente resultará em aumento de todos

os ossos do animal como um todo, o que refletirá em um bezerro mais pesado e de ossatura maior. Portanto, as medidas da pelve devem ser utilizadas em conjunto, e não como substitutas, na seleção dos animais, junto com fatores como: peso, tamanho, e, acima de tudo, a fertilidade, (OKUDA, 1994).

Neste estudo, a característica de área pélvica apresentada em bovinos da raça Nelore será realizada através da abertura bi isquiática externa (ABi).

2.7- Efeito fundador no gado Nelore

O gado Nelore encontrou no Brasil o *habitat* natural ótimo para seu desenvolvimento, (SANTIAGO, 1987). Segundo Begon (2007, p. 13).

“Nosso mundo não foi construído por alguém que pegou as espécies uma a uma, testou-as em cada tipo de ambiente e moldou-as, de modo que cada uma delas encontrasse seu local perfeito.”

O povoamento do gado Nelore foi aos poucos, os primeiros exemplares que vieram para o Brasil, em 1875 , era um casal de zebu e havia sido importado do Jardim Zoológico de Londres, (SANTIAGO, 1987). Em 1883, o Sr. Lamgruber, importou o touro “Castor” (Foto em Apêndice, 03). Em 1921 o governo brasileiro proibiu, por razões sanitárias, as importações da Índia. Porém, alguns pecuaristas tiveram uma licença especial de importação que exigia quarentena, em 1930, 1952, 1960 e em 1962 considerada a “última grande importação” .Dos touros genearcas importados em 1962 (Akazamu , Bhima, Brahmini, Godhavari, Golias, Karnu, Karvadi, Rastã e Taj Mahal). Karvadi (Foto em Apêndice, 03), foi um de maior destaque, 80% do gado Nelore tem origem direta nele, (VIACAVA, et al., 2000). Devido ao acasalamento de um reprodutor com seus descendentes, vários animais ficaram ligados ao ancestral comum (efeito fundador), fixando as características associadas ao touro genearca. (OLIVEIRA,2002).

3- Objetivos

3.1- Geral

O objetivo deste trabalho é genotipar e caracterizar os polimorfismos do gene *DGATI* no gado Nelore (PO) e, relacionando com os fenótipos de abertura bi isquiática externa (ABi) com a circunferência escrotal (CE).

3.2- Específicos

- Estimar as frequências alélicas dos *SNPs* do gene *DGATI*; rs471462296 [A/G], rs456245081 [A/G] e rs438495570 [C/G], para os bovinos Nelore (PO) e SRD.
- Realizar a associação dos *SNPs* com a abertura bi isquiática (Abi) e com a circunferência escrotal (CE), nos bovinos analisados;

4- Materiais e Métodos

4.1- Identificação do tipo de estudo e descrição do grupo amostral

Este é um estudo do tipo transversal onde participaram 109 bovinos machos divididos em dois grupos: Grupo 1- touros Nelores que apresentaram registro de Puro de Origem (PO) junto a ABCZ e Grupo 2- touros sem raça definida (SRD), oriundos de rebanhos comerciais localizados no Estado de Goiás. Destes animais, foram usados dados fenotípicos de circunferência escrotal (CE), abertura bi isquiática (ABi), além de sangue para genotipagem. Todos os resultados foram tabulados e analisados estatisticamente (Estatística Descritiva), pelo programa SPSS 11.0.

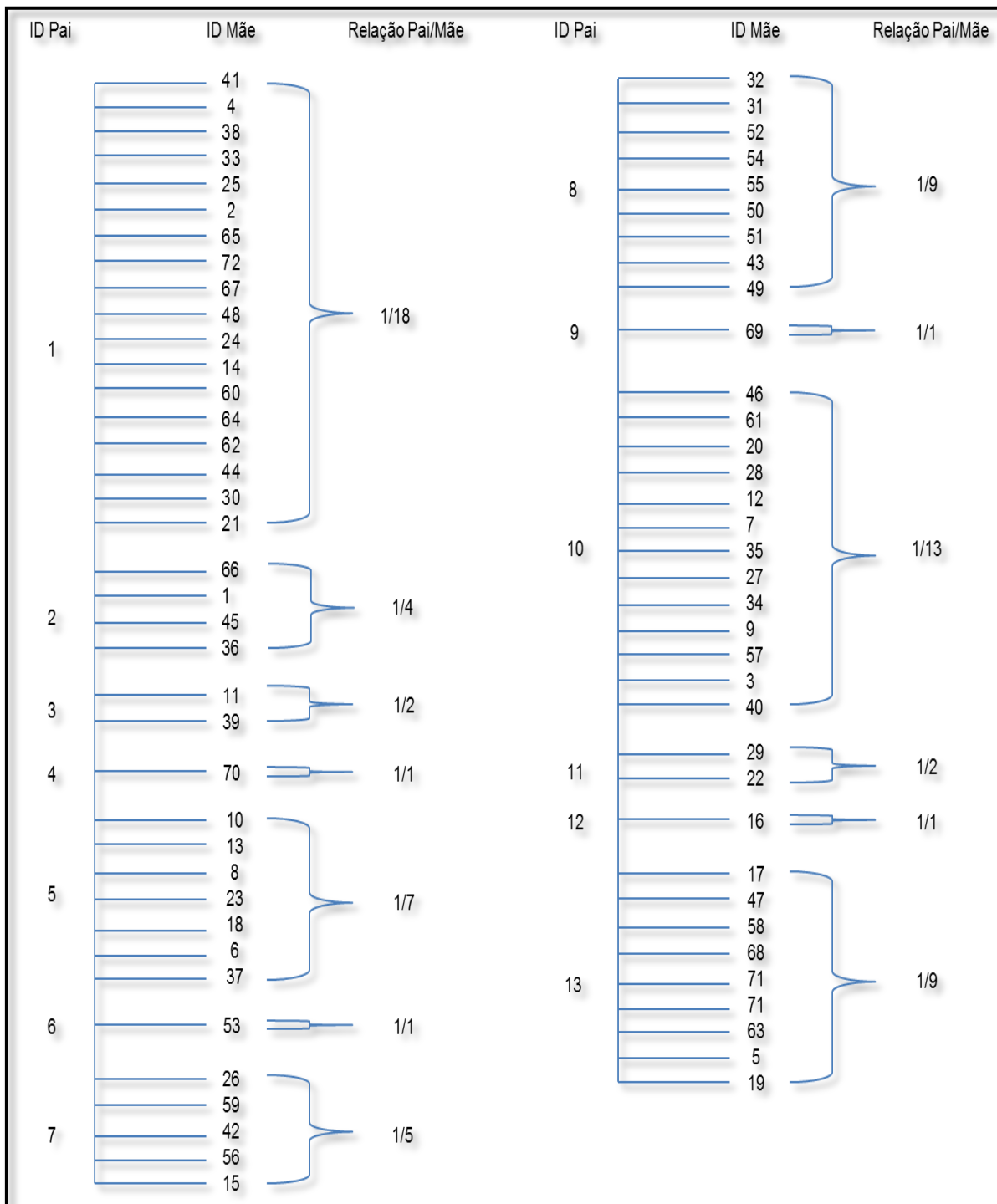
4.1.1-Descrição dos Animais do estudo

Este grupo foi composto por 73 bovinos da raça Nelore (PO) (Figura 5), oriundos da Fazenda estância Engil, cuja a proprietária é a Sra Martha Rosa Yano, localizada no quilômetro 27, da BR-153, em Teresópolis de Goiás.



Figura 5: Animais Nelores (PO) avaliados neste trabalho.
Fonte: Arquivo próprio, 2017.

Estes animais tinham idade mínima de doze meses e máxima de trinta meses, e são participantes do programa de melhoramento genético, *in loco* caracterizado por seleção de reprodutores de elite e cruzamentos alvo dirigidos por inseminação artificial. A Quadro 5 demonstra a estratificação de parentesco dos animais usados no estudo.



Quadro 5: Estratificação de parentesco dos animais usados no estudo, relação pai x mãe.
Fonte: Arquivo próprio, 2017.

Foram utilizados 13 touros Nelores (PO) nestes 73 animais indivíduos estudados,

descendentes de famílias dos grandes reprodutores genearcas (Apêndice 03), do rebanho brasileiro (SANTIAGO,1983; OLIVEIRA, 2002.), são eles:

- **1- Castor com 33 animais,**
- **2- Davi com 18 animais,**
- **3- Kavardi com 13 animais,**
- **4- Thalaivam com 4 animais,**
- **5- Taj Mahal com 4 animais,**
- **6- Cacique 1 animal**

4.1.2-Descrição dos animais do grupo 2

Este grupo foi composto por 36 animais machos sem raça definida (SRD) resultantes de cruzamentos por monta natural entre Nelore e diferentes raças de aptidão para corte apresentando idade de doze meses a trinta meses, oriundos de leilão. Devido a caracterização do grupo 2, ser constituído por animais de leilão, não foram obtidos dados referentes à estratificação do parentesco.

4.2- Coleta dos dados morfométricos

As medidas morfométricas escolhidas para este trabalho foram a circunferência escrotal (CE) e abertura bi isquiática externa (ABi). As mensurações foram feitas respeitando às normas de bem-estar animal, não causando dor e nem sofrimento ao animal.

4.2.1- Circunferência escrotal

A mensuração da circunferência escrotal (CE), foram realizadas com uma fita métrica escrotal (Wago®, comprimento: 1m) própria para uso em exames andrológicos e na seleção de machos. Para isso, os bovinos foram contidos em brete, seguido da apreensão firme da bolsa escrotal, puxando os dois testículos para baixo e envolvendo-os com a fita escrotal. A Figura 6 mostra o processo de mensuração.

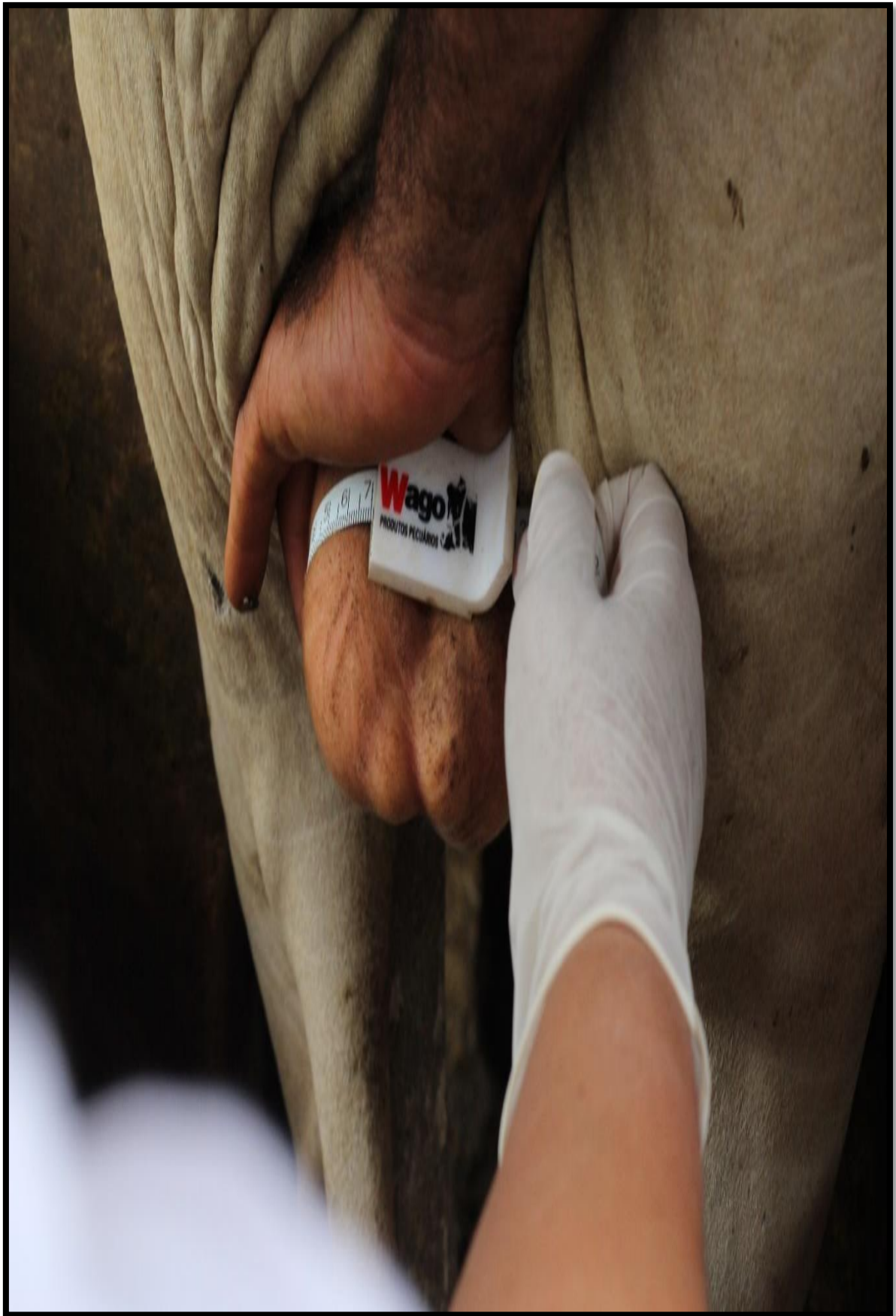


Figura 6: Procedimento de mensuração da circunferência escrotal.
Fonte: Arquivo próprio, 2017.

4.2.2 -Abertura bi isquiática

A Abertura bi isquiática externa foi mensurada, entre as distâncias das tuberosidades isquiáticas dos bovinos, com uma Trena a laser (Bosch GLM50). A Figura 7, exemplifica o processo de mensuração usado no estudo.

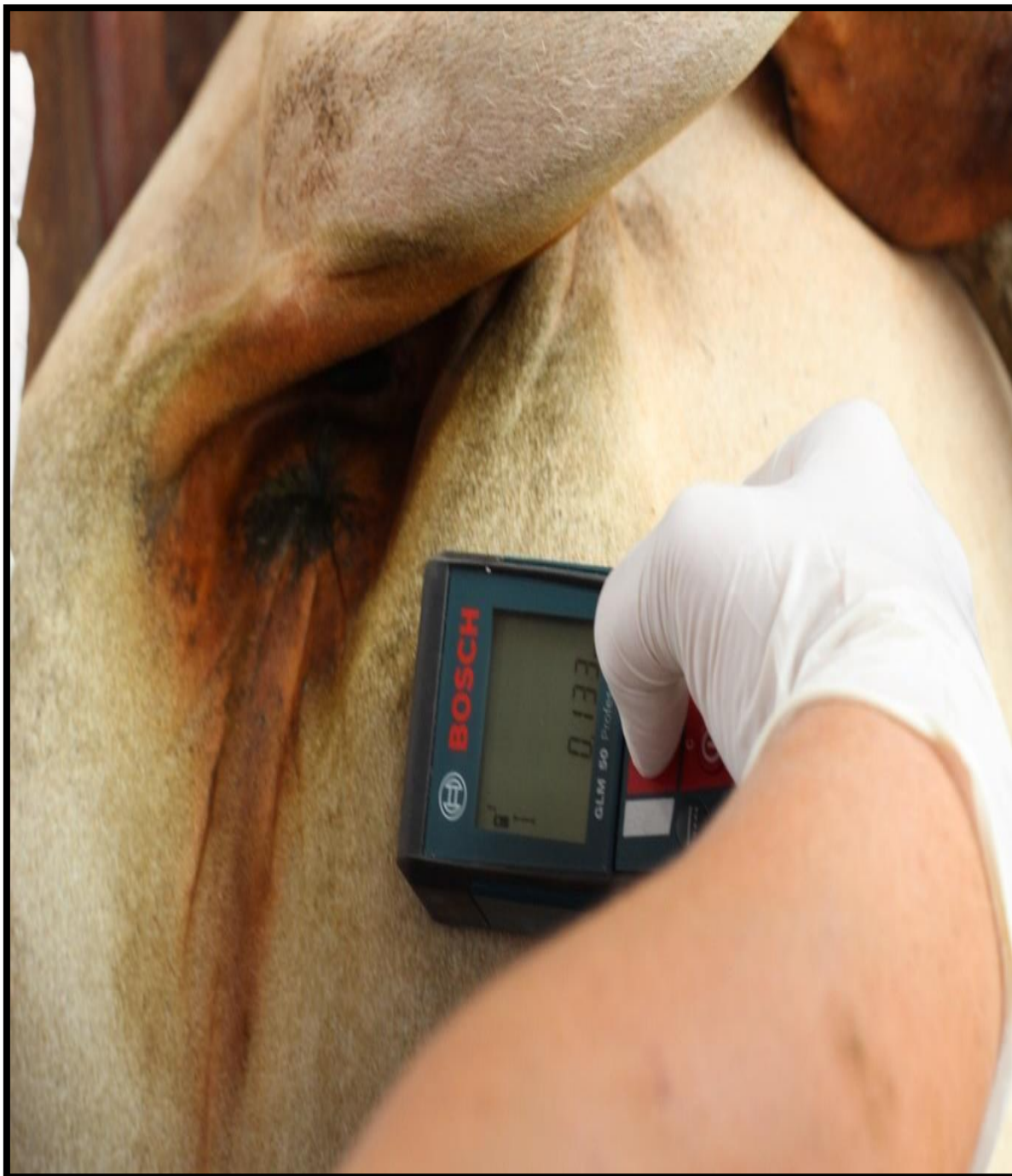


Figura 7: Procedimento de mensuração da abertura bi isquiática externa. Trena Bosch GLM50. Sistema digital de mensuração.
Fonte: Arquivo próprio, 2017.

4.3-Coleta de sangue e extração do DNA

As amostras biológicas foram obtidas a partir de coleta de sangue periférico por punção da artéria coccígea média, em seguida colocado em tubo a vácuo com EDTA, agitado e congelado a temp de -8°C , (Figura 8) , obedeceram aos critérios de inclusão deste estudo. A extração do DNA genômico foi realizada a partir do sangue dos animais, usando o kit comercial *Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin*® (GE Healthcare, UK) conforme instruções do fabricante, (Apêndice 01). A concentração do DNA foi determinada (em ng/mL), assim como seu grau de pureza (relação entre as densidades óticas a 260 e 280nm) utilizando-se espectrofotômetro (Nanodrop - Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA).

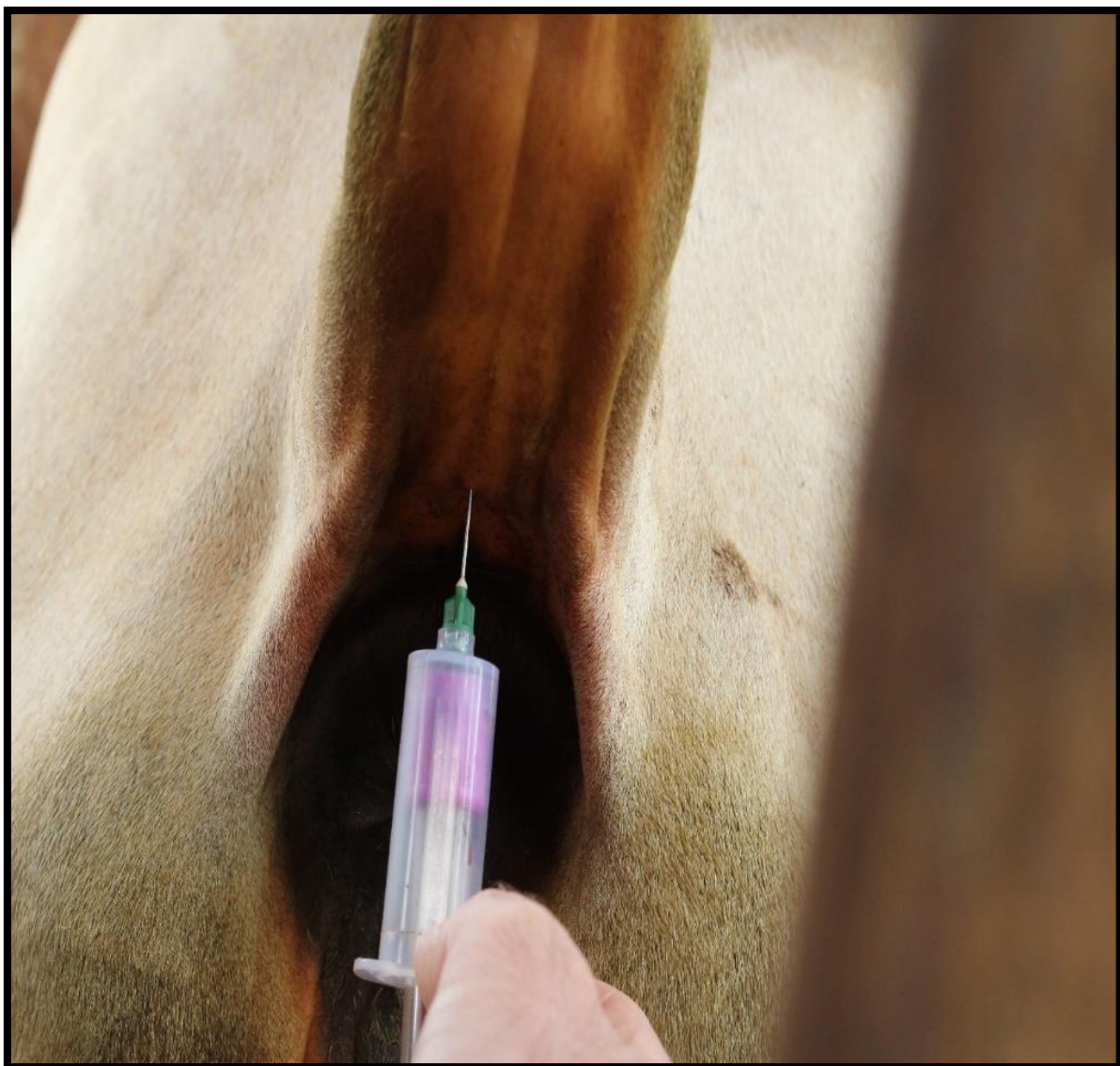


Figura 8: Procedimento de coleta de sangue por punção da artéria coccígea media. Sistema à vácuo.
Fonte: Arquivo próprio, 2017.

4.4 -Avaliações dos SNPs e amplificação por PCR em tempo real

Após a extração e obtenção de DNA, as regiões genômicas alvos para os polimorfismos (Tabela 01) foram amplificadas por PCR em tempo real usando-se o sistema *TaqMan® Assays* (Applied Biosystems), conforme instruções do fabricante. “A PCR quantitativa em tempo real é extremamente precisa e menos trabalhosa do que os métodos de PCR quantitativos atuais”, (HEID,1996) . Dentro das vantagens que a qRT-PCR , podemos citar:

- Redução do risco de contaminação cruzada
- Técnica rápida, que permite resultados rápidos.
- É de fácil execução, associada a excelente sensibilidade e especificidade.

As desvantagens da utilização da tecnologias de ampliações por qRT-PCR é seu uso limitado devido aos custos relacionados aos reagentes e, principalmente, aos sistemas de detecção empregados (sondas e *primers*).

Tabela 1: Padrão dos polimorfismos por substituição de nucleotídeos (SNPs) da interleucina 8 que serão avaliados nos bovinos.

<i>DGATI/SNP</i>	Posição no gene	Substituição
rs471462296	Chr 14:1795434	A/G
rs456245081	Chr 14:1795428	A/G
rs438495570	Chr 14:1795436	C/G

Chr: Cromossomo

As reações foram realizadas em tubos de 0,2 ml, preparando-se misturas (Tabela 02) para cada amostra, contendo o DNA extraído e os componentes que reproduzem um meio para a amplificação do mesmo, completando o volume final de 50 µL.

Tabela 2: Componentes da reação de PCR em tempo real.

Componentes	Volume	Concentração Final
TaqMan Universal PCR Master Mix (2X)	5,00 µL	1X
Primer and TaqMan Probe dye mix (20X)	0,75 µL	1X
DNA molde (Amostra)	1,00 µL	20 ng
H2O Milli-Q	5,75 µL	NA
Volume Final	15,00 µL	

Neste estudo, foram usados os *primers* e as sondas descritas na tabela 3.

Tabela 3: Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores da amplificação e das sondas VIC e FAM usados no estudo

	rs438495570	rs456245081	rs471462296
Primer F	CGGCGGGCTACGACTT	CGGCGGGCTACGACTT	CGGCGGGCTACGACTT
Primer R	CGCGACCCCGTCCTC	CGCGACCCCGTCCTC	CGCGACCCCGTCCTC
Sonda VIC	TCGCCCATG[G]CCTTA	ATGGCCTTAGT[T]CGCACC	CCCATGGCTT[T]AGTTC
Sonda FAM	TCGCCCATG[C]CCTTA	ATGGCCTTAGT[C]CGCACC	CCATGGCCTT[A]GTTC

Após o preparo do mix de reação, as misturas foram submetidas ao procedimento de termociclagem, utilizando o termociclador StepOne® *Real-Time PCR System* (Thermo Fisher Scientific, EUA) nas condições descritas na Tabela 6, para a amplificação dos polimorfismos gene *DGATI* e na tabela 6 foram descritas as sondas e os *primers* usados no estudo.

Tabela 4: Condições de termociclagem, utilizadas na reação de PCR em tempo real para a amplificação da região de interesse.

Etapas	Quantidade de Ciclos	Condições
Desnaturação Inicial	1	60°C por 30 seg
Desnaturação Inicial	1	94°C por 10 min
Desnaturação	40	95°C por 15 seg
Anelamento/Extensão	40	60°C por 1 min
Extensão Final	1	60°C por 30 seg

Posteriormente, os produtos de qRT-PCR foram submetidos à análise através do software StepOne® *Analyzer* v.2.1. A identificação dos alelos foram realizados de acordo com os padrões do fabricante. Através das análises acima descritas serão calculadas as frequências para os SNPs testados.

4.5- Análise dos dados

Os dados obtidos neste estudo foram tabulados usando o programa Microsoft Office Excel 2010 e exportados para o programas SPSS[®] quando necessário. A análise estatística foi realizada inicialmente através de dados descritivos como média, desvio e frequência. Posteriormente, foi utilizado o teste Qui-Quadrado (χ^2) para a análise inferencial das frequências genóticas e alélicas entre os grupos estudados. Adicionalmente, foi aplicado o *teste T de Student* na análises comparativas dos dados morfométricos avaliados.

5- Resultados

5.1-Avaliações fenotípicas

Nas mensurações morfométricas dos 73 bovinos Nelore, os valores encontrados das medidas observadas estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Mensurações morfométricas, Abi e CE, dos 73 bovinos Nelores

N	PAI	MAE	A.Bi	CE
1	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8186 EUROPA JY	13	28.5
2	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8778 SUIÇA JY	11.5	28.5
3	CSCN 10676 NAVIRAI FIV 10676/09	MRC 1807 NAJA	13	29
4	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8210 SAFADA JY	11	28.6
5	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8964 FABI PO JY	12	27
6	TECO 105 BITELO	JHY 8716 AMAZONIA JY	13	28
7	TECO 105 BITELO	OMC 7879 - OMEGA POI TE D.PALM	11.7	29
8	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 7022 BRIOSA JY	12	29
9	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8288 ARESTA JY	13	27.8
10	LBMN D4685 - D4685 DA MN	VENTANIA JH-JY 8235	12	25.5
11	TECO 105 BITELO	OMC 7879 - OMEGA POI TE D.PALM	9.9	25.5
12	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 9019 -FOLHARA JY	11.2	22.5
13	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 8341 JALLYANA PO JY	9.8	24.9
14	TECO 105 BITELO	MÃE -JHY 8998 -BERILLA JY	11.2	25.5
15	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 9002 CHARLENA JY	11.6	30
16	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	JHY 9018 - DOMADA JY	11.9	25.5
17	TECO 105 BITELO	JHY 9119 LIGADA PO JY	11	27.4
18	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8830 ANXOVA JY	11	25
19	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 5422 BIKARA JY	12	29
20	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8871 MILA JY JY	13	28
21	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 7055 PASSISTA TE PO JY	9.8	25.7

22	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 5179 SINNA 1117 POI JY	12	25
23	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 9135 SIRIGUELA JY	10	27
24	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 4331 LAND 900 POI JY	12	24.5
25	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 7607 ASHARA JY	10	23
26	TECO 105 BITELO	JHY 6986 CHELONIA TE JY	10.3	23.8
27	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8993 CANDIDA JY	11	24
28	CSCC 2502 DONATO DE NIVIRAI	JHY 8410 INHACA JY	9.1	26.7
29	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	JHY 7624 ILUSÃO TE JY	12	27.5
30	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	JHY 6580 KAMAYA PO JY	9.6	20.7
31	RDM 4012-MAIA FIV MAT	JHY 7931-RAFINHA JY	11	23
32	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8756 AZURRA JY	12.7	28.6
33	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 8412 ESTIVA JY	11	25
34	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 6195-MELLINA JY	9.8	23.5
35	TECO 105 BITELO	JHY 6752 LOCOMOTIVA JY	11	25
36	COL A 6879-GANGES COL	AGC IDIOGA AGC TE	13	25.5
37	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 6031 ATTIVA JY	21	30.5
38	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 9126 MAMONA JY	9	24.5
39	COL A 6879-GANGES COL	JHY 9910 BOTYMA	10	12
40	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 7674 - PEROBA TE JY	10	26
41	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8581 FADA	9.5	26.9
42	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JOJ-1403-TECA LARAPINTA	12	24
43	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 9092 FLOXADA JY	10.2	25.5
44	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 7443 BAIANA TE PO JY	10.7	26.5
45	CSCC 2502 DONATO DE NIVIRAI	JHY 5743 HINDIA JY	11.5	26
47	RDM 4582-NUMARU FIV MAT	JHY 6659 HELLO-JY	11.5	23.5
48	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	JHY 8997 PENTELE	10.8	24.5

49	LBMN D4685 - D4685 DA MN	FSLU 1404 ABBITA FIV SANLU	14	27.5
50	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8090 LADY PO JY	9.6	25.7
51	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8739 - FABIA JY	9	19.5
52	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 9050 BENEMERITA JY	11	21
53	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 8214 - MALINKA FIV JY	10	26.5
54	COL A 6879-GANGES COL	JHY 8318 - MIRATA JI	10.3	27.5
55	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8387 BELGICA TE JY	12	25
56	JHY 9048 EFETIVO FIV JY	JHY 8874 JALILE JY	10.3	23.8
57	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 5335-SAVALA JY	9.2	22.5
58	LBMN D4685 - D4685 DA MN	JHY 8455- CASEARA	9	27
59	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 8685 GOTIKA	9.7	24.5
60	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8565 TIPICA	10.5	24.5
61	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 8696 TANGARA PO	10	24.5
62	TECO 105 BITELO	JHY 9004 LENTILHA JY	10	21
63	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 7875 OTICA TE JY	12	23.5
64	TECO 105 BITELO	JHY 8659 AGRA	10	21.3
65	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	JHY 8488 DALILA	10.7	24.5
66	RDM 4012-MAIA FIV MAT	JHY 7093 NIKA TE	9.7	22
67	LBMN D1484 - D1484 DA MN	LBMN D1342-D1342 DA MN	11.7	23.1
68	COL A 6879-GANGES COL	JHY 8661 -TALHADA	11	22
69	MBO 1216-CASSINO DE MARIPA	JHY 8142 AURORA JY	10	23.5
70	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 6874 - ZUMBA TE PO JY	11	20.5
71	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 6192 LARAH JY	11	22
72	CSCN 9022 -FUNCIONARIO NAVIRAI	JHY 7427-DOLLY JY	10	25.5
73	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	JHY 8232 JADILA JY	12	26

Arquivo próprio, 2017.

Os animais do Grupo 1 e Grupo 2 que compuseram o presente estudo foram

estratificados em função da relação entre a ABI e CE. A tabela 6 a seguir é a a distribuição e a média da ABI e CE dos animais em função da distribuição entre os grupos 1 e 2.

Tabela 6: Análise descritiva dos animais do estudo.

Grupo	Estatística descritiva	ABi (cm)	CE (cm)	
G1–Nelore (n=73)	Média	11,08	25,14	
	Desvio Padrão	1,65	2,9	
	Amplitude	Máxima	21,0	30,5
		Mínima	9,0	12,0
G2–SRD (n= 36)	Média	11,0	23,0	
	Desvio Padrão	1,42	2,07	
	Amplitude	Máxima	15,0	27,0
		Mínima	9,0	20,0

SRD Sem raça definida

A análise dos dados morfométricas pelo teste T de *Student* comparando os grupos Nelore PO e bovinos SRD ,não indica que as diferenças encontradas são substantivamente importantes para as variáveis ABI e CE ($p \leq 0,0001$).

5.2- Avaliação genômica

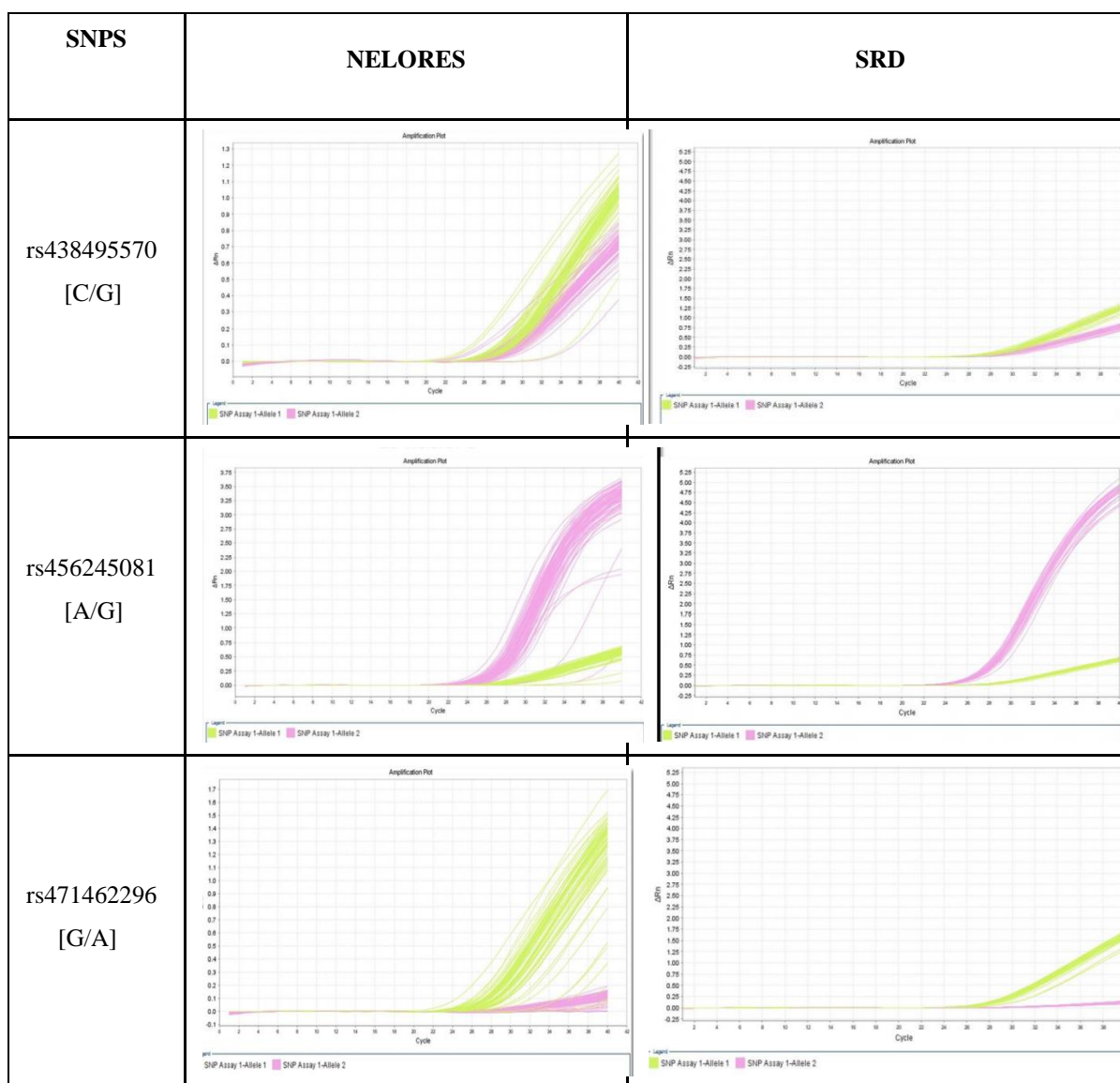
Neste estudo, apresentamos os resultados da investigação da diversidade alélica e genotípica de três *SNPs* pertencentes ao gene *DGATI* em bovinos Nelore e sem raça definida. Na tabela 4 foram relacionados os achados da genotipagem para os *SNPs* rs471462296 [G/A], rs456245081 [A/G] e rs438495570 [C/G].

O teste do Qui-quadrado não foi significativo ($p \geq 0,05$), revelando, portanto, que os grupos de Nelore PO e de animais SRD não diferem quanto às frequências genotípicas e alélicas encontradas. Nessa situação, não foram observados até o momento variações na frequência alélica e genotípica para os animais amostrados (Grupo 1 e 2) e para os três *SNPs* usados no estudo, Quadro 07.

Tabela 7: Frequência alélica e genotípica para os polimorfismos analisados para os dois grupos testados.

Grupo	DGAT1/SNP	Frequência alélica		Frequência genotípica		
		+	-	+/+	+/-	-/-
G1– Nelore (n=73)	rs471462296	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00
	rs456245081	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00
	rs438495570	0.50	0.50	0.00	1,00	0.00
G2–SRD (n=36)	rs471462296	1.00	0,00	1.00	0.00	0,00
	rs456245081	1.00	0.00	1,00	0.00	0.00
	rs438495570	0.50	0.50	0.00	1,00	0.00

n = número de animais; + = Alelo selvagem; - = Alelo mutante; +/+ = Homozigoto para alelo selvagem; +/- = Heterozigoto; -/- = Homozigoto para alelo mutante; SRD = Sem raça definida.



Quadro 6: Alelo selvagem, côm verde + ; Alelo mutante Côm rosa –
Fonte: Arquivo próprio, 2017.

6- Discussão

Relatos de ZHANG et al., (1992) em bovinos da raça Jersey, verificou uma alta variabilidade genética de diferentes *SNPs* em diferentes regiões do gene *DGATI* (3'UTR, Regiões codantes e intrônicas) e que os polimorfismos de maiores frequências associavam-se positivamente a fenótipos de interesse econômico para as características de aptidão leiteira, gordura no leite e marmoreio.

Devido à grande importância do papel do gene *DGATI*, na síntese de triglicerídeos e seu envolvimento com característica de deposição de gordura intramuscular e gordura de leite tem-se observado muito interesse neste gene e no seu emprego como marcador molecular. Entretanto, não foi possível neste estudo associar as características de perímetro escrotal e abertura biisquiática à variações genéticas do gene. O gene *DGATI*, não influenciou no desenvolvimento morfológico dos bovinos avaliados, para SIMMONS (2013 pag.465),

Para SIMMONS (2013 p.465):

Muitas vezes conhecemos a sequência nucleotídica de um gene antes de conhecermos sua função ou sua distribuição em relação a sua frequência alélica ou genotípica na população estudada. É esse comportamento que embasa a grande necessidade de desenvolver estudos de associação genômica.

A descoberta de polimorfismos monomórficos é um cenário característico para bovinos que apresentam sua aptidão resultante do cruzamento direcionado através da seleção, o que pode provocar como consequência uma diminuição da frequência alélica e por consequência a diminuição da frequência genotípica provocada ao longo de cruzamentos consanguíneos. No trabalho de (LACORTE, 2006), foi avaliado a frequência genotípica do gene *DGATI* em *Bos indicus* e em *Bos taurus*, aliada a estruturação de parentesco do rebanho e a estimativa da endogamia do rebanho, concluindo que diferentes raças de *Bos indicus* (Gir, Guzará e Nelore), apresentaram-se menos variadas geneticamente quando comparadas a outras raças taurinas (Holandesa). O tamanho amostral dos dois grupos e a seleção para a melhorar os animais entre os Nelores PO, podem ter contribuído para o monomorfismo genético encontrado.

Em observações realizadas em rebanhos produzidos pelo sistema de melhoramento animal convencional, quanto maior for o grau de parentesco entre os animais, maior será a probabilidade de que dois indivíduos tenham conservado grande parte de polimorfismos (ELER, 2014). Ao observar a diversidade alélica e genotípica de marcadores associados às

características produtivas, é necessário conhecer a estrutura de parentesco da população estudada. Considerando a estrutura populacional como um dos principais agentes capaz de alterar a diversidade alélica e genotípica, o comportamento apresentado neste trabalho pode ser fruto de uma população estruturada por um sistema de cruzamentos consanguíneo e o efeito deste sistema de cruzamento poderia estar conservando esta falta de variabilidade genética nos 98bovinos genotipados.

A alta frequência de indivíduos homozigotos do alelo selvagem para os *SNPs* rs471462296 [G/A], rs456245081 [A/G] e de heterozigotos para o *SNPs* rs438495570 [C/G] em Nelore PO sugere utilidade limitada para a genotipagem destes polimorfismos para serem usados programas de seleção e melhoramento genético de rebanhos da raça, especialmente com o objetivo de associar a ocorrência dos *SNPs* às características morfométricas e fatores produtivos.

Os resultados do presente estudo são importantes para consolidar o conhecimento acerca dos polimorfismos observados no gene *DGATI* para as diversas raças do gênero *Bos taurus* (*taurus e indicus*), permitindo escolhas adequadas e otimizadas dos *SNPs*, que marcam características de produção e possam vir a ser úteis para promover a seleção de rebanhos assistida por marcadores moleculares.

7- Conclusões

As regiões genômicas, que continham os *SNPs* avaliados neste estudo, apresentou-se monomórfica e a variação de *SNPs* não foi observada, limitando seu uso como marcadores moleculares para o Gene *DGATI* em Nelores PO e nos SRD.

O genótipo dos bovinos amostrados não afetou as características morfológicas avaliadas (CE e ABi), existindo, portanto, outros efeitos genéticos e não genéticos que afetam as características estudadas em Nelore, as quais merecem ser investigadas.

8-Referências Bibliográficas

ANDERSEN, I. L.; et al. **The significance of theories in behavioural ecology for solving problems in applied ethology – possibilities and limitations.** *Applied Animal Behaviour Science*, v.97, p. 85-104, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168159105004016>> Acessado em 28/02/2017.

ARAUJO, H.S.; et al. **Aspectos econômicos da produção de bovinos de corte.** *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 42, n. 1, p. 82-89, Mar. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-40632012000100012&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 16 /01/2017.

BEGON, M. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas.** Editora artemed, 4 edição, Porto Alegre, 2007, pag. 13.

BISHOP, M. D.; et al. **Rapid communication: restriction fragment length polymorphisms in the bovine calpastatin gene.** *Journal of Animal Science*, v. 71, n. 8, p. 2277, 1993. Disponível em: <<https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/30400510/1993712277.pdf>> Acessado em 28/02/2017.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. **marcadores moleculares.** Viçosa-MG. Editora UFV, 2016.

CANAVEZ, F.C.; et al. **Genome Sequence and Assembly of Bos indicus.** *Journal of Heredity*. 2012;103(3):342-348. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jhered/article/103/3/342/851275/Genome-Sequence-and-Assembly-of-Bos-indicus>> Acessado em 21/02/2017.

CARDOSO, F. F. **Melhoramento Genético Participativo de Bovinos de Corte: Estratégias para Pecuaristas Familiares.** *Circular Técnica*, 36. EMBRAPA. 2009. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/55807/1/CT36.pdf>>. Acessado em 01/03/2017.

CASES, S.; SMITH, S.J.; ZHENG, Y.W.; et al. **Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.95, p.13018-13023, 1998. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC23692/>> Acessado em 01/03/2017.

COSTA E SILVA; et al. **Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas.** *Revista Bras. Reprodução Animal*. Belo Horizonte, v, 39, n1, p 22-31. 2015. Disponível em <www.cbra.org.br> Acessado em 01/03/2017.

CATUNDA, A.G.V. ; LIMA, F.R.G; LIMA, I.C.S. **O papel da leptina na reprodução dos ruminantes.** *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.38, n.1, p.3-9, jan./mar.2014. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v38n1/pag3->

[9\(RB392%20Catunda\).pdf](#)> Acessado em 28/02/2017.

COUTINHO, et al. **Biotecnologia animal**. *Estud. av.* [online]. 2010, vol.24, n.70, pp.123-147. ISSN 0103-4014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142010000300009>. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000300009> Acessado em 02/03/2017.

CYRILLO,J. N.S.G; RAZZOK,A.G;FIGUEIREDO, L. A.; et al. **Estimativas de tendências e parâmetros genéticos do peso padronizado aos 378 dias de idade, medidas corporais e perímetro escrotal de machos Nelore de Sertãozinho**.*Revista Brasileira de Zootecnia,SP.* v. 30, n. 1, p. 56-65, 2001.Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982001000100010>, Acessado em 01/03/2017.

da CRUZ, A. S.**Estudo de associação ampla do genoma bovino para lactação ajustada em 305 dias em Girolando**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Goiás (UFG)(ICB). Goiânia.GO, 2015.Acessado em <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/5663/5/Tese%20-%20Alex%20Silva%20da%20Cruz%20-%202015.pdf> . Em 06/05/2017.

DAL-FARRA, R. A; et al.**Fatores de Correção do Perímetro Escrotal para Efeitos de Idade e Peso ao Sobreano de Tourinhos Nelore**.*R. Bras. Zootec.*, v.27, n.6, p.1092 -1096, 1998. Disponível em:<<http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/65547/2-s2.0-0347204753.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acessado em 03.03.2017.

DEKKERS, J. C. M. **Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons**. *Journal of Animal Science Nebraska*, 2004.Vol. 82 No. 13_suppl, p. E313-E328. Disponível em:<<https://www.animalsciencepublications.org/publications/select-items>>. Acessado em 25/02/2017.

DEUTSCHER, G. H. **Using pelvic measurements to reduce dystocia in heifers**. *Modernveterinary practice*.*Agri.fao.org* (USA), 1985. Disponível em:<<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?f=1986/US/US86219.xml;US8637397>> .Acessado em 28/02/2017.

DOLMATOVA; et al. **Association of cattle growth hormone gene polymorphism with milk productivity**. *Genetika*. Jun;47(6):814-20. 2011. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21866862>> . Acessado em 28/02/2017

ELER, J.P.; SILVA, J.A.V.; EVANS, J.L.;et al. **Additive genetic relationships between heifer pregnancy and scrotal circumference in Nelore cattle**. *Journal of Animal Science*, v.82, p.2519-2527, 2004. Disponivelem:<<https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/82/9/0822519>> . Acessado em 01/03/2017.

SCOTTI, E; et al. **DGAT1 p.K232A polymorphism in dairy and dual purpose Italian cattle breeds**.*ItalianJournalof Animal Science*. 2009. Disponível

em:<<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.4081/10.4081/ijas.2010.e16>>. Acessado em 18/02/ 2016.

ESTEPHEN, et al. **Genome sequencing of the extinct Eurasian wild aurochs, *Bos primigenius*, illuminates the phylogeography and evolution of cattle.** *Genome Biology* 2015 16:234. DOI: 10.1186/s13059-015-0790-2. Disponível em: <<http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-015-0790-2>>. Acessado em 23/03/2016.

FAÍSCA, J. C. **Elementos para a diagnose do sexo e idade em carcaças de bovinos.** *Faculdade de Medicina Veterinária, núcleo de Anatomia – DEMOC - CIISA – Rua Prof. Cid dos Santos, Polo Universitário do Alto da Ajuda 1300 – 477. RPCV*, 2002. Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf9_202/11_RPCV543.pdf>. Acessado em 25/02/2017.

FARIA, F.J.C., et al. **Análise de polimorfismo do gene da somatotropina em vacas Nelore e seu efeito sobre o peso à desmama de suas progênes.** *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte , v. 51, n. 6, p. 565-570, Dec. 1999 .Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000600011> . Em 25/02/2017.

FERNANDES, A.R.M. et al. **Composição química e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos de diferentes condições sexuais recebendo silagem de milho e concentrado ou cana-de-açúcar e concentrado contendo grãos de girassol.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.4, p.705-712, 2009. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000600011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt> . Em 01/03/2017.

FERREIRA, C.B.B; et al .**Diversidade genética molecular de progênes de dendezeiro.** *Pesquisa Agropec. Brasileira.*, Brasília , v. 47, n. 3, p. 378-384, Mar. 2012. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/pab/v47n3/09.pdf>> . Em 01/03/2017.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPALIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 3. ed. Brasília: *EMBRAPA-CENARGEN*, 1998, 220 p.

FORTES, R.S.M. **Polimorfismos dos genes CAPN1, CAST, LEP, TG E DGAT1 como possíveis indicadores de qualidade da carne em bovinos zebuínos e cruzados abatidos em idade jovem** 2007. *Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, SP.* Disponível em:<<http://canchim.com.br/biblioteca/teses/Qualidade%20de%20carne%20e%20de%20carca%E7a/Trab.%20Polimorfismo.pdf>> Acessado em 01/03/2017.

GARCIA, J. F; PORTO-NETO, L. P. **Uso de marcadores moleculares em programas de transferência de embriões.** *Acta Scientiae Veterinariae*, 34 (Supl 1), 197-203, 2006 Disponível em: .<http://www.ufrgs.br/actavet/34-suple/Anais%20INGLES_sbte2006%20Inicial.pdf> Acessado em 01/03/2017.

GODOY, T. F. **Identificação de Polimorfismos em região do cromossomo 2 da galinha**

associado a deposição de músculo. Dissertação de Mestrado. *Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”*, Piracicaba. 2014. Disponível em:<<http://www.bv.fapesp.br/pt/publicacao/91043/identificacao-de-polimorfismos-em-regiao-do-cromossomo-2-da/>> Acessado em 27/02/2017

GRISART,B; et al. **Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a Missense Mutation in the Bovine *DGAT1* Gene with Major Effect on Milk Yield and Composition.** *Genome Res.* 2002 Feb;12(2):222-31. Disponível em: <<http://genome.cshlp.org/content/12/2/222.long>> . Acessado em 02/03/2017.

GRISART, B;et al. **Genetic and functional confirmation of the causality of the *DGAT1* K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition.** *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101: 2398-2403. 2004. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/101/8/2398.abstract?ijkey=1448ec18f072fe61114c10ff360d85ab8ec92dfb&keytype2=tf_ipsecsha> Acessado em 01/03/2017.

HAVEL,P. J. **Peripheral Signals Conveying Metabolic Information to the Brain: Short-Term and Long-Term Regulation of Food Intake and Energy Homeostasis.***Biologia Experimental e Medicina* .Vol. 226, Edição 11, pp. 963 – 977. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/153537020122601102>> Acessado em 02/03/2017.

HEID,C A; et al. **Real time quantitative PCR.** Access the most recent version at doi:10.1101/gr.6.10.986 *Genome Res.* 1996 6: 986-994. Disponível em:<<http://genome.cshlp.org/content/6/10/986.long>>. Acessado em 17/02/2017.

HOCQUETTE,J.F, et al. **Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality.** *The International Journal of Animal Sciences.* Sonapat V.1, pag. 159-173, 2007.Disponível em:< <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/article/div-classtitlerecent-advances-in-cattle-functional-genomics-and-their-application-to-beef-qualitydiv/C46AC39723CDE8DBF869474F7EB48ECB>>Acessadoem 20/02/2017.

IWASAKI, S;MIYAKE ,M;HAYASHI, S. **Effect of myostatin on chemokine expression in regenerating skeletal muscle cells.** *CellsTissuesOrgans.*;198):66-74. 2013 . Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23838214>> .Acessado em01/03/2017.

JOHNSTON, DJ ; GRASER H.U. **Estimated gene frequencies of Gene markers and their size of effects on meat tenderness, marbling, and feed efficiency in temperate and tropical beef cattle breeds across a range of production systems.**doi:10.2527/jas.2009-2305. *Journalof Animal Sciences.* 88: 1917-1935. Doi: 10.2527 / jas.2009-2305. Disponível em:<<https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/tocs/88/6>> Acessado em 28/02/2017.

KENNETH J. L; et al.**Real Time Quantitative PCR.***Genome Res.* 1996. 6: 986-994. Disponível em:<<http://genome.cshlp.org/content/6/10/986.full.pdf+html>> .Acessadoem: 03/03/2017.

KÜHN C;THALLER, G; WINTER, A; et al. **Evidence for multiple alleles at the *DGAT1***

locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genetics*. 2004;167(4):1873-1881. doi:10.1534/genetics.103.022749. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1470998/>> Acessado em: 03./03/2017.

KWOK, P. Y; et al. **Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them?** *Molecular Medicine Today*, v. 5, p. 538–543, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357431099016019>> Acessado em 01/03/2017.

LACORTE, G.A. **Caracterização dos polimorfismos DGAT1 K232a e DGAT1 VNTR em raças bovinas.** *Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais*, 2006. Disponível em: <<http://www.pggenetica.icb.ufmg.br/defesas/53M.PDF>> . Acessado 04/03/2017.

LINN, S; ARBER, W. **Host specificity of DNA produced by Escherichia coli, X. In vitro restriction of phage fd replicative form.** *Proceeding of the National Academy of Sciences*, v.59, p. 1300-1306, 1968. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC224867/>>. Acessado em 04/03/2017.

LOPES, B.C; et al. **Genética bovina brasileira: mercado internacional e mapeamento das competências e tecnologias mineiras.** Uberaba: *Fapemig*, 2012.

LUPTON, J.C. **Angora Goats: Production and Management.** Texas. A & M University. San Angelo. Texas. USA. In: *Encyclopedia of Animal Science*, pag 13. Disponível em: <[Link](#)> Acessado 21/02/2017.

MARKERT, C.L.; MOLLER, F. **Multiple forms of enzymes tissue, ontogenetic and specific patterns.** *Proceeding of the National Academy of Sciences*, v 45, p. 753-62, 1959. Disponível em: <<http://www.nasonline.org/publications/biographical-memoirs/memoir-pdfs/markert-clement-1.pdf>> Acesso em 03/03/2017.

RIPOLIA, R. M. P; CORVAB, G.B. **Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods.** *Volume 80, Issue 3, June 2006, Pages 287–290.*

MEIRA, C.T. **Identificação de regiões genômicas selecionadas de forma divergente em equinos Quarto de Milha de corrida e trabalho.** *Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.* Joticabal. 2014. Disponível em: <<https://www.capes.gov.br/images/stories/download/pct/mencoeshonrosas/223281.pdf>> Acessado em 27/02/2017.

MOORE, S. S; et al. **Fine mapping of quantitative trait loci and assessment of positional candidate genes for backfat on bovine chromosome 14 in a commercial line of Bos taurus.** *Journal of Animal Science* 81:1919-1925. doi:10.2527/2003.8181919x, 2003. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/81/8/0811919>>. Acessado em 04/03/2017.

NAKAYA, H.L; et al. **Genome mapping and expression analyses of human intronic noncoding RNAs reveal tissue-specific patterns and enrichment in genes related to regulation of transcription.** *GenomeBiology*, v.8, 2007. Doi:10.1186/gb-2007-8-3-r43. Disponível em:<<http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2007-8-3-r43>> Acessado em 04/3/2017.

OKUDA, H.T;et al. **Aspectos de pelvimetria e pelviologia em fêmeas de bovinos da raça guzerá (Bos indicus - LINNAEUS, 1758).** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, Brasil, v. 31, n. 3-4, p. 181-185, dec. 1994. ISSN 1678-4456. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/52062/56112>>. Acessado em: 26 /02/ 2017.

OLIVEIRA, J.H; et al. **Nelore: Base Genética e Evolução Seletiva no Brasil. Documento 49.** Documentos/*EMBRAPA CERRADOS*, Planaltina-,DF.2002.

OLIVEIRA, L.F.; GHELLER, V.A.*Avaliação de medidas pélvicas internas de vacas holandesas do estado de Minas Gerais, Brasil. Ciência Animal Brasileira*, [S.l.], p. 802 - 807, out. 2009. ISSN 1809-6891. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/7906/5760>>. Acessado em: 26 /02/2017.

QUEIROZ, S.A. **Introdução ao Melhoramento Genético de Bovinos de Corte.**Guaíba:*Agrolivros*,pag 20. 2012.

REED, C. A. **The beginnings of animal domestication. In: MANSON, I. L. (Ed).Evolution of domesticated animals.** London: Longman, 1984, p 1-6.

REZENDE, L.R. **Expressão de genes relacionados ao metabolismo de lactonados ao metabolismo de vitamina D3 mediante suplementação e estudo de associação com a maciez da carne em bovinos da raça Nelore.** *Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*. Piracicaba, 2011.Disponível em:<[file:///E:/Downloads/Lilian Ribeiro Rezende versao revisada.pdf](file:///E:/Downloads/Lilian_Ribeiro_Rezende_versao_revisada.pdf)>Acessado em 20/02/2017.

RIPOLI, M.V; et al. **Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods.** *Res. Vet. Sci.*2006.80: 287-290, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528805001530>> . Acessado em 04/03/2017.

S.KONIG; et al.**Economic evaluation of genomic breeding programs.** *J. DairySci.* 92:382–391 doi:10.3168/jds.2008-1310 © American Dairy Science Association, 2009.<https://www.researchgate.net/publication/23699378_Economic_evaluation_of_genomic_breeding_programs>Acessadoem 26/01/2017.

CLARK ,S.A.**The effect of genomic information on optimal contribution selection in livestock breeding programs.** *GeneticsSelection Evolutio*,2013. Disponível em: <<https://gsejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9686-45-44>>. Acessado 26/01/2017.

SANTIAGO, A.A. **Gado Nelore 100 Anos de Seleção**. Editora dos Criadores. São Paulo. 1987.

SILVA, L. R. A. **Agropecuária moderna em Uberaba-MG: Produção, consumo produtivo e especialização territorial. Relatório Final de Iniciação Científica**. CNPq-UFU, 2012. Disponível em: <<file:///E:/Downloads/ME4886503COR.pdf>> . Acessado em 28/02/2017.

SNUSTAD, D. P; SIMMONS, M. J. **FUNDAMENTOS DE GENÉTICA**. Ed. Guanabara Koogan, 6 ed. Rio de Janeiro, 2013, pag.465.

SIQUEIRA, J.B. ; et al. **Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte: uma revisão**. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.37, n.1, p.3-13, jan./mar. 2013. Disponível em:<[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n1/p3-13%20\(RB262\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n1/p3-13%20(RB262).pdf)> Acessado em 02.03.2017.

TANTIA, M. S; et al. **DGAT1 and ABCG2 polymorphism in Indian cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) breeds**. *BMC Veterinary Research* 2006;2:32 .DOI: 10.1186/1746-6148-2-32.2006. Disponível em:<<http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-2-32>> Acessado em 28/02/2017.

THALER, G; et al. **DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle**. *Animal Genetics*, 34: 354–357. doi:10.1046/j.1365-2052.2003.01011.x. Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2052.2003.01011.x/abstract>> Acessado em 01./03/2017.

TOLEDO, L.R; et al. S. **Trait locus for meat tenderness**. *Journal of Animal Science*, v. 78, n. 10, p. 2589-2594, 2000.

MEUWISSEN ,T. H. E.; HAYES, B. J; GODDARD, M. E. **Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative Genome-Wide Dense Marker Maps**. *GENETICS*, April 1, 2001 vol. 157 no. 4 1819-1829. Disponível em: <<http://www.genetics.org/content/157/4/1819.article-info>>. Acessado 26/01/2017.

VIACAVA, C; et al. **NELORE : o boi ecológico que está conquistando o mundo**. Editora Fundação Peirópolis Ltda. São Paulo, SP. 2000.

YONEKURA, S; HIROTA, S; MIYAZAKI, H; TOKUTAKE, Y. **Subcellular Localization and Polymorphism of Bovine FABP4 in Bovine Intramuscular Adipocytes**. *Anim Biotechnol.*;27(2):96-103. 2016.

ZHANG, W. & SMITH, C. **Computer simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium**. *Theor. Appl. Genet.* 83: 813–820. 1992.

ZHANG, L.P; GAN, Q.F; HOU, G.Y. **Investigation of TG gene variants and their effects**

on growth, carcass composition, and meat quality traits in Chinese steers. *GENET MOL RES. MAY 22;14(2). 2015.*

Sites acessados

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA-FAO. Disponível em:

<<http://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf>>. Acessado em 01.03.2017

Principais cortes brasileiros<<http://www.hipertrofia.org/forum/topic/133957-qual-o-corte-bovino-com-melhor-custo-beneficio/>>Acessado em 15.02.2017

ABCZ. Associação Brasileira dos Criadores de Zebu. Disponível em:

<<https://www.abczstat.com.br/comunicacoes/sumario/apresentacao/Sumario-racas-NEL.htm>>. Acesso 22.02.2017.

ABIEC, EXPORTAÇÕES brasileiras de carne bovina, 2015. Disponível em:

<<http://www.abiec.com.br/download/Anual-2015-250515.pdf>>. Acessado em: 20 jul. 2015.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2015 e Pesquisa Trimestral do Abate de Animais 2015*. Disponível em

:<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf> Acessado em 01/03/2017.

ONU,2017.ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS.<<https://nacoesunidas.org/pecuaria-sustentavel-deve-se-tornar-norma-na-america-latina-e-caribe-diz-fao/>>. Em 25.01.2017.

GENOMA BOVINO. Disponível em: <<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>> 01/03/2017.

SNP'S. Disponivelem :<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>>>(dgat1 AND (bostaurus[Organism] AND (utr 5[Function_Class] OR splice 5[Function_Class]))
.Acessado em 09/05/2013.

9-Apêndices

Apêndice 01 - Protocolo de extração de DNA

1. Add 500 μ l of Buffer AP1 to a 1.5 ml microfuge tube.

2. Add 200-~~250~~ μ l of anti-coagulated whole blood. Close the cap of the Microfuge tube and mix by vortexing at top speed for 10 seconds.

Note: Vortexing is required for complete release of the genomic DNA. Although vortexing will result in limited shearing of the genomic DNA, it will have no effect upon the performance of the genomic DNA in applications which require high molecular DNA.

Note: To extract genomic DNA from clotted or dried blood, place the sample in a mortar (ambient temperature) and add 200 μ l of 20 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 8.5. Grind rapidly for 30 seconds to disperse the sample. Add 500 μ l of Buffer AP1 pre-heated to 50°C and grind briefly or pipette to dissolve the sample. Transfer the sample to a 1.5 ml Microfuge tube with a transfer pipette or other device. Vortex for 10 seconds to further dissolve the dried or clotted blood.

Note: If blood volume is <200 μ l, add deionized water or PBS to 200 μ l.

3. Add 100 μ l of Buffer AP2 and mix by vortexing at top speed for 10 seconds.

4. Centrifuge at 12,000 \times g for 10 minutes at ambient temperature to pellet cellular debris.

Pegue um microtubo com coluna de 2ml

5. Place a Miniprep column into a 2 ml Microfuge tube. Pipette the clarified supernatant obtained from step 4 into the Miniprep column. Centrifuge at 6,000 \times g for 1 minute.

6. Discard the filtrate from the 2 ml Microfuge tube. Place the Miniprep column back into the 2 ml Microfuge tube. Pipette 700 μ l of Buffer W1A into the Miniprep column and allow to stand at room temperature for 2 minutes. Centrifuge at 6,000 \times g for 1 minute.

Note: Be sure that ethanol has been added to the W1A concentrate.

Note: If any liquid remains in the Miniprep column after centrifugation, extend the centrifuge time or increase the g-force.

7. Discard the filtrate from the 2 ml Microfuge tube. Place the Miniprep column back into the 2 ml Microfuge tube. Add 800 μ l of Buffer W2 to the Miniprep column and centrifuge at 12,000 \times g for 1 minute.

Note: Make sure that ethanol has been added into Buffer W2 concentrate.

8. **Optional Step:** Discard the filtrate from the 2 ml Microfuge tube. Place the Miniprep column back into the 2 ml Microfuge tube. Add 500 μ l of Buffer W2 to the Miniprep column and centrifuge at 12,000 \times g for 1 minute.

Note: Two washes with Buffer W2 are used to ensure the complete removal of salt, eliminating potential problems in subsequent enzymatic reactions.

9. Discard the filtrate from the 2 ml Microfuge tube. Place the Miniprep column back into the 2 ml Microfuge tube. Centrifuge at 12,000 \times g for 1 minute.

10. Place the Miniprep column into a 1.5 ml Microfuge tube (provided). Add ~~80-200~~ ^{100 μ l} μ l of Buffer TE. Allow to stand at room temperature for 1 minute. Centrifuge at 12,000 \times g for 1 minute to elute the genomic DNA.

ampião de eluição.

Note: Pre-warming Buffer TE at 65°C will generally improve elution efficiently.

Apêndice 02- Relação de Touro x Vaca

REG animal	Data nascimento	Nome do Pai	Relação Pai/Mãe
9801	17/09/2015	MBO 1216-Cassino de Maripa	1/7
9859	13/10/2014	MBO 1216-Cassino de Maripa	
9865	20/10/2014	MBO 1216-Cassino de Maripa	
9881	04/11/2014	MBO 1216-Cassino de Maripa	
9894	09/11/2014	MBO 1216-Cassino de Maripa	
9967	25/12/2014	MBO 1216-Cassino de Maripa	
10000	01/02/2015	MBO 1216-Cassino de Maripa	

9798	14/09/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	1/18
9825	23/09/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9828	23/09/2013	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9838	03/10/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9867	20/10/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9868	20/10/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9873	22/10/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9899	13/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9909	20/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9921	20/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9924	21/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9926	26/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9927	26/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9936	27/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9937	27/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9938	27/11/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9952	13/12/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	
9964	23/12/2014	LBMN D4685 - D4685 DA MN	

9789	27/06/2014	CSCN 10676 NAVIRAI FIV 10676/09	1/1
------	------------	--	------------

9804	22/09/2014	TECO 105 BITELO	1/9
9813	26/09/2014	TECO 105 BITELO	
9833	03/10/2014	TECO 105 BITELO	
9846	07/10/2014	TECO 105 BITELO	
9856	13/10/2014	TECO 105 BITELO	
9876	02/11/2014	TECO 105 BITELO	
9901	13/11/2014	TECO 105 BITELO	
9976	03/01/2015	TECO 105 BITELO	
9981	03/01/2015	TECO 105 BITELO	

9820	28/09/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	1/12
9850	13/10/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9871	20/10/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9897	13/11/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9907	15/11/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9914	20/11/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9929	26/11/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9945	04/12/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9949	13/12/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9963	23/01/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9970	27/12/2014	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	
9979	03/01/2015	QUIL 7308 -04 PO PERDIZES	

9845	07/10/2014	CSCN 9022 -FuncionarioNavirai	1/6
9864	20/10/2014	CSCN 9022 -FuncionarioNavirai	
9866	20/10/2014	CSCN 9022 -FuncionarioNavirai	
9966	23/12/2014	CSCN 9022 -FuncionarioNavirai	
10003	09/02/2015	CSCN 9022 -FuncionarioNavirai	
10005	09/02/2015	CSCN 9022 -FuncionarioNavirai	

9851	13/10/2014	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	1/5
9889	04/11/2014	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	
9890	09/11/2014	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	
9932	26/11/2014	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	
9983	03/01/2015	MANA C 2569 - C 2569 DA MN	

9930	26/11/2014	RDM 4582-NUMARU FIV MAT	1/1
------	------------	-------------------------	-----

9987	05/01/2015	RDM 4012-MAIA FIV MAT	1/1
------	------------	-----------------------	-----

9886	05/11/2014	CSCC 2502 DONATO DE NIVIRAI	1/1
------	------------	-----------------------------	-----

9906	15/11/2014	COL A 6879-GANGES COL	¼
9910	20/11/2014	COL A 6879-GANGES COL	
9950	13/12/4014	COL A 6879-GANGES COL	
9997	15/01/2015	COL A 6879-GANGES COL	

9961	22/12/2014	JHY 9048 EFETIVO FIV JY	1/1
------	------------	-------------------------	-----

9994	26/09/2009	LBMN D1484 - D1484 DA MN	1/1
------	------------	--------------------------	-----

Arquivo próprio (2017).

Apêndice 03 - Principais Touros Genearcas, formadores do rebanho Brasileiro.



CASTOR IMPORTAÇÃO DE 1883

O Castor foi introduzido no Brasil pelo pecuarista Manoel Lemgruber .
Fonte: SANTIAGO (1983)

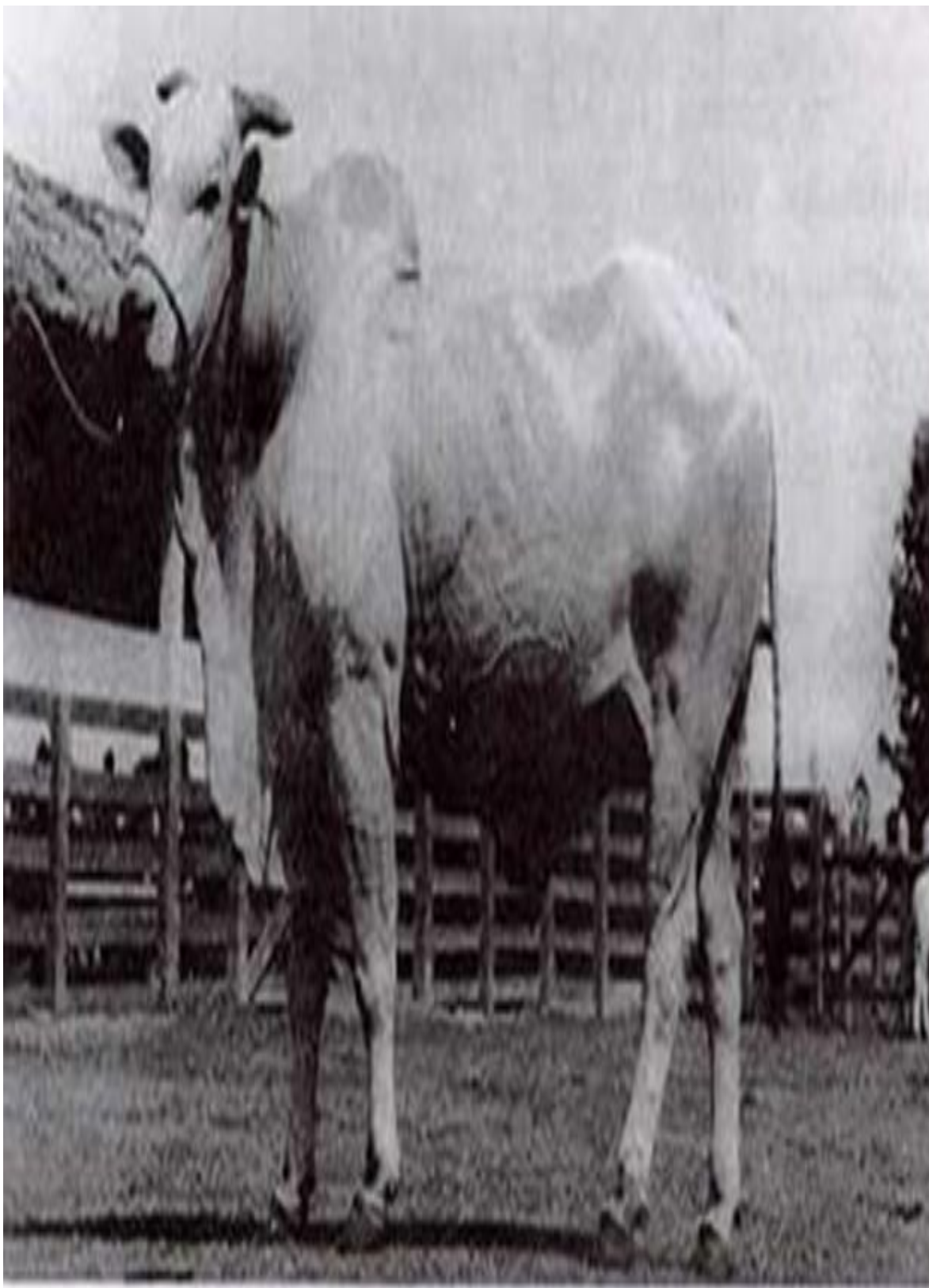


Cacique, touro zebu puro sangue, proprietário Joaquim Machado.

Fonte: <Propriedade de Joaquim Machado . <www.expoagrodefranca.com.br/zebu.asp>



O genearca Taj Mahal foi introduzido no Brasil pelo selecionador Veríssimo Costa Jr.
Fonte: OLIVEIRA(2002)



O genearca Karvadi foi introduzido no Brasil pelo selecionador Torres Homem Rodrigues da Cunha.
Fonte: SANTIAGO (1983)