UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PRISCILA SILVA OLIVEIRA

**Estudo da diversidade genética e análise de associações de
polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) com resistência às
parasitoses gastrintestinais e prolificidade em ovinos da raça
Santa Inês**

Pirassununga

2014

PRISCILA SILVA OLIVEIRA

**Estudo da diversidade genética e análise de associações de
polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) com resistência às
parasitoses gastrintestinais e prolificidade em ovinos da raça
Santa Inês**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da Universidade de
São Paulo, como parte dos requisitos para a
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. José Bento Sterman
Ferraz

Pirassununga

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

048e	Oliveira, Priscila Silva Estudo da diversidade genética e análise de associações de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) com resistência às parasitoses gastrintestinais e prolificidade em ovinos da raça Santa Inês / Priscila Silva Oliveira. -- Pirassununga, 2014. 113 f. Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Medicina Veterinária. Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal Orientador: Prof. Dr. José Bento Sterman Ferraz. 1. Condição corporal 2. Famacha 3. Marcador Molecular 4. Ovinos. I. Título.

Dedico com gratidão e amor, aos meus queridos pais,

Edison e Vanda,

às minhas irmãs e meus cunhados,

Viviane e Fabrício, Letícia e Rafael

e a minha sobrinha

Beatriz,

que mesmo distantes ofertaram a mim todo carinho, compreensão e incentivo que tanto precisei, tanto nos momentos de alegria durante as minhas conquistas, mas principalmente nos momentos de angústias e de preocupações, durante a realização deste trabalho.

Dedico também ao meu marido,

Marco Aurélio,

por todo amor e carinho, amizade, cumplicidade e prontidão.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida, pelas oportunidades ofertadas e por todas as pessoas boas que foram colocadas no meu caminho, iluminando e alegrando os meus dias, principalmente nos momentos de dificuldades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Bento Sterman Ferraz, pelos ensinamentos, pela amizade e principalmente por toda a confiança depositada durante a realização deste trabalho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, pelo acolhimento e por ter me proporcionado a oportunidade de realizar mais este sonho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado (Processo nº 2010/05516-7) e auxílio financeiro (Processo nº 2011/00396-6) para o desenvolvimento e conclusão do projeto de pesquisa.

À Prof. Trícia Maria Ferreira de Sousa Oliveira por permitir a realização da maioria das análises que foram essências para o desenvolvimento do projeto e à todos do Laboratório Multiusuário de Saúde Animal e Segurança Alimentar, principalmente à querida Julia Cristina Benassi, por todo esforço em me ajudar, pela compreensão nos momentos mais difíceis e menos “cheirosos” e, principalmente, pela sincera amizade.

Aos professores e pesquisadores Magda Vieira Benavides, José Fernando Garcia, Carlos Noriyuki Kaneto e Cecília José Veríssimo, pelos ensinamentos primordiais que com certeza fizeram toda a diferença.

À todos da Faculdade Pio Décimo e da Associação Sergipana de Criadores de Caprinos e Ovinos (ASCCO), em especial ao presidente Arnaldo Dantas que juntos me deram todo apoio necessário para a coleta das amostras biológicas e análises laboratoriais em Aracajú/SE.

Ao proprietário da Cabanha Xavante, Marcos de Faria Ronca e à seus familiares e funcionários por permitir a nossa presença na propriedade, por muito nos ajudar durante às coletas e por dividir seus conhecimentos práticos com todos que ali estavam durante esses momento... foram momentos árduos, porém inesquecíveis!

À Deoxi Biotecnologia, pelos serviços prestados.

Aos professores e amigos, Dr. Joanir Pereira Eler, Dr. Heidge Fukumasu, Dr. Júlio Cezar de Carvalho Balieiro, Dr. César Gonçalves de Lima e Dra. Rachel Santos Bueno pelos grandes conselhos e ensinamentos durante os dias convvidos...muito obrigado!!!

Aos grandes amigos e colegas de trabalho e àqueles que muito me ajudaram de alguma forma durante o desenvolvimento do projeto, Isabela, Gerson, Miguel, Bárbara, Alessandra, Jane, Minos, Renan, Bá, Cris, Pâmela e aos saudosos amigos Marina, Fernanda, Adalfredo, Mário, Cucco, Roulber, Sandra, Aline Zampar e Victor Pedrosa.

Às minhas queridas amigas e confidentes, Elisângela e Mirele, por tudo e mais um pouco... não tenho palavras para agradecer o quanto vocês fizeram por mim. Vocês realmente fizeram muita diferença na minha vida.

À minha adorável irmã, Letícia Silva Oliveira... por tudo que passamos juntas. Saiba que sem você do meu lado seria impossível alcançar mais essa vitória... ela é sua também!!!

À meus pais, Edison e Vanda, minha querida irmã Viviane, minha sobrinha Beatriz, meus cunhados, Fabrício e Rafael e à todos os demais familiares que sempre torceram muito por mim e que fizeram de tudo para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu marido, Marco Aurélio dos Santos Antiqueira, pelo amor, carinho, compreensão e principalmente pela paciência... eu sei que por muitos momentos não foi fácil me suportar, mas você sempre esteve ao meu lado... obrigado meu amor!

À todos àqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho, meus sinceros agradecimentos!!!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

“Você não sabe o quanto eu caminhei pra chegar até aqui. Percorri milhões de milhas antes de dormir, eu não cochilei. Os mais belos montes escalei e nas noites escuras de frio chorei ....”

Toni Garrido

RESUMO

OLIVEIRA, P. S. Estudo da diversidade genética e análise de associações de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) com resistência às parasitoses gastrintestinais e prolificidade em ovinos da raça Santa Inês. 2013. 113 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de polimorfismos e de possíveis associações com características relacionadas com a resistência às parasitoses gastrintestinais e a prolificidade em ovinos da raça Santa Inês. Para avaliação da resistência às parasitoses gastrintestinais, amostras de fezes e de sangue de aproximadamente 700 animais, infectados naturalmente e oriundos de quatro propriedades diferentes, foram coletadas entre os meses de outubro e novembro de 2011, para avaliação das características condição corporal, grau de anemia avaliado pelo cartão FAMACHA, as características dos pelos dos animais, consistência das fezes, contagem de ovos por grama de fezes, hematócrito, contagem de células brancas, contagem de células vermelhas, hemoglobina e plaquetas. Para a avaliação da prolificidade, 340 ovelhas foram avaliadas quanto ao número total de cordeiros nascidos, divididos pelo número de partos de cada ovelha, assim como a correlação dessa característica com o peso médio ao nascimento de seus cordeiros e a eficiência produtiva da mãe ao parto. Foram selecionados 28 polimorfismos de base única (SNP) para o desenvolvimento deste estudo os quais foram genotipados por meio da plataforma Sequenom MassARRAY iPLEX. Foram analisadas as frequências alélicas e genotípicas, o equilíbrio de Hardy-Weinberg, os efeitos de substituição alélica, de aditividade e de desvio de dominância. Os resultados obtidos demonstraram variabilidade considerável das características avaliadas na população e da maioria dos polimorfismos estudados. Foi verificado também efeito significativo ($p \leq 0,05$) ou sugestivo ($0,05 > p \leq 0,10$) de substituição alélica de pelo menos um SNP para cada uma das características avaliadas, indicando que esses polimorfismos podem auxiliar nos processos de seleção das características relacionadas com a resistência às parasitoses gastrintestinais e com a prolificidade.

Palavras-chave: Condição corporal, FAMACHA, OPG, marcadores moleculares

ABSTRACT

OLIVEIRA, P. S. Study of genetic diversity and association analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) with resistance to gastrointestinal parasites and prolificacy in Santa Ines sheep. 2013. 113 f. Ph.D. Thesis - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

The aim of this work was to evaluate the presence of polymorphisms and possible associations with characteristics associated with resistance to gastrointestinal parasites and prolificacy in Santa Ines sheep. To evaluate the resistance to gastrointestinal parasites, feces and blood samples of approximately 700 animals infected naturally and from four different properties, were collected between the months of October and November, 2011 to assess characteristics body condition, degree of anemia measured by FAMACHA card, the characteristics of the hair of sheep, feces consistency, egg counts per gram of feces, hematocrit, white blood cell count, red blood cell count, hemoglobin and platelets count. For the evaluation of prolificacy, 340 sheep were evaluated for the total number of lambs born, divided by the number of births from each dam, as well as the correlation of this feature with the average birth weight of their lambs and productive efficiency of dam. 28 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were selected for the development of this study and were genotyped by Sequenom MassARRAY iPLEX platform. Allele and genotype frequencies, the Hardy-Weinberg equilibrium, the effects of allelic substitution, additivity and dominance deviation were analyzed. The results showed considerable variability of the characteristics evaluated in the population in study and in most of the polymorphisms. Significant effect was observed ($p \leq 0.05$) or suggestive ($0.05 > p \leq 0.10$) for allelic substitution of at least one SNP for each of the evaluated traits, indicating that these polymorphisms may help in the selection processes of characteristics related to resistance to gastrointestinal parasites and prolificacy.

Keywords: Body condition, FAMACHA, FEC, molecular markers

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Coleta individual de fezes direto da ampola retal dos animais.....	45
Figura 2 - Material utilizado para a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) pela técnica de McMaster descrita por Gordon & Whitlock (1939)(A); 2,0 gramas de fezes de cada animal (B); amostras diluídas em 28mL de solução saturada de NaCl 35% (C); filtragem da diluição (D); preenchimento da câmara de McMaster com a solução obtida do filtrado e por meio de uma pipeta Pasteur após homogeneização(E) e leitura dos ovos e oocistos por meio da microscopia óptica(F).....	46
Figura 3 - Coprocultura para obtenção das larvas infectantes dos parasitas gastrintestinais.....	46
Figura 4 - Sequência de fotos que demonstra a coleta correta de sangue venoso por meio de punção na veia jugular. Aplicação do garrote para visualização da veia jugular e assepsia do local de aplicação com algodão e álcool iodado(A); Introdução da agulha acoplada ao suporte aplicador(B); Introdução do tubo com vácuo e EDTA no suporte (C) e, coleta do sangue venoso (D).....	47
Figura 5 - Amostras de sangue armazenadas em caixas de isopor com gelo para transporte até o laboratório (A). Analisador hematológico utilizado nas análises de sangue(B).....	48
Figura 6 - Modelo do cartão FAMACHA utilizado nas avaliações (A); Exposição incorreta do local de avaliação com a presença da terceira pálpebra (B); Exposição correta da mucosa ocular para avaliação da coloração (C).....	51
Figura 7 - Avaliação da condição corporal na região lombar dos animais	52
Figura 8 - Região onde foi feita a avaliação da condição de pelo (A). Animal bastante debilitado no final de gestação, com baixa condição corporal e pelo arrepiado em toda a superfície corporal (B).....	52
Figura 9 - Distribuição em porcentagem de animais por OPG.....	57
Figura 10 - Distribuição da porcentagem de animais por LOG_OPG.....	58
Figura 11 - Média de OPG para cada um dos genótipos observados do SNP JQNG22S1..	74
Figura 12 - Média de OPG para cada um dos genótipos observados do SNP TNXBS1.....	74
Figura 13 - Média de OPG para cada um dos genótipos observados do SNP TNXBS2.....	74
Figura 14 - Média de LOG_OPG para cada um dos genótipos observados do SNP APOMS1.....	77

Figura 15 -Média de LOG_OPG para cada um dos genótipos observados do SNP JQNG22S1.....	77
Figura 16 -Média de LOG_OPG para cada um dos genótipos observados do SNP TNXBS1.....	77
Figura 17 -Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP BAT2S1.....	81
Figura 18 -Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP G6BS1.....	81
Figura 19 -Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP JQMSH5S4.....	81
Figura 20 -Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP LTAS3.....	81
Figura 21 -Média de FAMACHA para cada um dos genótipos observados do SNP FecGE..	84
Figura 22 -Média de FAMACHA para cada um dos genótipos observados do SNP LTAS3.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Exemplos dos dados obtidos na quantificação das amostras de DNA (concentração) e grau de pureza (260/280).....	49
Tabela 2 -	Nome do SNP, número de identificação no NCBI, mutação e sequencia onde se encontra cada um dos SNPs.....	50
Tabela 3 -	Número de observações (N), mínimo (Min.), máximo (Máx.), média (μ), moda (<i>mo</i>), mediana (<i>md</i>), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) das características em estudo.....	56
Tabela 4 -	Coeficientes de correlação de Pearson entre número de ovos por grama de fezes (OPG), OPG transformado em LOG (LOG_OPG), condição corporal (CC), coloração da mucosa ocular (FAMACHA), escore do pelo (PELO), consistência das fezes (CF), hematócrito (HCT), contagem de células brancas do sangue (WBC), contagem de células vermelhas do sangue (RBC), quantificação de hemoglobina (HGB) e plaquetas (PLT) de ovinos da raça Santa Inês.....	60
Tabela 5 -	Valores das médias do número efetivo de ovos por grama de fezes (OPG) e transformado em LOG (LOG_OPG), da quantificação dos oocistos (EIMERIA), hematócrito (HCT), contagem de células brancas do sangue (WBC), contagem de células vermelhas do sangue (RBC), quantificação de hemoglobina (HGB) e plaquetas (PLT) para todas as classes das características categóricas avaliadas no campo.....	61
Tabela 6 -	Valores correspondentes de HCT citado por Van Wyk e Bath (2002) e na população em estudo.....	62
Tabela 7 -	Estatísticas descritivas das características prolificidade (PROLIF), peso médio dos cordeiros ao parto (AVG_PN) e eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPROD) para todas as ovelhas.....	65
Tabela 8 -	Estatísticas descritivas das características prolificidade (PROLIF), peso médio dos cordeiros ao parto (AVG_PN) e eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPROD) para as ovelhas com três registros ou mais de partos.....	65
Tabela 9 -	Coeficiente de correlação de Pearson entre as características prolificidade (PROLIF), peso médio dos cordeiros ao parto (AVG_PN) e eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPROD).....	66
Tabela 10 -	Valores de significância dos efeitos incluídos nos modelos das análises de cada característica.....	67
Tabela 11 -	Identificação dos SNPs (SNP), dos alelos (ALELOS), porcentagem de genótipos identificados (CALL RATE), frequências alélicas e genotípicas e valores de significância do teste de equilíbrio de Hardy Weiberg.....	68

Tabela 12 - Identificação dos SNPs, localização e alteração causada devido à troca do alelo.....	70
Tabela 13 - Significância dos efeitos da substituição alélica de cada SNP por característica em estudo.....	71
Tabela 14 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica OPG.....	73
Tabela 15 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > t $) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para OPG.....	73
Tabela 16 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica LOG_OPG.....	76
Tabela 17 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > t $) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para LOG_OPG.....	78
Tabela 18 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica CC.....	79
Tabela 19 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > t $) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para CC.....	80
Tabela 20 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica FAMACHA.....	83
Tabela 21 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > t $) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para FAMACHA.....	83
Tabela 22 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica CF.....	85
Tabela 23 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > t $) para o SNP que apresentou efeito de substituição alélica significativos para CF.....	85

Tabela 24 -	Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica PELO.....	87
Tabela 25 -	Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > t $) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para PELO.....	87
Tabela 26 -	Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica HCT. (AF) dos SNPs em estudo para a característica HCT.....	89
Tabela 27 -	Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica WBC.....	90
Tabela 28 -	Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica RBC.....	91
Tabela 29 -	Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica HGB.....	92
Tabela 30 -	Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica PLT.....	93
Tabela 31 -	Estimativas, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável dos SNPs em estudo para a característica PROLIF.....	95
Tabela 32 -	Valores das médias de PROLIF para os diferentes genótipos tanto para o conjunto de dados contendo informações de todas as ovelhas (GERAL) como para o conjunto de dados contendo informações apenas das ovelhas com três ou mais registros de parto (SELECIONADAS).....	96

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 PARASITOSE GASTROINTESTINAIS EM OVINOS.....	18
2.1.1 Diagnóstico dos animais acometidos.....	21
2.1.1.1 Contagem de ovos por grama de fezes.....	21
2.1.1.2 Avaliação da anemia por meio do cartão FAMACHA.....	22
2.1.1.3 Condição corporal.....	24
2.1.1.4 Consistência das fezes.....	26
2.1.1.5 Avaliação dos pelos.....	27
2.1.2 Controle e tratamento.....	27
2.1.2.1 Utilização de anti-helmínticos.....	27
2.1.2.2 Formas alternativas de controle.....	28
2.1.2.3 Tratamento seletivo.....	29
2.1.2.4 Resistência às infecções parasitárias.....	31
2.1.2.5 Resposta imune dos animais.....	33
2.2 PROLIFICIDADE EM OVINOS.....	34
2.3 MARCADORES MOLECULARES	35
2.3.1 Resistência às parasitoses gastrointestinais.....	38
2.3.2 Prolificidade.....	40
3 HIPÓTESES.....	42
4 OBJETIVOS.....	43
4.1 OBJETIVOS GERAIS.....	43
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	43
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
5.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	44
5.2 COLETA E MANIPULAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO.....	45
5.2.1 Amostras de fezes.....	45
5.2.2 Amostras de sangue.....	47
5.2.2.1 Hemograma.....	47
5.2.2.2 Extração de DNA.....	48
5.2.2.2.1 Genotipagem.....	49
5.3 AVALIAÇÕES DOS FENÓTIPOS OBSERVADOS NO MOMENTO DAS COLETAS.....	51
5.3.1 Avaliação da anemia por meio do cartão FAMACHA.....	51
5.3.2 Condição corporal.....	51
5.3.3 Consistência das fezes.....	52
5.3.4 Características dos pelos.....	52
5.4 AVALIAÇÃO DA PROLIFICIDADE.....	53
5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	53
5.5.1 Caracterização dos fenótipos avaliados.....	53
5.5.2 Definição dos modelos estatísticos.....	53
5.5.3 Determinação das frequências genotípicas e alélicas.....	54
5.5.4 Avaliação do efeito dos marcadores sobre as características de interesse.....	55

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
6.1 DESCRIÇÃO DOS DADOS FENOTÍPICOS ANALISADOS.....	56
6.1.1 Resistência às parasitoses gastrintestinais.....	56
6.1.2 Prolifividade.....	65
6.2 ESTRUTURA GENÉTICA DA POPULAÇÃO, EFEITOS DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA, DE ADITIVIDADE DE DESVIOS DE DOMINÂNCIA PARA OS MARCADORES AVALIADOS.....	66
6.2.1 Resistência às parasitoses gastrintestinais.....	66
6.2.1.1 OPG.....	71
6.2.1.2 LOG_OPG.....	75
6.2.1.3 CC.....	78
6.2.1.4 FAMACHA.....	82
6.2.1.5 FEZES.....	84
6.2.1.6 PELO.....	86
6.2.1.7 Parâmetros hematológicos (HCT, WBC, RBC, HGB e PLT).....	88
6.2.2 Prolifividade.....	94
7 CONCLUSÕES.....	97
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
10 ANEXO A – PARTE DAS SEQUÊNCIAS DE NUCLEOTÍDEOS CONTENDO OS SNP AVALIADOS NO ESTUDO.....	109

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura apresenta grande destaque na pecuária mundial uma vez que, além de ser uma das primeiras espécies domesticada pelo homem está também presente na história da humanidade como sendo a atividade que proporciona a maior fonte de alternativas para a subsistência, pois, fornece não só a lã e a pele para fabricação de vestuário como também a carne e o leite para alimentação e fabricação de seus derivados.

No Brasil a ovinocultura vem se destacando nos últimos anos na pecuária não só nas regiões que compreende o Sul e o Nordeste, onde esta atividade já se apresenta bastante consolidada como fornecedora de proteína de origem animal de excelente qualidade, mas também em outras regiões, como no Centro-Oeste e Sudeste do país, devido à necessidade de atender a demanda pela “carne de cordeiro”, muito apreciada atualmente no prato de alguns consumidores.

Quando comparada com a bovinocultura de corte brasileira a ovinocultura aparenta contribuir com uma parcela ainda muito pequena para o desenvolvimento da pecuária, sendo esta uma atividade que se depara com entraves de grande relevância tanto nos sistemas produtivos como também nos elos da cadeia da carne que juntos dificultam a consolidação comercial desta atividade na pecuária nacional.

Neste contexto, as perdas produtivas e econômicas ocasionadas pelas parasitoses gastrintestinais e os gastos devido à utilização excessiva de anti-helmínticos na tentativa de controlar essas enfermidades fazem com que muitos produtores desistam desta atividade assim que esses problemas aparecem, já que para muitos aparentam ser sem solução. Além disso, baixos índices de desempenho reprodutivo devido à utilização de raças mais produtivas, oriundas de outros países, mas que apresentam padrão sazonal, e os elevados intervalos entre partos, também são apontados por alguns produtores como fatores limitantes para o aumento da produtividade e para o desenvolvimento da ovinocultura do país.

Quando avaliamos o passado dos ovinos verificamos que esses entraves atuais que tanto afetam a lucratividade e consequentemente a sustentabilidade da produção, nada mais são do que resquícios tanto da origem como também da pressão de seleção atribuídas aos ovinos e aos parasitas ao longo de todo o processo evolutivo.

Os ovinos em geral tiveram origem em uma região desértica da Ásia Central e foram junto com os caprinos as primeiras espécies de produção a serem domesticadas pelo homem. Na sua origem viviam em ambiente com baixa umidade, pastando mais arbustos do que grama (SOTOMAIOR et al., 2009), o que era completamente desfavorável para o desenvolvimento dos parasitas gastrintestinais. Sendo assim, o menor contato dos ovinos com os parasitas determinou para que eles não desenvolvessem defesas naturais para esse problema tão sério nos dias de hoje.

Além disso, nos primórdios, os ovinos eram criados livres e apresentavam comportamento migratório, ou seja, percorriam grandes áreas em busca da melhor pastagem e raramente pastavam no mesmo local, chegando a caminhar até 15 quilômetros por dia (SOTOMAIOR et al., 2009). Hoje em dia os sistemas de criação são mais intensivos, onde os parasitas são beneficiados, pois os ovinos passaram a dividir áreas restritas, propiciando assim maior contaminação do meio em que eles vivem e consequentemente maior infecção dos animais. Nas condições atuais, piso e gramíneas ficam repletas de fezes com ovos e larvas infectantes e as condições ambientais brasileiras, como temperatura e umidade, são muito favoráveis ao desenvolvimento dos parasitas.

Diversos trabalhos foram realizados onde se pode verificar a influência das parasitoses gastrintestinais nas características produtivas de ovinos por meio da redução na produção dos animais mais sensíveis à essas enfermidades, demonstrando que animais geneticamente mais resistentes são também animais mais produtivos (ABRÃO et al., 2010; ROSALINSKI-MORAES et al., 2012). Outros trabalhos demonstraram a atual ineficiência dos fármacos devido à resistência parasitária aos princípios ativos utilizados até o momento (VAN WYK et al., 1999; VERÍSSIMO et al., 2012).

Sendo assim é preciso explorar a variabilidade genética existente entre os animais por meio do diagnóstico preciso e precoce dos indivíduos com maior potencial genético tanto para a resistência às parasitoses gastrintestinais como para a eficiência reprodutiva. No entanto, novas metodologias e mais eficientes no diagnóstico desses indivíduos de interesse devem ser desenvolvidas e aplicadas para que avanços significativos na ovinocultura brasileira sejam alcançados e assim fazer dela uma atividade mais sustentável, competitiva e economicamente mais representativa para o país.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PARASIToses GASTRINTESTINAIS EM OVINOS

Entre os fatores apontados por diversos pesquisadores como principais entraves para a ovinocultura brasileira, destacam-se as infecções causadas pelos nematódeos que parasitam o trato gastrointestinal, denominados como tricostrongilídeos. Entre eles, os gêneros *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Cooperia* e *Nematodirus* apresentam grande afinidade e ocorrem muitas vezes em conjunto causando quadros de gastroenterite parasitária, onde os ovinos acometidos mais gravemente eliminam fezes amolecidas, de coloração escura (RADOSTITS et al., 2002). Infecções maciças por *Nematodirus* spp. podem causar diarreia aquosa profusa e desidratação repentina nos cordeiros e perdas significativas são apontadas não só em decorrência da morte de alguns animais como também devido ao retardo no crescimento e na redução da produção dos subprodutos (RADOSTITS et al., 2002; TAYLOR et al., 2007).

O gênero *Haemonchus* também pertence ao grupo dos tricostrongilídeos e é um nematódeo que merece destaque devido a sua grande ação patogênica. A espécie *Haemonchus contortus* é a mais prevalente que acometem os pequenos ruminantes principalmente em regiões de clima tropical em que as condições climáticas se caracterizam por serem quentes e úmidas com adequada pluviosidade no verão (RADOSTITS et al., 2002; SILVA, et al., 2003; AMARANTE, et al., 2004, O'CONNOR et al., 2006).

Ao contrário do que ocorre nas infecções pelos demais nematódeos pertencentes ao grupo dos tricostrongilídeos, desde que não esteja associada com demais espécies de parasitas, infecções pelo *H. contortus* causam mais constipação do que diarreia e a consistência das fezes pode se apresentar normal, em formato de cíbalas (RADOSTITS et al., 2002; AMARANTE, 2005). Os sinais clínicos evidentes estão associados principalmente com o hábito hematófago desses parasitas que passam a se alimentar de sangue do hospedeiro (FETTERER & RHOADS, 1998) causando quadros severos de anemia com comprometimento dos animais e a grandes perdas econômicas (SANGSTER et al., 1999).

De acordo com Radostits et al., (2002) a anemia hemorrágica causada por essa vigorosa sucção de sangue podem levar a uma perda diária de sangue total na ordem de

0,05 ml por verme e é o fator que mais diferencia a patogênese da infecção pelos *H. contortus* de outros nematódeos. No entanto, os mesmos autores ainda afirmam que a evolução da doença depende não só do número de vermes que se estabelecem no abomaso, mas também da habilidade do animal para compensar perdas agudas ou crônicas de proteínas plasmáticas, hemoglobina e outros constituintes do sangue, pois a vulnerabilidade de indivíduos varia não só de acordo com a raça como também entre indivíduos de uma mesma raça.

Além da anemia, outros sintomas também são evidenciados de acordo com a severidade da infecção como, por exemplo, redução drástica da ingestão de alimentos com efeito prejudicial sobre o crescimento dos animais e, nos animais com tamanho adulto, a redução do peso corpóreo, morbidade, desidratação, respiração acelerada, marcha cambaleante, edema submandibular e, em quadros mais severos, ao longo do abdômen ventral. (RADOSTITS et al., 2002; FONSECA, 2006). No entanto, esses efeitos são fortemente influenciados pelo estado nutricional do hospedeiro (FONSECA, 2006) e ainda podem ser afetados de acordo com a constituição da dieta ofertada, pois de acordo com Abbott et al., (1986) animais alimentados com dietas pobres em proteína apresentam sinais clínicos mais pronunciados, apesar de apresentar carga parasitária semelhante àqueles que têm uma dieta rica em proteína.

Quanto ao ciclo evolutivo de todos os tricostrongilídeos estes são considerados direto, ou seja, não existe hospedeiro intermediário (URQUHART et al., 1998). Os ovos são liberados nas fezes e sob condições ambientais adequadas eles eclodem produzindo dois estágios larvares não parasitários e em seguida a larva infectante do terceiro estágio. Ao serem ingeridas pelos hospedeiros no momento da pastagem, as larvas infectantes dos tricostrongilídeos penetram ou nas glândulas gástricas do abomaso ou nas criptas do intestino delgado onde passam por um processo de maturação para só depois voltarem ao lúmen do órgão onde se tornam adultas (RADOSTITS et al., 2002).

O período pré-patente, ou seja, tempo decorrente desde a ingestão das larvas infectantes até o início da oviposição é de aproximadamente três semanas (FONSECA, 2006). No entanto, é possível que hospedeiros infectados pelos *H. contortus* apresentem sinais de anemia antes do início da oviposição, pois de acordo com Melo (2005), a lanceta perfurante que permite esses parasitas a obtenção do sangue, proveniente dos vasos da mucosa do abomaso, se desenvolvem antes da última muda no qual eles se tornam adultos jovens e se fixam na parede do abomaso.

A hipobiose é um fenômeno adaptativo caracterizado pelo desenvolvimento inibido das larvas que pode tornar o período pré-patente mais longo (RADOSTITS et al., 2002). É um artifício usado pelos parasitas para evitar condições climáticas adversas à suas progênes e assim permanecer sexualmente imaturos até que haja boas condições para o seu desenvolvimento (COSTA et al., 2011). Apresenta grande importância epidemiológica, pois garante a sobrevivência do nematódeo, no hospedeiro, durante os períodos adversos e assegura que a nova geração de parasitas adultos fique apta a oviposição logo que as condições ambientais se tornem favoráveis (RADOSTITS et al., 2002).

Nos períodos próximos ao parto denominado período peri-parto ocorre um aumento da quantidade de ovos dos parasitas gastrintestinais eliminados nas pastagens pelas ovelhas. Os mecanismos que levam à esse aumento da postura ainda não estão bem elucidados porém acredita-se que seja provocado por imunossupressão decorrente das variações hormonais que ocorrem próximas ao parto e durante a lactação (COSTA et al., 2011). De acordo com RADOSTITS et al., (2002) há divergências de opinião sobre a causa de tal fato, se é provocado pelo efeito da prolactina sobre componentes da resposta imune ou pelo desvio da IgA específica, do trato alimentar para a glândula mamária neste período. Beasley et al. (2010) verificaram que após a desmama dos cordeiro, a resposta imunológica das ovelhas se restabelece, indicada pelo aumento de eosinófilos e das imunoglobulinas IgG, IgM e IgE, provocando redução acentuada na contagem do OPG.

A queda da imunidade no período peri-parto permite um maior estabelecimento de novas larvas e maior fecundidade dos parasitas adultos existentes (GIBBS & BARGER, 1986; GENNARI et al., 2002) assim como, o desenvolvimento de larvas em hipobiose (STEAR et al., 1997) resultando no aumento do número de ovos eliminados nas fezes. Consequentemente ocorre um aumento da contaminação das pastagens pelos estágios de vida livre dos nematódeos permitindo a eles maior oportunidade de transmissão de um hospedeiro para outro já que cordeiros jovens de maior susceptibilidade se encontram junto com as ovelhas após o parto. Sendo assim, o aumento da postura pelos parasitas no período peri-parto aparenta ser uma resposta de adaptação com base na evolução dos parasitas na tentativa de contribuir com a manutenção das espécies.

2.1.1 Diagnóstico dos animais acometidos

O diagnóstico correto dos indivíduos acometidos pelas infecções parasitárias é o primeiro passo para a obtenção do sucesso no controle dessas enfermidades. No entanto embora existam vários métodos com este objetivo, alguns deles ainda são de baixa precisão ou se limitam ao ambiente laboratorial.

Stear et al. (1995) sugeriram que a utilização de mais de uma variável concomitantemente pode fornecer uma identificação mais efetiva dos animais resistentes e susceptíveis. Sendo assim, é de extrema importância que as diferentes características influenciadas pelas parasitoses gastrintestinais sejam avaliadas momentaneamente, pois permite um aumento na eficiência do diagnóstico é sem dúvida nenhuma, na identificação mais precisa dos indivíduos geneticamente resistentes.

A seguir algumas das principais características utilizadas no diagnóstico das parasitoses gastrintestinais foram descritas. Neste contexto algumas dessas características já se destacaram devido à utilização intensa de alguns pesquisadores no desenvolvimento das pesquisas, no entanto outras são ainda muitas vezes citadas como características influenciadas pelas infecções parasitárias, porém na maioria das vezes não são incluídas nas análises, como por exemplo, a consistência das fezes e as características referentes ao pelo dos animais.

2.1.1.1 Contagem de ovos por grama de fezes

Das características apontadas pelos pesquisadores como sendo as mais eficientes no diagnóstico das parasitoses gastrintestinais, a quantificação da carga parasitária por meio da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) é a forma mais direta de se avaliar a intensidade da infecção (HASSAI et al., 1990) e uma vez que a resistência à esses parasitas é considerada como a habilidade do animal em impedir o estabelecimento e/ou subsequente desenvolvimento da infecção parasitária (ALBERS et al., 1990), o OPG também pode ser utilizado como ferramenta para a distinção dos animais em resistentes ou sensíveis as parasitoses gastrintestinais

Molento et al., (2004) afirmaram que apesar da significativa margem de variação da quantificação do OPG, essa metodologia ainda é um importante indicativo da presença do parasita, mas que para Radostits et al., (2002) não deve ser utilizado como

única forma de diagnóstico. Um dos motivos apontados por Radostits et al., (2002) é que nos casos intenso de infecções as contagens fecais de ovos tendem a ser elevadas, no entanto, se a carga de vermes patogênicos se encontra ainda no estágio de larvas ou em hipobiose a contagem de ovos nas fezes poderá ser muito baixa ou até mesmo nula. Os mesmo autores ainda afirmaram que apenas nos animais jovens a contagem de ovos nas fezes se correlaciona adequadamente com as cargas de vermes.

Além disso, a quantificação do OPG é também uma análise laboratorial que necessita de mão de obra especializada, que quando terceirizada representa uma parcela significativa dos custos nos grandes rebanhos devido à necessidade da periodicidade do exame, o que a torna inviável.

2.1.1.2 Avaliação da anemia por meio do cartão FAMACHA

A sigla FAMACHA derivada do nome de seu idealizador, Dr. Faffa Malan (**FAffa MALan CHArt**) foi criada, de acordo com Van Wyk e Bath (2002) para nomear uma nova metodologia de tratamento no qual apenas os animais mais sensíveis às infecções pelo *H. contortus*, são tratados.

Após o desenvolvimento de diversos trabalhos nos quais puderam observar a correlação entre as diferentes colorações da conjuntiva ocular, valores do hematócrito e a incidência do parasita hematófago *H. contortus*, Van Wyk et al. (1997) apresentaram o método FAMACHA de avaliação que consiste de um cartão que contém cinco diferentes colorações pré-estabelecidas. Segundo esses mesmos autores, diferentes graus de anemia clínica dos pequenos ruminantes são passíveis de serem identificadas com confiabilidade superior a 95%, sem a necessidade de análises laboratoriais, apenas por meio da avaliação da coloração da conjuntiva ocular dos animais, quando comparadas com as colorações presentes no cartão.

De acordo com Van Wyk e Bath (2002), a avaliação da parasitose gastrintestinais por meio do FAMACHA só é possível uma vez que, infecções maciças pelo *H. contortus* podem alterar a coloração da conjuntiva dos ovinos de vermelho escuro, no início da infecção, onde os ovinos ainda se encontram saudáveis, passando por algumas tonalidades de rosa, podendo chegar a ficar totalmente branca, como resultado da piora progressiva da anemia.

Diversos estudos já foram realizados com o objetivo de validar o FAMACHA como metodologia eficiente para o diagnóstico da anemia em virtude das parasitoses gastrintestinais onde alguns verificaram correlações significativas entre valores do hematócrito e o FAMACHA (BATH & VAN WYK, 2001; VAN WYK & BATH, 2002; KAPLAN et al. 2004; MOLENTO et al., 2004; CHAGAS & OLIVEIRA, 2007).

Ao comparar a coloração da conjuntiva com as colorações presentes no cartão, é possível ainda direcionar os tratamentos de maneira seletiva. De acordo com as informações presentes no cartão, animais classificados como FAMACHA 1 e 2 não precisam ser tratados pois apresentam a conjuntiva bem avermelhada sem nenhum traço de anemia. Os animais classificados como FAMACHA 3 não precisam necessariamente serem tratados com anti-helmínticos, onde outros fatores devem ser levados também em consideração para que essa decisão seja tomada, como por exemplo a prevalência do *Haemonchus contortus* na população. Os animais com FAMACHA 4 e 5 necessariamente precisam de tratamento além de suplementação para os animais com FAMACHA 5, dando suporte para que eles possam responder de maneira mais efetiva pois teoricamente este é um quadro difícil de se reverter.

Alguns estudos também demonstraram que ao adotar o FAMACHA como ferramenta para o tratamento seletivo, houve redução significativa do número de tratamentos e consequentemente redução dos custos (MALAN et al., 2001; NEVES et al., 2008; NEVES et al., 2009).

De acordo com Molento et al. (2004), a adoção pelo método FAMACHA além de promover a economia no consumo dos vermífugos, minimiza o problema de resíduos nos produtos de origem animal e no ambiente. No entanto, essas são vantagens que podem ser visualizadas também com a adoção de qualquer outra medida que permita o tratamento seletivo do rebanho e não mais o tratamento do rebanho como um todo, como era feito antigamente e ainda é realizado por alguns produtores.

O FAMACHA também pode ser considerado uma importante ferramenta para a seleção de indivíduos geneticamente resistentes já que para Molento et al. (2004) o objetivo deste método é identificar clinicamente animais resistentes, resilientes e sensíveis às infecções parasitárias, otimizando o tratamento de forma seletiva em situações reais no campo, sem a necessidade de análises laboratoriais. Neste contexto, Neves (2010) demonstrou que os ovinos classificados como resistentes apresentaram menor contagem de OPG, maior porcentagem de volume globular e menor grau

FAMACHA em relação aos animais do grupo susceptíveis, demonstrando assim a eficiência dessa ferramenta na seleção de animais mais resistentes às parasitoses gastrintestinais. Resultados semelhantes também foram obtidos por Navarro et al. (2009) em ovinos da raça Santa inês e Dorper, e por Benvenuti et al. (2009) em caprinos. Burke & Miller (2008) afirmaram que o FAMACHA pode ser utilizado para identificar reprodutores resilientes e/ou resistentes buscando aumentar a resistência de todo o rebanho.

Sendo assim, podemos concluir que a adoção do FAMACHA é uma ferramenta que trás grandes benefícios para os rebanhos pois além de todas as vantagens já citadas é também uma metodologia de fácil aplicação e praticamente sem custo. No entanto, apesar de sabermos que as parasitoses gastrintestinais causadas pelo *H. contortus* é uma das principais causas de anemia nos pequenos ruminantes, ao adotarmos o FAMACHA como ferramenta para o diagnóstico dessa enfermidade é preciso descartar os demais fatores que também podem causar a anemia. Outro fato importante que deve ser considerado é que o FAMACHA tem ação limitada na interpretação do grau de parasitismo quando outros parasitas que não causam anemia estão presentes em maior prevalência no rebanho (BATH et al., 2001; SOTOMAIOR et al., 2009).

2.1.1.3 Condição corporal

Idealizado por Jefferies (1961) na Escócia, a avaliação da condição corporal (CC) em ovinos é uma medida muito utilizada nos rebanhos, pois auxilia na indicação de praticas a serem adotadas no manejo nutricional buscando sempre alcançar um ótimo desempenho tanto reprodutivo como sanitário. É uma medida subjetiva baseada na classificação dos animais em função da massa muscular e da cobertura de gordura realizado por meio de avaliação visual e/ou tátil dos processos espinhosos e transversos presentes na região lombar e que reflete as reservas energéticas dos animais (MACHADO et al., 2008).

Russel et al. (1969) ao comparar valores de CC com a porcentagem de gordura dos animais demonstraram que, apesar da CC ser uma medida subjetiva a avaliação dessa característica permite estimar de forma bastante precisa a proporção de gordura corporal dos animais.

Quanto às parasitoses gastrintestinais em ovinos, a avaliação da CC vem se demonstrando ser uma eficiente ferramenta que auxilia no diagnóstico dessas enfermidades. Rosalinski-Moraes et al. (2012) ao avaliar alguns fenótipos como indicadores de tratamento seletivo em ovinos verificaram evidente redução da CC em animais de OPG mais elevado ($r=-0.48$) demonstrando que animais mais resistentes são também animais mais produtivos. Do mesmo modo, correlação negativa entre as contagens de OPG e características de peso de ovinos de diferentes raças, foram encontradas por alguns estudos realizados em países como Polônia e Austrália (BOIUXET al., 1998; EADYET al.; 1998).

De acordo com Dias (1991), a opção pela avaliação da CC para estimar as reservas corporais dos animais é mais adequada do que as mensurações de peso vivo uma vez que o peso vivo varia amplamente de acordo com o tamanho adulto atingido por cada animal, segundo sua raça, e pelo estado fisiológico que ele se encontra. Além disso, Moraes et al., (2005) afirmam que a simples informação do peso corporal pode não refletir a quantidade de reservas corporais dos animais sob a forma de gordura já que uma ovelha grande e magra pode apresentar um peso corporal maior do que uma ovelha baixa e gorda. Além disso, eles ainda afirmam que não é recomendável nenhum parecer sem a palpação, já que nos animais lanados, a lã impede uma boa apreciação visual.

As variações na CC ocorrem devido ao desbalanceamento entre as necessidades energéticas dos animais e a quantidades por eles consumidas. Quando o consumo de energia é maior do que os requerimentos, o balanço energético é positivo e a CC aumenta. Logo, em uma situação oposta, onde o consumo é menor do que a demanda energética, o balanço é negativo e a CC diminui (MACHADO et al., 2008). Uma das características dos ovinos quando se encontram com infecção severa dos parasitas gastrintestinais é a redução drástica da ingestão de alimentos e isso faz com que eles entrem em balanço energético negativo e consequentemente ocorre redução da CC.

Normalmente, os escores utilizados nas avaliações da CC em ovinos variam de 0 a 5. No entanto, valores intermediários também são utilizados quando a CC do animal para um determinado escore não está muito clara. A seguir estão descritas as características observadas em cada um dos escores de acordo com Russel et al. (1969):

Score 0 - animais extremamente magros e bem próximo de chegar ao óbito.

Score 1- processos espinhosos proeminentes e acentuados; processos transversos também muito acentuados e os espaços entre as extremidades de cada

processo são facilmente sentidas com os dedos da mão do avaliador; Músculo longissimus dorsi se encontra raso e praticamente sem nenhuma cobertura de gordura subcutânea.

Escore 2 - processos espinhosos proeminente porém suave e leve ondulação entre os processos; processos transversos suaves e extremidades arredondadas; as extremidades podem ser sentidas com a ponta dos dedos sem muita pressão; Músculo longissimus dorsi de profundidade moderada e pouca cobertura de gordura subcutânea.

Escore 3 - os processos espinhosos ainda são sentidos suavemente e suas extremidades estão arredondadas; os processo individuais podem ser sentidos mas somente com bastante pressão dos dedos sobre eles; processo transverso suave e bem cobertos e firme pressão é requerida para sentir suas extremidades; Músculo longissimus dorsi completo com moderada cobertura de gordura subcutânea.

Escore 4 - os processos espinhosos podem ser detectados por meio da pressão bem firme entre as extremidade, sobre a linha mediana do dorso dos animais; os processos transversos já não podem ser sentidos; Músculo longissimus dorsi está completo com densa cobertura de gordura subcutânea.

Escore 5 - os processos espinhosos não podem ser sentidos nem mesmo com firme pressão sobre eles e é possível observar uma depressão no dorso dos animais onde antes os processos espinhosos eram facilmente sentidos; os processos transversos também não podem ser sentidos; Músculo longissimus dorsi completamente preenchido com camada bastante espessa de gordura subcutânea; ainda pode haver uma grande quantidade de gordura subcutânea depositada sobre a garupa e na base da cauda dos animais.

2.1.1.4 Consistência das fezes

A consistência das fezes (CF) é uma característica que há muito tempo é utilizada pela maioria dos produtores de ruminantes que afirmam existir uma associação entre as fezes com consistência normais, com animais saudáveis, ausentes de verminose. De acordo com Taylor et al. (2010) a diarreia é considerada um dos sinais clínicos mais frequentes em animais parasitados por *strongilídeos*. No entanto, segundo Amarante (2005), os animais infectados apenas por *Haemonchus contortus* tendem a apresentar fezes com consistência normais.

De acordo com Sotomaior et al. (2009) com excessão do *H. contortus*, os estrongilídeos “não sugadores de sangue” se alimentam da parede do abomaso e do intestino causando diversas úlceras. Com a presença dessas úlceras há uma diminuição da digestão devido a redução das vilosidade intestinais, e da absorção do alimento e da água, o que leva ao aparecimento do emagrecimento e da diarreia.

Rosalinski-Moraes et al. (2012) ao avaliar o escore de diarreia pela inspeção visual das amostras de fezes demonstrou que não houve correlação significativa entre esta característica nem com o OPG e nem com as demais características avaliadas no mesmo estudo (FAMACHA, escore corporal, proteína plasmática total e hematócrito) mesmo quando a prevalência do *H. contortus* foi em média de 80% das larvas.

2.1.1.5 Avaliação dos pelos

A avaliação dos pelos (PELO) dos animais também vem sendo, há muito tempo, utilizada por produtores rurais como uma ferramenta importante para o diagnóstico das parasitoses gastrintestinais, mesmo sem ter o conhecimento de comprovação científica, assim como também para o diagnóstico das demais enfermidades que levam o animal a apresentar o pelo mais seco e arrepiado em contraste com o pelo liso e brilhante, quando estes se encontram em bom estado de saúde.

2.1.2 Controle e tratamento

2.1.2.1 Utilização de anti-helmínticos

Ainda que o controle efetivo dos parasitas gastrointestinais dependa de estudos epidemiológicos que permitam a identificação das fontes de contaminação das pastagens, das condições climáticas que favorecem o desenvolvimento e a sobrevivência dos estágios de vida livre dos parasitos e, além disso, dos fatores relacionados à fisiologia dos animais, que possam interferir na relação parasita-hospedeiro (AMARANTE et al., 1992), o controle sempre foi e ainda é na maioria dos rebanhos simplesmente baseado no uso profilático e terapêutico de anti-helmínticos utilizado muitas vezes de forma intensa e descontrolada.

Devido a isso, já há algum tempo, os produtores se depararam com um grande problema que é a resistência que os parasitas desenvolveram aos diversos princípios ativos utilizados nos tratamentos com anti-helmínticos fazendo com que este tipo de tratamento de tornasse cada vez mais ineficaz.

De acordo com Vieira (2008) a resistência parasitária aos anti-helmínticos é definida como a capacidade de uma população de parasitas em sobreviver a doses de anti-helmínticos que poderiam ser letais para populações susceptíveis e teve início com a alta pressão de seleção sobre os parasitas devido à utilização intensa e descontrolada dos fármacos a qual permitiu que apenas os parasitas mais resistentes sobrevivessem a esses tratamentos deixando seus ovos nas fezes. Uma vez que a resistência parasitária, é uma característica herdável (PRICHARD et al., 1980), as larvas nas pastagens, oriundas dos parasitos sobreviventes também são mais resistentes e são elas que contaminam novamente todo o rebanho.

Por isso, pesquisadores buscam desenvolver alternativas eficazes de controle que possam colaborar com a sustentabilidade da ovinocultura no cenário da pecuária brasileira uma vez que a resistência parasitária é um problema dificilmente de ser resolvida se novas medidas auxiliares não forem adotadas.

2.1.2.2 Formas alternativas de controle

Técnicas alternativas para o controle e tratamento seletivo dos animais foram desenvolvidas, como um conjunto de medidas estratégicas que visam principalmente reduzir a contaminação dos animais e das pastagens, assim como manter a eficácia das drogas antiparasitárias (COSTA, 2011).

Algumas das medidas alternativas à utilização de drogas para o controle das parasitoses gastrintestinais foram levantadas por pesquisadores (CEZAR et al., 2008; RATTRAY et al. 2003; YOSHIHARA, 2011) e estão resumidamente apresentadas a seguir:

- ✓ Seleção genética de animais mais resistente às parasitoses, para que estes se tornem pais das próximas gerações;

- ✓ Utilização de espécies forrageiras, que reduzem a sobrevivência do parasita no pasto e a migração larval até o topo da planta, principalmente onde estão localizados os cordeiros que acabaram de ser desmamados;
- ✓ Utilização de plantas na alimentação que contenham grandes quantidades concentradas de taninos condensados, compostos encontrados principalmente em frutos verdes e plantas da família Leguminosae. O tanino condensado além de proteger a proteína da dieta da degradação ruminal também apresenta efeito direto como anti-helmíntico e na descontaminação das pastagens já que concentrações elevadas de tanino condensado nas fezes podem agir sobre as larvas de primeiro estágio, impedindo que atinjam a fase infectante;
- ✓ Pastoreio rotacionado e descontaminação prévia das pastagens. Utilizar outras espécies como os bovinos, por exemplo, para pastar áreas em preparação para cordeiros desmamados, uma vez que os nematódeos raramente transmitem de uma espécie para a outra. Nesse caso, os bovinos irão limpar as pastagens das larvas infectantes;
- ✓ Controle biológico por meio dos fungos nematófagos, por exemplo *Duddingtonia flagrans*, que apresentam a habilidade de invadir e matar as larvas dos nematódeos nas fezes. De acordo com Riet-Correa et al. (2013) a administração desses fungos por via oral tem demonstrado ser uma alternativa importante para reduzir a contaminação ambiental por larvas infectantes;
- ✓ Cuidados com a alimentação respeitando sempre as exigências nutricionais de cada categoria;
- ✓ Vacinação.

2.1.2.3 Tratamento seletivo

O tratamento seletivo baseado em critérios específicos em substituição os tratamentos em massa com anti-helmínticos, os quais englobam todo o rebanho é sem

dúvida nenhuma uma das medidas mais adequadas a serem adotadas na tentativa de reduzir a resistência parasitária.

De acordo com Oliveira et al., (2008) a partir do momento que passamos a tratar seletivamente os animais com anti-helmínticos, apenas os animais que contribuem significativamente para o aumento das formas de vida livre nas pastagens recebem medicação, auxiliando assim na manutenção da população *refúgia*.

O termo *refúgia* se refere aos parasitas que se encontram no trato digestivo dos animais mas que não receberam tratamento. Manter esses parasitas livres do contato com anti-helmínticos é o mesmo que reduzir a pressão de seleção sobre eles para o desenvolvimento da resistência parasitária e isso poderá até mesmo, restabelecer ao longo dos anos a eficácia dos anti-helmínticos utilizados nos animais.

Cinco pontos específicos denominados “Five Point Check” foram apresentados por Bath e Van Wyk (2009) como uma metodologia sustentável desenvolvida para a adoção do tratamento seletivo tornando-se uma ferramenta valiosa para reduzir a velocidade da resistência parasitária dos endoparasitas aos anti-helmínticos. De acordo com esses autores essa metodologia pode ainda ser estendida para utilização contra outros agentes patogênicos importantes, uma vez que o sistema desenvolvido é prático, econômico e capaz de identificar os animais altamente infectados.

O “Five Point Check” abrange cinco pontos de verificação no corpo do animal. São eles:

- ✓ Olhos: verificação da coloração da conjuntiva ocular para o diagnóstico da anemia por meio do cartão FAMACHA;
- ✓ Mandíbula: verificação da existência ou não do edema submandibular;
- ✓ Dorso: região lombar para verificação da condição do escore corporal;
- ✓ Traseiro: a presença de resíduos de fezes localizadas na região caudal do animal é indicativo de diarreia;
- ✓ Nariz : verificação da presença ou não de descarga nasal.

No Brasil, com exceção da região nasal, as demais regiões são muito utilizadas no diagnóstico das parasitoses gastrintestinais, além da superfície corporal onde é feito a avaliação do pelo uma vez que é possível observar a presença de pelos mais secos e arrepiados nos animais debilitados.

É importante ressaltar que além dessas características avaliadas no corpo dos animais, outras características também devem ser observadas, como por exemplo, o

ambiente em que eles se encontram e o alimento que é servido para que assim possamos descartar outras doenças e demais fatores que poderiam levar ao desenvolvimento dos mesmos sinais clínicos, como por exemplo, a presença ou não da diarreia.

Como já vimos, a presença da diarreia é muito observado nos quadros de parasitoses gastrintestinais, no entanto a sua ausência não descarta a infecção pelo parasita gastrintestinal *H. contortus*. Por outro lado quadros de diarreia intensa também são observados nas infecções por protozoários coccídicos como, por exemplo, do gênero *Eimeria*. Nesses casos o tratamento é realizado com antibiótico (LIMA, 2004) e não com anti-helmínticos. Caso esta distinção não seja feita corretamente, a utilização dos anti-helmínticos de maneira desnecessária irá contribuir ainda mais para o desenvolvimento da resistência parasitária.

2.1.2.4 Resistência às infecções parasitárias

A variação genética em ovinos relacionada com a resistência às parasitoses gastrintestinais foi descrita por Stewart, Miller e Douglas (1937) e é atualmente uma das principais características de interesse tanto para os produtores de ovinos como também para as indústrias da carne uma vez que os custos do tratamento com anti-helmínticos e a perdas de produção em peso vivo dos animais apresentam grande impacto econômico para a atividade. De acordo com Douch et al. (1996) a resistência às parasitoses gastrintestinais pode ser definida como a maior capacidade natural dos animais em evitar tanto o desenvolvimento das larvas de nematódeos quanto expulsar àquelas que já se estabeleceram e sua existência se baseia no princípio da distribuição dos parasitos em uma população de hospedeiros caracterizada de acordo com STEAR & MURRAY, (1994) por uma curva binomial negativa onde a maioria dos hospedeiros alberga pouco ou nenhum parasita enquanto que em um número relativamente pequeno deles concentra a maioria dos parasitas.

Apresenta moderada herdabilidade, estimada por alguns pesquisadores variando entre 0.29 à 0.50 (BAKER et al., 1991; EADY et al., 1996; BOIUX et al., 1998; AMARANTE, 2004) demonstrando que é possível aumentar a eficiência do controle da verminose a partir da identificação dos indivíduos mais resistentes (AMARANTE, 2004). Apesar da magnitude da herdabilidade não ser considerada muito alta esses valores se

assemelham aos da herdabilidade de outras características relacionadas com a produção para as quais a seleção tem sido um sucesso (BARGER, 1989).

Desde que a herdabilidade foi estimada muitas pesquisas já foram realizadas para encontrar a base genética relacionada com a resistência ou susceptibilidade desse fenótipo (KRAWCZYK & SLOTA, 2009) e entre as características mais estudadas no diagnóstico da resistência às infecções parasitárias destacam-se o OPG e a presença da anemia, verificada tanto por meio do HCT como do FAMACHA. Correlação negativa entre as contagens de OPG e características de peso de ovinos de diferentes raças, foram encontradas por alguns estudos realizados em países como Polônia e Austrália (BOIUX et al., 1998; EADY et al.; 1998) demonstrando que animais mais resistentes são também mais produtivos.

De acordo com Piper (1987) diversos estudos realizados em diferentes rebanhos de ovinos demonstraram que variabilidade na resistência às infecções parasitárias é bastante considerável não só entre as diferentes raças como também entre os indivíduos de uma mesma raça. Beh e Maddox (1996) afirmaram que raças nativas são mais resistentes ao *H. contortus* que outras raças, no entanto as raças nativas geralmente são também menos produtivas. Por isso, a simples substituição por essas raças não é uma opção viável para a maioria dos países produtores da carne de ovinos.

Molento et al. (2013) sugere que a seleção de ovinos resistentes aos parasitas poderá contribuir significativamente para reduzir a dependência atual da utilização de anti-helmínticos para o controle da verminose. Isso porque a eliminação dos animais susceptíveis do rebanho (AMARANTE, 2004) e a opção por ovinos mais resistentes (BASSETO et al. 2009) irão contribuir com a redução acentuadamente da contaminação das pastagens pelas larvas infectantes e consequentemente a transmissão dos parasitas.

Bishop e Stear, 2003 afirmaram que a resistência às parasitoses é de origem complexa e é controlada por variações alélicas em múltiplos loci. Diversos estudos examinaram a variedade dos mecanismos imunológicos e mostraram que pelo menos uma parte da resistência às parasitoses gastrintestinais é mediada pela imunidade do indivíduo.

2.1.2.5 Resposta imune dos animais

Resultados obtidos por Gill (1991) demonstraram uma distinção entre a imunidade inata e a adquirida ao avaliar a resposta imune dos animais frente ao desafio parasitário de cordeiros geneticamente resistentes e de cordeiros de raças aleatórias após duas infecções consecutivas. Verificou-se por meio deste estudo que não houve diferença na carga parasitária dos dois grupos após a infecção primária, assim como também não houve diferença nos níveis de anticorpos, de eosinófilos e de mastócitos das mucosas dos animais. No entanto, após o segundo desafio os cordeiros considerados mais resistentes apresentaram um número significativamente menor da carga parasitária que os cordeiros de raças aleatórias. Além disso, foi possível observar também após a segunda infecção, níveis maiores de eosinófilos, de anticorpos e de mastócitos na mucosa do abomaso nos cordeiros considerados geneticamente resistentes.

Gill, Watson & Brandon (1993) investigaram o papel de células Th-CD4 e Tc-CD8 no estabelecimento da resistência e mostraram que a administração de um anticorpo anti-CD4 em cordeiros considerados geneticamente resistentes reduziu a capacidade de desenvolver resistência ao *H. contortus*, onde os animais tratados apresentaram maior OPG e cargas parasitárias em comparação com o grupo controle em que os animais não foram tratados. Em contraste, a depleção de células Tc-CD8 utilizando um anticorpo monoclonal anti-CD8 não teve nenhum efeito sobre a resistência medida pelo OPG e nem na carga parasitária demonstrando o papel fundamental das células Th-CD4 para a resistência ao *H. contortus*.

De acordo com Amarante e Amarante (2003) a resistência às parasitoses gastrintestinais está associada com a resposta mediada pelos linfócitos Th2, com o aumento do número de mastócitos na mucosa, eosinofilia, produção de anticorpos específicos, presença de substância inibidoras do muco e aumento de sua produção. Krawczyk e Slota (2009) afirmaram que as células do tipo Th2 secretam citocinas específicas que ativam a produção de imunoglobulinas nas respostas antiparasitárias e o aumento do número de eosinófilos e mastócitos na mucosa gastrintestinal, e estão associadas com as doenças alérgicas e infecções por helmintos.

Na verdade os processos que estão relacionados com a resposta imune dos animais frente às parasitoses gastrintestinais ainda não estão bem elucidados. Além

disso, é importante ressaltar que apesar dos hospedeiros possuírem mecanismos de defesa imune que possibilitam os indivíduos mais resistentes manter controladas as infecções, os efeitos patogênicos das mesmas sobre os animais dependem também de fatores relacionados com o parasito, como por exemplo, a espécie e a intensidade da infecção. Segundo Amarante (2004) a imunidade contra os nematódeos adultos em ruminantes pode se manifestar pela expulsão da população adulta do verme, por alterações na morfologia dos parasitas e pela redução na fecundidade das fêmeas. Além disso Coop e Holmes (1996) apontaram a importância de outras características porém agora dos hospedeiros, como, por exemplo, a idade, a raça e as condições fisiológicas, nutricionais e imunológicas.

Os animais jovens são mais susceptíveis do que os adultos que são menos predispostos devido a imunidade estabelecida pelas infecções anteriores (GIRÃO et al., 1980; AHID et al., 2008). De acordo com Schallig (2000), cordeiros jovens não apresentam uma boa resposta protetora de células de defesa Th2 o que reflete em um reduzido número de mastócitos e de eosinófilos na mucosa do abomaso.

Bueno et al. (2002) demonstrou que a raça Santa Inês é mais tolerante às infecções por nematóides gastrintestinais do que animais de raça lanadas e de acordo com Bricarello et al. (2005) dietas com elevada teor de proteína propiciam melhor eficiência na resposta imunológica especialmente daquelas raças que já são naturalmente mais resistentes.

2.2 PROLIFICIDADE EM OVINOS

A prolificidade em ovinos se refere ao número médio de cordeiros nascidos por parto e deve ser considerado como um parâmetro de grande importância do ponto de vista da eficiência reprodutiva que causa grande impacto econômico em rebanhos voltados para a produção da carne. Algumas raças de ovinos e até mesmo alguns animais pertencentes a uma mesma raça são naturalmente mais prolíficos, característica que segundo Souza e Moraes (2010) é determinada principalmente pelo número de ovulações que ocorrem a cada cio. No entanto, é importante ressaltar que a taxa de ovulação apesar de impor um limite biológico sobre a capacidade de produção de cordeiros ela não assegura o nascimento dos mesmos, pois as perdas reprodutivas podem ocorrer de maneira silenciosa e a todo o momento. De acordo com Azevedo et al (2001) perdas reprodutivas

podem ocorrer devido ao fracasso na fertilização ou implantação do embrião, aborto ou morte do feto, ou ainda morte do cordeiro logo após ao nascimento.

A taxa de ovulação é afetada por diversos fatores que podem ser divididos em fatores genéticos e ambientais, como por exemplo, a variação ambiental, maturidade fisiológica reprodutiva das ovelhas (SANTOS et al. 2013), idade da ovelha, condição corporal, alimentação e também pela ação de diversos genes (SOUZA e MORAES, 2010). Entre esses genes, alguns deles têm grande efeito sobre a característica chegando inclusive a duplicar o número de ovulações, no entanto, de acordo com Sarmento et al. (2010) melhorias na prolificidade em caprinos podem se mais facilmente obtidas com ajustes no manejo alimentar e na adequação da idade mínima para o início da vida reprodutiva.

O diagnóstico dos indivíduos portadores dos genes que influenciam na taxa de ovulação das ovelhas pode ser realizado por meio da determinação do genótipo dos animais a partir do DNA dos indivíduos embora possa ser predito pelo pedigree em conjunto com o controle zootécnico do desempenho reprodutivo dos animais e/ou de suas filhas, caso os indivíduos interessados se trate dos reprodutores. Entre as ovelhas que parem em um mesmo rebanho, sobre as mesmas condições ambientais e nutricionais, as que parem múltiplos cordeiros provavelmente são as ovelhas que trazem consigo o alelo responsável pela prolificidade.

De acordo com Santos et al (2013) a prolificidade é uma característica reprodutiva que apresenta um alto potencial de contribuição para o ganho genético anual nos rebanhos de caprinos. Essa mesma afirmação pode ser feita para os rebanhos de ovinos uma vez que, além de ser uma característica de fácil mensuração, apresenta herdabilidade considerável quando comparada a outras características reprodutivas e consequentemente, resposta rápida à seleção.

2.3 MARCADORES MOLECULARES

Um dos mais importantes fatores na implantação de um programa de melhoramento genético seria a capacidade de identificar efetivamente os genótipos superiores presentes em uma população. Neste contexto, o uso dos marcadores moleculares, polimorfismos presentes no genoma de um indivíduo como indicador da diversidade biológica e que podem influenciar significativamente nas variáveis

quantitativa, vem se destacando como uma das principais estratégias de seleção e melhoramento na produção animal.

De acordo com Caetano (2009) os primeiros trabalhos que relatavam a utilização e que caracterizavam os marcadores moleculares para espécies de interesse zootécnico datam do início dos anos 80 quando ainda eram necessários em média cinco dias de trabalho para chegar a um genótipo, enfrentando várias questões técnicas que dificultavam o trabalho. Atualmente novas metodologias de alto desempenho e acurácia foram desenvolvidas e apresentam grandes vantagens quando comparada com a seleção assistida apenas pelo fenótipo, apesar dessa ter sido utilizada para a identificação de genótipos superiores desde as descobertas de Mendel.

Na seleção assistida apenas pelo fenótipo, o ambiente tem grande efeito sobre a sua expressão, e se não for tomado o cuidado de controlar esses efeitos os resultados podem ficar comprometidos, pois de acordo com Bered et al. (1997) o estudo baseado no fenótipo pressupõe que similaridades fenotípicas indicará similaridades genéticas. Por outro lado, os marcadores moleculares não são influenciados pelo ambiente e desta forma, as variâncias de ambiente e da interação genótipo x ambiente podem ser eliminadas e como a seleção é praticada diretamente no genótipo, o diferencial de seleção e a variância aditiva poderão ser levadas ao extremo (BERED et al. 1997). Além disso, de acordo com Benavides et al., (2002) outra grande vantagem da seleção assistida por marcadores (SAM) é que esta metodologia permite uma seleção do genótipo mais precoce, logo após o nascimento sem ter que esperar a idade ideal para a máxima expressão do fenótipo.

No entanto, Bered et al. (1997) afirmaram que características de alta herdabilidade e de fácil avaliação podem não ser apropriadas para a SAM uma vez que a avaliação direta da característica é eficiente para a separação dos genótipos e os custos envolvidos na SAM não implicará uma maior eficiência no melhoramento. Logo, características de baixa herdabilidade e de difícil mensuração, como no caso da resistência às parasitoses gastrintestinais são consideradas preferências nos estudos com SAM, pois a seleção passa a ser realizada de maneira mais precisa e objetiva podendo determinar a formação de populações com alta frequência de genótipos considerados geneticamente superiores.

Sider & Zaros, (2008) afirmaram que uma associação positiva entre um marcador e a característica de interesse indica uma região do genoma, mas não necessariamente o

gene responsável pela variação na característica. No entanto, ainda de acordo com esses mesmos autores, para fins de utilização na SAM este marcador já é suficiente.

Há diversos tipos de marcadores do DNA que já vem sendo utilizado pelos pesquisadores que objetivam analisar a variabilidade e a diversidade genética da resistência às parasitoses gastrintestinais. Entre eles, os microssatélites, escolhidos como marcadores de escolha por volta da década de 90 por serem altamente polimórfico (WEBER e MAY, 1989) e que consistem de repetições em tandem de di-, tri, tetra ou penta-sequências de nucleotídeos. Atualmente, os marcadores moleculares utilizados com mais frequência nesses estudos são os RFLPs, do inglês “*restriction fragment length polymorphisms*” e os SNPs (*single nucleotide polymorphisms*). Uma vez que os custos com a SAM do tipo SNP se tornaram muito mais acessíveis essa ferramenta vem contribuindo para um rápido desenvolvimento das pesquisas na pecuária brasileira.

Os marcadores do tipo SNP tem como base as alterações mais elementares da molécula de DNA, ou seja, mutações em bases únicas da cadeia de base nitrogenadas (Adenina, Citosina, Timina e Guanina) que podem ocorrer em regiões codificadoras ou com função regulatória, porém, na maioria dos casos são encontrados em regiões intergênicas, ainda sem função determinada. São extremamente abundantes no genoma dos indivíduos não endogâmicos, podendo chegar à classe dos milhões de polimorfismos, distribuídos de forma homogênea (CAETANO, 2009).

De acordo com Iniesta (2005), a alteração de um único nucleotídeo quando ocorre em uma região codificante pode provocar uma troca de aminoácido da proteína resultante que pode levar a uma alteração na sua atividade ou função. A alteração do nucleotídeo também pode ocorrer na região promotora do gene e assim modificar a sua expressão. Essa região promotora, ainda de acordo com os mesmos autores, modula o processo de transcrição de DNA para RNA que é o primeiro passo da decodificação de um gene para proteína. No entanto, se a alteração do nucleotídeo ocorrer na região de íntron, essa alteração não irá causar nenhuma mudança de aminoácido e nem na sua função, mas poderá alterar a expressão do gene. Algumas alterações de nucleotídeos ainda podem ocorrer, porém sem causar nenhum tipo de repercussão e por isso elas são chamadas de alterações silenciosas.

Ainda não há um consenso sobre a quantidade de marcadores moleculares a serem utilizados nos estudos de variabilidade genética entre indivíduos, no entanto, sabe-se que quantidades maiores de marcadores geram maior informação a respeito da

variabilidade avaliada. Neste contexto, Beattiu (1994) afirma que a eficiência da seleção assistida por marcadores seria máxima quando mais de 500 marcadores polimórficos fossem identificados nos pais, sendo que abaixo desse número a eficiência na SAM permaneceria quase que constante.

2.3.1 Resistência às parasitoses gastrintestinais

Qin et al., (2008) identificaram um conjunto de 26 polimorfismos do tipo SNP em 10 loci da região do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) da classe III de ovinos da raça Merino, abrangendo aproximadamente 600kbp. Os autores verificaram grande semelhança de tamanho, localização, orientação e composição genética entre as regiões de classe III do MHC dos ovinos e dos humanos. Essa similaridade entre os genomas das diferentes espécies aparenta ser algo muito interessante, pois permite, por meio de estudos comparativos, localizar regiões de interesse em uma determinada espécie que já tenha sido mais estudado em outras espécies.

A presença de polimorfismos dentro do locus do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) dos mamíferos e as associações com diversas doenças desencadearam muitas pesquisas sobre essa região genômica nas espécies de importância econômica. O MHC é constituído por um conjunto de genes em uma região genômica que codifica as moléculas responsáveis pela expressão de adaptação, indução e regulação de respostas imunes nos vertebrados (BEH & MADDOX, 1996; KULSKI et al., 2002) e como a maioria dos loci do MHC são altamente polimórficos, estes dão origem a diferentes moléculas que reconhecem os mais variados patógenos pelo sistema imunológico (GRUSZCZYNSKA et al., 2002) e é esta mesma polimorficidade que dificulta a histocompatibilidade nos transplantes pois confere uma estrutura única para cada indivíduo.

Nos ovinos a região do MHC está localizada no cromossomo 20 (DE GOTARI et al., 1998) e sua porção mais polimórfica e mais estudada é conhecida como OLA – Antígeno Leucocitário Ovino (MILLOT, 1978). Nos mamíferos em geral o MHC é composto por três regiões, as regiões de classe I e de classe II, que contém um conjunto de genes que codificam proteínas expressas na membrana das células e que são responsáveis pelo reconhecimento e apresentação do antígeno assim como pela rejeição de transplantes, e uma região central, referida como a região de classe III (BECK e TROWSDALE, 2000).

Paterson et al., (1998) mostraram que a estrutura mais ampla da região do MHC ovino parece ser semelhante ao seu homólogo humano. Na espécie humana a região de classe III ainda é subdividida em outras duas regiões, a primeira onde estão localizados os genes das proteínas do choque térmico e de algumas citocinas e a segunda região onde estão localizados os genes do sistema complemento.

De acordo com Leguiza (2007), a ação imunológica dos ovinos é dependente de vários alelos pertencentes a essas diferentes regiões do MHC, os quais atuariam de maneira conjunta para defesa do animal contra a ação dos parasitos. Ou seja, assim como o que ocorre na maioria das características de importância econômica, vários genes podem estar envolvidos no controle da resistência, sendo essa uma característica de controle poligênico, e de natureza quantitativa. Bered et al. (1997) afirmaram que a expressão dos caracteres quantitativos é mais afetada pelo ambiente, o que dificulta a identificação de indivíduos geneticamente superiores quando comparada com a expressão dos caracteres de herança qualitativa, os quais são menos influenciados pelo efeito do ambiente e mais simples de serem selecionados.

Ao estudar animais da raça Scottish Blackface, Schwaiger et al. (1995) verificaram associação do DRB1 situado na região do MHC com redução na contagem do OPG de animais naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais onde a *Teladorsagia circumcincta* foi a espécie de parasitas predominante. Neste estudo, o efeito mais significativo foi do alelo denominado G2, entre os 19 alelos encontrados, que causou um decréscimo de até 58% em relação ao alelo oposto. Redução na contagem de OPG neste mesmo rebanho também foram observadas por Buitkamp et al. (1996) onde verificaram associação com os microssatélites SMHCC localizado no MHC de classe I e DYMS1 localizado no MHC de classe II.

Associações entre o alelo 126 do INF α e diminuição de mais de 30% na contagem de OPG foram observadas por Coltman et al. (2001) ao estudar animais da raça Soay. O mesmo alelo também apresentou associação positiva com o título de IgA contra *T. circumcincta*.

Ao sequenciar quatro seguimentos do gene *TNF* em caprinos, Bressani et al. (2012) encontraram dez SNPs dos quais cinco deles eram potenciais marcadores moleculares para a resistência às parasitoses gastrintestinais. No entanto, segundo os mesmos autores para a associação obtida por eles ser válida mais estudos com esses SNPs em demais populações seriam necessários.

Diez-Tascon et al. (2005) sugere que a expressão elevada dos genes envolvidos na estrutura e função do músculo entérico, a trangelina (TAGLN) e a actin- $\alpha 2$ (ACTG2), proteínas estruturais estejam envolvida em uma maior motilidade do intestino em cordeiros geneticamente resistentes.

Como podemos observar a resistência às parasitoses gastrintestinais aparenta ser uma característica de enorme complexidade, pois envolve diversas regiões cromossômicas que influenciam as diferentes vias metabólicas e consequentemente na mensuração da característica justificando assim a variabilidade dos resultados obtidos nos diversos estudos envolvendo marcadores moleculares e a resistência dos ovinos às parasitoses gastrintestinais.

2.3.2 Prolificidade

De acordo com Holanda, Adrião & Wischral (2006), algumas linhagens de ovinos se destacam devido a alta prolificidade das ovelhas. A linhagem Booroola de alta prolificidade teve origem em um programa de cruzamento realizado em 1952 pelos irmãos Sears, australianos a partir da seleção de um rebanho ovino prolífico por meio de anotações sobre o tamanho da ninhada de ovelhas da raça Merino (HOLANDA, ADRIÃO & WISCHRAL; 2006).

O Booroola (BMP-1B) considerado o principal responsável pelo aumento da prolificidade em ovinos resulta de uma mutação também conhecida como FecB, no receptor BMP-1B existe em um único locus autossômico do cromossomo 6 uma mutação dominante com amplo efeito na taxa ovulatória e que é análogo ao cromossomo 4 humano (WILSON et al., 2001). As ovelhas que carregam o Booroola têm maior número de ovulação, porque mobilizam maior número de folículos primordiais para a ovulação ou porque tem um menor número de atresia (HOLANDA, ADRIÃO & WISCHRAL; 2006).

A linhagem Inverdale descendeu de uma ovelha da raça Romney com histórico de 33 crias em 11 partos (DAVIS et al., 1995). Nessa linhagem, a prolificidade é resultante de uma mutação (FecX) no gene da proteína morfogenética do osso 15 (BMP-15) que esta localizado no cromossomo X (GALLOWAY et al., 2000). Cruzamentos de carneiros portadores de uma cópia do gene com fêmeas heterozigotas demonstraram que as filhas homozigotas possuíam ovários estriados e não funcionais enquanto que as filhas

heterozigotas apresentavam uma ovulação a mais do que as fêmeas não portadoras da mutação.

Chu et al. (2007) avaliaram o efeito combinado desses dois genes da prolificidade (BMP-1B e BMP-15) e demonstraram que ovelhas Han da cauda curta as quais carreavam mutações para ambos os genes apresentaram maior número de crias por parto do que aquelas com apenas uma das mutações.

Em um estudo realizado por Silva et al. (2010) foram encontrados 7 SNPs (GI à GVII) no gene do Fator de diferenciação e crescimento 9 (GDF-9) em ovinos Santa Inês que tem como característica elevada taxa de partos duplos. Um desses SNPs (GVII) despertou grande interesse devido a sua alta ocorrência, sua localização no peptídeo maduro e substituição do aminoácido radical que ele provoca, na posição 345 (fenilalanina em cisteína) para o qual deram o nome de *FecGE*. Os autores ainda afirmaram que essa nova variação junto com outras já bem documentadas podem ser muito úteis para maior compressão do controle genético da taxa de ovulação em mamíferos e que, além disso, a observação desta variante pode ser aplicada em programas de melhoramento por SAM para aperfeiçoar o potencial reprodutivo e produtivo dos ovinos.

É importante ressaltar que o aumento da prolificidade como um dos objetivos de seleção não é visto por muitos produtores como um benefício para os sistemas de produção, pois segundo eles além de aumentar o número de natimortos, de cordeiros rejeitados pelas ovelhas e da mão de obra, há uma queda do peso ao nascimento dos cordeiros que influencia negativamente no tempo necessário para que os animais cheguem ao peso desejado para o abate. No entanto, sabemos que diversos fatores podem influenciar no desenvolvimento do feto durante a gestação como, por exemplo, a idade da mãe, se ela é primípara ou múltipara e ainda a dieta que é fornecida a ela ao longo da gestação.

Por isso antes de adotarmos qualquer tecnologia que irá permitir a intensificação da produção é preciso acima de tudo planejar antecipadamente, gerenciar eficientemente e principalmente dominar as técnicas e as metodologias a serem aplicadas. Feito isso, o aumento da prolificidade seguido da sobrevivência dos cordeiros até a idade do abate e do manejo adequado para a obtenção do ganho de peso diário ideal só tende a trazer benefícios para os produtores.

3 HIPÓTESES

- ✓ As características FAMACHA, CC, PELO e CF, consideradas subjetivas são eficientes para o diagnóstico das parasitoses gastrintestinais.
- ✓ Marcadores moleculares relacionados com a resistência às parasitoses gastrintestinais identificados em ovinos de outras raças estão presentes também no genoma dos ovinos da raça Santa Inês.
- ✓ Existe variabilidade genética nos marcadores moleculares do tipo SNP selecionados para o estudo de associação com as características resistência às parasitoses gastrintestinais e prolificidade em ovinos da raça Santa Inês.
- ✓ Os marcadores moleculares localizados nas diferentes regiões do genoma estão associados com fenótipos avaliados.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS GERAIS

- ✓ Avaliar a presença de polimorfismos e de possíveis associações com a resistência às parasitoses gastrintestinais e a prolificidade em ovinos da raça Santa Inês.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a presença de polimorfismos do MHC de classe III e nos genes GDF-9, BMP-1B e BMP-15 em ovinos da raça Santa Inês assim como suas possíveis associações com a resistência às parasitoses gastrintestinais e prolificidade.
- ✓ Estimar as frequências alélicas e genotípicas, o efeito médio de substituição alélica, os efeitos aditivos e de desvio de dominância para cada polimorfismo.
- ✓ Verificar a eficiência das características FAMACHA, CC, PELO e CF como ferramenta para o diagnóstico das parasitoses gastrintestinais.
- ✓ Verificar a influência da prolificidade no peso ao nascimento dos cordeiros e na eficiência produtiva da mãe ao parto.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para o desenvolvimento deste estudo os dados obtidos foram divididos em dois conjuntos distintos. O primeiro deles continha informações dos fenótipos avaliados entre os meses de outubro e novembro de 2011 de aproximadamente 700 animais da raça Santa Inês, infectados naturalmente e oriundos de quatro propriedades localizadas em três estados brasileiros (Minas Gerais, São Paulo e Sergipe). Neste banco, os fenótipos avaliados foram selecionados para verificação da resistência às parasitoses gastrintestinais e foram divididos em duas categorias: fenótipos observados no campo (condição corporal (CC), grau de anemia avaliado pelo cartão FAMACHA (FAMACHA), escore de pelo (PELO), consistência das fezes (CF)), e os fenótipos avaliados laboratorialmente (hematócrito (HCT), contagem de células brancas (WBC), contagem de células vermelhas (RBC), hemoglobina (HGB), plaquetas (PLT) e contagem de ovos por grama de fezes (OPG)). Além disso, havia neste conjunto de dados informações importantes para a caracterização dos animais como a identificação de pai e de mãe, mês de coleta, sexo dos animais e a categoria que eles pertenciam no momento da coleta (1=cordeiro, 2=borrego, 3=ovelha seca e vazia, 4=ovelhas com 30 dias antes de parir e 5=ovelhas com 30 dias depois de parida, 6=ovelhas entre 30 a 90 dias depois de parida, portanto em lactação, 7= avelhas com até quatro meses de gestação, 8= ovelhas paridas a mais de 90 dias e 9= reprodutores).

O segundo conjunto de dados era constituído de informações oriundas de aproximadamente 340 ovelhas, de mesma origem do primeiro banco, porém destinadas ao estudo de prolificidade. Neste banco havia informações produtivas e reprodutivas ao longo de toda a vida do animal das quais as julgadas mais importantes e que fizeram parte deste estudo foram: prolificidade, que representa o número médio de cordeiros por parto, dado pela somatória do número total de cordeiros nascidos divididos pelo número de partos de cada ovelha (PROLIF); peso médio ao nascimento dos cordeiros, dado pela somatória do peso ao nascimento de todos os cordeiros divididos pelo número de cordeiro (AVG_PN) de cada ovelha e eficiência produtiva da mãe ao parto calculada pela somatória do peso ao nascimento de todos os cordeiros dividido pelo número de partos de cada ovelha (EFIPROD). Além disso, neste último banco havia

também informações que foram utilizadas para a formação dos grupos de contemporâneos (ano de nascimento das ovelhas, estação de nascimento das ovelhas e propriedade).

5.2 COLETA E MANIPULAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO

5.2.1 Amostras de fezes

A coleta de fezes para a contagem de OPG foi realizada diretamente da ampola retal dos animais com o auxílio de luvas plásticas descartáveis, uma para cada amostra (Figura 1) e, após terem sido devidamente identificadas, foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas ao laboratório para a realização das análises.

Figura 1 - Coleta individual de fezes direto da ampola retal dos animais

A contagem de OPG foi feita por meio da técnica McMaster modificada (UENO e GONÇALVES, 1998) onde cada ovo contado representava 50 ovos por grama de fezes (Figura 2).

Para identificar os gêneros dos parasitas mais prevalentes, as amostras de fezes foram submetidas à coprocultura onde vários *pools* de amostras foram homogeneizados e armazenados em potes de vidro, tampados com papel alumínio perfurados mantidos em estufa do tipo BOD à 26°C por sete dias consecutivos (Figura 3). Durante este período as amostras eram umedecidas com água todos os dias para garantir o desenvolvimento das larvas. Após os sete dias foi possível coletar as larvas e elas foram

mantidas na geladeira até serem identificadas conforme a chave morfométrica de Van Wyk et al. (2004).

Figura 2 - Material utilizado para a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) pela técnica de McMaster descrita por Gordon & Whitlock (1939) (A); 2,0 gramas de fezes de cada animal (B); amostras diluídas em 28mL de solução saturada de NaCl 35% (C); filtragem da diluição (D); preenchimento da câmara de McMaster com a solução obtida do filtrado e por meio de uma pipeta Pasteur após homogeneização (E) e leitura dos ovos e oocistos por meio da microscopia óptica (F).

Figura 3 - Coprocultura para obtenção das larvas infectantes dos parasitas gastrintestinais

5.2.2 Amostras de sangue

Com os animais devidamente contidos foram coletadas duas amostras de sangue de cada animal por meio de punção na veia jugular em tubos a vácuo com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) e com ativador de coágulo (Figura 4). As amostras foram então transportadas em caixas de isopor com gelo até o laboratório onde eram feito as análises (Figura 5A).

Figura 4 - Sequência de fotos que demonstra a coleta correta de sangue venoso por meio de punção na veia jugular. Aplicação do garrote para visualização da veia jugular e assepsia do local de aplicação com algodão e álcool iodado(A); Introdução da agulha acoplada ao suporte aplicador (B); Introdução do tubo com vácuo e EDTA no suporte (C) e coleta do sangue venoso (D)

5.2.2.1 Hemograma

Das amostras com EDTA, foi possível fazer o hemograma completo utilizando o contador hematológico veterinário PochH-100iVDiff (Figura 5B) que nos dá um retorno de 19 parâmetros, no entanto, as variáveis que foram utilizadas neste estudo são: Contagem de leucócitos (WBC), contagem de eritrócitos (RBC), concentração de hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT) e contagem de plaquetas (PLT).

Figura 5 - Amostras de sangue armazenadas em caixas de isopor com gelo para transporte até o laboratório (A); Analisador hematológico utilizado nas análises de sangue (B)

5.2.2.2 Extração de DNA

A extração do DNA genômico de cada um dos animais também foi realizada com as amostras de sangue coletadas com EDTA. Para isso, hemácias foram lisadas utilizando-se 1 ml de sangue total e 500 µl de solução de lise (0,32 M Sacarose, 12 mM Tris-HCl pH 7,5, 5 mM MgCl₂, 1% Triton x-100), seguido de centrifugação a 13000 r.p.m. e descarte do sobrenadante até que pudéssemos chegar aos pellets formados por células brancas, ou seja, de leucócitos. Essa etapa de lavagem foi repetida por aproximadamente 3 vezes até a obtenção de um pellet limpo de coloração branca. Os pellets foram lavados adicionando vagarosamente 1 ml de água ultrapura e em seguida o microtubo foi vertido para retirada da água e mantido sobre papel absorvente por alguns minutos até que o pellet ficasse completamente seco. As amostras de leucócitos foram então mantidas em congelador (-20°C) até o envio para Araçatuba/SP onde, por meio da parceria feita com o laboratório DEOXI, o DNA foi totalmente extraído. Feito isso, o DNA de cada amostra foi quantificado e avaliado o seu grau de pureza (relação entre as densidades óticas a 260 e 280nm) (Tabela 1) e armazenados a -20°C até a realização das genotipagens.

Tabela 1 - Exemplos dos dados obtidos na quantificação das amostras de DNA (concentração) e grau de pureza (260/280)

#	Amostra	Propriedade	Concentração	Unit	260/280
1	154	ARN	334.3	ng/μl	1.83
2	570	ARN	390.5	ng/μl	1.83
3	800	ARN	149	ng/μl	1.83
4	826	ARN	133.6	ng/μl	1.80
5	888	ARN	383.5	ng/μl	1.83
6	890	LAN	131.7	ng/μl	1.83
7	988	LAN	396.7	ng/μl	1.83
8	1018	LAN	161.8	ng/μl	1.82
9	1124	LAN	142.1	ng/μl	1.83
10	1213	LAN	200.7	ng/μl	1.82
11	1214	MAR	338.6	ng/μl	1.84
12	1268	MAR	261	ng/μl	1.82
13	1288	MAR	261.2	ng/μl	1.84
14	1320	MAR	325.7	ng/μl	1.84
15	1446	MAR	85.5	ng/μl	1.81
16	1462	USP	139.2	ng/μl	1.82
17	1486	USP	199.8	ng/μl	1.81
18	1516	USP	150.7	ng/μl	1.82
19	1558	USP	106.3	ng/μl	1.81
20	1566	USP	229.4	ng/μl	1.82

5.2.2.2.1 Genotipagem

Devido ao grande número de amostras e de SNPs a serem avaliados, o sequenciamento foi terceirizado por uma empresa localizada na cidade de Québec, Canada denominada DNA LandMarks, por meio da plataforma “Sequenom MassARRAY iPLEX”, uma metodologia que tem como principal vantagem a genotipagem de todos os SNPs de uma única vez, reduzindo os custos de genotipagem e o tempo necessário para as análises. Para isso, foram enviadas ao laboratório, junto com as amostras de DNA, as sequências que continha os SNPs de interesse (Anexo 1), assim como a localização deste SNPs dentro de cada sequência.

Dos SNPs selecionados para este estudo (Tabela 2) três deles (FecX, Booroola e FecG^E) foram escolhidos principalmente por estarem descritos na literatura como SNPs relacionados com a prolificidade. Os demais SNPs estão localizados na região do MHC de classe III e foram descritos por Qin et al. (2008) em ovinos da raça merino. Por ser essa uma região ainda pouco explorada quando comparada com as regiões do MHC de classe I e de classe II que estão altamente relacionadas com a resposta imune dos animais,

esses SNPs presentes na região do MHC de classe III despertaram bastante curiosidade, não só para saber se eles também segregam na raça Santa Inês, mas também para saber se existe alguma correlação entre esses SNPs e a característica resistência às parasitoses gastrintestinais.

A probabilidade de Equilíbrio H-W associado às frequências genotípicas observadas para cada SNP foi testada pelo teste χ^2 (Qui-Quadrado).

Tabela 2 - Nome do SNP, número de identificação no NCBI, mutação e sequencia onde se encontra cada um dos SNPs

SNP	NCBI	Mutação	Sequencia
BMP15	AF236079.1	C/T	ATTTCAATGA(C/T)ACTCAGAGTG
BMPR1B	417531944	A/G	GAAATATATC(A/G)GACGGTGTG
GDF9	417531957	T/G	TTCAAACAGT(T/G)TCTTTTCCC
APOMS1	EF139192.1	G/A	TTGGCAGGAC(G/A)GCCAGCTCAT
BAT2S2	EF197828.1	A/G	TCCCTGCTCC(A/G)CCAAGGGCCT
BAT2S1	EF197828.1	C/T	AAACAGCAAG(C/T)CCAAGCCCTA
BAT5S1	EF197830.1	A/G	GCTTGGGGAC(A/G)GGGGTACCCT
BFS1	EF446375.1	C/T	CACTCCATGA(C/T)CTCTCACTCA
BFS2	EF446375.1	C/T	CCATTCTGAG(C/T)TTCTGCAGTG
C2S4	EF446374.1	C/T	GAGCGGAGGG(C/T)ATCCTGCTCA
C2S3	EF446374.1	C/T	GGCCTATCTG(C/T)CTCCCCTGCA
C2S1	EF446374.1	A/G	CACGGTGAGC(A/G)CTGGACTCAG
C2S2	EF446374.1	G/C	CTAGCAAGCT(G/C)TGCCCTGGGC
G6BS1	EF197833.1	C/T	AGGAGTTGAG(C/T)GACCTACATT
LTAS3	DU475543.1	A/G	TGTCCCAGGT(A/G)GGAG(A/G)GTATA
LTAS2	DU475543.1	C/T	CCTTCTCCTC(C/T)GAATTTACTG
JQMSH5S3	EF197839.1	C/T	GACAAAATTA(C/T)GGAATGTTCC
JQMSH5S4	EF197839.1	A/G	TTCTGCTCCA(A/G)TTGGTCCATG
JQMSH5S1	EF197839.1	A/T	TATTTTAGAA(A/T)GAAGAATAGT
JQMSH5S2	EF197839.1	A/G/C	ATGCAATGCT(A/G/C)CAGGTTAAAG
JQNG22S1	EF197840.1	A/G	GTACGGTGCC(A/G)GAGCTCCCAG
TNXBS1	EF197845.1	C/T	CTCTACCTGT(C/T)TCTCAGAACC
TNXBS2	EF197845.1	A/G	GAAGAAATCG(A/G)AGCAGAGCCT
TNFaS4	EF446377.1	A/G	GGGGGGACTC(A/G)TATGCCAATG
TNFaS3	EF446377.1	A/G	CTGCCATCAA(A/G)AGCCCTTGCC
TNFaS5	EF446377.1	C/T	GCCTGGACAA(C/T)GGGCCACCAA
TNFaS2	EF446377.1	A/G	CTTCCTGCCA(A/G)TGTTTCCAGA
TNFaS1	EF446377.1	A/G	GCCTCCTTTT(A/G)CTTATGTTTT

5.3 AVALIAÇÕES DOS FENÓTIPOS OBSERVADOS NO MOMENTO DAS COLETAS

5.3.1 Avaliação da anemia por meio do FAMACHA

A coloração da mucosa ocular foi avaliada observando a parte medial da conjuntiva inferior e comparando com o cartão FAMACHA para o diagnóstico dos diferentes graus de anemia a campo e definição do escore, em que, 1 = vermelho robusto, 2 = vermelho rosado, 3 = rosa, 4 = rosa pálido e 5 = branco (Figura 6A).

Antes de iniciar as avaliações o avaliador foi devidamente treinado por pessoas capacitadas de modo que a mucosa ocular não fosse exposta de maneira incorreta, pois quando isso acontece, corre-se o risco de subestimar os resultados uma vez que a esclera e a terceira pálpebra passam a ser visualizadas (Figura 6B). A coloração dessas outras regiões é sempre mais clara que a coloração da mucosa ocular inferior que é o local correto da avaliação, demonstrando assim a necessidade de expor corretamente o local de avaliação. Para isso a pálpebra superior dos animais foi levemente pressionada com o dedo polegar enquanto que a pálpebra inferior era puxada para baixo com o outro dedo de modo que somente a conjuntiva ocular da região inferior ficasse exposta (Figura 6C).

Figura 6 - Modelo do cartão FAMACHA utilizado nas avaliações (A); Exposição incorreta do local de avaliação com a presença da terceira pálpebra (B); Exposição correta da mucosa ocular para avaliação da coloração (C)

5.3.2 Condição corporal

A verificação da CC dos ovinos foi realizada após a avaliação das proeminências dos processos espinhosos e transversos e da cobertura de gordura e de musculatura entre esses dois processos, logo após as últimas costelas e antes da asa do íleo (Figura 7)

assim como descrito por Russel et al. (1969), porém aplicando se o sistema de classificação com intervalos de 0.5 ponto.

Figura 7 - Avaliação da condição corporal na região lombar dos animais

5.3.3 Consistência das fezes

No momento das coletas das fezes estas foram também classificadas via inspeção visual, de acordo com a sua consistência (CF), onde 1=fezes normais em formato de cíbalas, 2=fezes pastosas e 3=fezes diarreicas.

5.3.4 Características dos pelos

Os pelos dos animais foram avaliados na região caudal do abdômen ventral tendo em vista que esta região é a que menos sofre as influências do ambiente em que ovinos se encontram (Figura 8). Foram definidos dois escores para esta avaliação, sendo 1= pelos lisos e brilhantes e 2 = pelos secos e arrepiados.

Figura 8 - Região onde foi feita a avaliação do escore de pelo (A). Animal bastante debilitado no final de gestação, com baixa condição corporal e pelo arrepiado em toda a sua superfície corporal (B).

5.4 AVALIAÇÃO DA PROLIFICIDADE

Dados de produção foram obtidos junto com os produtores de cada propriedade para que pudéssemos obter os dados de prolificidade (PROLIF) de cada ovelha. Para a descrição dos dados dois subconjuntos de dados foram utilizados. O primeiro contendo todas as avelhas avaliadas e o segundo contendo apenas as ovelhas que apresentavam três ou mais registros de parto. Apenas as ovelhas que pertenciam ao segundo conjunto de dados foram utilizadas para o estudo de associação com os SNPs. Isso foi feito uma vez que entendemos que três partos é um número suficiente de chances para a ovelha expressar o seu potencial genético.

Para o cálculo da PROLIF dividiu-se o número total de filhos nascidos ao longo da vida de cada ovelha pelo número de partos ocasionados por elas. O peso médio dos cordeiros ao nascimento (AVG_NAS) foi calculado por meio da somatória dos pesos ao nascimento de cada filho dividido pelo número de cordeiros nascidos por ovelha e a eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPRO) que representa a quantidade em quilos de cordeiro que a ovelha pariu, em média por parto foi calculado por meio da somatória dos pesos ao nascimento de cada filho dividido pelo número de partos de cada ovelha.

5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

5.5.1 Caracterização dos fenótipos avaliados

As observações realizadas foram controladas com a utilização do programa Visual FoxPro®, versão 9.0 da Microsoft Corporation e após edição e análise de consistência dos dados, as características avaliadas neste estudo foram descritas quanto a sua distribuição, variabilidade e correlação utilizando o pacote estatístico *Statistical Analysis System* (SAS) versão 9.2 por meio dos procedimentos PROC MEANS, PROC UNIVARIATE e PROC CORR.

5.5.2 Definição dos modelos estatísticos

As análises dos modelos de melhor ajuste para todos os fenótipos em estudo foram realizadas por meio do procedimento PROC MIXED do SAS considerando sempre

o pai como efeito aleatório. Para que os animais que não apresentavam a informação de pai conhecida não fossem desconsiderados das análises foram criados falsos pais (FAKE) diferentes, um para cada animal que apresentavam pais desconhecidos.

Para as análises com o OPG os valores foram transformados em $\log_{10}(n+1)$, em que n representa o número de OPG contado nas amostras. Somou-se 1 a cada resultado de contagem devido a existência de valores nulos. O objetivo da transformação foi atender os requisitos básicos de normalidade e homogeneidade, na tentativa de estabilizar as variâncias antes das análises uma vez que esta característica já é conhecida por não apresentar uma distribuição normal. Este procedimento é normalmente adotado nas análises realizadas com fenótipos caracterizados pela contagem como, por exemplo, a resistência às infestações por carrapatos (VERÍSSIMO, 1991, ANDRADE, 1996).

Nos modelos de análises foram incluídos como efeitos fixos os efeitos de propriedade, mês da coleta, sexo e categoria dos animais referentes ao momento da coleta. Para as demais características voltadas para o estudo de resistência às parasitoses gastrintestinais foi incluído, além dos efeitos já citados, o efeito linear do LOG_OPG como covariável visando verificar o efeito da infecção nas demais características avaliadas.

Para as análises de PROLIF foi incluído no modelo o efeito fixo de grupo de contemporâneo (GC) constituído pelo ano de nascimento das ovelhas, estação de nascimento (seca ou chuvosa) e a propriedade que os animais pertenciam. Para as demais características (AVG_PN e EFIPRO) além do GC o efeito linear da PROLIF também foi incluído como covariável.

5.5.3 Determinação das frequências genótípicas e alélicas

As frequências alélicas e genótípicas para cada SNP foram estimadas de acordo com Falconer (1981) por meio da contagem simples dos diferentes alelos e genótipos respectivamente, por meio do procedimento PROC FREQ do SAS. Nesse caso, a frequência alélica avaliada representa a proporção dos diferentes alelos de um SNP na população em estudo enquanto que a frequência genotípica representa a proporção dos diferentes genótipos de cada SNP presentes na população em estudo.

5.5.4 Avaliação do efeito dos marcadores sobre as características de interesse

As análises para a estimação dos efeitos dos marcadores sobre as características de interesse foram realizadas apenas para àqueles que não se apresentaram fixados na população em estudo.

Os coeficientes de regressão linear das características em relação aos genótipos de cada marcador foram estimados e testados por meio do procedimento PROC MIXED do SAS pelo método de quadrados mínimos, o que representa o efeito da substituição alélica. Para isso, os fenótipos avaliados foram considerados como variáveis dependentes enquanto que os genótipos observados para cada SNP foram considerados como covariáveis no modelo.

As estimativas do efeito aditivo para cada marcador foram obtidas pela diferença entre os valores genotípicos dos homozigotos e as estimativas dos desvios de dominância foram calculadas por meio da diferença entre o valor genotípico do heterozigoto e da média dos valores genotípicos dos homozigotos (FALCONER, 1981). Essas estimativas tiveram suas significâncias testadas pelo teste *t*-Student e os resultados obtidos somente foram considerados significativos se $p < 0,05$. Caso não fossem observados valores significativos entre as associações, associações sugestivas ($0,05 < p < 0,10$) foram discutidas.

A determinação do alelo favorável foi realizada apenas para os SNPs que apresentaram estimativas significativas tanto para o efeito da substituição alélica quanto para a diferença entre as médias dos quadrados mínimos de cada genótipo.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DESCRIÇÃO DOS DADOS FENOTÍPICOS ANALISADOS

6.1.1 Resistência às parasitoses gastrintestinais

A descrição do conjunto de dados, representada pelos números de observações, valores mínimo e máximo, média, moda, mediana, desvio padrão e coeficiente de variação das características em estudo estão descritas na tabela 3. Ao analisar as medidas de dispersão (DP e CV) verificou-se que as características mostraram variação bastante considerável entre os animais, fato primordial para os estudos no qual se busca comparar as características com os diferentes genótipos dos SNPs.

Tabela 3 - Número de observações (N), mínimo (Min.), máximo (Máx.), média (μ), moda (*mo*), mediana (*md*), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) das características em estudo.

CARACTERÍSTICAS	N	Mín.	Máx.	μ	<i>mo</i>	<i>md</i>	DP	CV
OPG	660	0,00	26.100,00	1.068,26	0,00	400,00	2.107,78	197,31
LOG_OPG	660	0,00	4,42	2,23	0,00	2,60	1,19	53,60
CC	669	1,00	4,00	1,97	1,50	2,00	0,82	41,65
FAMACHA	679	1,00	5,00	3,06	3,00	3,00	1,03	33,64
PELO	671	1,00	2,00	1,17	1,00	1,00	0,37	32,05
FEZES	671	1,00	3,00	1,32	1,00	1,00	0,54	40,55
HCT	693	10,90	62,40	28,72	26,40	28,50	6,70	23,33
WBC	692	3,70	44,40	10,77	10,20	10,20	3,85	35,80
RBC	689	3,92	20,40	9,87	9,40	9,70	2,15	21,81
HGB	693	3,30	25,70	8,34	8,40	8,30	1,99	23,88
PLT	693	7,00	2.101,00	404,79	297,00	357,00	267,91	66,19

Os exames coproparasitológicos revelaram a presença de ovos de tricostrongilídeos, *Strongyloides sp.* e *Moniezia sp.*, no entanto, apenas os ovos dos tricostrongilídeos foram contabilizados para tabulação dos valores de OPG tendo em vista que, além dos demais achados terem sido esporádicos, a coprocultura revelou que o *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus sp.*, ambos do tipo tricostrongilídeos, foram os parasitas mais prevalentes nos rebanhos avaliados (65% de *Haemonchus contortus*, 30% de *Trichostrongylus sp.* e 5% de outros).

Durante as avaliações foi possível observar que um pequeno número de animais estava altamente infectado, chegando ao valor máximo de 26.100 OPG, enquanto que a maioria dos animais manteve OPG muito baixo ou com nenhum grau de infecção. De acordo com Sotomaior et al. (2007) isso acontece porque nos rebanhos de ovinos, observa-se grande diferença individual na capacidade de resistir ao desafio parasitário. Por isso, além da média, as medidas de posição moda e mediana também foram calculadas para que possam ser analisadas em conjunto, tendo em vista que a principal característica que representa a intensidade de infecção dos animais pelos parasitas gastrintestinais, o OPG, apresenta essa distribuição totalmente assimétrica (figura 9).

Figura 9 - Distribuição em porcentagem de animais por OPG

De acordo com Magalhães e Lima (2007) os valores discrepantes observados na contagem do OPG influenciam de maneira significativa na estimativa da média e por isso ela passa a não caracterizar adequadamente o conjunto de dados e por isso o uso da mediana para representação dos dados passa a ser o valor mais adequado.

Dos animais avaliados pelo OPG, em 162 deles não foram observados nenhum ovo nas fezes com relação aos parasitas avaliados. Apesar do valor zero para OPG ser um dos valores discrepantes e que se apresenta em grande quantidade no conjunto de dados influenciando significativamente o valor obtido para a média, o valor zero para OPG é uma observação muito importante, pois pode representar o melhor animal quando se trata de resistência às parasitoses gastrintestinais e por isso essas informações não podem ser simplesmente retiradas das análises ou perdidas.

Do mesmo modo que a média, as medidas de dispersão referentes ao OPG (DP e CV) também são muito influenciadas por esses valores discrepantes como pode ser observado na tabela 3.

Com base nisso muitos pesquisadores afirmam que ao transformar os valores de OPG em $\log_{10}(n+1)$, simbolizado neste trabalho como LOG_OPG, ocorre a normalização dos dados com redução acentuada das medidas de dispersão demonstrando a menor variação ao redor da média o que possibilitaria a melhor eficiência das análises. No entanto verificou-se que a transformação em LOG_OPG não foi suficiente para a normalização dos dados (Figura 10) e nem mesmo dos resíduos. A distribuição só foi considerada normal quando os valores extremos dos resíduos foram descartados, no entanto isso implicava em descarte da maioria dos animais com LOG_OPG igual à 0. Por isso, optou-se por analisar a associação dos SNPs com ambas as características (OPG e LOG_OPG) de modo que pudéssemos não só compará-los como também explorá-los da melhor maneira possível.

Figura 10 - Distribuição da porcentagem de animais por LOG_OPG

Quanto às correlações fenotípicas observadas na tabela 4 entre o OPG e LOG_OPG e as demais características avaliadas ainda no campo (FAMACHA, CC, CF e PELO) verificou-se que, com exceção da correlação com a CF, as demais foram todas altamente significativas demonstrando que essas características avaliadas no campo podem ser

ferramentas eficientes para a identificação e seleção de animais com menor OPG sem a necessidade de analisar as amostras de fezes laboratorialmente.

As correlações entre LOG_OPG e as características FAMACHA, HCT e HGB ($r=0.28$, $r=-0.36$ e $r=-0.30$, respectivamente) demonstram que à medida que LOG_OPG aumenta maior é o grau de anemia clínica, avaliada no campo por meio do FAMACHA, e também da anemia avaliada laboratorialmente pelo HCT e HGB. Valores semelhantes de correlação entre essas características e a característica OPG foram observados. Ao verificarmos os valores das médias de OPG e de LOG_OPG nos diferentes escores do FAMACHA na tabela 5, é possível notar o aumento significativo da média dessas características conforme aumenta o escore de FAMACHA.

No presente estudo entendemos que as correlações entre as características OPG e FAMACHA e LOG_OPG e FAMACHA só não foram maiores uma vez que, das espécies de parasitas que foram observadas na coprocultura, apenas o *Haemonchus contortus* tem a capacidade de gerar quadros de anemia, devido seu hábito hematófago em que ele se alimenta do sangue dos hospedeiros. Além disso, e do fato que o FAMACHA identifica apenas a anemia clínica dos animais, a anemia também pode ser causada por diversos outros fatores que interferem na amplitude dessas correlações, como por exemplo, a anemia causada devido às deficiências nutricionais.

Molento et al. (2004) afirmam que a correlação moderada entre essas características pode estar relacionada ainda com a presença de animais resilientes no rebanho, que segundo Albers et al. (1987) são capazes de suportar alta carga parasitária sem demonstrar perdas produtivas significativas e/ou sinais clínicos de parasitismo.

No presente estudo, alguns animais que receberam escore 1 ou 2 para FAMACHA apresentaram mais de 2000 OPG e o máximo observado para essa categoria foi de 6300 OPG, muito superior ao esperado. Por outro lado, alguns animais que receberam escore 4 ou 5 para FAMACHA não apresentaram nenhum OPG ou estavam pouco infectados. Esse fato demonstra a necessidade de integrar outras avaliações que, em conjunto com o FAMACHA, possam assegurar melhor o avaliador principalmente na identificação dos indivíduos que serão submetidos ao tratamento seletivo.

As correlações observadas entre FAMACHA e as características HCT e HGB foram significativas ($p<0.0001$) e de amplitude bastante considerável ($r=-0.59$ e -0.54 , respectivamente) demonstrando assim a eficiência parcial dessa metodologia tanto

Tabela 4 - Coeficientes de correlação de Pearson entre número de ovos por grama de fezes (OPG), OPG transformado em LOG (LOG_OPG), condição corporal (CC), coloração da mucosa ocular (FAMACHA), escore do pelo (PELO), consistência das fezes (CF), hematócrito (HCT), contagem de células brancas do sangue (WBC), contagem de células vermelhas do sangue (RBC), quantificação de hemoglobina (HGB) e plaquetas (PLT) de ovinos da raça Santa Inês.

	OPG	LOG_OPG	CC	FAMACHA	PELO	CF	HCT	WBC	RBC	HGB	PLT
OPG	1	0,526	-0,258	0,287	0,12	-0,08	-0,39	-0,048	-0,153	-0,376	-0,069
		<,0001	<,0001	<,0001	0,002	0,041	<,0001	0,224	<,0001	<,0001	0,07
LOG_OPG	0,526	1	-0,283	0,282	0,092	-0,050	-0,356	-0,003	-0,338	-0,302	-0,134
	<,0001		<,0001	<,0001	0,017	0,188	<,0001	0,936	<,0001	<,0001	0,000
CC	-0,258	-0,283	1	-0,479	-0,297	-0,081	0,575	-0,010	0,451	0,573	0,114
	<,0001	<,0001		<,0001	<,0001	0,034	<,0001	0,798	<,0001	<,0001	0,003
FAMACHA	0,287	0,282	-0,479	1	0,199	0,144	-0,588	0,018	-0,576	-0,544	-0,320
	<,0001	<,0001	<,0001		<,0001	0,000	<,0001	0,638	<,0001	<,0001	<,0001
PELO	0,12	0,092	-0,297	0,199	1	-0,046	-0,207	-0,067	-0,172	-0,195	-0,118
	0,002	0,017	<,0001	<,0001		0,227	<,0001	0,080	<,0001	<,0001	0,002
CF	-0,08	-0,050	-0,081	0,144	-0,046	1	-0,082	0,132	-0,036	-0,087	-0,007
	0,041	0,188	0,034	0,000	0,227		0,032	0,001	0,350	0,022	0,845
HCT	-0,39	-0,356	0,575	-0,588	-0,207	-0,082	1	0,203	0,839	0,872	0,269
	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,032		<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
WBC	-0,048	-0,003	-0,010	0,018	-0,067	0,132	0,203	1	0,195	0,178	-0,065
	0,224	0,936	0,798	0,638	0,080	0,001	<,0001		<,0001	<,0001	0,083
RBC	-0,153	-0,338	0,451	-0,576	-0,172	-0,036	0,839	0,195	1	0,772	0,311
	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,350	<,0001	<,0001		<,0001	<,0001
HGB	-0,376	-0,302	0,573	-0,544	-0,195	-0,087	0,872	0,178	0,772	1	0,243
	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,022	<,0001	<,0001	<,0001		<,0001
PLT	-0,069	-0,134	0,114	-0,320	-0,118	-0,007	0,269	-0,065	0,311	0,243	1
	0,07	0,000	0,003	<,0001	0,002	0,845	<,0001	0,083	<,0001	<,0001	

no diagnóstico das parasitoses gastrintestinais como também da anemia clínica dos animais.

Valores semelhantes de correlação entre OPG e as características FAMACHA e HCT, e entre FAMACHA e HCT ($r=0.21$, $r= -0.49$ e $r= -0.52$, respectivamente) foram obtidos por Kaplan et al. (2004) em um estudo de validação do FAMACHA como ferramenta para o diagnóstico da anemia em fazendas localizadas no sul dos EUA, onde os autores puderam concluir que o FAMACHA é realmente uma estratégia de grande eficiência no diagnóstico da anemia e que deve ser incluído como parte dos programas de controle integrado das parasitoses gastrintestinais.

Tabela 5 - Valores das médias do número efetivo de ovos por grama de fezes (OPG) e transformado em LOG (LOG_OPG), da quantificação dos oocistos (EIMERIA), hematócrito (HCT), contagem de células brancas do sangue (WBC), contagem de células vermelhas do sangue (RBC), quantificação de hemoglobina (HGB) e plaquetas (PLT) para todas as classes das características categóricas avaliadas no campo.

ESCORE	OPG	LOG_OPG	HCT	WBC	RBC	HGB	PLT
CC							
1	2439 ^A	2,94 ^A	23,06 ^D	10,50 ^A	8,15 ^C	6,73 ^F	393,45 ^A
1,5	1008 ^B	2,42 ^{AB}	26,70 ^C	10,87 ^A	9,18 ^C	7,82 ^E	364,70 ^A
2	894 ^B	2,00 ^{CB}	29,34 ^C	10,70 ^A	10,08 ^C	8,36 ^{ED}	396,96 ^A
2,5	398 ^B	1,56 ^C	32,29 ^B	11,55 ^A	11,05 ^{BC}	9,12 ^{CD}	430,94 ^A
3	554 ^B	2,14 ^{CB}	33,31 ^B	11,24 ^A	11,43 ^{BC}	9,62 ^{CB}	451,31 ^A
3,5	321 ^B	1,61 ^C	35,08 ^B	10,07 ^A	13,93 ^B	10,41 ^B	482,92 ^A
4	257 ^B	1,82 ^{CB}	37,95 ^A	10,07 ^A	20,02 ^A	11,29 ^A	464,54 ^A
FAMACHA							
1	213 ^C	1,47 ^D	36,37 ^A	10,74 ^A	12,64 ^A	10,37 ^A	652,25 ^A
2	550 ^C	1,91 ^{CD}	33,31 ^B	10,35 ^A	13,23 ^A	9,54 ^B	489,55 ^B
3	727 ^C	2,16 ^{BC}	29,06 ^C	10,93 ^A	10,35 ^{AB}	8,49 ^C	362,13 ^C
4	1716 ^B	2,55 ^{AB}	25,55 ^D	10,75 ^A	8,74 ^{BC}	7,46 ^D	342,68 ^C
5	2821 ^A	2,97 ^A	18,38 ^E	10,55 ^A	6,52 ^C	5,29 ^E	319,84 ^C
PELO							
1	963 ^B	2,17 ^B	29,33 ^A	10,87 ^A	10,57 ^A	8,50 ^A	409,15 ^A
2	1600 ^A	2,49 ^A	26,02 ^B	10,28 ^A	9,05 ^B	7,58 ^B	336,55 ^B
FEZES							
1	1171 ^A	2,29 ^A	29,45 ^A	10,39 ^A	10,66 ^A	8,53 ^A	404,79 ^A
2	848 ^A	2,03 ^A	27,19 ^A	11,60 ^A	9,49 ^A	7,98 ^A	394,22 ^A
3	490 ^A	2,29 ^A	28,86 ^A	11,67 ^A	9,99 ^A	7,94 ^A	418,83 ^A

Na tabela 6 verifica-se que os valores médios de HCT para os diferentes escores de FAMACHA foram significativamente diferentes, porém muito acima do citado por VanWyk e Bath (2002). Nota-se também que o valor máximo do HCT observado para cada um dos escores FAMACHA são valores muito discrepantes que influenciam significativamente para a alta estimativa dos valores da média observados.

Tabela 6 - Valores correspondentes de HCT citado por Van Wyk e Bath (2002) e na população em estudo

ESCORES FAMACHA	COLORAÇÃO	VanWyk e Bath (2002)	HCT		
			População em estudo		
			Média	Mínimo	Máximo
1	Vermelho robusto	Acima de 28	36,37 ^A	26,70	48,40
2	Vermelho rosado	23 a 27	33,31 ^B	21,20	46,30
3	Rosa	18 a 22	29,06 ^C	12,40	62,40
4	Rosa pálido	13 a 17	25,55 ^D	13,40	58,00
5	Branco	Abaixo de 12	18,38 ^E	10,90	28,00

De acordo com Lopes et al. (2007) diversos fatores podem elevar os valores do hematócrito. O principal deles seria as alterações na hidratação que refletem diretamente na proporção das células vermelhas, devido aos quadros de policitemia relativa. Além disso, segundo os mesmos autores, a policitemia relativa pode ocorrer em animais facilmente excitáveis como resultado do aumento da massa de eritrócitos na circulação devido à contração esplênica.

É importante ressaltar que para o desenvolvimento do cartão FAMACHA, Van Wyk e Bath (2002) afirmaram que foram realizadas diversas avaliações da coloração da mucosa ocular de ovinos de diferentes raças localizados em mais de 30 fazendas localizadas na África do Sul. A raça Santa Inês apesar da sua grande importância para os rebanhos de ovinos localizados principalmente na região nordeste do Brasil ainda é uma raça pouco explorada quando se trata dos diferentes fenótipos que a caracterizam. Os valores observados da média de HCT para cada escore do FAMACHA na tabela 6 sugerem que os ovinos da raça Santa Inês apresentam mucosa ocular mais clara quando os valores de HCT ainda não indicam anemia dos animais, demonstrando a não necessidade de tratamento do escore 3 do FAMACHA para os indivíduos dessa raça. Além disso, apesar dos valores médios de HCT nas populações em estudo serem considerados altos quando comparado com os valores citados por Van Wyk e Bath (2002), verificou-se que a média da população como um todo (Tabela 3) se assemelha aos demais valores relatados por outros autores, na raça Santa Inês (LIMA, 2013; BATISTA et al. 2009).

Do mesmo modo que o FAMACHA, a CC também apresentou correlação interessante com o OPG ($r=-0,26$) e o LOG_OPG ($r=-0,28$) demonstrando que, animais com menor condição corporal são também animais mais infectados pelos parasitas gastrintestinais e que mais contribuem com a presença dos ovos nas pastagens. Além

disso, as correlações obtidas entre CC com as características utilizadas no diagnóstico da anemia FAMACHA, HCT e HGB ($r=-0.48$, $r=0.57$ e $r=0.57$, respectivamente) contribuem com os resultados já citados, onde animais com menor CC são também animais com maior escore de FAMACHA, e menor concentração de HCT e HGB, ou seja, animais mais anêmicos. Na tabela 5 é possível verificar também que há diferença significativa nos valores das médias de OPG e LOG_OPG para alguns dos diferentes escores de CC. No entanto ao analisarmos as médias de OPG dos três primeiros escores de FAMACHA verificamos que não havia diferenças estatísticas entre as distribuições demonstrando mais uma vez a não necessidade de tratamento para os animais da raça Santa Inês com escore FAMACHA 3.

Esses resultados demonstram a importância de introduzir a avaliação do FAMACHA e da CC para a identificação de indivíduos mais resistentes, e daqueles mais sensíveis às parasitoses gastrintestinais visando o tratamento seletivo dos animais. No entanto é importante ressaltar que animais com maiores índices de anemia e com baixa condição corporal podem ser considerados tanto consequência da verminose gastrintestinal quanto também a causa para essa enfermidade, uma vez que animais mais debilitados se tornam mais propícios para o estabelecimento dos parasitas, o que caracteriza o efeito do ambiente sobre a expressão do genótipo.

Quanto à CF, verificou-se correlação significativa apenas com OPG, porém o mesmo não ocorreu com o LOG_OPG. Além disso, a magnitude da correlação observada entre OPG e CF ($r= -0,08$) é considerada muito baixa e as diferenças entre as médias de OPG e de LOG_OPG nos diferentes escores de CF também não foram significativamente diferentes. Este é um fato importante, pois demonstra que, na população em estudo, as fezes mais liquefeitas não estão associadas com as parasitoses gastrintestinais. Em muitas das propriedades de ovinos é possível constatar o tratamento com anti-helmínticos dos animais ao apresentarem diarreia quando na verdade essa diarreia pode estar sendo causada por outros fatores como, por exemplo, nutricionais e a presença de coccidioses. Isso é um fato muito preocupante, pois eleva ainda mais a pressão de seleção sobre os parasitas presentes em menor quantidade no trato gástrico intestinal.

Acredita-se que em regiões onde o *Haemonchus contortus* não é o parasita prevalente a correlação entre CF e OPG poderia ser positiva, pois alguns parasitas que não possuem o hábito hematófago, se alojam na parede do abomaso e do intestino e se

alimentam dessa região causando destruição do local e presença de úlceras. Com isso, há uma diminuição da digestão, da absorção do alimento e da água ingeridos pelos hospedeiros, levando ao emagrecimento e a presença de papeira e diarreia (SOTOMAIOR et al., 2009)

Correlações significativas, porém de baixa magnitude entre CF e as características FAMACHA e HCT ($r=0.14$ e $r=-0.08$, respectivamente) também foram observadas demonstrando que fezes mais liquefeitas, estão também mais correlacionadas com maiores índices de anemia. Correlações significativas, porém de baixa magnitude também foram observadas entre CF e WBC ($r=0.13$) demonstrando que animais com fezes mais liquefeitas além de serem animais mais anêmicos apresentam também número de células brancas circulantes, ou seja, de leucócitos.

As correlações significativas observadas entre PLT e OPG, LOG_OPG, CC, FAMACHA, HCT, RBC e HGB sugerem que quanto mais saudável os animais se encontram maior é a quantidade de plaqueta circulante. A correlação entre PLT e LOG_OPG ($r=-0.13$) demonstra que há uma redução na quantidade de PLT circulante conforme aumenta a infecção pelos parasitas gastrintestinais dos animais. Apesar da baixa magnitude dessa correlação, uma explicação para este acontecimento seria o deslocamento das PLT para o local de fixação dos parasitas na parede do abomaso na tentativa de bloquear a perda de sangue que ocorre tanto quando elas se soltam como também durante a alimentação das larvas hematófagas.

Com relação ao PELO dos animais verificou-se que animais que apresentavam os pelos mais secos e arrepiados (escore 2) eram realmente os animais mais debilitados nas propriedades quando comparados com as demais características avaliadas, conforme as correlações apresentadas na tabela 4 entre o PELO com as características OPG, LOG_OP, FAMACHA, HCT, HGB e CC ($r= 0,12$, $r= 0.09$, $r=0.19$, $r=-0.21$, $r=-0,19$ e $r=-0,30$). Isso demonstra que apesar da baixa magnitude entre algumas delas, as correlações foram altamente significativas comprovando o que, até o momento, havia sido apenas relatado na literatura pelos pesquisadores e também no campo pela maioria dos produtores, que animais com pelos mais seco e arrepiados também realmente animais mais debilitados.

Tendo em vista todos esses resultados não restam dúvidas ao afirmar que a avaliação integrada das características FAMACHA, CC e PELO dos animais faz ser uma metodologia de extrema importância para o diagnóstico e seleção de animais mais

resistentes às enfermidades que apresentam a anemia, a redução corporal e a aparência dos pelos mais secos e arrepiados como sintomatologia clínica, como por exemplo, o que ocorre nas parasitoses gastrintestinais onde o *Haemonchus contortus* é o parasita mais prevalente.

6.1.2 Prolificidade

Das 342 ovelhas avaliadas neste estudo apenas 120 delas apresentavam registros de três ou mais partos. Nas tabelas 7 e 8 estão apresentadas respectivamente as estatísticas descritivas referentes ao conjunto de dados contendo todas as ovelhas e àquele contendo apenas as ovelhas com três registros ou mais de partos, representadas pelos números de observações (N), média (μ), desvio padrão (DP), valores mínimos e máximos, e coeficiente de variação (CV) das características em estudo PROLIF, AVG_PN e EFIPROD.

Tabela 7 - Estatísticas descritivas das características prolificidade (PROLIF), peso médio dos cordeiros ao parto (AVG_PN) e eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPROD) para todas as ovelhas.

Características	N	μ	Mínimo	Máximo	DP	CV
PROLIF	342	1,23	1,00	4,00	0,41	33,62
AVG_PN	342	3,14	1,20	5,80	0,97	31,14
EFIPROD	342	3,79	1,17	12,00	1,53	40,53

Tabela 8 - Estatísticas descritivas das características prolificidade (PROLIF), peso médio dos cordeiros ao parto (AVG_PN) e eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPROD) para as ovelhas com três registros ou mais de partos.

Características	N	μ	Mínimo	Máximo	DP	CV
PROLIF	120	1,22	1,00	2,33	0,28	23,66
AVG_PN	120	3,21	1,17	4,77	0,68	21,33
EFIPROD	120	3,83	1,17	7,00	0,89	23,39

Observando as estatísticas descritivas desses dois conjuntos de dados, verificou-se que não houve muita diferença entre os valores de média e mínimo para cada característica. Já com relação aos valores máximos, DP e CV pode se observar nítida diferença. Ao avaliar o conjunto total dos dados verificou-se que haviam duas ovelhas que apresentavam apenas um registro de parto no entanto uma delas teve um parto triplo e a outra um parto quádruplo o que influenciou nos valores máximos, DP e CV de cada característica. Ao excluirmos as ovelhas com menos de três registros essas ovelhas

foram eliminadas do conjunto de dados e por isso houve redução dos valores máximos, DP e CV observados.

Tabela 9 - Coeficiente de correlação de Pearson entre as características prolificidade (PROLIF), peso médio dos cordeiros ao parto (AVG_PN) e eficiência produtiva da mãe ao parto (EFIPROD)

Características	PROLIF	AVG_PN	EFIPRODNAS
PROLIF	1	-0,4408 <,0001	0,5204 <,0001
AVG_PN	-0,4408 <,0001	1	0,5135 <,0001
EFIPROD	0,5204 <,0001	0,51354 <,0001	1

As correlações fenotípicas observadas na tabela 9 foram todas significativas e de magnitude bastante considerável. Verificou-se que quanto maior a PROLIF menor é AVG_PN ($r = -0.44$). Isso apenas comprova o que já era esperado uma vez que por diversos fatores, principalmente os relacionados com a fisiologia e anatomia das ovelhas, quanto maior o número de cordeiro ao parto menor será o peso de cada cordeiro, porém maior é a eficiência produtiva da mãe parto ($r = 0.52$). Isso ocorre porque como a EFIPROD representa a quantidade em quilos de cordeiro que a ovelha pariu em média por parto, em partos gêmeares a média de peso de cada um dos cordeiros nascidos é menor do que ocorre em partos simples, mas a quantidade em quilos total de cordeiros nascidos é maior. O AVG_PN também apresentou correlação positiva com EFIPROD como já era o esperado ($r = 0.51$).

6.2 ESTRUTURA GENÉTICA DA POPULAÇÃO, EFEITOS DE SUBSTITUIÇÃO ALÉLICA, DE ADITIVIDADE E DE DESVIOS DE DOMINÂNCIA PARA OS MARCADORES AVALIADOS.

6.2.1 Resistência às parasitoses gastrintestinais

Na Tabela 10 encontram-se os valores de significância dos efeitos incluídos nos modelos utilizados nas análises de cada característica. Vale ressaltar que com exceção das características PELO, CF, WBC e PLT, o LOG_OPG foi significativo para as demais características (CC, FAMACHA, HCT, RBC e HGB), que são consideradas importantes no diagnóstico das parasitoses gastrintestinais.

As frequências alélicas e genotípicas, o *Call Rate* de cada SNP genotipado e a significância do teste de equilíbrio de Hardy-Weiberg estão apresentados na tabela 11.

Observa-se que dos 28 SNPs analisados 4 deles estavam fixados, apresentando apenas um dos alelos na população (BMP15, BMPR1B, C2S1 E JQMSH5S2) e dos 24 SNPs polimórficos, apenas um deles apresentava uma das formas do homozigoto (BFS1). A menor frequência alélica (MAF) observada entre todos os SNPs avaliados foi de 2,6% (BFS1).

Verificou-se também que a frequência genotípica de 4 dos 24 SNPs polimórficos avaliados (BAT2S1, C2S4, JQNG22S1 e LTAS3) não estavam distribuídos de acordo com o equilíbrio de HW segundo o teste de χ^2 .

De acordo com o princípio de HW, na ausência de fatores evolutivos em populações onde os acasalamentos ocorrem de forma aleatória (panmixia) as frequências alélicas se mantêm constantes (LASLEY, 1972). Segundo Pirchner (1969) verdadeiras populações panmíticas sem seleção, são raras ou até mesmo inexistentes na natureza, no entanto a ideia do princípio do equilíbrio de HW é valiosa para comparação tal como acontece nas populações onde o sistema de acasalamento não é aleatório. Sendo assim, avaliar o comportamento dos alelos por meio do princípio de HW nos alerta para a atuação ou não dos possíveis fatores evolutivos, decorrentes principalmente devido às preferências nos acasalamentos.

Na tabela 12 verifica-se que dos SNPs avaliados, três deles estavam localizados em genes diferentes daqueles apontados por Qin et al. (2008) e seis deles estavam localizados em regiões situadas entre os genes. Dos que estavam localizados em regiões gênicas, dez deles se localizavam em regiões de introns e 12 em regiões de exons, ou seja, em regiões codificantes, dos quais dois deles estavam fixados na população em estudo e outros três resultavam em mutações sinônimas. Das demais mutações localizadas em exons pode-se observar que as variações dos códons ocasionadas pelas mutações SNPs acarretavam na substituição dos aminoácidos o que pode levar à alterações na estrutura e/ou função das proteínas sintetizadas por essas regiões.

Tabela 10 - Valores de significância dos efeitos incluídos nos modelos das análises de cada característica

EFEITOS	LOG_OPG	CC	FAMACHA	PELO	CF	HCT	WBC	RBC	HGB	PLT
PROP	0,013	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
MÊS	0,001	0,000	<,0001	<,0001	<,0001	0,000	0,176	0,009	0,299	<,0001
SEXO	0,183	0,127	0,096	0,927	0,722	0,573	0,980	0,172	0,713	0,128
CAT	<,0001	<,0001	0,006	0,064	0,483	0,011	0,012	0,000	0,171	<,0001
LOG_OPG	-	<,0001	<,0001	0,319	0,309	<,0001	0,156	<,0001	<,0001	0,453

Tabela 11 - Identificação dos SNPs (SNP), dos alelos (ALELOS), porcentagem de genótipos identificados (CALL RATE), frequências alélicas e genotípicas e valores de significância do teste de equilíbrio de Hardy-Weiberg

SNP	ALELOS (p/q)	CALL RATE	Freq. Alélica		Freq. Genotípica			Pr > ChiSq
			p	q	p ²	2pq	q ²	
APOMS1	A/G	0,980	14,74	85,26	2,49	24,49	73,02	0,8003
BAT2S2	A/G	0,946	53,78	46,22	30,11	47,35	22,54	0,4744
BAT2S1	C/T	0,981	3,14	96,86	0,44	5,4	94,16	0,0140
BAT5S1	A/G	0,966	26,12	73,88	6,53	39,17	54,3	0,9264
BFS1	C/T	0,967	2,60	97,40	--	5,19	94,81	0,8800
BFS2	C/T	0,893	25,85	74,15	7,45	36,79	55,77	0,5766
FecX	C	0,975	100,00	0,00	100	--	--	--
Booroola	A	0,912	100,00	0,00	100	--	--	--
C2S4	C/T	0,988	81,20	18,80	67,49	27,43	5,08	0,0290
C2S3	C/T	0,866	30,24	69,76	7,48	45,51	47,01	0,1533
C2S1	G	0,940	100,00	0,00	100	--	--	--
C2S2	C/G	0,973	27,29	72,71	8,7	37,17	54,13	0,2566
G6BS1	C/T	0,972	70,17	29,83	49,04	42,27	8,69	0,9679
FecX ^E	G/T	0,973	15,10	84,90	2,32	25,54	72,13	0,9960
JQMSH5S3	C/T	0,989	86,90	13,10	75,54	22,72	1,74	0,9988
JQMSH5S4	A/G	0,950	14,05	85,95	2,42	23,26	74,32	0,6401
JQMSH5S1	A/T	0,972	80,05	19,95	64,36	31,37	4,27	0,8951
JQMSH5S2	C	0,889	100,00	0,00	100	--	--	--
JQNG22S1	A/G	0,989	6,67	93,33	1,3	10,72	87,97	0,0014
LTAS3	A/G	0,970	3,38	96,62	1,03	4,71	94,26	<.0001
LTAS2	C/T	0,989	8,23	91,77	0,73	14,99	84,28	0,9842
TNFαS4	A/G	0,923	14,99	85,01	1,89	26,03	71,92	0,7581
TNFαS3	A/G	0,988	15,89	84,11	2,03	27,72	70,25	0,6248
TNFαS5	C/T	0,970	91,30	8,70	83,63	15,34	1,03	0,6657
TNFαS2	A/G	0,968	30,02	69,98	9,96	40,12	49,93	0,5051
TNFαS1	A/G	0,923	50,23	49,77	26,13	48,2	25,68	0,6493
TNXBS1	C/T	0,989	76,02	23,98	58,84	34,35	6,81	0,3126
TNXBS2	A/G	0,870	54,81	45,19	32,34	44,94	22,72	0,0747

Na tabela 13 estão apresentados os valores de significância para o efeito de substituição alélica de cada SNP para todas as características. Mesmo sabendo que nem todos os SNPs estão localizados em regiões que codificam proteínas, optou-se por estimar os efeitos ocasionados pela substituição alélica uma vez que estes SNPs podem estar relacionados com a expressão da característica de maneira desconhecida ou ainda estar em desequilíbrio de ligação com outros SNPs, ou seja, a associação não-aleatória de alelos em dois ou mais *loci* (FALCONER & MACKAY, 1996). Quando o efeito de substituição alélica é considerado significativo a estimativa para este efeito representa a

diferença média na característica ao serem comparados animais heterozigotos e animais não portadores do alelo favorável, ou seja, o efeito que ocorre a cada troca do alelo não favorável pelo alelo favorável, ou vice e versa.

Verificou-se que dos 24 SNPs polimórficos em 9 deles (BAT2S2, BAT5S1, C2S4, C2S3, C2S2, LTAS2, TNFaS4, TNFaS5 e TNFaS2) não foi possível observar estimativas para o efeito de substituição alélica significativas para nenhuma das características avaliadas, relacionadas com a resistência às parasitoses gastrintestinais. Os demais SNPs apresentaram estimativas significativas para pelo menos uma das características, inclusive o SNP FecX^E que a princípio havia sido selecionado apenas para comparar com os valores de prolificidade.

Os efeitos observados devido ao genótipo dos animais são constituídos pelos efeitos herdados por descendência, transmitidos de pai para filho (efeito aditivo) e por efeitos que não são transmitidos (desvio de dominância). De acordo com Ridley (2006) o efeito aditivo é o mais importante e a divisão do efeito genotípico nos componentes aditivo e de dominância mostra qual a proporção dos desvios parentais da média é herdada e revela o quanto dos efeitos genotípicos não herdáveis de indivíduos heterozigotos é devido à dominância.

Para melhor visualização dos resultados os efeitos de substituição alélica, de aditividade e de desvios de dominância foram agrupados em tabelas únicas para cada característica analisada assim como a significância para esses efeitos e a determinação do alelo favorável (AF).

Tabela 12 – Identificação dos SNPs, localização e alteração causada devido à troca do alelo

Nome do SNP	Gene 1	Gene2	ID Gene	Posição	CHRO	Região	SNP	Troca de aminoácido
APOMS1	APOM	C20H6orf47	101120363	C.26779781	20	EXON	A/G	GLUTAMINA/ARGININA
BAT2S2	BAT2	--	--	C.26809406	20	EG	A/G	--
BAT2S1	BAT2	--	--	C.26809746	20	EG	C/T	--
BAT5S1	BAT5	ABHD16A	101118906	C.26756973	20	INTRON	A/G	--
BFS1	CFB	CFB	101115072	C.26546617	20	INTRON	C/T	--
BFS2	CFB	CFB	101115072	C.26545317	20	INTRON	C/T	--
FecX	BMP15	BMP15	100141303	C.50971406	X	EXON 2	C	--
Booroola	BMPR1B	BMPR1B	443454	C.29382188	6	EXON 8	A	--
C2S4	C2	C2	101115321	C.26552532	20	INTRON	C/T	--
C2S3	C2	C2	101115321	C.26551458	20	EXON 5	C/T	ALANINA/VALINA
C2S1	C2	C2	101115321	C.26551384	20	INTRON	G	--
C2S2	C2	C2	101115321	C.26551043	20	INTRON	C/G	--
G6BS1	G6B	--	--	C.26724556	20	EG	C/T	--
FecG ^E	GDF9	GDF9	100217402	C.41841362	5	EXON2	T/G	FENILALANINA/CISTEÍNA
JQMSH5S3	MSH5	MSH5	101117884	C.26708491	20	INTRON	C/T	--
JQMSH5S4	MSH5	--	--	C.26712133	20	EG	A/G	--
JQMSH5S1	MSH5	MSH5	101117884	C.26704963	20	INTRON	A/T	--
JQMSH5S2	MSH5	MSH5	101117884	C.26705026	20	INTRON	C	--
JQNG22S1	NG22	SLC44A4	101115996	C.26614433	20	EXON7	A/G	SILENCIOSA
LTAS3	CHORI-243	--	--	C.26860843	20	EG	A/G	--
LTAS2	CHORI-243	--	--	C.26860611	20	EG	C/T	--
TNFαS4	TNFα	TNFα	443540	C.26855563	20	EXON 4	A/G	SILENCIOSA
TNFαS3	TNFα	TNFα	443540	C.26855362	20	EXON 4	A/G	SILENCIOSA
TNFαS5	TNFα	TNFα	443540	C.26855001	20	EXON 4	C/T	ARGININA/TRIPTOFANO
TNFαS2	TNFα	TNFα	443540	C.26854803	20	EXON 4	A/G	METIONINA/VALINA
TNFαS1	TNFα	TNFα	443540	C.26854544	20	EXON 4	A/G	TIROSINA/CISTEINA
TNXBS1	TNXB	TNXB	100820740	C.26437365	20	INTRON	C/T	--
TNXBS2	TNXB	TNXB	100820740	C.26437396	20	EXON 17	A/G	GLICINA/GLUTAMATO

Gene1 – identificação do gene onde se encontra os SNPs de acordo com a revisão bibliográfica; Gene2 – identificação do gene onde se encontra os SNPs de acordo com o NCBI. EG – SNPs localizados entre genes.

Tabela 13 - Significância dos efeitos da substituição alélica de cada SNP por característica em estudo

SNP	OPG	LOG_OPG	CC	FAMACHA	PELO	CF	HCT	WBC	RBC	HGB	PLT
APOMS1	0,265	0,047	0,592	0,587	0,286	0,976	0,441	0,436	0,326	0,957	0,084
BAT2S2	0,140	0,875	0,212	0,212	0,756	0,056	0,283	0,542	0,114	0,245	0,156
BAT2S1	0,238	0,649	0,041	0,702	0,037	0,740	0,183	0,713	0,234	0,153	0,063
BAT5S1	0,685	0,524	0,424	0,613	0,687	0,112	0,715	0,235	0,908	0,979	0,215
BFS1	0,916	0,112	0,176	0,767	0,028	0,781	0,043	0,071	0,066	0,044	0,750
BFS2	0,993	0,515	0,789	0,249	0,044	0,720	0,479	0,650	0,558	0,477	0,087
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	0,908	0,157	0,914	0,290	0,210	0,399	0,700	0,255	0,437	0,580	0,073
C2S3	0,933	0,470	0,841	0,460	0,070	0,865	0,609	0,738	0,574	0,470	0,263
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,799	0,388	0,932	0,521	0,074	0,957	0,464	0,588	0,297	0,427	0,184
G6BS1	0,861	0,317	0,038	0,898	0,964	0,785	0,171	0,035	0,008	0,077	0,248
FecG ^E	0,305	0,426	0,311	0,096	0,726	0,195	0,107	0,008	0,812	0,180	0,279
JQMSH5S3	0,488	0,466	0,639	0,682	0,034	0,109	0,921	0,175	0,837	0,603	0,334
JQMSH5S4	0,648	0,213	0,001	0,438	0,168	0,730	0,211	0,660	0,248	0,656	0,013
JQMSH5S1	0,091	0,718	0,171	0,657	0,165	0,841	0,770	0,945	0,447	0,410	0,030
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	0,008	0,018	0,074	0,941	0,926	0,687	0,992	0,987	0,992	0,134	0,526
LTAS3	0,125	0,065	0,001	0,079	0,632	0,847	0,270	0,720	0,548	0,331	0,124
LTAS2	0,180	0,807	0,668	0,622	0,491	0,476	0,763	0,871	0,896	0,883	0,737
TNF α S4	0,176	0,055	0,822	0,883	0,505	0,186	0,269	0,481	0,226	0,695	0,098
TNF α S3	0,800	0,051	0,887	0,818	0,411	0,323	0,248	0,537	0,250	0,790	0,075
TNF α S5	0,267	0,891	0,422	0,876	0,596	0,595	0,946	0,940	0,684	0,888	0,848
TNF α S2	0,651	0,703	0,887	0,373	0,842	0,258	0,800	0,528	0,885	0,463	0,183
TNF α S1	0,255	0,563	0,520	0,165	0,263	0,745	0,411	0,325	0,246	0,519	0,004
TNXBS1	0,024	0,003	0,128	0,369	0,204	0,307	0,345	0,141	0,002	0,621	0,034
TNXBS2	0,006	0,058	0,254	0,249	0,578	0,581	0,214	0,019	0,012	0,245	0,345

6.2.1.1 OPG

As estimativas dos efeitos de substituição alélica obtidas para a característica OPG (Tabela 14) foram significativas para os SNPs JQNG22S1, TNXBS1 e TNXBS2. Isso significa que a cada troca do alelo desfavorável pelo alelo favorável nesses três SNPs gerava uma redução de aproximadamente 554, 283 e 290 OPG, respectivamente. No entanto, apenas os SNPs JQNG22S1 e TNXBS2 apresentaram também estimativas significativas para os efeitos aditivos. Apesar de apresentar a maior estimativa para a

substituição alélica, o SNP JQNG22S1 e de estar localizado no exon7 do gene SLC44A4, a troca do alelo é considerada uma mutação sinônima ou silenciosa, uma vez que não ocorre alteração do aminoácido codificado por ambos os códons. Verificou-se também que o SNP TNXBS1 estava localizado na região de intron do gene TNXB e que o SNP TNXBS2 se encontrava no mesmo gene porém no exon17 e a troca do alelo A por G causava uma alteração na codificação dos aminoácidos, de glicina para glutamato.

Nas figuras 11, 12 e 13 têm-se os gráficos representando as médias dos quadrados mínimos referentes ao número de OPG em relação ao genótipo observado de cada SNP com estimativas significativas para o efeito de substituição alélica. Como o desejado para o OPG seria a redução dos seus valores, pois teoricamente indivíduos com menor OPG são considerados mais resistentes às parasitoses gastrintestinais, os alelos favoráveis para os SNPs JQNG22S1 TNXBS1 TNXBS2 seriam G, C e A, respectivamente.

Na tabela 15 verifica-se que para o SNP JQNG22S1 apesar dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos não se diferenciarem da média observada nos indivíduos heterozigotos, eles se diferenciam estatisticamente entre si. Nos indivíduos AA foi observado em média 1803 OPG aproximadamente a mais quando comparados com os indivíduos GG e por isso sugere-se que a seleção para este SNP deva ser realizada visando aumentar a frequência dos indivíduos homozigotos para o alelo G.

Com relação ao SNP TNXBS1 verificou-se que a diferença média observada entre os indivíduos homozigotos para os diferentes alelos não foram consideradas significativas. No entanto, apesar da média dos indivíduos heterozigotos não se diferenciar da média dos indivíduos homozigotos para o alelo T, este era significativamente diferente do homozigoto para o alelo C, sugerindo assim que a seleção seja feita visando aumentar a frequência dos indivíduos homozigotos para o alelo C.

Quanto ao SNP TNXBS2 verificou-se que a média observada entre indivíduos homozigotos para os diferentes alelos eram estatisticamente diferentes. Nos indivíduos GG foi observado em média 638 OPG aproximadamente a mais quando comparados com os indivíduos AA. No entanto, a média dos indivíduos AA não se diferenciou estatisticamente da média dos indivíduos GA, mas que por sua vez foi diferente estatisticamente da média dos indivíduos GG. Sendo assim sugere-se que a seleção para este SNP deva ser realizada visando aumentar a frequência dos indivíduos heterozigotos e homozigotos para o alelo A.

Tabela 14 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica OPG

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOM	188,98	169,05	0,2645	-366,19	510,94	0,4738	8,8275	283,57	0,9752	--
BAT2S2	-162,98	110,07	0,1397	323,16	220,35	0,143	75,284	140,01	0,591	--
BAT2S1	-340,98	288,63	0,2383	2583,54	1253,73	0,04	1195,87	700,25	0,0883	--
BAT5S1	51,04	125,86	0,6854	119,34	312,85	0,703	228,68	192,02	0,2342	--
BFS1	39,20	370,74	0,9159	--	--	--	--	--	--	--
BFS2	-0,99	116,01	0,9932	-63,1665	278,97	0,8209	-75,7699	180,44	0,6747	--
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	15,28	131,33	0,9075	-64,5014	336,36	0,848	35,41	216,77	0,8703	--
C2S3	-10,59	124,9	0,9325	-98,7808	302,45	0,7441	-133,11	188,69	0,4808	--
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	30,51	119,58	0,7988	64,5715	277,52	0,8161	167,65	182,74	0,3593	--
G6BS1	-21,10	120,72	0,8614	-164,81	272,88	0,5461	282,05	172,62	0,1029	--
FecG ^E	154,80	150,66	0,3049	-129,73	489,48	0,7911	129,45	277,54	0,6411	--
JQMSH5S3	111,57	160,62	0,4878	-990,6	568,63	0,0821	513,13	315	0,1039	--
JQMSH5S4	-74,68	163,23	0,6476	121,36	512,83	0,813	-20,7671	291,9	0,9433	--
JQMSH5S1	238,26	140,55	0,0910	-600,41	398,1	0,132	102,63	233,26	0,6601	--
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	-554,55	207,12	0,0078	1802,73	706,8	0,011	495,11	414,1	0,2323	G
LTAS3	-430,88	279,78	0,1245	910,26	818,67	0,2667	42,442	523,17	0,9354	--
LTAS2	-273,84	203,64	0,1797	1122,46	842,47	0,1834	350,49	450,21	0,4367	--
TNFaS4	197,77	145,92	0,1762	-550,5	515,22	0,2858	-104,55	286,63	0,7154	--
TNFaS3	36,91	145,56	0,8000	575,47	511,04	0,2606	437,2	283,5	0,1236	--
TNFaS5	221,03	198,64	0,2667	-642,36	738,93	0,3851	130,84	406,46	0,7477	--
TNFaS2	-54,36	120,16	0,6513	209,06	270,59	0,4401	141,58	172,18	0,4113	--
TNFaS1	125,08	109,7	0,2551	-249,75	219,65	0,2559	-7,3978	144,24	0,9591	--
TNXBS1	282,92	125,1	0,0244	-276,12	313,15	0,3782	-300,6	195,86	0,1253	C
TNXBS2	290,45	104,91	0,0060	-638,19	211,94	0,0027	262,44	148,43	0,0776	A

Tabela 15 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias (Pr > |t|) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para OPG

SNP	CONTRASTE		ESTIMATIVA	EP	Pr > t
JQNG22S1	AA	AG	1396,47	730,50	0,056
	AA	GG	1802,73	706,80	0,011
	AG	GG	406,26	243,12	0,095
TNXBS1	CC	TC	-438,66	161,02	0,007
	CC	TT	-276,12	313,15	0,378
	TC	TT	162,53	315,96	0,607
TNXBS2	AA	GA	-56,66	168,69	0,737
	AA	GG	-638,19	211,94	0,003
	GA	GG	-581,53	195,10	0,003

Figura 11 - Média de OPG para cada um dos genótipos observados do SNP JQNG22S1

Figura 12 - Média de OPG para cada um dos genótipos observados do SNP TNXBS1

Figura 13 - Média de OPG para cada um dos genótipos observados do SNP TNXBS2

6.2.1.2 LOG_OPG

As estimativas dos efeitos de substituição alélica, do efeito aditivo e do desvio de dominância obtidas para a característica LOG_OPG estão apresentadas na Tabela 16. Verificou-se que assim como o efeito de substituição alélica dos SNPs JQNG22S1 e TNXBS1 foram significativas para OPG, estes foram também significativos para LOG_OPG além do SNP APOM.

Observou-se que para esses SNPs (APOMS1, JQNG22S1 e TNXBS1) a cada troca do alelo desfavorável pelo alelo favorável gerava uma redução de aproximadamente 0,20, 0,29 e 0,22 LOG_OPG, respectivamente. No entanto, apenas o SNP TNXBS1 apresentou efeito aditivo significativo. Verificou-se que o SNP APOMS1 estava localizado em região de exon do gene C20H6orf47 e que a troca do alelo A pelo alelo G causava uma alteração na codificação dos aminoácidos de glutamina para arginina.

Nas figuras 14, 15 e 16 têm-se os gráficos representando as médias dos quadrados mínimos referentes ao LOG_OPG em relação ao genótipo observado de cada SNP com estimativas significativas para o efeito de substituição alélica. Assim como no OPG, o desejado para o LOG_OPG é a redução dos valores observados. Sendo assim, os alelos considerados favoráveis para os SNPs APOM, JQNG22S1 e TNXBS1 seriam A, G e C, respectivamente.

Na tabela 17 estão apresentados os resultados das diferenças dos quadrados mínimos entre os diferentes genótipos dos SNPs os quais apresentaram efeito significativo para a substituição alélica.

Com relação ao SNP APOM verificou-se que apesar da diferença entre médias dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos não terem sido consideradas significativamente diferente, houve diferença significativa da média dos indivíduos heterozigotos com a média dos indivíduos homozigotos para o alelo G demonstrando que a seleção deva ser direcionada para a obtenção de indivíduos portadores do alelo A. Muito provavelmente a diferença entre os diferentes homozigotos não tenha sido considerada diferente uma vez que o EP observado foi maior do que a própria estimativa.

Quanto ao SNP JQNG22S1, apesar de não ter sido observada diferenças estatística para nenhuma das estimativas entre os diferentes genótipos, a distribuição das médias apresentada na figura 16 sugere que a seleção para alcançar a redução do LOG_OPG seja

voltada para a manutenção dos indivíduos portadores do alelo G, assim como ocorrido para a característica OPG.

Tabela 16 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica LOG_OPG

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOMS1	0,2023	0,1014	0,0469	-0,2989	0,3177	0,3471	0,07601	0,1758	0,6657	A
BAT2S2	-0,01088	0,06928	0,8753	0,02041	0,139	0,8833	0,01275	0,09397	0,8921	--
BAT2S1	-0,08006	0,1755	0,6487	0,9825	0,7025	0,1624	0,5455	0,4012	0,1744	--
BAT5S1	0,0493	0,07734	0,5243	-0,1438	0,1952	0,4616	-0,04604	0,1212	0,7041	--
BFS1	0,3428	0,2153	0,1123	--	--	--	--	--	--	--
BFS2	-0,04736	0,07264	0,5149	0,09471	0,1782	0,5952	0,000022	0,1162	0,9998	--
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	0,1134	0,07999	0,1571	-0,2882	0,2118	0,1739	0,06017	0,136	0,6583	--
C2S3	-0,05776	0,07984	0,4700	0,2153	0,1951	0,2702	0,109	0,1224	0,3734	--
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	-0,06277	0,07254	0,3875	0,2413	0,1707	0,158	0,1455	0,1134	0,2002	--
G6BS1	0,07283	0,07271	0,3172	-0,2649	0,1699	0,1193	0,1489	0,1098	0,1755	--
FecG ^E	-0,0746	0,09355	0,4258	-0,2764	0,3119	0,3759	-0,3004	0,1773	0,0906	--
JQMSH5S3	-0,07254	0,09928	0,4655	0,3019	0,3585	0,4002	-0,1054	0,2004	0,5992	--
JQMSH5S4	0,1219	0,09755	0,2125	-0,2665	0,3116	0,3927	-0,01695	0,1801	0,925	--
JQMSH5S1	0,03068	0,08473	0,7175	-0,2743	0,2392	0,2519	0,1803	0,1428	0,2073	--
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	-0,291	0,1227	0,0183	0,6963	0,4068	0,0875	0,08662	0,2463	0,7252	G
LTAS3	-0,3024	0,1635	0,0654	0,3905	0,4654	0,4017	-0,1997	0,3081	0,5171	--
LTAS2	-0,02993	0,1227	0,8074	-0,4769	0,5441	0,3811	-0,3252	0,2952	0,2711	--
TNFaS4	0,1819	0,09425	0,0545	-0,5868	0,3431	0,0876	-0,1486	0,191	0,437	--
TNFaS3	0,1792	0,09143	0,0509	-0,5865	0,3286	0,0748	-0,1532	0,1834	0,4039	--
TNFaS5	0,01641	0,1192	0,8906	0,3164	0,4641	0,4957	-0,2279	0,259	0,3793	--
TNFaS2	0,02738	0,07163	0,7026	-0,03051	0,1634	0,852	0,03206	0,1086	0,768	--
TNFaS1	0,03869	0,06675	0,5626	-0,07734	0,1336	0,5629	0,004931	0,09273	0,9576	--
TNXBS1	0,2244	0,07484	0,0029	-0,4389	0,1867	0,0191	-0,01062	0,1198	0,9294	C
TNXBS2	0,1266	0,06655	0,0582	-0,2535	0,1344	0,0598	0,002355	0,09779	0,9808	--

Com relação ao SNP TNXBS1 as diferenças observadas entre as médias dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos foram consideradas estatisticamente diferentes assim como a diferença entre a média dos indivíduos CC com os indivíduos TC. Levando em consideração o fato que o efeito aditivo para este SNP tenha sido considerado significativo e a distribuição das médias apresentadas na figura 16, acreditasse que a diferença entre as médias dos indivíduos TC e os indivíduos TT só não foram considerados também significativa devido ao elevado EP observado para essa

estimativa. No entanto, assim como o que ocorreu na característica OPG, o indicado é que a seleção seja voltada para a manutenção dos indivíduos portadores do alelo C.

Figura 14 - Média de LOG_OPG para cada um dos genótipos observados do SNP APOMS1

Figura 15 - Média de LOG_OPG para cada um dos genótipos observados do SNP JQNG22S1

Figura 16 - Média de LOG_OPG para cada um dos genótipos observados do SNP TNXBS1

Tabela 17 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > |t|$) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para LOG_OPG

SNP	CONTRASTE		ESTIMATIVA	EP	Pr > t
APOMS1	AA	GA	-0,07343	0,3148	0,8156
	AA	GG	-0,2989	0,3177	0,3471
	GA	GG	-0,2254	0,1147	0,0499
JQNG22S1	AA	AG	0,4348	0,4266	0,3085
	AA	GG	0,6963	0,4068	0,0875
	AG	GG	0,2615	0,1488	0,0793
TNXBS1	CC	TC	-0,2301	0,09854	0,0199
	CC	TT	-0,4389	0,1867	0,0191
	TC	TT	-0,2088	0,1908	0,2743

6.2.1.3 CC

As estimativas dos efeitos de substituição alélica, do efeito aditivo e do desvio de dominância obtidas para a característica CC estão apresentadas na Tabela 18.

Verificou-se que dos SNPs avaliados quatro deles (BAT2S1, G6BS1, JQMSH5S4 e LTAS3) apresentaram efeitos de substituição alélica significativos onde para cada troca do alelo desfavorável pelo alelo favorável gerava um aumento de aproximadamente 0,16, 0,07, 0,15 e 0,25, respectivamente na característica CC. Sendo assim, a média dos indivíduos homozigotos para os alelos favoráveis nesses SNPs teoricamente teriam o dobro desses valores a mais na CC quando comparados com a média dos indivíduos homozigotos para os alelos desfavoráveis. Verificou-se que nenhum desses quatro SNPs estavam localizados nos genes apontados por Qin et al. (2008), mas em regiões localizadas muito próximas à eles.

Nas figuras 17, 18, 19 e 20 têm se os gráficos representando as médias dos quadrados mínimos referentes à CC em relação ao genótipo observado para cada SNP que apresentaram estimativas significativas quanto ao efeito de substituição alélica. Como a CC reflete as reservas energéticas dos animais, limitando os limites dentro de cada categoria, o desejado é que tenhamos animais com a CC mais elevada. Sendo assim, os alelos considerados favoráveis para os SNPS BAT2S1, G6BS1, JQMSH5S4 e LTAS3 seriam C, T, A e A respectivamente.

Tabela 18 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica CC

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOMS1	-0,02505	0,04673	0,5922	0,0921	0,1468	0,5307	0,03016	0,0813	0,7108	--
BAT2S2	0,04078	0,03258	0,2117	-0,08177	0,06523	0,2105	0,005214	0,04164	0,9004	--
BAT2S1	-0,1619	0,07894	0,0410	0,5332	0,3255	0,1022	0,1356	0,1843	0,4624	C
BAT5S1	-0,02767	0,03457	0,4241	0,08016	0,08648	0,3544	0,02498	0,05294	0,6372	--
BFS1	0,138	0,1017	0,1759	--	--	--	--	--	--	--
BFS2	-0,00877	0,0327	0,7888	-0,01464	0,07886	0,8528	-0,03799	0,05138	0,46	--
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	0,003906	0,03613	0,9140	0,05159	0,09359	0,5817	-0,06034	0,06011	0,3158	--
C2S3	-0,00701	0,03494	0,8411	-0,03088	0,08439	0,7145	-0,0506	0,05283	0,3387	--
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,002771	0,03263	0,9324	-0,05619	0,07571	0,4582	-0,06694	0,05031	0,1838	--
G6BS1	0,06901	0,03306	0,0376	-0,11	0,07509	0,1434	-0,03766	0,04778	0,4309	T
FecG ^E	0,04297	0,04234	0,3108	-0,1168	0,1424	0,4126	-0,02165	0,07995	0,7867	--
JQMSH5S3	0,02097	0,0446	0,6386	0,1125	0,1611	0,4855	-0,1024	0,08899	0,2502	--
JQMSH5S4	-0,1479	0,0449	0,0011	0,3143	0,1427	0,028	0,01371	0,08198	0,8672	A
JQMSH5S1	0,05277	0,03841	0,1705	-0,07592	0,1086	0,4847	-0,0248	0,06445	0,7005	--
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	0,1013	0,05649	0,0740	-0,2084	0,1896	0,2721	-0,00436	0,112	0,969	--
LTAS3	-0,246	0,07548	0,0012	0,567	0,2116	0,0076	0,07066	0,1397	0,6132	A
LTAS2	-0,0238	0,05549	0,6683	-0,1311	0,2315	0,5714	-0,1100	0,1245	0,3775	--
TNFA4S4	0,009599	0,04257	0,8217	-0,2331	0,1504	0,1221	-0,1432	0,08337	0,0866	--
TNFA3S3	0,005892	0,04148	0,8871	-0,2258	0,1469	0,1247	-0,1432	0,08111	0,0782	--
TNFA5S5	0,04384	0,05455	0,4222	0,07375	0,2019	0,715	-0,1066	0,1118	0,3411	--
TNFA2S2	-0,00472	0,03315	0,8869	-0,08825	0,0752	0,241	-0,1292	0,04775	0,007	--
TNFA1S1	0,01992	0,03095	0,5203	-0,03529	0,06184	0,5684	-0,06713	0,04046	0,0977	--
TNXBS1	-0,05265	0,03448	0,1278	0,09319	0,08507	0,2737	0,01304	0,0536	0,8079	--
TNXBS2	-0,03446	0,03014	0,2538	0,06814	0,0611	0,2653	0,00336	0,04328	0,9382	--

Na tabela 19 estão apresentados os resultados das diferenças dos quadrados mínimos entre os diferentes genótipos dos SNPs os quais apresentaram efeito significativo para a substituição alélica.

Verificou-se que apesar da diferença considerável observada entre as médias dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos no SNP BAT2S1 não foi possível observar diferenças estatísticas entre eles. O mesmo ocorreu com as diferenças observadas entre os demais genótipos para este mesmo SNP. Acredita-se que apesar do efeito significativo para a substituição alélica, e das estimativas terem alcançado valores consideráveis, as diferenças observadas entre os diferentes genótipos só não foram significativas uma vez que os valores observados do EP estavam muito próximos ao das estimativas.

Com relação ao SNP G6BS1 a única diferença significativa observada foi com relação à média dos indivíduos CC e CT. O valor negativo para a estimativa (-0.0927) demonstra que a média dos indivíduos CC seria menor do que os indivíduos CT, também observado na figura 21 comprovando assim, a preferência que deve ser dada pelo alelo T.

Tabela 19 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias ($Pr > |t|$) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para CC

SNP	CONTRASTE		ESTIMATIVA	EP	$Pr > t $
BAT2S1	CC	TC	0,4021	0,3360	0,2321
	CC	TT	0,5332	0,3255	0,1022
	TC	TT	0,1310	0,0894	0,1434
G6BS1	CC	CT	-0,0927	0,0446	0,0383
	CC	TT	-0,1100	0,0750	0,1434
	CT	TT	-0,0174	0,0734	0,8133
JQMSH5S4	AA	AG	0,1709	0,1446	0,2377
	AA	GG	0,3143	0,1427	0,028
	AG	GG	0,1434	0,0521	0,0061
LTAS3	AA	AG	0,3542	0,2268	0,1189
	AA	GG	0,5670	0,2116	0,0076
	AG	GG	0,2128	0,1000	0,0337

Quanto ao SNP JQMSH5S4 foi possível observar diferenças significativas entre a média dos genótipos dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos e entre a média dos indivíduos AG e GG, mas não entre a média dos indivíduos AG e AA. No entanto, ao verificarmos o gráfico 22 e sem levar em consideração a significância entre as diferenças das médias dos diferentes genótipos notamos claramente o efeito significativo da substituição alélica.

O mesmo comportamento dos diferentes genótipos observados no SNP JQMSH5S4 também ocorreu com o SNP LTAS3. Verificou-se que os indivíduos homozigotos para o alelo A apresentavam em média 0.57 a mais na CC quando comparados com os indivíduos homozigotos para o alelo G. A média dos indivíduos heterozigotos também se diferenciou estatisticamente da media dos indivíduos homozigotos para o alelo G em aproximadamente 0.21 na CC demonstrando que de fato o alelo favorável para este SNP seria o alelo A.

Figura 17 - Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP BAT2S1.

Figura 18 - Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP G6BS1.

Figura 19 - Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP JQMSH5S4.

Figura 20 - Média de CC para cada um dos genótipos observados do SNP LTAS3.

6.2.1.4 FAMACHA

As estimativas dos efeitos de substituição alélica, do efeito aditivo e do desvio de dominância obtidas para a característica FAMACHA estão apresentadas na tabela 20. Verificou-se que apesar de nenhum dos SNPs avaliados terem apresentados efeito de substituição alélica significativo, os SNPs FecG^E e LTAS3 podem ser considerados sugestivos uma vez que $p < 0,10$. Nesse caso, a troca do alelo desfavorável por um alelo favorável causaria uma redução de aproximadamente 0,12 e 0,21 no escore do FAMACHA. Além disso, o SNP LTAS3 também apresentou efeitos significativos tanto para o aditivo quanto para o de desvio de dominância, demonstrando que indivíduos homozigotos para o alelo A apresentam em média aproximadamente de 0.91 a menos no escore do FAMACHA do que os indivíduos homozigotos para o alelo G, o que é desejável, pois quanto menor o FAMACHA, mais corada é a mucosa ocular dos animais e portanto, menos anêmicos.

Uma vez que o escore do FAMACHA varia de 1 à 5, essa diferença entre as médias dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos, é bastante expressiva pois pode implicar na redução do escore FAMACHA se a seleção for voltada para a manutenção dos indivíduos portadores do alelo A.

Com relação ao SNP FecG^E apesar das diferenças entre as médias dos genótipos não terem sido significativas (Tabela 21), sugere-se que alelo T seja o alelo favorável uma vez que a diferença observada entre as médias dos indivíduos homozigotos para os diferentes alelos T apresentam em média menor escore FAMACHA quando comparados com a média dos indivíduos homozigotos para o alelo G.

O SNP FecG^E esta localizado no exon 2 do gene GDF9 e a troca do alelo T pelo alelo G leva à alteração do aminoácido codificado pelo códon onde ele se encontra, de uma fenilalanina por uma cisteína. Já o SNP LTAS3, como demonstrado anteriormente, este se encontra localizado em uma região intergênica.

Tabela 20 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica FAMACHA

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOM	0,04061	0,07474	0,5873	-0,04617	0,2281	0,8397	0,02578	0,1267	0,8388	--
BAT2S2	0,06496	0,05195	0,2121	-0,1207	0,1039	0,2457	-0,1081	0,06783	0,1115	--
BAT2S1	-0,04943	0,129	0,7018	-0,3761	0,5146	0,4652	-0,3143	0,2942	0,2859	--
BAT5S1	-0,02842	0,05619	0,6133	0,04742	0,1412	0,7371	-0,00967	0,08737	0,9119	--
BFS1	-0,04841	0,1631	0,7668	--	--	--	--	--	--	--
BFS2	0,06178	0,05352	0,2492	-0,1883	0,1301	0,1484	-0,07403	0,08472	0,3825	--
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-0,06236	0,05887	0,2903	0,2924	0,1543	0,0584	-0,1649	0,09875	0,0955	--
C2S3	0,04224	0,05707	0,4598	-0,1392	0,1389	0,3166	-0,05996	0,08697	0,4908	--
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,03401	0,05293	0,5210	-0,1059	0,1239	0,3932	-0,0485	0,08225	0,5556	--
G6BS1	-0,00687	0,05358	0,8981	-0,03833	0,1239	0,7571	0,06641	0,07928	0,4026	--
FecG ^E	-0,1164	0,06962	0,0956	0,4064	0,2401	0,0911	0,1194	0,1344	0,3745	T
JQMSH5S3	-0,03012	0,07334	0,6816	0,2091	0,2696	0,4382	-0,09811	0,1491	0,5108	--
JQMSH5S4	0,05593	0,072	0,4378	-0,3871	0,2244	0,085	-0,2069	0,1295	0,1106	--
JQMSH5S1	-0,02752	0,06185	0,6566	0,2144	0,1724	0,2141	-0,1362	0,1028	0,1854	--
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	-0,00669	0,09076	0,9413	0,2748	0,2995	0,3593	0,1965	0,18	0,2754	--
LTAS3	0,2135	0,121	0,0786	-0,9062	0,337	0,0074	-0,4574	0,2247	0,0422	A
LTAS2	-0,04494	0,09099	0,6217	0,07313	0,3889	0,8509	-0,01022	0,2103	0,9612	--
TNFaS4	0,01028	0,06976	0,8829	-0,3318	0,2547	0,1933	-0,2056	0,1408	0,1446	--
TNFaS3	-0,01566	0,06795	0,8179	-0,0876	0,2461	0,722	-0,07886	0,1361	0,5624	--
TNFaS5	0,01378	0,08815	0,8759	0,07899	0,3332	0,8127	-0,07007	0,1858	0,7062	--
TNFaS2	0,04754	0,05324	0,3726	-0,1326	0,1213	0,2747	-0,05096	0,07841	0,516	--
TNFaS1	-0,06892	0,04956	0,1653	0,1383	0,09917	0,1637	-0,02756	0,06665	0,6794	--
TNXBS1	-0,05018	0,05575	0,3687	0,1216	0,1375	0,3771	-0,02281	0,08734	0,794	--
TNXBS2	-0,05548	0,04803	0,2489	0,11	0,09712	0,258	0,004721	0,06981	0,9461	--

Tabela 21 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias (Pr > |t|) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para FAMACHA

SNP	CONTRASTE		ESTIMATIVA	EP	Pr > t
FecG ^E	GG	GT	0,3226	0,2424	0,1837
	GG	TT	0,4064	0,2401	0,0911
	GT	TT	0,0837	0,0787	0,2874
LTAS3	AA	AG	-0,9105	0,3630	0,0124
	AA	GG	-0,9062	0,3370	0,0074
	AG	GG	0,0043	0,1613	0,9789

Figura 21 - Média de FAMACHA para cada um dos genótipos observados do SNP FecG^E

Figura 22 - Média de FAMACHA para cada um dos genótipos observados do SNP LTAS3

6.2.1.5 FEZES

As estimativas dos efeitos de substituição alélica, do efeito aditivo e do desvio de dominância obtidas para a característica FEZES estão apresentadas na tabela 22. Verificou-se que apesar de nenhum dos SNPs avaliados ter apresentado estimativa para o efeito de substituição alélica significativo, o SNP BAT2S2 pode ser considerado sugestivo uma vez que $p < 0,10$. No entanto, essa estimativa é considerada muito baixa já que a troca do alelo desfavorável por um alelo favorável causaria uma redução de apenas 0,05 na característica. Não houve diferença estatística entre as estimativas dos diferentes genótipos (Tabela 23) do SNP BAT2S2, localizado em região intergênica e por isso, nem o gráfico de distribuição e nem a indicação do alelo favorável foram apresentados.

Tabela 22 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica CF.

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOM	0,001388	0,04568	0,9758	0,08521	0,1423	0,5494	0,06368	0,07893	0,4201	--
BAT2S2	-0,0597	0,03112	0,0560	0,122	0,06244	0,0512	-0,02457	0,04235	0,562	--
BAT2S1	-0,02635	0,07939	0,7402	-0,1443	0,3119	0,6439	-0,1315	0,1792	0,4635	--
BAT5S1	0,05555	0,03482	0,1116	-0,1129	0,08798	0,1999	-0,00183	0,05473	0,9733	--
BFS1	0,02727	0,09786	0,7807	--	--	--	--	--	--	--
BFS2	0,01165	0,03251	0,7204	0,01454	0,07997	0,8558	0,0426	0,05238	0,4164	--
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-0,03015	0,03567	0,3987	0,03964	0,09526	0,6775	0,02001	0,06109	0,7433	--
C2S3	0,006078	0,03572	0,8650	0,04457	0,08747	0,6106	0,06201	0,05519	0,2616	--
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,001727	0,0319	0,9568	0,0103	0,07547	0,8915	0,01726	0,0505	0,7327	--
G6BS1	-0,00892	0,03258	0,7845	0,08712	0,07647	0,255	-0,08595	0,04984	0,0851	--
FecG ^E	0,05483	0,04223	0,1951	-0,1412	0,1465	0,3354	-0,02183	0,08276	0,7921	--
JQMSH5S3	-0,0718	0,04469	0,1091	0,1211	0,1653	0,4641	0,01495	0,09239	0,8715	--
JQMSH5S4	-0,01504	0,04348	0,7296	-0,06416	0,1376	0,6411	-0,07078	0,08007	0,377	--
JQMSH5S1	0,007583	0,03773	0,8408	0,0308	0,1057	0,7709	-0,03958	0,06375	0,5349	--
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	0,02233	0,05532	0,6868	-0,07882	0,1816	0,6643	-0,0263	0,1107	0,8124	--
LTAS3	0,0143	0,07413	0,8471	-0,1519	0,2069	0,4633	-0,1191	0,1395	0,3935	--
LTAS2	-0,03888	0,05446	0,4757	0,1974	0,2417	0,4143	0,07302	0,1316	0,5793	--
TNFaS4	0,05622	0,04239	0,1856	-0,1252	0,1581	0,4287	-0,00846	0,08818	0,9236	--
TNFaS3	0,04105	0,04143	0,3225	-0,06251	0,1522	0,6814	0,01306	0,08508	0,878	--
TNFaS5	0,02821	0,05304	0,5952	-0,01895	0,2054	0,9265	-0,02457	0,1153	0,8313	--
TNFaS2	-0,03649	0,03221	0,2581	0,09931	0,07382	0,179	0,03585	0,04903	0,4649	--
TNFaS1	0,009762	0,02996	0,7448	-0,01858	0,05993	0,7566	-0,04221	0,04206	0,3159	--
TNXBS1	-0,03445	0,03366	0,3067	0,01616	0,08352	0,8467	0,05748	0,05389	0,2865	--
TNXBS2	-0,01661	0,03007	0,5811	0,03993	0,0607	0,5109	-0,03724	0,04499	0,4082	--

Tabela 23 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias (Pr > |t|) para o SNP que apresentou efeito de substituição alélica significativos para CF.

SNP	CONTRASTE		ESTIMATIVA	EP	Pr > t
BAT2S2	AA	GA	0,0364	0,0507	0,4735
	AA	GG	0,1220	0,0624	0,0512
	GA	GG	0,0855	0,0543	0,1161

6.2.1.6 PELO

As estimativas dos efeitos de substituição alélica, do efeito aditivo e do desvio de dominância obtidas para a característica PELO estão apresentadas na tabela 24. Dos SNPs avaliados, quatro deles apresentaram estimativas significativas para o efeito de substituição alélica (BAT2S1, BFS1, BFS2 e JQMSH5S3), no entanto, em nenhum deles foi possível detectar efeito significativo nem para o efeito aditivo e nem para o efeito de desvio de dominância. Por ser um SNP que apresentava apenas duas das três formas de genótipos possíveis, não foi possível estimar os efeitos aditivo e de desvio de dominância para o SNP BFS1, observado em região de intron do gene CFB. Além disso, a frequência observada para um dos alelos deste SNP é considerada muito elevada (97,41%) quando comparada com a frequência do alelo complementar (2,60%). De acordo com Martins (2009) quando isso acontece as estimativas dos seus efeitos podem estar sub ou superestimados. Os SNPs BFS2 e JQMSH5S3 estavam localizados em regiões de introns de seus respectivos genes, e o SNP BAT2S1 estava localizado em região intergênica.

Verificou-se que mesmo sendo consideradas significativas, as estimativas para o efeito de substituição alélica para os SNPs BAT2S1, BFS1, BFS2 e JQMSH5S3 são consideradas muito pequenas sugerindo que essa característica possa ser influenciada por diversos alelos de pequeno efeito além da grande influência dos efeitos ambientais em que os animais se encontram.

Com exceção do SNP BFS1 que apresentou apenas uma das formas do homozigoto, as estimativas das diferenças das médias dos quadrados mínimos entre os genótipos dos demais SNPs (Tabela 25) não foram consideradas significativas e por isso os gráficos não foram apresentados e os alelos favoráveis não foram sugeridos.

Tabela 24 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica PELO

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOM	0,03309	0,03098	0,2863	-0,07133	0,09595	0,4575	-0,00375	0,05336	0,944	--
BAT2S2	0,00655	0,02104	0,7558	-0,01076	0,04218	0,7986	-0,02514	0,02845	0,3772	--
BAT2S1	-0,1184	0,05655	0,0371	0,2779	0,2566	0,2792	0,02529	0,1416	0,8583	T
BAT5S1	-0,00958	0,02374	0,6869	0,07273	0,06008	0,2265	0,05417	0,03728	0,1467	--
BFS1	0,1515	0,06873	0,0282	--	--	--	--	--	--	C
BFS2	0,04476	0,02214	0,0440	-0,0745	0,05432	0,1707	0,0171	0,03574	0,6325	C
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-0,03069	0,02446	0,2104	0,06029	0,06507	0,3545	0,00106	0,04184	0,9798	--
C2S3	0,04393	0,02416	0,0701	-0,06545	0,05908	0,2684	0,02467	0,03738	0,5096	--
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,03905	0,02175	0,0735	-0,03485	0,05123	0,4965	0,05486	0,03442	0,1114	--
G6BS1	0,000982	0,02197	0,9644	-0,00868	0,05152	0,8663	0,008409	0,03363	0,8026	--
FecG ^E	-0,01017	0,02894	0,7256	0,09554	0,1002	0,3405	0,05209	0,05661	0,3578	--
JQMSH5S3	0,06438	0,03027	0,0342	-0,2008	0,1119	0,0731	0,04786	0,06251	0,4441	C
JQMSH5S4	0,04112	0,02972	0,1675	-0,1189	0,09392	0,2061	-0,02754	0,05466	0,6146	--
JQMSH5S1	-0,03543	0,02547	0,1652	0,06678	0,07117	0,3484	0,003533	0,04292	0,9344	--
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	0,003566	0,03813	0,9255	0,3099	0,1291	0,0166	0,2351	0,07746	0,0025	--
LTAS3	-0,02508	0,05225	0,6316	-0,09884	0,1507	0,5122	-0,1355	0,09882	0,1708	--
LTAS2	-0,0258	0,03742	0,4910	0,2091	0,1636	0,2016	0,09669	0,08931	0,2794	--
TNFaS4	-0,01924	0,02881	0,5048	0,05997	0,111	0,5893	0,0139	0,06139	0,8209	--
TNFaS3	-0,02331	0,02828	0,4106	0,1333	0,1069	0,2127	0,0567	0,0593	0,3394	--
TNFaS5	0,01924	0,03625	0,5959	-0,1091	0,1384	0,4309	0,04669	0,07794	0,5494	--
TNFaS2	-0,00439	0,022	0,8421	-0,00027	0,05067	0,9958	-0,01205	0,03342	0,7185	--
TNFaS1	-0,0227	0,02023	0,2628	0,04673	0,04045	0,2484	-0,03834	0,02819	0,1742	--
TNXBS1	-0,02933	0,02304	0,2040	0,02655	0,05732	0,6434	0,03476	0,03689	0,3465	--
TNXBS2	-0,0114	0,02046	0,5779	0,01462	0,04124	0,723	0,04588	0,03051	0,1333	--

Tabela 25 - Estimativas para as diferenças das médias dos quadrados mínimos, erro padrão (EP) e significâncias (Pr > |t|) para os diferentes SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativos para PELO

SNP	CONTRASTE		ESTIMATIVA	EP	Pr > t
BAT2S1	CC	TC	0,1643	0,2629	0,5324
	CC	TT	0,2779	0,2566	0,2792
	TC	TT	0,1137	0,0625	0,0692
BFS1	CT	TT	-0,1515	0,0687	0,0278
BFS2	CC	CT	-0,0202	0,0560	0,7191
	CC	TT	-0,0745	0,0543	0,1707
	CT	TT	-0,0543	0,0299	0,0693
JQMSH5S3	CC	CT	-0,0525	0,0340	0,1230
	CC	TT	-0,2008	0,1119	0,0731
	CT	TT	-0,1482	0,1136	0,1925

6.2.1.7 Parâmetros hematológicos (HCT, WBC, RBC, HGB e PLT)

Nas tabelas 26, 27, 28, 29 e 30 estão apresentadas as estimativas dos efeitos de substituição alélica, do efeito aditivo e do desvio de dominância obtidas para a característica HCT, WBC, RBC, HGB e PLT, respectivamente. Verificou-se que apesar do SNP BFS1 não apresentar uma das formas de alelo em homozigose as estimativas de substituição alélica para este SNP foi considerada significativa tanto para a característica HCT quanto para HGB, apesar da baixa estimativa observada e da sua localização em região de intron do gene CFB.

Os demais NSPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativo para pelo menos um dos parâmetros hematológicos foram: G6BS1 para WBC e RBC, FecG^E para WBC, TNXBS1 para RBC e PLT, e TNXBS2 para WBC e RBC, onde apenas o FecG^E e o TNXBS2 se encontram em região de exon de seus respectivos genes. Outros três SNPs também foram significativos para PLT (JQMSH5S4, JQMSH5S1 e TNFaS1), dos quais apenas o TNFaS1 se localizava em região de exon do gene TNFa, onde a troca do alelo A por G gerava uma troca de aminoácido de tirosina para cisteína. Ao avaliarmos as estimativas relacionadas com a substituição do alelo desfavorável pelo alelo favorável verifica-se baixa magnitude dessas estimativas demonstrando a pequena influência de cada um desses SNPs na expressão das características às quais eles se encontram relacionadas e por isso o alelo favorável não foi indicado.

Ao contrário do que imaginávamos, não houve nenhum SNP que apresentasse efeito de substituição alélica significativo tanto para FAMACHA como para HCT e/ou HGB.

Verificou-se que dos SNPs que apresentaram efeito de substituição alélica significativo para as diferentes características nenhum deles pode ser considerados de grande efeito, sugerindo assim que as características que atuam sobre a resistência às parasitoses gastrintestinais dos indivíduos devam ser características poligênicas, influenciadas por diversos polimorfismos localizados em diferentes genes, cada um com pequeno efeito sobre as características.

Tabela 26 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica HCT

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância		
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t
APOM	-0,3396	0,4398	0,4405	1,7341	1,3812	0,2097	0,7566	0,7639	0,3223
BAT2S2	0,3221	0,2992	0,2826	-0,6867	0,6	0,2528	0,4032	0,4087	0,3243
BAT2S1	1,009	0,7568	0,1834	-0,769	3,0364	0,8002	0,8229	1,7339	0,6352
BAT5S1	-0,1223	0,3346	0,7150	0,01905	0,8459	0,982	-0,2294	0,5256	0,6627
BFS1	1,8798	0,9244	0,0428	--	--	--	--	--	--
BFS2	-0,2237	0,3158	0,4792	-0,03348	0,7773	0,9657	-0,5397	0,5085	0,2889
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	0,1337	0,3467	0,6999	0,372	0,923	0,687	-0,6221	0,5928	0,2943
C2S3	-0,1783	0,3484	0,6092	-0,1412	0,8544	0,8688	-0,542	0,5386	0,3146
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	-0,2263	0,3088	0,4642	-0,173	0,7313	0,813	-0,778	0,4885	0,1117
G6BS1	0,4291	0,3128	0,1711	-0,9968	0,7371	0,1767	0,1707	0,4796	0,722
FecG ^E	0,6531	0,4036	0,1067	-0,231	1,3481	0,864	0,768	0,7712	0,3197
JQMSH5S3	0,04231	0,4282	0,9213	-0,3074	1,5479	0,8426	0,1502	0,8688	0,8628
JQMSH5S4	-0,5309	0,4232	0,2106	1,5758	1,3551	0,2453	0,3812	0,7847	0,6273
JQMSH5S1	0,1062	0,3625	0,7697	0,0493	1,0273	0,9617	-0,2218	0,6165	0,7191
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	-0,00522	0,5361	0,9922	-1,1396	1,7707	0,52	-0,8757	1,0729	0,4147
LTAS3	0,7822	0,7081	0,2702	1,0129	2,0051	0,6136	2,4139	1,3316	0,0703
LTAS2	0,1584	0,5241	0,7627	-1,7379	2,3551	0,4608	-0,863	1,2807	0,5006
TNFaS4	-0,4491	0,4053	0,2687	1,6545	1,4833	0,2651	0,5045	0,8285	0,5428
TNFaS3	-0,4588	0,3966	0,2482	0,4603	1,4318	0,748	-0,3076	0,8015	0,7012
TNFaS5	0,03461	0,5082	0,9457	0,286	1,9964	0,8861	-0,2309	1,1168	0,8363
TNFaS2	0,07803	0,3078	0,8000	0,09464	0,7024	0,8929	0,3488	0,4701	0,4583
TNFaS1	-0,2358	0,2861	0,4105	0,4648	0,5724	0,417	0,2992	0,4039	0,4592
TNXBS1	-0,3095	0,327	0,3446	0,4636	0,8156	0,5699	0,1669	0,5229	0,7497
TNXBS2	-0,3656	0,2935	0,2139	0,742	0,5924	0,2108	-0,06184	0,4351	0,887

Tabela 27 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica WBC

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância		
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t
APOM	0,2463	0,3155	0,4357	-0,7349	0,991	0,4586	-0,1739	0,5484	0,7513
BAT2S2	0,133	0,2181	0,5423	-0,28	0,4374	0,5223	0,138	0,2952	0,6403
BAT2S1	0,2	0,5434	0,7130	0,3592	2,1772	0,869	0,5007	1,2435	0,6873
BAT5S1	0,2859	0,24	0,2345	-0,3749	0,6061	0,5365	0,2008	0,3765	0,594
BFS1	1,2086	0,6664	0,0707	--	--	--	--	--	--
BFS2	0,1029	0,2266	0,6500	-0,2838	0,557	0,6105	-0,0877	0,3638	0,8096
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-0,2831	0,2484	0,2554	0,8532	0,6598	0,1964	-0,2811	0,4241	0,5076
C2S3	0,08407	0,2507	0,7377	-0,2446	0,6143	0,6906	-0,08326	0,3865	0,8295
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,121	0,2231	0,5878	-0,3292	0,5274	0,5327	-0,1094	0,3515	0,7558
G6BS1	0,4768	0,2254	0,0352	-1,4856	0,527	0,005	0,6618	0,3415	0,053
FecG ^E	0,7681	0,2884	0,0081	-0,526	0,9614	0,5845	0,7239	0,5489	0,1876
JQMSH5S3	-0,4173	0,3067	0,1746	-1,385	1,1033	0,2098	1,4948	0,6185	0,0159
JQMSH5S4	-0,1335	0,3026	0,6596	-0,1779	0,9673	0,8541	-0,3303	0,5593	0,555
JQMSH5S1	-0,01784	0,2605	0,9454	0,175	0,7371	0,8124	-0,1178	0,4409	0,7893
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	0,006147	0,3823	0,9872	-0,2042	1,2668	0,872	-0,1459	0,7682	0,8494
LTAS3	0,1822	0,5081	0,7201	0,4163	1,4444	0,7733	0,7293	0,9585	0,447
LTAS2	0,06122	0,3776	0,8713	-0,2779	1,6866	0,8692	-0,09444	0,9161	0,9179
TNFaS4	0,2061	0,2918	0,4805	1,164	1,0638	0,2743	1,0513	0,5939	0,0771
TNFaS3	0,176	0,2845	0,5367	0,9856	1,0236	0,336	0,8984	0,573	0,1174
TNFaS5	-0,02776	0,3667	0,9397	-0,00063	1,433	0,9997	0,03652	0,8007	0,9636
TNFaS2	0,1404	0,2223	0,5281	-0,00397	0,5063	0,9937	0,3878	0,3367	0,2499
TNFaS1	-0,2021	0,2051	0,3251	0,398	0,4091	0,331	0,5098	0,288	0,0771
TNXBS1	-0,344	0,233	0,1408	0,06029	0,5807	0,9173	0,6733	0,3734	0,0718
TNXBS2	-0,4955	0,2101	0,0190	0,98	0,424	0,0212	0,06407	0,3124	0,8376

Tabela 28 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica RBC

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância		
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t
APOM	0,1613	0,164	0,3261	-1,168	0,5095	0,0222	-0,6097	0,2819	0,0309
BAT2S2	0,1789	0,113	0,1143	-0,3631	0,2265	0,1095	0,05515	0,1508	0,7148
BAT2S1	0,3353	0,2809	0,2336	-0,3093	1,1298	0,7843	0,2377	0,6448	0,7125
BAT5S1	-0,01428	0,1238	0,9083	-0,07293	0,3123	0,8154	-0,1034	0,1936	0,5935
BFS1	0,6429	0,3486	0,0661	--	--	--	--	--	--
BFS2	0,06923	0,1181	0,5580	0,01346	0,289	0,9629	0,1723	0,1882	0,3602
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-0,1008	0,1295	0,4373	0,06053	0,3423	0,8597	0,1384	0,2195	0,5287
C2S3	0,07297	0,1296	0,5739	-0,05284	0,3161	0,8673	0,1021	0,1977	0,6058
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,121	0,1158	0,2970	-0,2511	0,2728	0,3576	-0,01152	0,1809	0,9492
G6BS1	0,3103	0,117	0,0084	-0,5482	0,2737	0,0456	-0,09037	0,1767	0,6092
FecG ^E	0,03609	0,1512	0,8115	0,05472	0,5056	0,9138	0,0905	0,2874	0,7529
JQMSH5S3	0,03303	0,1602	0,8368	0,0341	0,5785	0,953	-0,06706	0,3228	0,8355
JQMSH5S4	-0,1838	0,1587	0,2478	0,6712	0,5038	0,1833	0,2252	0,2902	0,4379
JQMSH5S1	0,1029	0,1353	0,4474	-0,153	0,3825	0,6893	-0,04444	0,2281	0,8456
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	0,001922	0,1998	0,9923	-0,3567	0,6615	0,5899	-0,2614	0,3989	0,5125
LTAS3	0,1582	0,2632	0,5481	0,5515	0,7459	0,4599	0,81	0,4937	0,1013
LTAS2	-0,0257	0,1973	0,8964	-0,4003	0,8731	0,6468	-0,2749	0,4736	0,5619
TNFaS4	-0,1841	0,1517	0,2256	0,3729	0,5519	0,4995	0,00303	0,3068	0,9921
TNFaS3	-0,1711	0,1484	0,2498	-0,07313	0,5327	0,8908	-0,2777	0,2965	0,3493
TNFaS5	0,0779	0,191	0,6836	0,08872	0,7405	0,9047	-0,1592	0,4129	0,6999
TNFaS2	0,01684	0,1159	0,8846	0,2059	0,2629	0,4338	0,3314	0,1726	0,0552
TNFaS1	-0,1247	0,1072	0,2456	0,246	0,2141	0,2511	0,2248	0,1479	0,1291
TNXBS1	-0,3856	0,1209	0,0016	0,9577	0,3008	0,0015	-0,1997	0,1925	0,2999
TNXBS2	-0,2777	0,1099	0,0121	0,5936	0,2214	0,0076	-0,1895	0,1605	0,2383

Tabela 29 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica HGB

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância		
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t
APOM	0,007236	0,1337	0,9569	0,2213	0,4202	0,5986	0,1691	0,2324	0,467
BAT2S2	0,1063	0,09115	0,2446	-0,2194	0,1829	0,2306	0,06542	0,1246	0,5996
BAT2S1	0,3292	0,2299	0,1531	0,06391	0,9222	0,9448	0,4759	0,5266	0,3664
BAT5S1	-0,0027	0,1019	0,9789	-0,02236	0,2576	0,9308	-0,02823	0,16	0,8601
BFS1	0,5685	0,281	0,0439	--	--	--	--	--	--
BFS2	0,06831	0,09598	0,4771	-0,1684	0,2364	0,4764	-0,03568	0,1546	0,8176
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-0,05831	0,1053	0,5802	0,1932	0,2806	0,4913	-0,07451	0,1802	0,6794
C2S3	0,07733	0,1068	0,4696	-0,2124	0,2622	0,4182	-0,06286	0,1652	0,7038
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	0,075	0,09423	0,4267	-0,222	0,2235	0,3211	-0,08947	0,1493	0,5492
G6BS1	0,1687	0,09505	0,0769	-0,3329	0,224	0,1377	-0,00556	0,1457	0,9696
FecG ^E	0,1648	0,1227	0,1801	-0,0721	0,4099	0,8604	0,184	0,2345	0,4329
JQMSH5S3	-0,06775	0,13	0,6026	0,1397	0,4699	0,7663	-0,00284	0,2638	0,9914
JQMSH5S4	-0,0575	0,1291	0,6564	0,4528	0,4132	0,2736	0,2505	0,2393	0,2955
JQMSH5S1	0,09094	0,1103	0,4101	-0,05354	0,3124	0,864	-0,1088	0,1875	0,5619
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	-0,2443	0,1625	0,1337	-0,03986	0,5365	0,9408	-0,4025	0,3251	0,2162
LTAS3	0,2095	0,2152	0,3311	0,4455	0,609	0,4647	0,8096	0,4045	0,0457
LTAS2	0,02352	0,1594	0,8828	-0,2996	0,7164	0,676	-0,1534	0,3896	0,6939
TNFaS4	-0,04837	0,1233	0,6951	0,1802	0,4514	0,6898	0,05569	0,2521	0,8252
TNFaS3	-0,03213	0,1206	0,7900	-0,1822	0,4352	0,6756	-0,1657	0,2436	0,4965
TNFaS5	0,02187	0,1547	0,8876	-0,02143	0,6076	0,9719	-0,01451	0,3399	0,966
TNFaS2	0,06894	0,0938	0,4629	-0,01617	0,2139	0,9398	0,1694	0,1432	0,2373
TNFaS1	-0,05621	0,08711	0,5192	0,1105	0,1743	0,5265	0,08807	0,123	0,4742
TNXBS1	-0,04926	0,09941	0,6206	0,1854	0,2479	0,4548	-0,09332	0,159	0,5573
TNXBS2	-0,1055	0,09057	0,2450	0,2342	0,1826	0,2003	-0,1337	0,1341	0,3193

Tabela 30 - Estimativa, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável (AF) dos SNPs em estudo para a característica PLT

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância		
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t
APOM	34,497	19,881	0,0837	-1,0078	60,7811	0,9868	49,75	33,7112	0,1405
BAT2S2	19,6039	13,7775	0,1558	-41,5826	27,491	0,1309	33,2994	17,8476	0,0626
BAT2S1	63,33	33,9977	0,0634	-107,42	142,03	0,45	12,525	80,17	0,8759
BAT5S1	-18,5532	14,9422	0,2153	41,3343	37,4234	0,2698	4,3436	23,0743	0,8508
BFS1	13,8224	43,2779	0,7496	--	--	--	--	--	--
BFS2	24,0421	13,9876	0,0866	-43,4832	33,983	0,2012	5,2351	22,0716	0,8126
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S4	-27,6823	15,3982	0,0731	10,4365	40,155	0,795	44,6415	25,7633	0,0836
C2S3	15,8325	14,1087	0,2627	-38,6392	34,1809	0,2588	-7,6843	21,3244	0,7187
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C2S2	18,1458	13,6239	0,1838	-36,9786	31,9056	0,2469	-0,888	21,0971	0,9664
G6BS1	16,6258	14,3657	0,2480	-31,1618	33,0214	0,3457	-2,8421	21,0026	0,8924
FecG ^E	-19,4303	17,9215	0,2791	88,796	59,4515	0,1359	35,3713	33,6179	0,2932
JQMSH5S3	18,6241	19,242	0,3338	-34,4989	68,785	0,6162	-1,8316	38,1491	0,9617
JQMSH5S4	48,1834	19,3154	0,0131	-77,8848	60,7736	0,2004	13,7326	34,8176	0,6934
JQMSH5S1	-35,8246	16,3902	0,0296	60,0606	46,202	0,1941	9,7052	27,373	0,723
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--
JQNG22S1	-15,4046	24,2822	0,5263	131,92	82,3175	0,1096	71,5826	48,6005	0,1413
LTAS3	49,5623	32,1173	0,1238	-21,3724	92,3568	0,8171	70,9362	60,1132	0,2384
LTAS2	-8,1299	24,1361	0,7365	-54,8889	102,17	0,5914	-43,1718	54,8103	0,4314
TNFaS4	-30,347	18,2997	0,0982	81,3087	65,0472	0,212	13,8535	36,1565	0,7018
TNFaS3	-31,7554	17,7956	0,0753	61,9714	63,0516	0,3261	-1,0487	34,9884	0,9761
TNFaS5	4,4913	23,4803	0,8484	73,5611	89,0096	0,4089	-53,4947	49,2107	0,2776
TNFaS2	18,9599	14,192	0,1825	-2,7754	31,9988	0,9309	48,4558	20,6699	0,0194
TNFaS1	-38,4819	13,1295	0,0036	75,8907	26,0938	0,0038	50,2484	17,5301	0,0043
TNXBS1	-31,3521	14,7538	0,0343	58,6725	36,7797	0,1111	4,218	23,2855	0,8563
TNXBS2	-12,3467	13,0476	0,3448	30,5757	26,356	0,2465	-27,0394	18,6665	0,1481

6.2.2 Prolificidade

Dos SNPs avaliados dois deles, o FecX e o Booroola, haviam sido escolhidos para este estudo por estar descrito na literatura como SNPs relacionados com a prolificidade, porém em ovinos de outras raças. No entanto, os resultados obtidos demonstraram que esses SNPs estavam fixados na população de ovinos da raça Santa Inês, em estudo. Esses resultados diferem dos obtidos por Holanda et al. (2009) ao investigar a presença do SNP Booroola em uma população ovinos da raça Santa Inês e Morada Nova onde eles verificaram que 3,31% das fêmeas da raça Santa Inês, que eram consideradas prolíficas, eram também heterozigotas para este SNP. No entanto, o mesmo não ocorreu na população de ovinos da raça Morada Nova.

Na tabela 31 estão apresentadas as estimativas, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável dos SNPs em estudo para a característica PROLIF.

Dos SNPs avaliados neste estudo, apenas o SNP FecG^E apresentou efeito de substituição alélica significativo onde para cada troca do alelo desfavorável pelo alelo favorável gerava um aumento de aproximadamente 0,22 na expressão da característica PROLIF. No entanto, não foi observado efeito aditivo e nem de desvio de dominância significativo para este SNP.

Assim como Castro et al. (2006) verificou-se que a troca do alelo T pelo G levava a uma alteração da codificação dos aminoácidos substituindo uma fenilalanina por uma cisteína.

Na tabela 32 temos as estimativas para o teste de Tukey o qual verifica se existe diferença entre as médias para os diferentes genótipos do SNP FecG^E, tanto para o conjunto de dados que continha informações de todas as ovelhas que apresentavam registro de partos (GERAL) quanto para o conjunto de dados que continha informações das ovelhas com registro de três partos ou mais (SELECIONADAS).

Tabela 31 - Estimativas, erro padrão (EP) e valores de significância para os efeitos de substituição alélica, aditivo e de desvio de dominância e alelo favorável dos SNPs em estudo para a característica PROLIF

SNP	Efeito de Substituição			Efeito Aditivo			Desvio de Dominância			AF
	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	Estimativa	EP	Pr > t	
APOM	-0,1072	0,05896	0,0786	--	--	--	--	--	--	
BAT2S2	0,00561	0,03903	0,8865	0,01794	0,0779	0,8184	-0,1102	0,05333	0,0418	
BAT2S1	0,1156	0,07296	0,1232	-0,2032	0,253	0,4241	0,0206	0,1515	0,8922	
BAT5S1	0,02229	0,04634	0,6339	-0,1754	0,1192	0,1448	-0,1222	0,07116	0,0896	
BFS1	0,01078	0,1355	0,9371	--	--	--	--	--	--	
BFS2	0,00820	0,04229	0,8474	0,01021	0,1054	0,9231	0,02858	0,06687	0,6703	
FecX	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Booroola	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
C2S4	-0,04352	0,04497	0,3407	0,08557	0,1366	0,5327	0,001145	0,07982	0,9886	
C2S3	0,00537	0,04102	0,8968	0,009921	0,1008	0,9218	0,02314	0,06516	0,7235	
C2S1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
C2S2	-0,02613	0,04075	0,5262	0,02304	0,1012	0,8205	-0,0325	0,06624	0,625	
G6BS1	0,03228	0,04243	0,4526	-0,08393	0,1108	0,4509	0,01858	0,0678	0,7847	
FecG ^E	-0,2231	0,04886	<,0001	0,2972	0,1935	0,1286	-0,09707	0,1075	0,3692	G
JQMSH5S3	-0,02124	0,05501	0,702	0,065	0,3007	0,8294	-0,01302	0,1617	0,936	
JQMSH5S4	-0,1088	0,06182	0,089	--	--	--	--	--	--	
JQMSH5S1	0,05192	0,04978	0,3051	-0,1563	0,186	0,4028	0,03451	0,103	0,7384	
JQMSH5S2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
JQNG22S1	-0,0179	0,05304	0,7368	0,1707	0,1315	0,1979	0,1608	0,09462	0,093	
LTAS3	0,1576	0,1233	0,2106	--	--	--	--	--	--	
LTAS2	0,04682	0,05645	0,4132	-0,4999	0,1926	0,0111	-0,2796	0,109	0,0121	
TNFaS4	-0,0035	0,05539	0,9488	-0,02844	0,2164	0,8958	-0,02234	0,1164	0,8482	
TNFaS3	0,0238	0,05357	0,6597	-0,04459	0,2151	0,8363	0,001885	0,1152	0,987	
TNFaS5	-0,0482	0,05661	0,4002	0,5005	0,1931	0,0112	-0,2781	0,1093	0,0128	
TNFaS2	-0,0029	0,04106	0,9425	-0,02955	0,08922	0,7413	-0,06102	0,05996	0,3117	
TNFaS1	-0,0269	0,04298	0,5353	0,04716	0,08584	0,5842	-0,06838	0,05463	0,2143	
TNXBS1	-0,0535	0,04004	0,1908	0,09688	0,09000	0,2847	0,01553	0,06119	0,8003	
TNXBS2	0,00579	0,03601	0,8733	-0,00907	0,07255	0,9008	0,02544	0,05415	0,6398	

Tabela 32 - Valores das médias de PROLIF para os diferentes genótipos tanto para o conjunto de dados contendo informações de todas as ovelhas (GERAL) como para o conjunto de dados contendo informações apenas das ovelhas com três ou mais registros de parto (SELECIONADAS)

GENÓTIPOS	GERAL		SELECIONADAS	
GG	11	1,742 ^A	2	1,585 ^A
GT	81	1,275 ^B	27	1,399 ^{AB}
TT	242	1,183 ^B	88	1,145 ^B

Verificou - se, que em ambos os conjuntos de dados a média de PROLIF do homozigoto para o alelo favorável (G) foi maior estatisticamente do que para o homozigoto para o alelo não favorável (T). Quando observamos apenas os valores obtidos para o conjunto de dados no geral verificamos que assim como Castro et al. (2006), não houve diferença entre a média dos indivíduos heterozigotos com os indivíduos homozigotos para o alelo não favorável. No entanto, ao analisarmos os resultados obtidos com o conjunto de dados das ovelhas selecionadas verificamos que apesar da média dos homozigotos para os diferentes alelos serem diferentes estatisticamente, não houve diferença estatística entre a média dos indivíduos heterozigotos com a média dos indivíduos homozigotos para ambos os alelos.

De acordo com Castro et al., (2006) o SNP FecG^E, localizado no gene GDF9 provocando aumento significativo na taxa ovulatória quando em homozigose, mas não apresenta efeito nas ovelhas heterozigotas.

Ainda na tabela 32, ao observar o número de cada um dos genótipos do SNP FecG^E distintos conjuntos de dados foi possível verificar a baixa frequência dos indivíduos portadores do alelo desejável. O mesmo ocorreu na população total genotipada que incluía os indivíduos de todas as categorias e não só das matrizes. Nessa população, a frequência dos indivíduos homozigotos para o alelo desejável, heterozigoto e para o alelo oposto foi de 2,32%, 25,54% e 72,13%, respectivamente (Tabela 11). Isso demonstra que nas populações em estudo esta ocorrendo uma seleção inversa ao alelo desejável e que se esse quadro não for revertido poderá ao longo do tempo levar à extinção desse alelo nas populações em estudo

7 CONCLUSÕES

Os fenótipos avaliados no campo para o diagnóstico das parasitoses gastrintestinais apresentaram ser eficientes, quando avaliados de maneira conjunta, tanto para a seleção de indivíduos geneticamente mais resistentes como também para a adoção do tratamento seletivo, sem ter que recorrer às análises laboratoriais.

Com exceção dos SNPs que estavam fixados na população, foi possível observar, por meio das frequências alélicas e genotípicas dos demais SNPs avaliados, que existe variabilidade genética considerável capaz de responder de maneira eficiente à seleção quando associados à expressão das características em estudo.

Quando observado o efeito significativo de substituição alélica para as características relacionadas com a resistência às parasitoses gastrintestinais verificou-se que o efeito isolado dos polimorfismos pouco influenciava na expressão das características o que nos permite sugerir que essas sejam características de efeito poligênico, influenciadas por diversos alelos presentes em diferentes genes, porém todos de pequeno efeito. Já com relação à prolificidade, apesar da baixa frequência observada do alelo favorável na população para o SNP FecG^E, verificou-se que em homozigose este é realmente responsável pelo aumento no número de cordeiros ao parto das ovelhas da raça Santa Inês.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se que demais estudos sejam realizados em populações maiores e com maior número de polimorfismos visando não só validar os resultados obtidos por meio deste estudo como também identificar demais polimorfismos em outras regiões do genoma que possam contribuir de maneira conjunta para a expressão dessas características.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, E. M.; PARKINS, J. J.; HOLMES, P. H. The effect of dietary protein on the pathogenesis of acute ovine haemonchosis. **Veterinary Parasitology**, v. 20, p. 275-289. 1986.
- ABRÃO, D.C.; ABRÃO, S.; VIANA, C.H.C.; VALLE, C. R. Utilização do método FAMACHA no diagnóstico clínico individual de haemonchosis em ovinos no Sudoeste do Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 70-72, jan.-mar. 2010.
- AHID, S.M.M.; SUASSUNA, A.C.D.; MAIA, M.B.; COSTA, V.M.M.; SOARES, H.S. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da região oeste do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciênc. Anim. Bras.** v.9(1), p. 212-218, 2008.
- ALBERS, G.A.A.; GRAY, G.D.; LEJAMBRE, L.F.; BARGER, I.A.; BARKER, J.S.F. The effect of *Haemonchus contortus* infection on haematological parameters in young merino sheep and its significance for productivity. **Animal Production**, v. 50, p. 99-109, 1990.
- ALBERTS, G.A.A.; GRAY, G.D.; PIPER, L.R.; BARKER, J.S.F.; LE JAMBRE, L.F.; BARGER, I.A. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. **International Journal Parasitology** v. 17, p. 1355-1363, 1987.
- AMARANTE, A. F. T. Controle da Verminose Ovina, **CFMV Suplemento Técnico**. São Paulo, janeiro a abril, 2005.
- AMARANTE, A.F.T.; AMARANTE, M.R.V. Breeding sheep for resistance to nematode infections. **Journal of Animal Veterinary Advances**, v.2, n.3, p.147-161, 2003.
- AMARANTE, A.F.T.; BARBOSA, M.A.; OLIVEIRA, M.R. et al. Eliminação de ovos de nematódeos gastrintestinais por ovelhas de quatro raças durante diferentes fases reprodutivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, p.47-51, 1992.
- AMARANTE, A.F.T.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, R.A. et al. Resistance of Santa Inês, Suffolk and Ile de France sheep to acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120,p.91-106, 2004.
- ANDRADE, A.B.F. **Aspectos genéticos e ambientais da resistência a *Boophilus microplus* de bovino da raça Gir, da Estação Experimental da EPAMIG**, Uberaba, MG, Brasil. 1996. 79p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 1996.
- AZEVEDO, H.C.; OLIVEIRA, A.A.; MUNIZ, E.N.; PAIVA, S.R.; FRANCO, M.M.; MELO, E.O. **Embrapa Tabuleiros Costeiros produz rebanho de ovelhas Santa Inês com maior prolificidade**. Embrapa Tabuleiros Costeiros. publicado em 22/12/2010. Disponível em:
<http://www.cpatc.embrapa.br/index.php?idpagina=artigos&artigo=6342&showaquisicao=true>

BAKER, R.I.; WATSON, T.G.; BISSET, S.A.; VLASSOFF, A.; DOUCH, P.G.C. Breeding sheep in New Zealand for resistance to internal parasites: research results and commercial applications. In: GRAY, G.D.; WOOLASTON, R.R.(Ed.) **Breeding for Disease Resistance in Sheep**. Melbourne: Australian Wool Corporation, 1991. p. 19-32.

BARGER, I.A. Genetic resistance of hosts and its influence on epidemiology. **Veterinary Parasitology**, v.32, p.21-35, 1989.

BASSETO, C.C.; SILVA, B.F.; FERNANDES, S.; AMARANTE, A.F.T. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematóides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.63-68, 2009.

BATH, G.F.; HANSEN, J.W.; KRECEK, R.C.; VAN WYK, J.A. VATTA, A.F. **Sustainable approaches for managing haemonchosis in sheep and goats**. Rome: FAO, 2001. 114p.

BATH, G.F.; VAN WYK, J.A. Using the FAMACHA © system on commercial sheep farms in South Africa. **Proceedings of the 5th International Sheep Veterinary Congress**, 22-25 January 2001, Cape Town, South Africa.

BATH, G.F.; VAN WYK, J.A. The Five Point Check © for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. **Small Ruminant Research**, 86, 6-13, 2009.

BATISTA, M.C.S.; CASTRO, R.S.; REGO, E.W.; CARVALHO, F.A.A.; SILVA, S.M.M.S.; CARVALHO, C.C.D.; RIET-CORREA, F. Hemograma, proteinograma, ionograma e dosagens bioquímicas e enzimáticas de ovinos acometidos por conidiobolomicose no Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(1):17-24, janeiro, 2009.

BEASLEY, A.M.; KAHN, L.P.; WINDON, R.G. The periparturient relaxation of immunity in Merino ewes infected with *Trichostrongylus columbriformis*: parasitological and immunological responses, v.168, n.1/2, p.60-70, 2010.

BEATTIE, C.W. Livestock genome maps. **Trends in Genetics: DNA differentiation & development**, Cambridge, v.10, n.9, p.334-338, 1994.

BECK, S.; TROWSDALE, J. The human major histocompatibility complex: lessons from the DNA sequence. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.** v.1, p.117-137, 2000.

BEH, K.J.; MADDOX, J.F. Prospects for development of genetic markers for resistance to gastrointestinal parasite infection in sheep. **International Journal for Parasitology**, v.26, n.8/9. P. 979-997, 1996.

BENAVIDES, M.V.; WEIMER, T.A.; BORBA, M.F.S.; BERNE, M.E.A.; SACCO, A.M.S. Association between microsatellite markers of sheep chromosome 5 and faecal egg counts. **Small Ruminant Research**. (46), 97-105, 2002.

BENVENUTI C.L.; NEVES, M.R.M.; NAVARRO, A.M.C.; ZAROS, L.G.; MEDEIROS, H.R.; SIDER, L.H. VIEIRA, L.S. Caracterização Fenotípica de Caprinos Mestiços infectados por Nematódeos Gastrintestinais. In: XI Congresso Internacional de Zootecnia, 2009. Águas de Lindóia – SP. **Anais...** Águas de Lindóia: Universidade de São Paulo, 2009.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J.F.; CARVALHO, F.I.F. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento de plantas. **Ciência Rural**, v.27, n.3, p. 513-520, 1997.

BISHOP, S.C.; STEAR, M.J. Modeling of host genetics and resistance to infectious diseases: understanding and controlling nematode infections. **Vet. Parasitol.** v. 115, p. 147-166, 2003.

BOUIX, J.; KRUPINSKI, J.; REZEPECKI, R.; NOWOSAD, B.; SKRZYŻALA, I.; ROBORZYNSKI, M.; FUDALEWICZ-NIEMCZYK, W.; SKALSKA, M.; MALCZEWSKI A, GRUNER L. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Polish long-wool sheep. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.1797-1804, 1998.

BRESSANI, F.A.; TIZIOTO, P.C.; VIEIRA, L.; ZAROS, L.; MEIRELLES, S.L.; REGITANO, L. Prospecção de SNPs no gene *TNFA* e sua possível associação à verminose gastrintestinal em caprinos. In: IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 2012. João Pessoa – PB. **Anais...** João Pessoa, 20 a 22 de junho, 2012.

BRICARELLO, P.A.; AMARANTE, A.F.T.; ROCHA, R.A.; CABRAL FILHO, S.L.; HUNTLEY, J.F.; HOUDIJK, J.G.M.; ABDALLA, A.L.; GENNARY, S.M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Inês lambs. **Veterinary Parasitology**, v.134, p. 99-109, 2005.

BUENO, M.S.; CUNHA, E.A.; VERÍSSIMO, C.J. et al. Infección por nematodos em razas de ovelhas carnicas criadas intensivamente em La región Del sudeste Del Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v.51, p.273-280, 2002.

BUITKAMP, J.; FILMETHER, P.; STEAR, M.J.; EPPLEN, J.T. Class I and class II Major Histocompatibility Complex alleles are associated with faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. **Parasitology Research**, Berlin, v.82, p.693-695, 1996.

BURKE, J.M.; MILLER, J.E. Use of FAMACHA system to evaluate gastrointestinal nematode resistance/resilience in offspring of stud rams. **Veterinary Prasitology**, v.153, p.85-92, 2008.

CAETANO, A.R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.64-71, 2009.

CASTRO, E.A.; LOPEZ, I.M.R.; LIMA, A. et al. Characterization of a new SNP in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF-9) gene, specific for the brasilian Santa Inês sheep. In: **8th Word Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, Belo Horizonte, Brasil, Agosto, 2006 p.13-18, 2006.

CEZAR, A.S.; CATTO, J.B.; BIANCHIN, I. Controle alternative de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.38(7), p. 2083-2091, 2008.

CHAGAS, A.C.S.; OIVEIRA, M.C.S. Método FAMACHA ©: Um recurso para o controle da verminose em ovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste**, Circular Técnica 52, 2007.

CHU, M.X.; LIU, Z.H.; JIAO, C.L.; HE, Y.Q.; FANG, L.; YE, S.C.; CHEN, G.H.; WANG, J.Y. Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (*Ovis aries*). **Journal of Animal Science**. 85, 598-603, 2007.

COLTMAN, D.W.; WILSON, K.; PILKINGTON, J.G.; STEAR, M.J.; PEMBERTON, J.M. A microsatellite polymorphism in the gamma interferon gene is associated with resistance to gastrointestinal nematodes in a naturally-parasitized population of Soay sheep. **Parasitology**, London, v. 122, p.571-582, 2001.

COOP, R.L.; HOLMES, P.H. Nutrition and parasite interaction. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.26, p.951-962, 1996.

COSTA, V.M.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31(1), p. 65-71, 2011.

DAVIS, G.H.; MCEWAN, J.C.; FENNESSY, P.F. et al. Discovery of the Inverdale gene (FecX). **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**. Mosgiel, v.55, p.289-290, 1995.

DE GOTARI, M.J.; FREKING, B.A.; CUTHBERTSON, R.P.; KEELE, J.W.; STONE, R.T.; LEVYMASTER, K.A.; DODDS, K.G.; CRAWFORD, A.M.; BEATTIE, C.W. A second generation linkage map of the sheep genome. **Mammalian genome**, v.9, p. 204-209, 1998.

DIAS, F. M. G. N. **Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas**. 1991. 100 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

DIEZ-TASCÓN, C.; KEANE, O.M.; WILSON, T.; ZADISSA, A.; HYNDMAN, D.L.; BAIRD, D.B.; McEWAN, J.C.; CRAWFORD, A.M. Microarray analysis of selection lines from outbred populations to identify genes involved with nematode parasites resistance in sheep. **Physiology Genomics**, v.21, p.59-69, 2005.

DOUCH, P.G.C.; GREEN, R.S.; MORRIS, C.A.; McEWAN, L.C.; WINDON, R.G. Phenotypic markers for selection of nematode-resistance sheep. **Int. j. Parasitol.**, v.26, p.899-911, 1996.

EADY, S.J.; WOOLASTON, R.R.; MORTIMER, S.I.; LEWER, R.P.; RAADSMA, H.W.; SWAN, A.A.; PONZONI, R.W. Resistance to nematode parasites in Merino sheep: sources of genetic variation. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.47, p.895-915, 1996.

EADY, S.J.; WOOLASTON, R.R.; PONZONI, R.W.; LEWER, R.P.; RAADSMA, H.W.; SWAN, A.A. Resistance to nematode parasites in Merino sheep: correlation with production traits. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.49, p.1201-1211, 1998.

FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1981. 279p.

FALCONER, D.S. & MACKAY, T.F.C. Introduction to quantitative genetics. Essex: Longman, 1996. 464p.

FETTERER, R. H.; RHOADS, M. L. A hemolytic factor from *Haemonchus contortus* alters erythrocyte morphology. *Veterinary Parasitology*, v. 80, p. 37-45 .1998.

FONSECA, A.H. Helminthoses gastro-intestinais dos ruminantes. Material didático referente à disciplina de Doenças Parasitárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: [http://adivaldofonseca.vet.br/2011/wp-content/uploads/1_Helminthoses_gastrintestinais_dos_ruminantes\(1\).pdf](http://adivaldofonseca.vet.br/2011/wp-content/uploads/1_Helminthoses_gastrintestinais_dos_ruminantes(1).pdf)

GALLOWAY S.M.; MCNATTY, K.P.; CAMBRIDGE, L.M.; LAITINEN, M.P.E;JUENGE, J.L.; JOKIRANTA, T.S.; MCLAREN, R.J.; LUIRO, K.; DODDS, K.G.; MONTGOMERY, G.W.; BEATTIE, A.E.; DAVIS, G.H.; RITVOS, O. Mutations in na oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. **Nat. Genet.** 25, 279-283, 2000.

GENNARI, S.M.; BLASQUES, L.S.; RODRIGUES, A.A.R.; CILENTO, M.C.; SOUZA, S.L.P.; FERREIRA, F. Determinação da contagem de ovos de nematódeos no período peri-parto em vacas. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo , v. 39, n. 1, 2002 .

GIBBS, H. C; BARGER, I. A. *Haemonchus contortus* and other trichostrongylid infections in parturient, lactating and dry ewes. *Veterinary Parasitology*, v.22, n. 1-2, p.57-66, 1986.

GILL, H.S. Genetic controlo f acquired resistance to haemonchosis in Merino lambs. **Parasit Immunology**, v.13, p.617-628, 1991.

GILL, H.S.; WATSON, D.L.; BRANDON, M.R. Monoclonal antibody to CD4+ T cells abrogates genetic resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **Immunology**, 78, 43-49, 1993.

GIRÃO, E.S.; GIRÃO, R.N.; MEDEIROS, L.P. Prevalência e variação estacional de helmintos gastrintestinais de caprinos no município de Valença do Piauí. **Circ. Téc. 1, Embrapa-CPAMN**, Teresina. 5p. 1980.

GORDON, H.M.L.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council for Scientific and Industrial Reserch**, v. 12, p. 50, 1939.

GRUSZCZYNSKA, J.; CHARON, K.M.; SWIDEREK, W.; SAWERA, M. Microsatellite polymorphism in locus OMHC1 (MHC Class I) in Polish Heath Sheep and Polish Lowland Sheep (Zelazna variety). **J. Appl. Genet.** v.43, p.217-222, 2002.

KASSAI, T. et al. Is there a relationship between haemoglobin genotype and the innate resistance to experimental *Haemonchus contortus* infection in Merino lambs? **Veterinary Parasitology**, v. 37, p. 61-77, 1990.

HOLANDA, G.M.L.; ADRIAO, M.; SILVA, D.M.F.; CÉSAR, C.N.R.; SANTANA, V.L.A.; SOUZA, D.M.B.; SANTOS FILHO, A.S.; WISCHRAL, A. Investigation of BMPR-1B gene in sheep of the “Santa Inês” and “Morada Nova” breeds in the semi-arid region of northeast Brazil. In: 55º Congresso Brasileiro de Genética, 2009. Águas de Lindóia – SP. **Anais...** Águas de Lindóia, 30 de agosto a 02 de setembro, 2009.

HOLANDA, G.M.L.; ADRIÃO, M.; WISCHRAL, A. O gene da prolificidade em ovinos. **Ciênc. Vet. Tróp.** v.9, p.45-53, maio/dezembro, 2006.

INIESTA, R.; GUINÓ, E.; MORENO, V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos em estudos epidemiológicos. **Gac Sanit.**, 19 (4):333-341, 2005.

JEFFERIES, B.C. Body condition scoring and its use in management. **Tasmanian Journal Agricultural**, v. 32, p. 19-21, 1961.

KAPLAN, R.M.; BURKE, J. M.; TERRILL, T. H.; MILLER, J. E.; GETZ, W. R.; MOBINI, S.; VALENCIA, E.; WILLIAMS, M. J.; WILLIAMSON, L. H.; LARSEN, M.; VATTA, A.F. Validation of the FAMACHA eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 105-120, 2004.

KRAWCZYK, A.; SLOTA, E. Genetic markers to gastrointestinal nematode resistance in sheep: a review. **Helminthologia**, v.46, 1:3-8, 2009.

KULSKI, J.K.; SHIINA, T.; ANZAI, T.; KOHARA, S. Comparative genome analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man. **Immunol. Rev.** v.190, p.95-122, 2002.

LASLEY, F.J. Detrimental and lethal genes in farm animals. In: Genetics of livestock improvement. Second ed. Prentice Hall, New York, p. 79-92, 1972.

LEGUIZA, C.D.P. **Marcadores Microsatélites no MHC de ovinos: estudos de associação e diversidade genética na raça Santa Inês.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2007.

LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, MG, 2004. Disponível em: http://cbpv.com.br/rbpv/documentos/13supl.12004/pp13s19_13.pdf

LIMA, P.M.T. **Parâmetros hematológicos, bioquímicos, ganho em peso e emissão de metano de ovinos Santa Inês alimentados com coprodutos do algodão.** 2013. 63p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2013.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária.** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais. 2007.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. Hematologia Clínica. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. (Ed.). **Patologia clínica veterinária: texto introdutório.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 342, 2008.

MACHADO, R.; CORRÊA, R.F.; BARBOSA, R.T.; BERGAMASCHI, M.A.C.M. **Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes.** São Carlos: EMBRAPA, 2008. 16p. (Circular Técnica, 57).

MAGALHÃES, M. N.; LIMA, A. C. P. **Noções de probabilidade e estatística**. 6 ed. São Paulo: Edusp, 2007.

MALAN, F.S.; VAN WYK, J.A. The packed cell volume and color of the conjunctivae as aids for monitoring *Haemonchus contortus* infestations in sheep. In: Bienal National Veterinary Congress, Grahamstown, África do Sul. **Anais...** Grahamstown: South Africa Veterinary Association, V.1, p.139, 1992.

MALAN, F.S.; VAN WYK, J.A.; WESSELS, C.A. Clinical evaluation of anaemia in sheep: early trials. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.68, n.1, p.195-174, 2001.

MARTINS, F.R. **Parâmetros genéticos de temperamento e resistência de bovinos da raça Nelore ao carrapato *Boophilus microplus* e validação do uso de marcadores moleculares na seleção dessas características**. 2009. 99f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

MELO, A.C.F.L. **Caracterização do nematóide de ovinos, *Haemonchus contortus*, resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis, no estado do Ceará, Brasil**. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, Ceará, 2005.

MILLOT, P. The major histocompatibility of sheep (OLA) and two minor loci. **Anim. Blood Group Biochem. Genet.** v.9, p.115-121, 1978.

MOLENTO, M.B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. Método FAMACHA como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.1139-1145, 2004.

MOLENTO, M.B.; VERÍSSIMO, C.J.; AMARANTE, A.T.; VAN WYK, J.A.; CHAGAS, A.C.S.; DE ARAÚJO, J.V.; BORGES, F.A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes, **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.80, n.2, p.253-263, abr./jun., 2013.

NAVARRO, A.M.C.; ZAROS, L.G.; NEVES, M.R.M.; BENVENUTI, C.L.; SOUSA, S.M.; CAVALCANTE, A.C.R.; VIEIRA, L.S. Resposta de ovinos das raças ½ sangue Santa Inês e ½ sangue Dorper frente às infecções por nematódeos gastrintestinais. In: Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte, 4.; Feira Nacional do Agronegócio da Caprino-ovinocultura de Corte, 3., 2009, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2009.

NEVES, M.R.M. **Utilização de marcadores fenotípicos para caracterização de ovinos 1/2 sangue santa inês naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais**. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual Vale do Acaraú. UVA, Sobral – CE, 2010, 68p.

NEVES, M. R. M. ZAROS, L. G.; MEDEIROS, H. R.; MARTINS, E. C.; NAVARRO, A. M. C.; VIEIRA, L. S. Estimativa de custo do método Famacha utilizado no controle de verminoses gastrintestinais em pequenos ruminantes. In: Congresso Nordeste de Produção Animal, 5.; Simpósio Nordeste de Alimentação de Ruminantes, 11.; Simpósio

Sergipano de Produção Animal, 1., 2008, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Sociedade Nordestina de Produção Animal; Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2008.

NEVES, M. R. M.; ZAROS, L. G.; NAVARRO, A. M. DO C.; BENVENUTI, C. L.; CHAVES, S. C.; SOUSA, M. M. DE; CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L. DA S. Método Famacha utilizado no controle de *Haemonchus* sp. em caprinos ½ sangue anglo-nubiano no nordeste brasileiro. In: Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte, 4.; Feira Nacional do Agronegócio da Caprino-ovinocultura de Corte, 3., 2009, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2009.

O'CONNOR, L.J.; WALKDEN-BROWN, S.W.; KAHN, L.P. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.142, n.1-2, p.1-15, 2006.

OLIVEIRA, M.C.S.; CHAGAS, A.C.S.; ESTEVES, S.N.; OLIVEIRA, H.N.; GIGLIOTI, C.; GIGLIOTI, R.; FERRENZINI, J.; CARVALHO, C.O.; SCHIAVONE, D. **Uso de tratamento seletivo contra nematódeos gastrintestinais em ovelhas em São Carlos, SP.** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008.

PATERSON, S.; WILSON, K.; PEMBERTON, J.M.; 1998. Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (*Ovis aries* L.). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v.95, p. 3714-3719, 1998.

PIPER, L.R. Genetic variation in resistance to internal parasites. In: McQUIRK, B.W. (Ed.). **Merino Improvement Programs in Australia.** Australian Wool Corporation, Melbourne, p.351, 1987.

PIRCHNER, F. Population genetic in animal breeding. New York, W. H. Freeman and Company. 1969. 274p.

QIN, J.; MAMOTTE, C.; COCKETT, N.E.; WETHERALL, J.D.; GROTH, D.M. A map of the class III region of the sheep major histocompatibility complex. **BMC Genomics**, 9:409, 2008.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos, p.677-680. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1737p., 2002.

RATTRAY, P. Internal Parasite Report. Management issues for merinos. p.4, 2003. Disponível em: <http://www.merinoinc.co.nz/Reports/InternalParasitesLeaflet.pdf>

Ridley, M., 2006. **Evolução**, 3ª. Edição. Porto Alegre-RS, Artmed Editora S.A. 752p.

RIET-CORREA, B.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido nordestino: controle integrado das parasitoses gastrointestinais visando contornar a resistência anti-helmíntica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(7):901-908, julho, 2013.

ROSALINSKI-MORAES, F.; FERNANDES, F.G.; MUNARETTO, A.; OLIVEIRA, S.; WILMSEN, M.; PEREIRA, M. W.; MEIRELLES, A. C. Método FAMACHA®, escore corporal e de

diarréia como indicadores de tratamento anti-helmíntico seletivo de ovelhas em reprodução. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 1015-1023, 2012.

RUSSEL, A.J.F.; DONEY, J.M.; GUNN, R.G. Subjective assessment of body fat in live sheep. **J. Agric. Sci. Camb.**, 72, 451-454, 1969.

SANGSTER, N.C. Anthelmintic resistance: past, present and future. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p. 115-124, 1999.

SANTOS, N.P.S.; SARMENTO, J.L.R.; PIMENTA FILHO, E.C.; CAMPELO, J.E.G.; FIQUEIREDO FILHO, L.A.S.; SOUSA JÚNIOR, S.C. Aspectos ambientais e genéticos da prolificidade em caprinos utilizando modelos bayesianos de limiar e linear. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.885-893, 2013.

SARMENTO, J.L.R.; PIMENTA FILHO, E.C.; ABREU, U.G.P. et al. Prolificidade de caprinos mestiços leiteiros no semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1471-1476, 2010.

SCHALLIG, H.D.F.H. Immunological responses of sheep to *Haemonchus contortus*. **Parasitology**. London, v.120, p.563-572, 2000.

Schwaiger FW, Gostomski D, Stear MJ, Duncan JL, McKellar QA, Epplen JT, Buitkamp J. An ovine major histocompatibility complex DRB1 allele is associated with low faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. **Int J Parasitol.** v.25, p.815-822. 1995

SIDER, L. H.; ZAROS, L. G. **A biologia avançada e o impacto da genômica na produção de caprinos e ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2008.

SILVA, B.D.M.; CASTRO, E.A.; SOUZA, C.J.H.; PAIVA S.R.; SARTORI, R.; FRANCO, M.M.; AZEVEDO, H.C.; SILVA, T.A.S.N.; VIEIRA, A.M.C.; NEVES, J.P.; MELO, E.O. A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. **Animal Genetics**, 42, 89-92, 2010.

SILVA, M.V.; LOPES, S.E.; GUIMARÃES, S.E.; ALMEIDA TORRES, R. Utilização de marcadores genéticos em suínos. I. Características reprodutivas e de resistência às doenças. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** 11(1): 1-10, 2003.

SOTOMAIOR, C.S.; DE CARLI, L.M.; TANGLEICA, L.; KAIBER, B.K.; SOUZA, F.P. Identificação de ovinos e caprinos resistentes e susceptíveis aos helmintos gastrintestinais. **Revista Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 4, p. 397-412, out./dez. 2007.

SOTOMAIOR, C.S.; ROSALINSKI-MORAES, F.; SOUZA, F.P.; MILCZEWSKI, V.; PASQUALIN, C.A. Parasitoses gastrintestinais dos ovinos e caprinos: alternativas de controle. Curitiba: Instituto Emater, 2009.

SOUZA, C.J.H.; MORAES, J.C.F. **Como utilizar a genética Booroola**. Bagé, Embrapa Pecuária Sul, 2010. (Comunicado Técnico 73).

STEAR, M.J. et al. The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts, and plasma pepsinogen concentrations during deliberate infections with *Ostertagia circumcincta*. **International Journal for Parasitology**, v.25, n.3, p.375-380, 1995.

STEAR, M.J.; BAIRDEN, K.; DUNCAN, J.L.; HOLMES, P.H.; McKELLAR, Q.A.; PARK, M.; STRAIN, S.; MURRAY, M.; BISHOP, S.C.; GETTINBY, G. How host control worms. **Nature**, London, v.389, p.27, 1997.

STEAR, M.J.; MURRAY, M. Genetic resistance to parasitic disease; particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.54, p.161-176, 1994.

Stewart, M. A., Miller, R. F., and Douglas, J. R. **Jour. of Agr. Research**. 1937.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Veterinary Parasitology**. 3.ed Oxford: Blackwell Publishing, 874p., 2007

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 780 p

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses em ruminantes**. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J. *Parasitologia Veterinária*, 2ª Ed. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 273p.

WEBER, J.L.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **Am. J. Hum. Genet.** Mar;v.44(3), p.388-396, 1989.

WILSON, T.; WU XI-YANG; JUENGEL, J.L.; ROSS, I.K.; LUMSDEN, J.M.; LORD, E.A.; DODDS, K.G.; WALLING, G.A.; MCEWAN, J.C.; O'CONNELL, A.R.; MCNATTY, K.P.; MONTGOMRY, G.W. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetics protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. **Biology of reproduction**, 64, 1225-1235, 2001.

VAN WYK, J.A.; BATH, G.F. The FAMACHA© system from managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, v. 33, p. 509-529, 2002.

VAN WYK, J. A.; CABARET, J.; MICHAEL, L. M. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 119, n. 4, p. 277-306, jul. 2004.

VAN WYK, J.A.; MALAN, F.S.; BATH, G.F. Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa - what are the options? In: **Managing Anthelmintic Resistance in Endoparasites. Workshop held at the 16th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology**, 10-15 August 1997, Sun City, South Africa: 51-63.

VAN WYK, J.A.; STENSON, M.O.; VAN DER MERWE, J.S.; VORSTER, R.J.; VILJOEN, P.G. Anthelmintic resistance in South Africa: Surveys indicate an extremely serious situation in sheep and goat farming. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.33, n.5, p.509-529, 2002.

VERÍSSIMO, C.J. **Resistência e Suscetibilidade de Bovinos Leiteiros Mestiços ao Carrapato B. microplus**. Jaboticabal, SP, 1991, 163p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP.

VERÍSSIMO, C.J.; NICIURAS, S.C.M.; ALBERTI, A.L.L.; RODRIGUES, C.F.C.; BARBOSA, C.F.C.; CHIEBAO, D.P.; CARDOSO, D.; SILVA, G.S.; PEREIRA, J.R.; MARGATHO, L.F.F.; COSTA, R.L.D.; NARDON, R.F.; UENO, T.E.H.; CURCY, V.C.L.M.; MOLENTO, M.B. Multidrug and multi-species resistance in sheep flocks from São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.187, n.1/2, p.209-216, 2012.

VIEIRA, L.S. **Método FAMACHA no controle de verminose em pequenos ruminantes: experiência da EMBRAPA caprinos e ovinos**. Palestra I Fórum de Verminose. 2011. Universidade Estadual do Paraná. Disponível em: http://www.uece.br/labodopar_novo/index.php/arquivos?start=5

YOSHIHARA, E. Uso de fontes de taninos condensados no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v.8, n.2, jul-dez, 2011.

10 ANEXO A – Parte das sequências de nucleotídeos contendo os SNP avaliados no estudo

APOMS1

>gi|122893016|gb|EF139192.1| Ovis aries apolipoprotein M (APOM) gene, partial cds
ATCTTGGGATCTGCACCATCTGGGGAAGAGGAGCACTTCTAGGTGGGTAGATTAGGGAGTCTGGATGGGG
TTCCACAGGTGATGGGGAGCCTGAAGGGAGGACCTGAGGATTCTTAGGAGCCAGGGGGAGTGGGGCTGG
GTGCAGGCAGTG**TTGGCAGGAC (G/A) GCCAGCTCAT**AGGGGCTGGCAGCTTGCAGGCAGCATGGGGAGCACTG
GAGTTTGCAGACCCCACTAGGGGGTTGGGTTTGTCTCACTCAACAATAAATAACTGTGTACACCAAATGC
TAAATATACCACTACAAAGCAAGAGTTACCACCGCTCAGTGTCTTCTGACGCCGTCCAACCTGGGGGCT

BAT2S2 e BAT2S1

>gi|124108975|gb|EF197828.1| Ovis aries HLA-B-associated transcript 2 (BAT2) gene, partial sequence
AGGACTTGGCCTTATATGTATCAAACAGGTTGAGCGAGGAATACTTCTTTCCATCCTTCCCCTTGGCAGT
CGGCCCCGAGCGATCGGACATTGCGCTGGAAGCTCATTGAGTACGTTGGGTCTTGCAGGCGCCTCCCCCA
AAACGTGCCGAGCCTGTGACCAGACACCAAGTGTTCAC**TCCCTGCTCC (A/G) CCAAGGGCCT**CCCAATAGA
AGCCTAGATGCTCCCTTTTATTCTTACTGGGGCCAGATATATGGCCCTCTTATGCCCTCTTCTCCAGCC
TATTCAAACACCCCAGTTCCTTTAAGCAACCATCATATCTTCTTAGTTCCCCACAAAGCCCATATGCCAT
ATTCCCTCTTTCCCCCAGACACCCCTTACCAAGGAATCCCAAATAAAAAATCCAGTATCTTCTTAGTATAA
ACACTCTCCCTTTGTGCCAGTCTATAAAGGGTAGCAACCTCATTATGCCACAAAGTAATAATCTCTCTC
CATCAAGATCATTTTCAGGTACCTACAATAA**AAACAGCAAG (C/T) CCAAGGCCCTA**GAGCAAACCAGAGAGAGGC
ATACAGCTCCGTCATGTAAGGAAGAGAGGTTTAGCTCTCCCTCATTAGACACCAGCTTCCTAAGTTTGCC
CTGGGTTCTAGTTTCTTGCAGTCTCCCTCCCATCCGGGGAGGTTTTCAGGAAGGTATGCAGGAGTTTAAG

BAT5S1

>gi|124108977|gb|EF197830.1| Ovis aries HLA-B associated transcript 5 (BAT5) gene, partial sequence
AGATGGGTAGCCACGTTTGTAGCACCTTCTCTCTGCAGGGGAGGACATGAGTGCAGACGGAAGACGGCAG
CTGGCTTTGTTTCTGGTGAGCTAAGGCGTGGGAAGCAGGAAGAGGGTGCCTGAATGGCCAGGGGCACAGG
TGGG**GCTTGGGGAC (A/G) GGGGTACCC**TGTAAGCAATGGAAGGAGCAGCTTCTTTAATGTGGGTAGTTGGTTC
AGAAGGTGTCTGTGCTCTGTACCCACCTGTCCACCTTCTCCCTCAGGCTCAGAAGCATCTGAATAAC
TTCGAAGCCACACACTGCACCCCACTCCAGCCCAAGAACTTCCAGATGCCGTGGCACCTCTAGGGACCAC

BFS1 e BFS2

>gi|148645282|gb|EF446375.1| Ovis aries complement factor B (CFB) gene, complete cds
GAGACCTGGAACCGCACGCGCCACGTCAATTATCATCATGACTGATGGTAAGAGGGGCTTTTCTCCTGCCT
GACTCCCCACCTCTCAAATCAGCTCGTGGCCCCGAGCCACACATAGCACAGACTTGTGGCTGGGGGAT
GGCGTGCTGCTCTTCCAGTGCCCTTTACAAGGAGGGCCCT**CACCTCCATGA (C/T) CTCTCACTCA**TGGTCTCC
TCCCCAACCTGCTCACTCAGCCCTGTACGTCATTCTTCCAGCCTCTTTGTCTTCTGGACCCTCTCCCT
TCACGTCTTCCACCTCACGGTCCGTCTCTCCTGCAGGTTTGCACAACATGGGTGGGGATCCAGTCACT
GTCATTCATGATATTTCGGTACTTGCTAGACATTGGTAGAAATCGCAAAAACCCAGGGAGGATTATTTGG
GTGAGTTTTACTGCCTAGGACCCAGCACCCAGTTTATTAGCTTCTTGCCGTGTGCCAGGGCCAAGATACT
CACTGTTTTTCTCTCTCAGACATCTATGTGTTCGGGGTTGGACCTCTAGTGAACCAAGAGAACATCAAT
GCTTTGGCCTCCAAGAAGGATAAAGAGCAACACGTGTTCAAACCTCAGGGCATGGAAAACCTGGAGGATG
TTTTCGTCCAAATGCTTGGTAAGAAGCTATGGAAAGCTATAAGGAGATGGTCAGGAAACTCAGCTCTCCC
CAGACCCCTCAAGGTCACTCATTCTTCCACTCCTTCTAAAGCCCTGGAAAGTCTGGAAGCCCTTTCTCTC
CTCCTCTACCTCCAGGTCACTATTCTTGCTTCTTGGTACTTTCCACTCCCTGATCTCAGAATCACAAGTT
CTGAAATGATGCAGACACCTTTCTCAAGTCCCTCCTTTTACAGATATGGAAGCTGGGGCCAACAGTGGTC
AAGAAATGGCAAGTTAGCAGGAGTTGGGCCGTGAAATGCCAGGTCCTCTGAGTTTAGTCTCATGATTCCA
GTGGTTCCTTGCCCTTCCCTCTGTGGGCATCTGCTCCCCACAGACACACTGGCGTCCTTCCCCAA
GACAGCTGCCATTTGGGAATGAACTGCCCCAGCTTTTAGCACAATCTCCTTTCTTGCCAGATGAAAGCCG
GACACTGGGTCTCTGTGGCATGGTTTGGGAGCACAAAGGATGGTACTCCCTACCACAAGCAACCATGGCAC
GCCAAGATCTCAGTCAATTGTAAGTGCAGTGTCTTGGTGGTGGGAACCTAGGGGAGGGGAAGTCAGGTTGA
AATAAAGGTCAAGGAAGGCAAGGCACTCTTGATCAGACTGTGATATTTGTGAAAGCTGAGCTTTCCCT
CTGCTGCTGCTCCCAGCGCCCTTCGAAGGGGCATGAGAGCTGTATGGGTGCTATCGTGTCTGAGTACTTC
GTGCTGACGGCTGCACACTGTTTCACTGTGGATGATGAGAAACACTCAATCAAGGTCAAGCTGGGTAAAGG
ATGCAATCCAT**CCATTCTGAG (C/T) TTCTGCAGTG**CCCTCTGGGCAACACTGCCTCCAGGGCCCACTTCCCAA

CTGTCTCATCGCAGCCCTTCCCTTGCATGCTGGACCAGTTAAGGATGGGGAAGATTTGGGTAGGGATG

BMP15

>gi|8925959|gb|AF236079.1|AF236078S2 Ovis aries growth differentiation factor 9B precursor gene, exon 2 and complete cds

TCAGGAAGAGGCTCCTCAAAGCCTTCCCTGTTGCCAAAACTTGGACAGAGATGGATATCATGGAACATG
TTGGGCAAAAAGCTCTGGAATCACAAAGGGGCGCAGGGTTCTACGACTCCGCTTCGTGTGTCAGCAGCCAAG
AGGTAGTGAGGTTCTTGAGTTCTGGTGGCATGGCACTTCATCATTGGACACTGTCTTCTTGTACTGT**AT**
TTCAATGA (C/T) ACTCAGAGTGTTCAAGAACCAAACCTCTCCCTAAAGGCCTGAAAGAGTTTACAGAAAAAG
ACCTTCTCTTCTTCTGAGGAGGGCTCGTCAAGCAGGCAGTATTGCATCGGAAGTTCTTGGCCCCCTCCAG
GGAGCATGATGGGCCTGAAAGTAACCAAGTGTTCCCTCCACCCCTTTTCAAGTCAGCTTCCAGCAGCTGGGC
TGGGATCACTGGATCATTGCTCCCATCTCTATACCCCAAACACTGTAAAGGAGTATGTCTCGGGTAC

BMPR1B

>gi|417531944:c29382348-29382156 Ovis aries breed Texel chromosome 6, Oar_v3.1, whole genome shotgun sequence

GTCCAGAGGACGATAGCAAAGCAAATTCAGATGGTGAAACAGATTGGAAGAGTTCGCTATGGGGAAGTTT
GGATGGGAAAGTGGCGTGGCGAAAAAGGTAGCTGTGAAAGTGTTCTTCACTACAGAGGAGGCCAGCTGGTT
CCGAGAGACA**GAAATATATC (A/G) GACGGTGTTG**ATGAGGCATGAAACATCTTGG

C2S4, C2S3, C2S1 e C2S2

>gi|148645280|gb|EF446374.1| Ovis aries complement component C2 (C2) gene, partial cds

AGAGTGAGGCATGTGGAAAGCCTGGGGTAGGCGTGAACCAGGCAGGGACAAAGCTCGTGCAAAGGCCCTG
AGGTGGGAGTGTATTTTCAGGAACCTTCAAGGAGGGTGTGTGACTGGAAGAGACTGAAGGGGAGGAGTGGTA
GGAAATGAGGTCAGATAGGTAGTGAGGG**GAGCGGAGGG (C/T) ATCTGCTCA**TGCAGGGCTTTGTGGGACAC
AGCGAGTTCCCAACCGCAGCCTCCTGTGCTGCGGGATAGCCACTCACTGTGAGATTCTGCTAATTCCTC
CCCCTCAGACATCTATGCCATCGGTGTGGGCAGCCTACAAGTGGACTGGAAAGAACTGAATAACCTGGGG
TCCAAGAAGGACGGCGAGAGGCATGCCTTCATTCTGAAGGATGTGCAGGCGCTGAGCCAGGTCTTTGAGC
ACATGCTGGGTGAGTGCACCTTCAACCTCTCTGGAGGGGTGGCCAGTGTGGAGCCGGCTGAGGGTCCCGGG
ATGGCACCTGCTCACAGTGCCCCCTCACCGGCCCTCTTACCATCTGCTCCTCACACCCACAGACATCTCC
CAGCTCACAGACCCCATCTGTGGGGTAGGGAACATGTCTGCCAATGCCTCTGCCAGGAGAGGACACCCCT
GGCACGTCACTATTAAGGTACCCAGAAGGAGGGATGGGGCTTGGATCCCAGAGGTGTGGCCACAAGCCAG
AGACATAGCAGTCCCCGAGATTCCCTGTCCCCCTGCAGCCCAAGAGCCAGGAGACCTGCCGGGGGGCCCT
CATCTCCGACCAGTGGGTCTTGACAGCCGCTCACTGCTTAAGCAATGCCGAGGACAGAACACTGTGGAGG
GTCAGTGTGGGTAAAGGAAGGGCCCGACCAGATTCCCAGATCCCCTGGGCAGAGCTCCCACCCCTTGTTC
CAGCCTCTGGCCCCCTTCAGGAGCCCTGGTCCAGCCTAATCTGCTACTTTGTTTCCAGGGGATCCCAACTT
TCAGGGGAGCAAAGAATTCCAAATTGAGAAGGCAGAGATCTCCCCAGGCTTCAATGTCTTTTCCAAGAAG
AATCAGGGAATCCCGAGTTCTATGGCGATGACATTGCTCTGTCTAAAGCTGACCCAGAAAGTGAAGATGT
CCACCCATGCCAGGTGCTGGAATCTGGGATGGGAGGGCACCCCTCTATAGGGGAGGGTGTCTGGGGAGCC
CTGGAGGAGGGGCCACCAAGGATGGGCCTCTGTGACCCCTGGTCTTCTCCTCA**GGCCTATCTG (C/T) CTCCCC**
TGCACAGTGGGGGCCAACCTGGCTCTGCGGAGACTCCCAGGCAGTACCTGCCGGGAC**CACGGTGAG (A/G) CT**
GGACTCAGGGTGCAGAGGGGACTTGCAACAGGGCTTGGGGGTGATATCATGGGCTGTGCTGCAGTCCCCA
AGTCAGGATGCTGGGTAAAGGGACCAGCACTGACATCCTTGTCTTGACTGCAGAGAAGGAGCTTCTGAA
CCAAGTGAGCATTCTGCTCATTTTGTGGCTTTGAACGGGGATAAGCTGAATATTAACCTCAAGACAGGG
TCAGAGGTGAGGGTCTCAGGTTCTAGATGCTGTTGAGGGTGGGAATGGGATTTCTCTCTGCATCCTCTAG
CCCTGGCTGCTTTCTCTCTCTGACCCCAAGTCATCCCTCCTCCTGGGC**CTAGCAAGCT (G/C) TGCCCTGGGCT**
CACTCACTCCATCCTTCTGTCTCTTCCGCCCCCTCCTGCAGTGGACAAACTGTGTCAAGGTCGTCTCAA

G6BS1

>gi|124108980|gb|EF197833.1| Ovis aries G6B gene, partial sequence

TCTGAGACCTGCTGCCTTCTCCCCACCTTTTCCAGAGCCTGCTCTACGCAGACCTGGATCATATGGC
CCTCAGAAGGTCCAGCCGACTGTCCCCAGTGGTCCCTGCTGATGCCTCCACCATCTATGCTGTTGTAGTT
TGAAGGGAAGCCTTTACAGCAAACCTCACAAAGCTGAGGGCTCCAGATCTCCATTACACCTTCCCCTTC
TTGGCCCTTCACTTGGCAAAGGAAGGCACCATGGGATAGAAATGAGCACTAGACT**AGGAGTTGAG (C/T) GACC**
TACATTCCAGGCTATCTCTGCTGCTGATCTTGGTCTTCTTACCCCTGTCTCTCACACCCGTTTCCCCA
CCTTAAGACACCAGCAACTCCTAGATCATTTTCTGTCTCTTCACTTCTCTTCAAGTCAAGCTCTTTGA
ACCAAGGGCCTACACCTGTCTCTTCCATTTTTTCTTCACTCCTACTACTCACCTGGCCTCCATGAGATT

GDF9

>gi|417531957:c41841998-41841034 Ovis aries breed Texel chromosome 5, Oar_v3.1, whole genome shotgun sequence
CTCAGGCTTTTCACAGGTGGCATTCCCTCCACCCTAAAAGGAAGCCTTCACAGGGTCCTGACCAGAAGAG
AGGGCTATCTGCCTACCCCGTGGGAGAAAGAGCTGCTGAGGGTGTAAAGATCGTCCCGTCACCGCAGAGAC
CAGGAGAGTGCCAGCTCTGAATTGAAGAAGCCTCTGGTTCCAGCTTCAGTCAATCTGAGTGAATACT**TTCA**
AACAGT (T/G) TCTTTTTCCCCAGAATGAATGTGAGCTCCATGACTTTAGACTTAGCTTTAGTCAGCTGAAGTG
GGACAACTGGATTGTGGCCCCACACAAATACAACCCTCGATACTGTAAAGGGGACTGTCCCAGGGCGGTG
GGACATCGGTATGGCTCTCCGGTTCACACCATGGTGCAGAACATCATCCATGAGAACTTGACTCCTCAG

LTAS3, LTAS1 e LTAS2

>gi|77263741|gb|DU475543.1|DU475543 1098415736761 CHORI-243 Ovis aries genomic clone CH243-340A7, genomic survey sequence
CGAGCCACCTAAGGTTGGGATGAGGTGGAGGGAGTCCCTGCAGTAAGATGAGACCTCATCATACGTGAGT
TCATAGCCTCATCCCTGAGTGGGATTTTCCAAACCAAGACACTTCTGAGAGCAGAATGGAGCTCCACAGA
TGTTTCCACCAGGACAACAGGCATAAATCAGGATGTCC**CAGGT (A/G) GGAG (A/G) GTATATACTG**GAAGTTCTTGA
TATGAAAACCCGCCAGATGACCTGGAAAATACACAGACTGGGACAAGTTGACTTGAATCTTTTGGGACAA
AGACGTGGGGTACAAGAGGAGGAAACATGCACACAGAGAAGGCTGCAATCAGTCAAGGTGCAGAGGTGT
TACACAAAATCACTCTTCAGGGAACCGGGCTCCAGCCCACGCCCTGGCAGCTCC**CCCTTCTCCTC (C/T) GAAT**
TTACTGTCCCTTCTCTAGAACTCCTAAGCCTGACCCCGCTCCCTGGCCCTCCCAGCCCACGATTCTCTG
ACCCCACTCCCTTTCCAGAACTCAGTCGTCTGAGCCCCCAGCCTGCGGTTCTGTCTTAGGCCTCAGCCT

JQMSH5S3, JQMSH5S4, JQMSH5S1 e JQMSH5S2

>gi|124108986|gb|EF197839.1| Ovis aries MutS-like 5 (MSH5) gene, partial sequence
AAAGGGAGGGTTACAGGTTCCCTTTTAGTCAAGAGATGAAGATCCTCGAACTCATTTGCTCTCCATTCTC
CTTCCAAGTTCTGGATGAAATCGATCCCCGGTCTGTTGTTACAAGTGCCAAACAGGATGAGAATATGACT
CGGTTTCTGGGGAAGCTTGGTAAGGACTGAAAAAGGGAAGAGGAAAAATGGGGAAG**GACAAAATTA (C/T) G**
GAATGTTCCAGAGATTAAAGGGTCTTGTGCTGCGGAGTACAGCCAGGAGATCAGAATTGGGTGAGAGGGA
AGATGGGAAAAGAGGCAAAAGGACTATGATGTACAGACTGATGGCCCTTTCTTTGTTTCCTTTACAGCCTC
CCAAGAGCACAGGGAGCCTAAGAGACCCGAAATCATATTTTGGCCAAGTGTGGATTTTGGTATCTCCTCC
TTTTTGCTTTACCCATACCCCATCCAGTTATGTGACCCCTTTCTCCTAATTCCAGTTTCATCATCAGAG
GTCTCCTCTCAGCCCTGTCTCATTTCTAAATCTGTATGTTCTTCAGGCCCATGACCAGTCTNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGAATACGAATTCATGGACTGTACAGTCATGGGTTGCAAAGAGTTTACA
CAACTGAGTGACTTTCACTTTCTTCAACAGAAGAATGTAGAATGATTCAACAAATATCTGTTCTGTTGAG
GGGAATCTCCTCCAAGGTGACCCCTGAAACCTGCACACATGACCCCTTTTCATCTGAAGAAGGTCAAAGCA
GCACTACTTGCCCGGGTCCCTT**TTCTGCTCCA (A/G) TTGGTCCATG**TCCACCAGAGAATCTGCCTCACAAAAAT
CTCCCCCTCTGGGAAAAGCCTCAGGCAAACTGGGTGAGTCTGAGCTCAAACAGGTTTGGCAGCTTCTCCC
CTGCCTCTCTTTTCTCTCCTACAGTTTTTATAGCTAGAACTGCCCTTGATCATCAATATTGACTTTGGCTA
GCTGGCCTGGCTGCCCCGAAAGTATTTTTCCTTAACCTTCTCAGGTGACGGGTAATGTTGCCCTCTCCTGG
GACCATCCATCAGTGTCTCATGGGTTTGAAGTCAGGGGTACACCCCCAAATCCTGCCTCAGAGAAGTT
TCTCTCCCATCTCAATCTCCTTGCCCCCTGCTTTTCTCCTTTTCCGTCTCTCCCTTTACTTCTCCAGGC
TTCTCTTTCCACTTCTTCCCCTTCTCAGCTTGGTGAACCACTCCCTAATCTCTTCCCACCCAGATTGG
GAGGGGTGTGCCCTCCCCCGCTACTGCTTAGAGCTGTCACCTGGCCTTCTCCAGGTTTCATAGCTCCGTGGT
AACATTGCAGGGAACATTANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGAATTCTCTGGTGGTCAAGTGG
TTAAGACTCCACATTTTCACTGTGAGGGCCCAGGTTTCATCCGTGGTCTGGAAACTAAGATCCCAAGTCTT
GTGGCCAAACAACAACAACAACAATAACCATACTTGAAGAGATAAGCCTTGAATTTAAATTTGA
GGGACCTGAGCATTGTATTCTTCATCCTGTAGGTAATGAGGGAGCCTCCTAAGATTTGTCTTTTGT
TACTTAAGGTTTAAAAAATAGGGGAGTGACATGTTTCAGATCTCTGTTTGGAAATGGCAAT**TATTTTAGAA**
(A/T) GAAGAATAGTTTGGGGAAGAGTTTAGAGGTAGAGACCAATTTGAAGGTGA**ATGCAATGCT (A/G/C) CAGGTT**
AAAGAAGAAGATAGCCAGAATTAGAACAGAGGGAAGAGGGAGAAGGGGATGGCTGGGAGAGACATTTTCAG
GATAGAATCAATAGGTTTTAGTGAATAACTGAATATAGGGGGTGAGCGAGAAGCATCAATCCAAGGTTCA
GAGCTTGAAAAGCTATATTGCCAGCAACTCCACTAAGCAGAAAAGGGAATGCAGAACGTAAGAACAGGGC
CAGTGGGCACAGGTTTGGATGCTCTGTGTTGAGCTTCTGTGGAACTGCAGGTGGCAATGTTAGGCAA
AAGCGTGTTCACATGTGGTGTCTAGTACTAGAGATACTAATTTGAAAGTCATCAGAGAACAGCTCACAT
CTGAAGTGTGTTCTTAATCATTAAGATATTACCATGTGTACACTGCTGTCTTGTGATTGTGTTTCTGCT

TAATTCTGCATGGGCTTCTTCTGGGGGTGAAGTGAAGTGAAGTCACTCAGTCGTGCCTGACTCTTTGCG