

JOASHLENNY ALVES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE GENÉTICA DE CARACTERÍSTICAS DE  
RESISTÊNCIA AO *Haemonchus contortus* EM  
CAPRINOS CRIoulos**

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,  
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

Oliveira, Joashllenny Alves de, 1978-  
O48a Análise genética de características de resistência ao  
2016 *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos / Joashllenny  
Alves de Oliveira. - Viçosa, MG, 2016.  
xvi, 88f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Inclui apêndice.

Orientador : Fabyano Fonseca e Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Haemonchus contortus*. 2. Parasitas intestinais.  
3. Caprinos - Doenças. 4. Resistência. 5. Melhoramento  
genético. 6. Avaliação genética. 7. Métodos de regressão  
aleatória. 8. Genômica. 9. Mapeamento cromossômico.  
10. Marcadores genéticos. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-graduação  
em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.089696

JOASHLENNY ALVES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE GENÉTICA DE CARACTERÍSTICAS DE  
RESISTÊNCIA AO *Haemonchus contortus* EM  
CAPRINOS CRIoulos**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Aprovada: 23 de maio de 2016.

---

Prof. Robledo de Almeida Torres  
(Coorientador)

---

Dr. Cláudio José Borela Espescht

---

Dr. Marcos Deon Vilela de Resende

---

Prof. Camila Ferreira Azevedo

---

Fabyano Fonseca e Silva  
(Orientador)

***Aos meus maiores incentivadores:  
meus pais,  
minha irmã,  
e aos meus eternos e verdadeiros irmãos-amigos  
dedico a vocês este trabalho.***

**“Teus olhos até mesmo me viram quando eu era um embrião;  
Todas as partes dele estavam escritas no teu livro\*  
Com respeito aos dias em que foram formadas,  
Antes de existir qualquer uma delas.”**

**(Salmos 139:16)**

*\* DNA; código genético*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao maravilhoso Criador, Jeová Deus, por ter sido minha fortaleza e refúgio nos momentos mais difíceis e complicados da minha vida e por proporcionar palavras sábias e de grande afeto através de sua Palavra, a Bíblia.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização de um sonho e conclusão do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, FAPEMIG, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao Institut National de Recherche Agronomique (INRA - Antilhas Francesa) na Unité de Recherches Zootechniques (URZ), pela cessão dos dados essenciais à realização deste estudo.

Ao 'la Région Guadeloupe' pelo apoio a este estudo onde foi utilizado os fundos da União Europeia (FEDER, FEADER, FSE), e pelo projeto Europeu FP7-KBBE-2009-1-1-02-3SR.

Ao professor Fabyano Fonseca e Silva, pela orientação, aconselhamento, disponibilidade e por ser um excelente profissional. Obrigada!

Ao professor Robledo de Almeida Torres, pelos ensinamentos, amizade, confiança, orientação e sincero apoio ao longo desta temporada de convivência tanto no mestrado como no doutorado, minha eterna gratidão e grande admiração.

Ao prof. Ricardo Frederico Euclides (Bajá) como meu primeiro orientador na pós-graduação no departamento de zootecnia, por me incentivar a nunca desistir e a lutar contra qualquer tipo de adversidade encontrada por todo caminho percorrido em todas as fases (mestrado e doutorado) da minha vida. Agradeço-te como estudante, amiga e filha por tudo que fez por mim. Nunca vou esquecer-lo!!!

A professora Théa Mirian Medeiros Machado pela ajuda nos momentos difíceis, pelos ótimos conselhos e ao intercâmbio de conhecimentos oferecidos.

Aos Professores: Camila Ferreira Azevedo, Cláudio José Borela Espeschit e Marcos Deon Vilela de Resende, pelos excelentes conselhos e a disponibilidade de participarem desta banca examinadora.

Aos amigos e “tutores”: Luciano Pinheiro da Silva e Rodrigo Reis e, pelo constante estímulo, ensinamentos, disponibilidade, confiança e amizade, meu sincero obrigado por tudo.

Aos meus pais, João Andrade de Oliveira (Painho; “tenho orgulho de ser sua filha, amiga e cúmplice”!!) e Maria das Graças Alves de Oliveira (Mainha; “sempre serei o seu troféu”!!), pelos princípios espirituais, morais e éticos e que se dedicaram, incentivaram e contribuíram para superação desse novo desafio, amo muito vocês!

À minha irmã Joaslanêa Alves de Oliveira (Nêa; “obrigada por me dá um sobrinho [Ícaro] tão lindo e inteligente, e também um cunhado [Fernando] tão paciente e bondoso”), pela paciência, força e companheirismo ao longo de todos estes anos, te amo muito!

Aos pesquisadores (co-orientadores) do INRA-URZ: Nathalie Mandonet e Jean-Cristopher Bambou pela colaboração, apoio e incentivo para a concretização desta avaliação durante meu doutorado sanduíche. MERCI BEAUCOUP POUR TOUT!!!

Aos outros pesquisadores do INRA-URZ: Michel Naves, Maurice Mahieu, Thomas Loyau, Maryline Boval, Carine Marie-Magdeleine-Chevry, Harry Archimède, Lucina Abinne-Molza, Jean-Luc Gourdine, Audrey Fanchone, Harry Ozier-Lafontaine, Gisèle Alexandre, Lucien Philibert, Madly Moutoussamy pelas boas vindas e também pelo apoio e palavras de encorajamento durante o doutorado sanduíche.

Aos amigos do escritório do INRA-URZ: Roseline Rosé, Steve Ceriac e Murielle Mantran pelos momentos de descontração e toda a ajuda que me foi fornecida. Obrigada pela amizade!

Aos amigos e excelentes profissionais do laboratório do INRA-URZ: Dalila.feuillet, Yoann Félicité, Tatiana Etienne e Suzitte Calif por todo o apoio e paciência que tiveram comigo.

Ao ótimo técnico em informática do INRA-URZ: Luber Tel, por tantas vezes me ajudar quando havia algum problema no meu notebook (e que não foram poucas!).

As secretárias do INRA-URZ: Mélanie Flainville-Maricel, e Marie-Josée Noel-Bevis que me recepcionaram cordialmente e por toda a ajuda prestada a mim durante minha estadia nesta empresa.

Aos irmãos-amigos: Família Biasi (Sebastião e Isaura), Família Aguiar (Sérgio, Norma, Janerson e Enmily), Família Goes (Marcelo, Cláudia, Gean e Yuri), e a Família Birot (Pierre, Tereza e Livia) pelos constantes estímulos, confiança, amizade, ensinamentos e disponibilidade, meu sincero obrigado por tudo.

A minha grande e única Família Internacional Cristã: de Guadalupe (F.W.I), de Paris (França), de Den-Haag (Honada) que tanto me ajudaram em todos os sentidos, principalmente o espiritual. Que Jeová possa abençoar todos os seus esforços para se manterem firmes e constantes no caminho pra vida eterna!!!

A(o)s amigo(a)s das Repúblicas: *Taberneiras* (Aline Gomes da Silva, Andreina Epifania Dávila Vega, Ingrid Nataly Tavares da Silva, Luísa Campos Mendes, Wendy Yeraldine Cantero e Ingrid Alexandre do Padro) e *Duplex* (Fabiano Eloy Atílio Batista, Fabrício Eugênio Araújo, Alassane Daibou, Aboubacari Mohamed Abdoulaye, Robert Gascon, Reymundo Cruz Ruiz, Leonardo Bárbara Corrêa, Allison Wagner Teixeira e Duberli Goemar

Elera Gonzales e as demais formações destas repúblicas, muito obrigada, pelo companheirismo, amizade, convivência e cumplicidade.

Aos eternos, e hoje doutores e profissionais, “menins réis do buchão” do melhoramento animal da UFV: Carla Daniela Suguimoto Leite, Felipe Gomes da Silva, Jeferson Corrêa Ribeiro, Luciano Pinheiro da Silva e Rodrigo de Oliveira Pacheco, pelo incentivo, paciência e amizade sincera que me acompanharam (de perto ou de longe) esta importante fase indescritível em minha vida.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFV: Adilson Tadeu de Souza, Fernanda Cristina Santos Vieira e Silva, Gabriel Gonçalves Assunção, José Francisco da Silva, José Venâncio dos Santos, Rosana Teresa Cardoso Barbosa, e entre outros, pelos seus trabalhos dedicados e fervorosos a esta Instituição de Ensino de Nível Superior, destacada como uma das melhores Universidades Federais do país.

A(o)s Amigo(a)s de perto e de tão longe: Aline Camporez, Carolina Filardi, Aurizete Gomes, Daniele dos Anjos, Débora Paixão, Elcer Albenis Zamora Jerez, Evandro Oliveira Alcantara Jardim, Geicimara Guimarães, Gilcemir Angelo da Conceição, Giovani Caetano, Glícia Maria de Almeida, Joelina Sousa Chaves, Laíse Passos, Larissa Rodrigues de Azevedo Câmara, Lindenberg Sarmiento, Luanna Chácara Pires, Luiz Fernando Brito, Manon Hamon, Márcio da Silva Costa, Maria de Lourdes Hermínio Oliveira, Matilde Pessoa, Michelle Ramos, Misa Pollyanna Lopes de Sousa Santos, Natalia Rincon, Nidia Cangí, Olavo Castelo Branco Filho, Laura Franco Prados, Pedro Geraldo González Pech, Raimundo Martins Filho, Raphael Moreira, Renata Veroneze, Sharrine Oliveira Marra, Sheila Zadelaar, Silvana Lima, Tiago Santana Rosa, e a tantos outros que não estão aqui registrados, mas fica o meu: “Obrigada pela força e amizade. GRATIDÃO!!”

Ao povo brasileiro que de uma forma ou de outra contribuiu com seus impostos viabilizando o apoio financeiro para dedicação a esse trabalho, através da bolsa concedida pela FAPEMIG.

## BIOGRAFIA

Joashlenny Alves de Oliveira, filha de João Andrade de Oliveira e Maria das Graças Alves de Oliveira, nasceu em 23 de junho de 1978, em Itabuna, Bahia.

No dia 5 de agosto de 2002, ingressou na Universidade Federal do Piauí, em Teresina, Piauí, onde iniciou o Curso de Engenharia Agrônômica. Durante a Graduação foi bolsista de iniciação científica (CNPq) durante dois anos na área de Melhoramento Genético Animal, orientada pelos Professores José Elivalto Guimarães Campelo e Raimundo Martins Filho. Também foi monitora nas disciplinas de Experimentação Agrícola e Irrigação - Drenagem, sob coordenação dos Professores José Algaci Lopes da Silva e Evandro Carvalho de Aragão, respectivamente. Ainda estagiou na EMBRAPA Meio-Norte (Teresina - PI) onde teve a oportunidade de trabalhar no Laboratório da Biologia Molecular, com estudo da seleção de marcadores moleculares para a diversidade e caracterização genética em bovinos da raça Pé-Duro, sob supervisão do Dr. Fábio Mendonça Diniz.

No dia 29 de fevereiro de 2008, conclui a Graduação fazendo parte da II Turma de Engenheiros Agrônomos de 2007.

No dia 2 de março de 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação (Mestrado) na área de Melhoramento Genético Animal, da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, onde foi bolsista da FAPEMIG e orientada pelo Professor Ricardo Frederico Euclides.

No dia 24 de fevereiro de 2011, submeteu-se ao exame final de defesa de dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae* em Zootecnia.

No dia 5 de março de 2012, ingressou no Programa de Pós-Graduação (Doutorado) na área de Melhoramento Genético Animal, da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, onde foi bolsista da FAPEMIG, e orientada primeiramente pelo Professor Ricardo Frederico Euclides, que por motivos de saúde se aposentou, passando a orientação ao Professor Fabyano Fonseca e Silva. De dezembro de 2014 a novembro de 2015 realizou o Doutorado Sanduíche no Institut National de Recherche

Agronomique (INRA) na Unité de Recherches Zootechniques (URZ), localizado em Guadalupe, Antilhas Francesa.

No dia 21 de março de 2016 foi aprovada no Exame de Qualificação em Melhoramento Genético Animal, no Departamento de Zootecnia (UFV).

No dia 23 de maio de 2016, submeteu-se ao exame final de defesa de tese para obtenção do título de *Doctor Scientiae* em Zootecnia.

## SUMÁRIO

Lista de Figuras .....	xi
Lista de Tabelas.....	xii
Resumo .....	xiii
Abstract.....	xv
Introdução Geral .....	01
Revisão de Literatura.....	05
Ilha de Guadalupe .....	05
Caprinos Caribenhos .....	07
Hemoncose .....	09
Medidas Repetidas.....	13
Estudos de Associação Genômica (GWAS).....	14
Referencias Bibliográficas .....	15

<b>CAPÍTULO 1 - Avaliação genética de características de resistência ao <i>Haemonchus contortus</i> em caprinos Crioulos .....</b>	<b>27</b>
Resumo .....	28
Abstract.....	30
Introdução .....	32
Material e Métodos .....	33
Localização do Experimento.....	33
Exame Coproparasitológico.....	34
Exames Hematológicos .....	34
Caracterização Biológica dos Animais .....	35
Dispositivo Experimental de Fenotipagem.....	35
Banco de Dados .....	36
Análise Estatística e Estimação de Parâmetros Genéticos .....	37
Resultados e Discussão .....	41
Conclusão .....	57
Referencias Bibliográficas .....	57

<b>CHAPTER 2 - Genome-Wide Association Study and identification of candidate genes for fecal eggs count in Creole goats</b> .....	64
Abstract.....	65
Resumo .....	66
Introduction .....	68
<b>MATERIAL AND METHODS</b> .....	69
Phenotypic and Genotypic Data .....	69
Statistical Analyses.....	70
SNP Derived Candidate Gene Annotation.....	70
Results.....	71
Discussion .....	73
Manhattan and Q-Q plots .....	73
SNP Derived Candidate Gene Annotation.....	74
First Challenge Annotated Genes .....	74
Second challenge Annotated Genes.....	75
Implications and Future Research.....	76
References.....	77
<b>ANEXOS</b> .....	81
Input do SAS - grupo contemporâneo (OPG, EOSI e VG) .....	81
Input do WOMBAT - modelo de repetibilidade (OPG, EOSI e VG) .....	84
Input do WOMBAT - modelo de regressão aleatória (OPG, EOSI e VG) .....	85
Input do R - GWAS utilizando o pacote rrBLUP (OPG).....	86

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribuição mundial de caprinos .....	01
<b>Figura 2.</b> Evolução do rebanho de caprino no Brasil por região (1970 a 2015).....	01
<b>Figura 3.</b> Estimativa na demanda de carne caprina por região até 2021 .....	02
<b>Figura 4.</b> Vista aérea por satélite da Ilha de Guadalupe .....	06
<b>Figura 5.</b> Informações da meteorologia da região Basse-Terre com temperaturas e precipitações extraídas das médias mensais (1995 a 2015) .....	07
<b>Figura 6.</b> Caprinos Crioulos: fêmea (A) e macho (B) .....	08
<b>Figura 7.</b> Ciclo evolutivo do endoparasita <i>Haemonchus contortus</i> em caprinos Crioulos.....	10
<b>Figura 8.</b> Larva infectante (L3) do <i>Haemonchus contortus</i> (A) e presente na mucosa abomasal (B e C) .....	11
<b>Figura 9.</b> Sinais clínicos de hemonchose em pequenos ruminantes: ascite (A), edema submandibular (B e C) e mucosa ocular pálida (D) .....	12
<b>Figura 10.</b> Dispositivo experimental de fenotipagem.....	36
<b>Figura 11.</b> Estimativas de componentes de variância genética aditiva direta ( $\sigma_a^2$ ), fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) e efeito de ambiente permanente ( $\sigma_p^2$ ).....	47
<b>Figura 12.</b> Estimativas de herdabilidade ( $h^2$ ) e de ambiente permanente ( $p^2$ ) .....	50
<b>Figura 13.</b> Correlações genética aditiva direta ( $r_a$ ) e efeitos de ambiente permanente ( $r_p$ ) entre tempos (dias) e entre os Desafios 1 e 2 .....	54
<b>Figure 14.</b> Manhattan plot and QQ-plot for fecal egg count (FEC) at first (a and c) and second (b and d) Challenges .....	72

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Número de animais (N), média ( $\mu$ ), desvio padrão (DP) observados em caprinos Crioulos criados na ilha de Guadalupe, região das Antilhas Francesa.....	41
<b>Tabela 2.</b> Ordem do polinômio para a curva fixa ( $k_f$ ), e para os efeitos genéticos aditivo direto ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ), número de parâmetros (NP), logaritmo da função de verossimilhança (Log L), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação Bayesiano de Schwarz (BIC) para a característica OPG.....	43
<b>Tabela 3.</b> Ordem do polinômio para a curva fixa ( $k_f$ ), e para os efeitos genéticos aditivo direto ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ), número de parâmetros (NP), logaritmo da função de verossimilhança (Log L), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação Bayesiano de Schwarz (BIC) para a característica EOSI.....	44
<b>Tabela 4.</b> Ordem do polinômio para a curva fixa ( $k_f$ ), e para os efeitos genéticos aditivo direto ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ), número de parâmetros (NP), logaritmo da função de verossimilhança (Log L), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação Bayesiano de Schwarz (BIC) para a característica VG.....	45
<b>Tabela 5.</b> Estimativas de componentes de variância (diagonal), covariância (abaixo da diagonal), correlações entre o intercepto e os coeficientes de regressão aleatória (acima da diagonal)-para cada MRA escolhidos.....	46
<b>Table 6.</b> Significant SNP markers for fecal egg count (FEC) at first (FC) and second (SC) Challenges, their respective position in chromosomes, q-values (p-values corrected by FDR), $-\log_{10}$ (q-value) (transformed q-values used in the Manhattan plots) and annotated genes within SNP region.....	73

## RESUMO

OLIVEIRA, Joashlenny Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2016. **Análise genética de características de resistência ao *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos**. Orientador: Fabyano Fonseca e Silva. Coorientador: Robledo de Almeida Torres.

Foram utilizados 5.796 registros de perfis parasitológico (ovos por grama de fezes - OPG) e histológico (contagem de eosinófilos sanguíneos – EOSI; e volume globular - VG), para obtenção da resposta à resistência ao parasitismo *Haemonchus contortus* ao longo do tempo, oriundos de 138 caprinos da raça Crioula com idades variando de 173 a 307 dias, pertencentes a empresa francesa INRA (*Institut National de Recherche Agronomique*) na *Unité de Recherches Zootechniques* (URZ) localizada em Guadalupe (Antilhas Francesa), coletados no período de 2009 a 2013. A primeira análise destes dados foi contrastar diferentes modelos estatísticos (repetibilidade - REP; e regressão aleatória - MRA) para uma avaliação genética relacionada à resistência de caprinos Crioulos infectados artificialmente com 10.000 larvas L3 de *Haemonchus contortus*, em 2 etapas (Desafio 1 - correspondente à imunização do animal ao parasita; e Desafio 2 - correspondente à resposta da imunização adquirida pelo animal após a primeira infecção artificial) e observados durante 56 dias. Para o MRA o ajuste ocorreu por meio de funções polinomiais de Legendre para a curva fixa ( $k_f$ ), efeito genético aditivo ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ) considerando as ordens dois (função linear) e três (função quadrática) para descrever as estruturas de (co)variâncias em função do tempo. Por meio do software WOMBAT, os modelos (REP e MRA) foram comparados pelos critérios de informação de Akaike (AIC) e Bayesiano de Schwarz (BIC). Estes avaliadores de qualidade destacou no Desafio 1, os seguintes MRA com as ordens: 3,2,3 para OPG; 3,3,2 para EOSI e 2,2,3 para VG como sendo os mais plausíveis para descrever geneticamente a curva de resistência de caprinos Crioulos inoculados com *Haemonchus contortus*. Já para o Desafio 2, os MRA com as ordens: 3,2,3; 3,2,2 e 3,3, respectivamente para as características OPG, EOSI e VG foram ressaltado para a mesma finalidade. Na segunda análise destes dados para ambos os Desafios (1 e 2)

foi realizada a identificação de genes associados aos mecanismos de resistência em caprinos Crioulos ao *Haemonchus contortus*, por meio um Estudo de Associação Genômica Ampla (*Genome-Wide Association Study - GWAS*) para contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Todos os animais avaliados neste estudo foram genotipados utilizando o chip Illumina goat SNP50 BeadChip (Illumina Inc. San Diego, CA) contendo 53.347 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism ou polimorfismo de nucleotídeos de base única*). E após o controle de qualidade, os genótipos de todos os indivíduos passaram a ter 46.643 SNPs, onde foram incluídos no GWAS. As associações que mostraram significativas foram identificadas através de modelos lineares mistos e ajustados separadamente para cada Desafios (1 e 2) utilizando a função GWAS do pacote *rrBLUP* do software R. No Desafio 1 foram encontrados sete SNPs (no cromossomo 4, 6, 11 e 17) e no Desafio 2 foram reportados cinco SNPs (nos cromossomos 3, 8, 9 e 24). A anotação dos genes candidatos foi realizada nas posições destes marcadores significativos, onde o principal cromossomo em termos de número de genes anotados foi o seis (Desafio 1) e o oito (Desafio 2) para a característica de interesse OPG. Uma vez que a infecção de *Haemonchus contortus* provoca danos graves no intestino em animais infectados, resultando num processo de inflamação e também a perda de sangue (ou anemia), o uso destes genes anotados é grande importância, pois os mesmos podem ser analisados sob um ponto de vista para uma resposta imunológica integrada.

## ABSTRACT

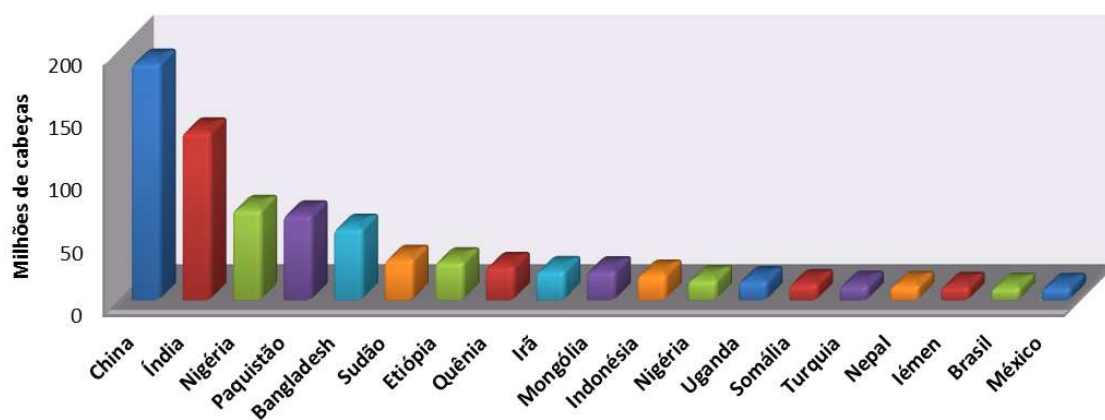
OLIVEIRA, Joashlenny Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2016. **Genetic analysis of resistance traits to *Haemonchus contortus* in Creole goats.** Adviser: Fabyano Fonseca e Silva. Co-adviser: Robledo de Almeida Torres.

A total of 5.796 records of parasitological (fecal eggs count - FEC) and histological (counting blood eosinophils - EOSI, and packed cell volume - PCV) profiles were used to study the genetic resistance to *Haemonchus contortus* parasitism in Creole goats belonging to French company INRA (*Institut National de Recherche Agronomique*) in Unité de Recherches Zootechniques (URZ) located in Guadeloupe (French West Indies). The datasets were collected in the period between 2009 to 2013. The first analysis consisted in comparing statistical models (repeatability - REP, and random regression - MRA) for genetic evaluation related to the resistance of Creole goats artificially infected with 10.000 larvae L3 of *Haemonchus contortus*. The infection occurred in 2 steps (Challenge 1 - corresponding to the immunization of the animal to the parasite; and Challenge 2 - corresponding to the immunization response acquired by the animal after the first artificial infection). The MRA were fitted by Legendre polynomials assumed to the fixed curve ( $k_f$ ), additive genetic effect ( $k_a$ ) and permanent environmental ( $k_p$ ) considering the two orders (linear function) and three (quadratic function) to describe the structures of (co) variance as a function of time. The analyses were performed by using WOMBAT software, being the models compared through Akaike Information (AIC) and Bayesian Schwarz (BIC) Criteria. For Challenge 1, the following MRA with orders: 3,2,3 for FEC; 3,3,2 for EOSI e 2,2,3 for PCV were the most plausible to describe genetic variation in goats in relation to the resistance to *Haemonchus contortus*. For Challenge 2, the MRA with orders: 3,2,3; 3,2,2 e 3,3, respectively for the characteristics FEC, EOSI e PCV, presented the best fitting. The second analysis was performed to identify genes associated with resistance mechanisms in the Creole goats to *Haemonchus contortus* through Genome-Wide Association Study (GWAS) for fecal eggs count (FEC). All animals in this study were genotyped using the chip Illumina goat

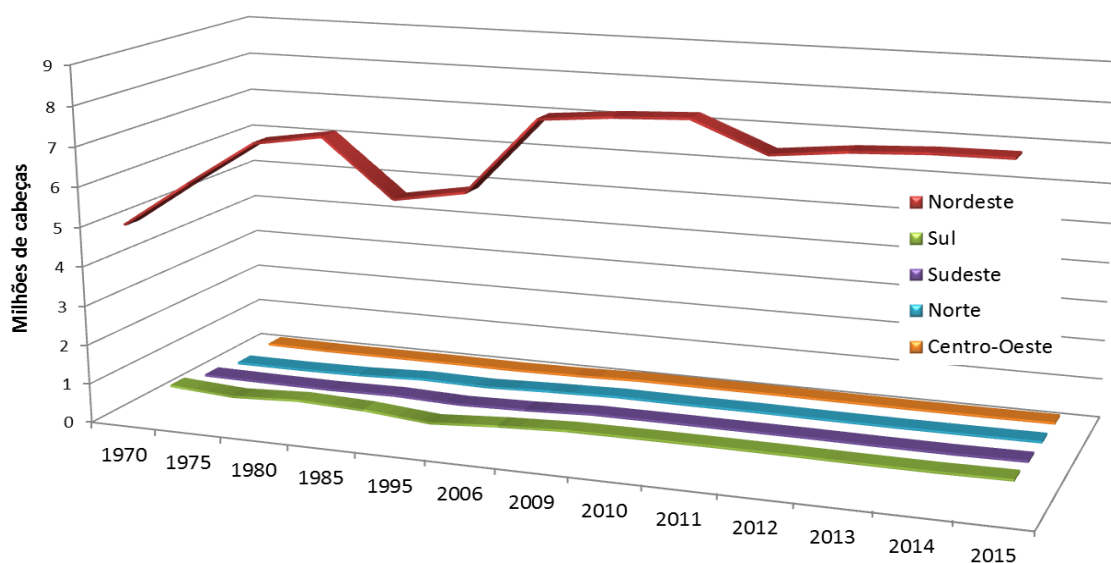
SNP50 BeadChip (Illumina Inc. San Diego, CA) containing 53,347 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism). Significant associations were identified by linear mixed models fitted separately for each Challenges (1 and 2) using the function rrBLUP of R software. At Challenge 1 were found seven significant SNPs (on chromosome 4, 6, 11 and 17); and at Challenge 2 were reported five significant SNPs (on chromosomes 3, 8, 9 and 24). Candidate gene annotation study was performed in the positions of these significant markers. Chromosome 6 was the most relevant in terms of the number of annotated genes, since a total of six (Challenge 1) and eight (2 Challenge) genes were associated to FEC. These genes are related to inflammation process and loss of blood (or anemia), which are symptoms of *Haemonchus contortus* infection. These identified genes can be submitted to future studies aiming to elucidate the integrated immune response to this parasitism.

## INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente o primeiro lugar mundial no número de caprinos é ocupado pela China, que detém mais de 188 milhões de animais, já o Brasil ocupa apenas o 18º lugar no ranking mundial com 8.915.966 animais (Figura 1). De acordo com Oliveira (2009), pela grande extensão territorial brasileiro e levando em conta as condições edafoclimáticas favoráveis no que diz respeito ao desenvolvimento da caprinocultura, a taxa (ou percentual) de rebanhos são muito inferiores quando comparados aos rebanhos bovinos.



**Figura 1.** Distribuição mundial de caprinos. *Fonte: FAO/FAOSTAT (2015).*



**Figura 2.** Evolução do rebanho de caprino no Brasil por região (1970 a 2015). *Fonte: IBGE (Pecuária / 2015).*

Desde 1970 a 2015 (Figura 2), a região nordestina do Brasil sempre se manteve com um maior número de animais se comprada às demais regiões do país, e atualmente participa com 91,17% desde rebanho nacional. Já para cada região brasileira, a participação do rebanho informa: 3,65% (sul), 2,39% (sudeste), 1,67% (norte) e 1,12% (centro-oeste).

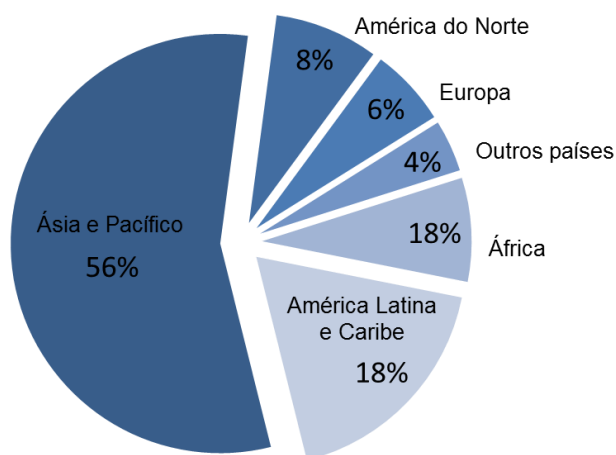
A partir do ano de 2011 (Figura 2) o cenário da caprinocultura no Brasil se transformou significativamente, havendo inúmeras reduções no tamanho efetivo de animais, onde muitos fatores já são conhecidos (Oliveira, 2009), contribuíram fortemente em prejuízos econômicos e qualidade (produtos cárneos e lácteos) produzida no país (Passafaro, 2015):

- produtos homogêneos no que se diz em quantidade e qualidade estão em falta no mercado brasileiro, especialmente para consumidores que planejam desembolsar um custo adicional para este diferencial;

- manejos inadequados relacionados às práticas sanitárias (abate clandestino) com elevado risco para a saúde os consumidores, como também a ineficácia no manejo nutricional, de ambiência e desenvolvimento, comprometendo o desenvolvimento da caprinocultura;

- predomínio de sistemas de produção a pasto, onde os ambientes disponíveis (ou favoráveis) contribuem para a infestação de parasitos em animais, como também o próprio aumento da contaminação das pastagens.

Mesmo com todos esses entraves o setor da caprinocultura brasileira, o forte mercado externo exercido por outros países tem perspectivas de alcançar novos nichos, aumentando cada vez mais o consumo de seus produtos cárneos nos principais centros mundiais (Figura 3).



**Figura 3.** Estimativa mundial na demanda de produtos cárneos de origem caprina até 2021. Fonte: FAO (2015).

Para que essa estimativa ocorra muito bem, vários países investem há anos em instituições públicas e privadas, e as mesmas usam programas de melhoramento genético em caprinos na luta contra a infecção parasitária ocasionada pelo nematóide *Haemonchus contortus*. Este parasito é considerado como um dos maiores causadores de perdas produtivas e reprodutivas no setor da caprinocultura de corte (ou leite) no mundo, principalmente em ambientes tropicais e subtropicais (Perry et al., 2002).

O impacto da infecção parasitária na saúde nestes pequenos ruminantes independente da espécie, raça ou estado nutricional, caracteriza-se principalmente pelo quadro clínico de anemia (hiperaguda, aguda ou crônica), resultando na morbidade e letalidade em indivíduos não tratados, principalmente em fêmeas após o parto e animais jovens. Gunia et al. (2013) constataram que a margem bruta de lucro na produção de carne de caprino por grandes e pequenos produtores é reduzida em até 81% devido a infestações parasitárias.

Inúmeros trabalhos informam que o melhor controle ao parasitismo (*Haemonchus contortus*) baseiam-se no uso de anti-helmínticos e no manejo das pastagens (Gray, 1997; Amarante et al., 1999; Sotomaior, 2002). Mas, por outro lado existe a grande dificuldade do manejo das pastagens; o longo período de probabilidade das larvas infectantes no ambiente promovido pelo índice pluviométrico, umidade e temperatura do solo; e o aumento da resistência dos endoparasitas aos fármacos fabricados atualmente e administrados sem critérios técnicos.

O *Institut National de Recherche Agronomique* (INRA) situada em Guadalupe (Antilhas Francesa) é uma forte instituição de pesquisa francesa que há mais de 15 anos tem intensificados seus esforços em pesquisas (agricultura e pecuária). E atualmente tem como desafio comprovar a existência de animais resistentes ao *Haemonchus contortus*, principalmente em avaliação da variabilidade genética disponível em caprinos da raça Crioula (Mandonnet et al, 2005; Bambou et al, 2013) com propósito de fornecer uma estratégia viável de controle de longo prazo.

Animais geneticamente resistentes têm a habilidade de impedir o estabelecimento e/ou desenvolvimento da infecção parasitária (Albers et al.,

1987). Com isso, uma das estratégias utilizada pelo INRA é classificação da resposta do hospedeiro ao *Haemonchus contortus*:

- resistência inata: mostra-se como passiva e baseia-se na habilidade do hospedeiro em evitar o estabelecimento do endoparasita por meio de mecanismos físico-químicos (Miller e Gray, 1996);

- resistência adquirida: tem comportamento ativo, e baseia-se na ação da imunidade do hospedeiro após a infecção parasitária (Amarante et al., 1999).

As seleções de animais resistentes com a finalidade de diminuir o surgimento de endoparasitas nos rebanhos estão relacionadas: com estudos imunológicos da resistência através da seleção direta (marcadores fenotípicos); e a identificação de genes que influenciam a resistência do hospedeiro ao *Haemonchus contortus* através da seleção indireta (marcadores moleculares).

Para a quantificação da carga parasitária em pequenos ruminantes, os marcadores fenotípicos podem ser: (a) parasitológico: através do OPG - contagem de ovos por gamas de fezes (Thomaz-Soccol et al., 2004); (b) hematológico: por meio do EOSI - número de eosinófilos circulantes no sangue (Mendes et al., 2000; Balic et al., 2006); e do VG - volume globular (Bull et al., 2003; Taylor et al., 2010).

Outra ferramenta disponível para seleção de caprinos Crioulos resistentes é a introdução de ferramentas genômicas, através de Estudos de Associação Genômica (ou GWAS – *Genome-Wide Association Study*) aliados às novas tecnologias de análises automatizadas de marcadores moleculares, tais como o marcador SNP (Single Nucleotide Polymorphism ou polimorfismo de nucleotídeos de base única). O GWAS permite apontar as variações no DNA que estão conectados ou associados com a característica de resistência, indicando a localização dos genes envolvidos com a expressão deste fenótipo de interesse e auxiliando na clareza dos mecanismos fisiológicos e/ou biológicos desses genes anotados (KU et al., 2010).

A realização deste trabalho teve por base os seguintes objetivos gerais:

- Comparar diferentes modelos de avaliação genética (Repetibilidade e Regressão Aleatória) a fim de avaliar aquele que melhor descreve geneticamente a curva da resistência genética dos caprinos Crioulos ao *Haemonchus contortus* através de marcadores fenotípicos.

- Realizar um GWAS para OPG em caprinos Crioulos de Guadalupe e também identificar os possíveis genes candidatos associados à resistência ao *Haemonchus contortus* nesta população.

O formato desta tese de Doutorado foi estruturado em dois capítulos, sendo que o primeiro falará sobre o tema: “**Avaliação genética de características de resistência ao *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos**”. E o segundo capítulo terá como tema: “**Genome-Wide Association Study and identification of candidate genes for fecal eggs count in Creole goats**”.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Ilha de Guadalupe

Está localizada no mar do Caribe (Figura 1) abrangendo uma área de 1.800 km<sup>2</sup>, e é formada por duas ilhas (Basse-Terre e Grande Terre) separadas por um estreito de 200 m de largura e unidas por duas pontes. Este arquipélago ainda administra os setores socioeconômicos de mais quatro ilhas (Figura 1): *La Désirade*, *Marie Galante*, e *Îles des Saintes* (composta por duas ilhas: *Terre-de-Bas* e *Terre-de-Haut*). Ainda, Guadalupe é integrada ao departamento ultramarino francês, de acordo com a Constituição Francesa, Artigo 73 (Modificado 28/03/2003) considerados “*Départements d’Outre-Mer*” (ou DOM), assim como as outras colônias, tais como: *Guiana Francesa*, *Réunion*, *São Bartolomeu*, *Saint-Martin* [lado francês], *Martinique* e entre outras. Nesta qualidade, gozam da mesma igualdade de direitos e da mesma identidade legislativa que cada departamento do Hexágono francês, com acréscimo de possibilidades de adaptação, levando em conta suas situações específicas (CONSEIL CONSTITUTIONNEL, 2015; APEBFR, 2015).

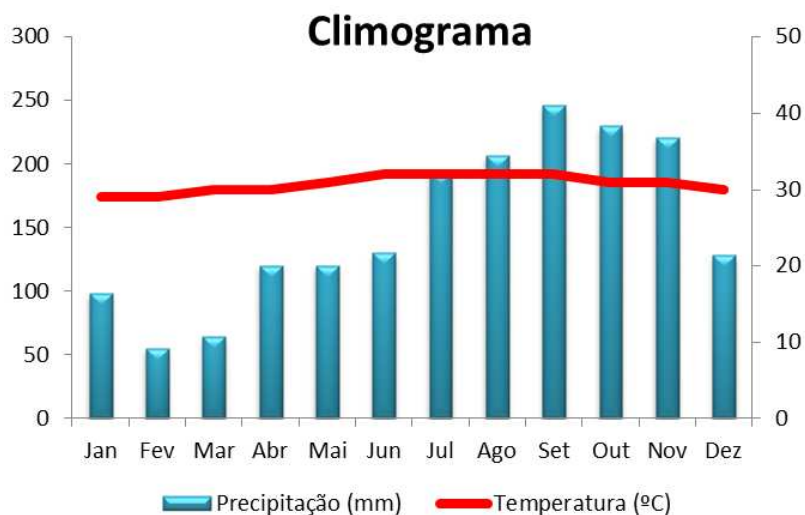


**Figura 4.** Vista aérea por satélite da Ilha de Guadalupe. *Ilustração: Google Maps.*

As regiões de Basse-Terre e Grande-Terre são bem distintas uma da outra. A primeira tem 838 km<sup>2</sup> com morfologia montanhosa, onde se encontra o vulcão, ainda ativo, chamado *Soufrière* com 1.467 m. Já a segunda região do arquipélago tem 595 km<sup>2</sup> e sua morfologia é de relevo plano a suave ondulado, com característica de solo calcário. Em uma área de 16.28 km<sup>2</sup> as terras são: 17% aráveis, 14% prados e pastagens, 39% florestas e arbustos, e 30% incultas e improdutivas. A economia de Guadalupe é baseada principalmente na agricultura familiar, voltada ao setor de produção da cana de açúcar, banana e frutas tropicais. E também ao enfoque no setor pesqueiro e turismo da ilha (GUIAVIAGEM, 2015).

Em toda a região da ilha o clima é tropical quente e muito úmido, caracterizado por duas estações distintas (Figura 2), uma chuvosa e quente de maio-junho a novembro, e uma estação seca e mais fresca de dezembro a abril-maio. Na estação quente e úmida, os meses de julho a outubro, ocorrem com bastante frequência um número considerável de aparecimento de ciclones (furacões). Durante a estação seca e fria os ventos alísios de nordeste mantêm um clima moderado e com temperaturas mais amenas. A precipitação varia

muito, dependendo da exposição aos ventos. Assim, existem áreas verdes (região de Basse-Terre) e outras áreas bastante secas (região de Grande Terre). A precipitação anual é de 1.500 a 1.800 mm, e as encostas de barlavento são as mais chuvosas, enquanto as encostas abrigadas do vento são bastante secas. Nas encostas mais úmidas existe uma precipitação anual de mais de 5.000 mm (CABOSTRAL, 2015).



**Figura 5.** Informações da meteorologia da região *Basse-Terre* com temperaturas e precipitações extraídas das médias mensais (1995 a 2015).  
*Fonte:* <http://www.cabostral.com/clima-guadalupe.php>; *Ilustração:* Joashlenny Alves de Oliveira, INRA - URZ, Petit-Bourg (2014 - 2015)

## Caprinos Caribenhos

Os animais naturalizados em Guadalupe (Figura 3), mais conhecidos como Crioulos são descendentes dos tipos trazidos da África, Europa, e Ásia, onde os registros de importações ocorreram entre o século 17 até o século 19 (Chemineau et al., 1984). A presença francesa nesta região caribenha foi relativamente fraca. Pois, a coroa francesa rejeitava assumir os gastos com a colonização, e a partir de então, o projeto de colonização e exploração animal (carne, leite e couro) foi estimulada pela iniciativa privada, através das companhias de comércio (HISTORIANET, 2015).

Os cruzamentos sucessivos formaram-se gradativamente a população de caprinos Crioulos e usados alternadamente para a produção de carne, leite e tração, embora sujeita a seleção natural (Naves et al., 2009).

Durante o século 20, inúmeras tentativas a fim de melhorar a pecuária em Guadalupe, foram introduzidas raças leiteiras (Alpina e Saanen) e de corte (Boer) (Gunia, 2012). Com isso, a recente criação de um padrão da raça Crioulos (Mandonnet et al., 2010) visou a identificação de animais puros, como também a sua diferenciação em cruzamentos e tipos raciais julgados no passado.

Por meio da sua adaptação local estes caprinos Crioulos foram inúmeras vezes subestimadas, principalmente quanto a um programa de melhoramento genético sustentável (Alexandre e Mandonnet, 2005). Esse animal nativo destaca-se por ser extremamente resistente e bem adaptado às condições adversas encontradas em países tropicais e subtropicais, por possuir caracteres bem interessantes quanto à fertilidade, pois tem alta a prolificidade (2,3 filhotes/parto) (Alexandre et al., 1997); boa habilidade materna (Baker e Gray, 2004); além de ter a capacidade de caminhar longas distâncias, sobreviver à seca, e ter resistência ao calor (Boyazoglu et al., 2005); como também possuir certa resistência ao endoparasito *Haemonchus contortus* (Mandonnet et al, 1997; Bambou et al, 2013).



**Figura 6.** Caprinos Crioulos: fêmea (A) e macho (B). *Fonte: Gunia, 2012.*

A caprinocultura em Guadalupe é tradicionalmente familiar, e como não há propriedades estruturadas, a maioria da produção (carne, leite e pele) é comercializada através de vendas diretas e nunca declarada (ODEADOM, 2009). Logo, não há registros de números exatos disponíveis sobre a criação de caprinos Crioulos na ilha de Guadalupe. Em 2009 houve uma estimativa sobre o número de caprinos: 23.000 cabeças, e destes estima-se que 9.000

animais sejam fêmeas (AGRESTE, 2009). Entretanto, existem relatos (mas, ainda não confirmados) de que o número de caprinos possa chegar a 60.000 cabeças em toda a esta ilha caribenha (Asselin de Beauville, 2002).

Há quase 40 anos, o uso de animais mais resistentes a parasitoses têm sido muito utilizada através da seleção, em programas de melhoramento genético. Muitos autores vêm relatando sobre as habilidades com que os pequenos ruminantes (caprinos e ovinos) têm sobre resistência às infecções (naturais e artificiais) de endoparasitoses, principalmente comprovados pelo uso de raças dentro e/ou entre linhagens (Costa et al., 2000; Gasbarre et al., 2001) e animais imunologicamente competentes (Balic et al., 2006).

Woolaston e Baker (1996) afirmam que para um animal ser considerado geneticamente resistente, sua habilidade está em iniciar e manter uma resposta imune que supra a implantação dos endoparasitas e/ou exclua a carga parasitária. A resistência de pequenos ruminantes à endoparasitoses gastrintestinais é também influenciada pela nutrição, ambiente e idade do animal (Amarante, 2004; Amarante et al., 2004; Charon, 2004; Kidane et al., 2010).

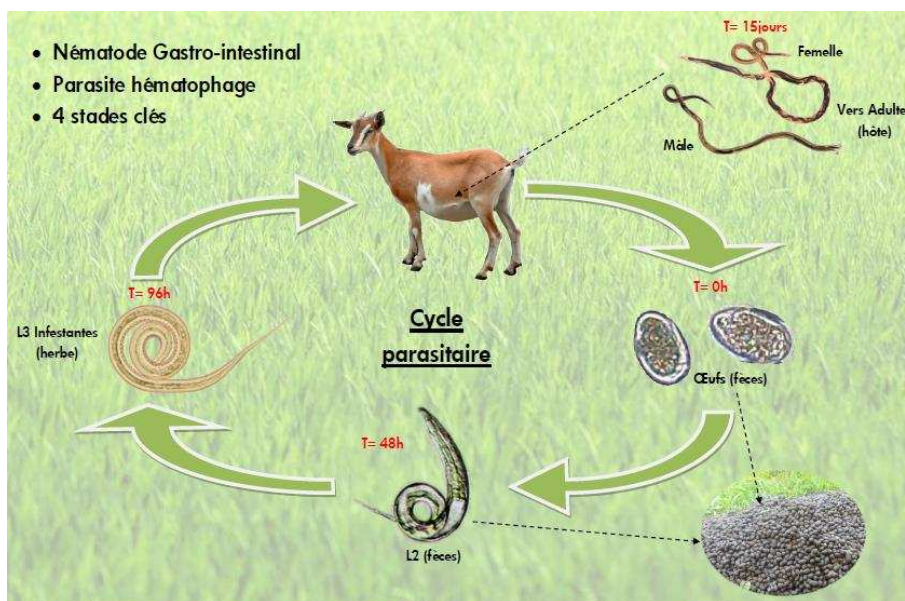
## **Hemoncose**

Doença parasitária de grande importância no cenário da caprinocultura causada por *Haemonchus contortus* cuja classificação taxonômica é: Filo *Nemathelminthes*; Classe *Nematoda*; Ordem *Strongylida*; Superfamília *Trichostrongyloidea*; Família *Trichostrongylidae*; Gênero *Haemonchus*; Espécie *Haemonchus contortus* (Rudolf, 1803). Outras espécies conhecidas pertencentes também ao gênero *Haemonchus* é o *H. placei* e *H. similis* (Urquhart et al, 1998).

Durante uma hemoncose aguda, o quadro clínico de anemia fica evidente por duas semanas após a infecção, isso é um indicativo de uma drástica redução e sempre progressiva para o volume globular (VG ou hematócrito - Ht), que mensura a taxa ou percentual de glóbulos vermelhos presentes no sangue do indivíduo. Outra evidência para o mesmo quadro clínico é a observação da contagem de eosinófilos sanguíneos (EOSI ou

granulócitos eosinófilos), que são responsáveis pela defesa ou imunidade do organismo do hospedeiro, onde valores entre 500 a 1.000 células/mm<sup>3</sup> indicam que o indivíduo apresenta infecção por nematóides no trato gastrointestinal (Epstein, 1998; Mendes et al., 2000).

Ciclo biológico (ou evolutivo) do *Haemonchus contortus* é direto (Figura 4), ou seja, as fêmeas são ovíparas altamente prolíferas, e seus ovos eliminados nas fezes, sob condições ideais de temperatura (18 a 26°C) e umidade (80 a 100%), tem desenvolvimento diretamente no pasto em forma larval L3 (3º estágio infectante) entre 5 a 15 dias (Onyiah e Arslan, 2005).

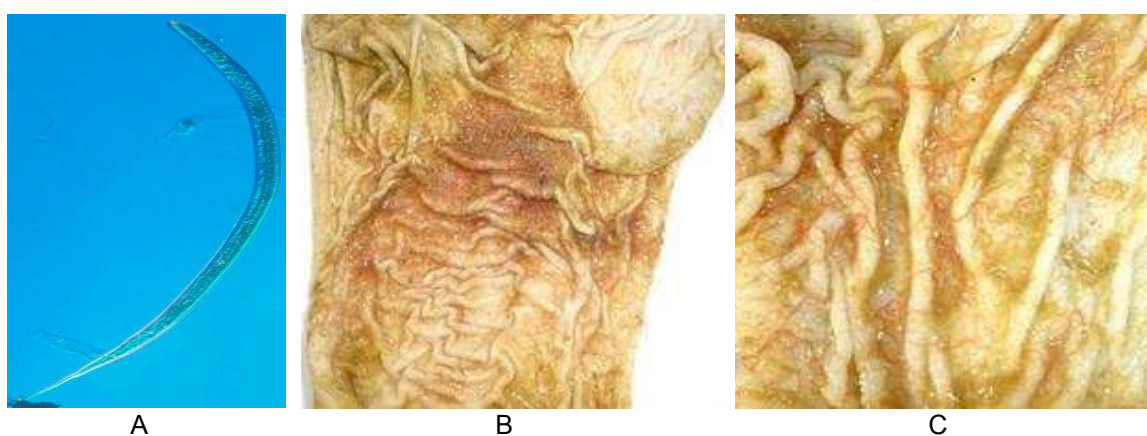


**Figura 7.** Ciclo evolutivo do endoparasita *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos. Adaptado de: INRA - Antilhas Francesa

Em baixas temperaturas, o L3 tem desenvolvimento lento por semanas ou até meses, e sua sobrevivência por esses por longos períodos se dá pelo seu baixo metabolismo e também pelo uso de suas reservas energéticas. Nesse caso, a umidade do pasto e/ou do ambiente é uma das razões para a sobrevivência do L3, caso contrário em condições de extrema seca, a larva não consegue sobreviver (Arosemena et al., 1999).

O uso da irrigação em pastagens durante o verão (temperaturas aproximadamente 24°C) ou condições climáticas favoráveis pode provocar o aparecimento de grandes quantidades de larvas em estágio L3 (Krecek et al., 1991; Rocha et al., 2008; Silva et al., 2008).

Logo após os pequenos ruminantes se infectarem ao ingerirem larvas L3 do hábito do pastejo, ocorre o desembainhamento da larva no rúmen, e a partir daí as mesmas sofrem duas mudas (L4 e L5) no trato gastrintestinal. Mas, antes que ocorra a muda final, esses helmintos desenvolvem a lanceta perfurante que lhes proporcionam o consumo do sangue dos vasos da mucosa do abomaso. Na forma adulta (L5) já é possível observar a diferenciação de machos (10 a 20 mm) e fêmeas (18 a 30 mm) com vida livre na superfície da mucosa (Figura 5) (Soulsby, 1987; Ueno e Gonçalves, 1994; O'connor et al., 2006).



**Figura 8.** Larva infectante (L3) do *Haemonchus contortus* (A) e presente na mucosa abomasal (B e C). Fonte: RVC-FAO (2004) <sup>(A)</sup>; Endo et al. (2014) <sup>(B e C)</sup>.

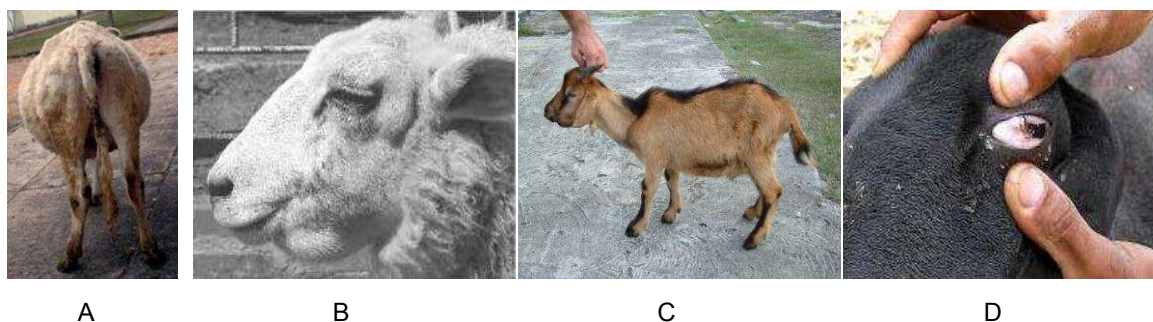
Como o aumento da carga parasitária, nível de anemia e quadro clínicos, a hemoncose causada pelo *Haemonchus contortus* (Nari e Cardozo, 1987; Urquhart et al., 1998; Amarante, 2001; Radostits et al., 2002; Bowman et al., 2003; Bowman, 2006; Taylor et al., 2010) se organiza da seguinte maneira:

- *Hiperaguda*: com até 30.000 nematóides, animais que aparentavam estar saudáveis podem obter morte súbita, onde o organismo do hospedeiro (animal) ocorreu uma grave gastrite hemorrágica muito intensa;

- *Aguda*: pelo decréscimo rápido e contínuo do VG é comprovado o quadro de anemia, onde a diminuição progressiva de ferro além de proteínas no organismo do hospedeiro resulta em esgotamento férrico da medula óssea, e conseqüentemente morte do hospedeiro;

- *Crônica*: pela presença de centenas de nematóides no organismo do hospedeiro durante uma seca prolongada, ou seja, a reinfecção é irrelevante,

porém o pasto apresenta baixo índice de nutrientes; nesse quadro clínico a quantidade de endoparasitas não consegue promover a uma anemia acentuada, mas pela constante espoliação do nematóide, pode acentuar os resultados de uma dieta pobre em nutrientes, fazendo com que o hospedeiro apresente diminuição progressiva de peso e fraqueza corporal; surgimento de ascite em virtude do decréscimo de macromoléculas essenciais no organismo do hospedeiro; e apresentação de edema submandibular pela hipoproteïnemia (Figura 6).



**Figura 9.** Sinais clínicos de hemonchose em pequenos ruminantes: ascite (A), edema submandibular (B e C) e mucosa ocular pálida (D). *Fonte:* <http://www.beefpoint.com.br> <sup>(A)</sup>; *Fotos:* Molento (2004) <sup>(B e D)</sup>; Rémy Arquet, INRA - UE, Gardel (2003) <sup>(C)</sup>.

Buske (2010) em uma necropsia realizada em pequenos ruminantes confirmou que 2.000 a 20.000 endoparasitas estavam causando inúmeras pequenas lesões hemorrágicas na mucosa do abomaso.

Assim, a hemonchose além de gerar grandes prejuízos no setor econômico na caprinocultura (carne e leite) é geralmente observada nas áreas de verão chuvoso, particularmente em regiões tropicais e subtropicais, onde foi comprovado que mais de 80% da carga parasitária é composta pelo *Haemonchus contortus* (Costa e Vieira, 1984; Charles, 1989; Urquhart et al., 1998; Charles, 1995; Arosemena et al., 1999; Sangster et al., 1999; Achi et al., 2003; Silva et al., 2003).

Além do alto percentual de mortalidade, observadas principalmente em animais jovens e em fêmeas após o parto, ressaltam ainda as perdas da atividade produtiva, resultante da queda no crescimento corporal; diminuição na produção de carne e leite; e baixos índices de fertilidade (Charles et al., 1989).

Mundialmente distribuído e estudado durante muitos anos, o *Haemonchus contortus* se destaca em relação a outras espécies de nematóides (Waller et al., 1996; Farias et al., 1997; Van Wyk et al., 1999; Vieira e Cavalcante, 1999; Mandonnet et al, 2005; Bambou et al, 2013; Sallé et al, 2014; Amarilho-Silveira et al., 2015), por aumentar sua resistência aos vermífugos rapidamente, graças ao seu elevado potencial biótico, ou seja, esse endoparasita possui alta capacidade de reprodução, resultando no aumento progressivo da carga parasitária no abomaso, em condições favoráveis (Echevarria e Trindade, 1989); como também possui ampla variabilidade genética e por conter o alelo que explica a redução de sua susceptibilidade a fármacos anti-helmínticos (Blackhall et al., 1998).

## **Medidas Repetidas**

Singer et al. (2015) afirmam que em alguns casos há o interesse prático e objetivo em modelar o desempenho de uma ou de até mais variáveis respostas, onde as mesmas são analisadas e/ou medidas em uma ou em vários indivíduos ao longo de uma dimensão (ou escala) ordenada.

As vantagens do uso de medidas repetidas são:

- utilização de uma menor quantidade de unidade experimental (ou unidades amostrais), quando confrontado a análises do tipo transversal (ou *cross sectional*), onde essa última é realizada em um único momento, não havendo um período de segmento dos indivíduos, ou seja, a observação da variável resposta se baseia uma única vez em cada unidade experimental (ou unidades amostrais) (Rocha, 2004);

- avaliação das mudanças individuais ou globais (população) ou ao longo do tempo, onde é possível observar a variável resposta seja analisada em unidade experimental (ou unidades amostrais) sob níveis frequentes de outras covariáveis que podem influenciá-la (Rocha, 2004);

- modelos estatísticos podem ser estimados de forma mais eficiente sob delineamentos longitudinais do que sob delineamentos transversais com a mesma quantidade de observações (Singer et al., 2015).

As desvantagens de estudos com medidas repetidas são:

- as análises são mais trabalhosas por exigir que as correlações das mensurações realizadas no mesmo indivíduo sejam pré-determinadas (ou modeladas) (Rocha, 2004; Singer et al., 2015);
- presença de dados inexistentes ou incompletos, onde na prática acontece com maior frequência, necessitando uma extrema atenção de quem está coletando os dados para futuras análises (Singer et al., 2015).

Modelos de Repetibilidade (REP) e de Regressão Aleatória (MRA) são amplamente utilizadas em avaliações genéticas com dados longitudinais. E o uso destas importantes ferramentas em um programa de melhoramento animal permite observar todas as características que podem ser descritas por funções contínuas (Mercadante et al., 2002a,b).

A definição de "característica de dimensão infinita" pode ser devidamente aplicada em diversos estudos, tais como: pesos dos animais, com enfoque ao crescimento em caprinos da raça Alpina (Oliveira, 2011a, b); características produtivas em búfalos na Amazônia Oriental (Rodrigues et al., 2010); produções de leite acumuladas em múltiplas lactações com bovinos da Raça Gir Leiteiro (Reis Filho et al., 2015); características de crescimento e de resistência a parasitos em bovinos da raça Nelore (Passafaro et al., 2014); infestação por ectoparasitos em quatro grupos genéticos de bovinos de corte (Silva et al., 2006).

## **Estudos de Associação Genômica (GWAS)**

Embora existam estudos contemplando avaliação genética de caprinos quanto a resistência a verminose, os resultados indicam baixa resposta à seleção quando se utiliza apenas dados genealógicos e fenotípicos. Para tanto, informações genômicas podem ser consideradas com o intuito de aumentar a eficiência de seleção (Frazer, 2009) para esta característica.

Através de Estudos de Associação Genômica Ampla (*Genome Wide Association Study* - GWAS) é possível identificar associações estatísticas significativas de locos que controlam a resistência a verminose, e assim utilizar a seleção assistida por marcadores para aumentar a resposta à seleção e a compreensão biológica do processo de resistência (Scott et al., 2007). A

utilização do GWAS é um importante avanço na estrutura de análise de genes candidatos (ou genes anotados), visto que não é preciso um entendimento preliminar considerável sobre os procedimentos fisiológicos envolvidos na expressão da característica a ser estudada (Wang et al., 2005).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHI, Y.L.; ZINSSTAG, J.; YAO, K.; YEO, N.; DORCHIES, P.; JACQUIET, P. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. **Veterinary Parasitology**, v.116, p.151-158, 2003.
- AGRESTE. **Guadeloupe: Mémento agricole**. Guadeloupe (F.W.I.), 30 abril 2015. Disponível em: <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>. Acessado em: 30/Abril/2015.
- ALBERS, G.A.A., GRAY, G.D., PIPER, L.R., BARKER, J.S.F., LE JAMBRE, L.F., BARGER, L.A. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. **International Journal for Parasitology**, v.17, n.7, p.1355-1363, 1987.
- ALEXANDRE, G.; AUMONT, G.; FLEURY, J.; MAINAUD, J.C.; KANDASSAMY, T. Performances zootechniques de la chèvre Créole allaitante de Guadeloupe. Bilan de 20 ans dans um élevage expérimental de l'INRA. **INRA Productions Animales**, v.10, p.7-20, 1997.
- ALEXANDRE, G.; MANDONNET, N. Goat meat production in harsh environments. **Small Ruminant Research**, v.60, p.53-66, 2005.
- AMARANTE, A.F.T. **Controle de endoparasitoses dos ovinos**. In: Mattos, W. R. S. (Ed.): A produção animal na visão dos brasileiros. Piracicaba: Fealq/SBZ, p.461-473, 2001.

- AMARANTE, A.F.T. Resistência genética a helmintos gastrintestinais. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: SBMA, 2004.
- AMARANTE, A.F.T.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, R.A.; GENARI, S.M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120, p.91-106, 2004.
- AMARANTE, A.F.T.; CRAIG, T.M.; EL-SAYDE, N.M.; DESOUKI, A.Y.; RAMSEY, W.S.; BAZER, F.W. Comparison of naturally acquired parasite burdens among Florida Native, Rambouillet and crossbreed ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 1, p. 61-69, 1999.
- AMARILHO-SILVEIRA, F.; BRONDANI, W.C.; MOTTA, J.F.; FERREIRA, O.G.L.; LEMES, J.S. Revisão Bibliográfica: Resistência ovina frente a nematoides gastrintestinais. **Archivos de Zootecnia**, v.64, p.1-12, 2015.
- APEBFR. Associação dos Pesquisadores e Estudantes Brasileiros na França. **Capítulo 10: Informações específicas sobre cidades da Província - Guadeloupe**. Guadeloupe (F.W.I.), 9 julho 2015. Disponível em: <http://www.apebfr.org/manualapeb/html/x1736.htm>. Acessado em: 9/Julho/2015.
- AROSEMENA, N.A.E.; BEVILAQUA, C.M.L.; MELO, A.C.F.L.; GIRÃO, M.D. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid areas in Brazil. **Revue Médecine Vétérinaire**, v.150, p.873-876, 1999.
- ASSELIN DE BEAUVILLE, S. **Diagnostic de la filière caprine en Guadeloupe**. Montpellier, France: CNEARC ESAT (These de Master of Science Développement Agricole Tropical), 2002.

- BAKER, R.L.; GRAY, G.D. Appropriate breeds and breeding schemes for sheep and goats in the tropics. In **Worm control for small ruminants in tropical Asia**, n.113, pp.63-75, 2004.
- BALIC, A.; CUNNINGHAM, C.P.; MEEUSEN, E.N.T. Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. **Parasite Immunology**, v. 28, p.107-115, 2006.
- BAMBOU, J. C.; LARCHER, T.; CËI, W.; DUMOULIN, P. J.; MANDONNET, N. Effect of experimental infection with *Haemonchus contortus* on parasitological and local cellular responses in resistant and susceptible young créole goats. **BioMed Research International**, v.2013, article ID 902759, p.1-9, 2013.
- BLACKHALL W. J., POULIOT, J. F. PRICHARD, R. K., BEECH, R. N. *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. **Experimental Parasitology**, v.90, n.1, p.42-48, 1998.
- BOYAZOGLU, J.; HATZIMINOLOGLOU, I.; MORAND-FEHR, P. The role of the goat in society: Past, present and perspectives for the future. **Small Ruminant Research**, v.60, p.13-23, 2005.
- BOWMAN, D.D. **Parasitologia Veterinária de Georgis**. 8<sup>a</sup> ed. Barueri: Manole, 422p., 2006.
- BOWMAN, D.D.; GEORGI, J.R.; LYNN, R.C. **Georgi's Parasitology for Veterinarians**. 8 ed. Saunders Publishing Company, St. Louis, Missouri, 422p., 2003.
- BULL, B.; FUJIMOTO, K.; HOUWEN, B.; KLEE, G.; van HOVE, L.; van ASSENDELFT, O. Recommendations for "Surrogate Reference" Method for the Packed Cell Volume. In: INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY, **Proceedings...**, v.9, p.1-9, 2003.

Guadeloupe (F.W.I.), 23 fevereiro 2015. Disponível em: <http://www.upei.ca/~diagser/cp.htm>. Acessado em: 23/Fevereiro/2015.

BUSKE, R. **Influência da temperatura na ação do fungo *Duddingtonia flagrans* utilizado como controle biológico de *Haemonchus contortus* em ovinos**. Santa Maria: UFSM, 18p. (Dissertação de Mestrado), 2010.

CABOSTRAL. **Clima e tempo de Guadalupe**. Guadeloupe (F.W.I.), 17 agosto 2015. Disponível em: <http://www.cabostral.com/clima-guadalupe.php>. Acessado em: 17/Agosto/2015.

CHARLES, T.P. Disponibilidade de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasites de ovinos deslanados no semiárido pernambucano. **Ciência Rural**, v.25, n.3, p.437-442, 1995.

CHARLES, T.P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D.B. Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, v.34, p.71-75, 1989.

CHARON, K.M. Genes controlling resistance to gastrointestinal nematodes in ruminants. **Animal Science Papers and Reports**, v.22, n.1, p.135-139, 2004.

CHEMINEAU, P.; COGNIÉ, Y.; XANDÉ, A.; PEROUX, F.; ALEXANDRE, G.; LÉVY, F.; SHITALOU, E.; BECHE, J.M.; SERGENT, D.; CAMUS, E.; BARRÉ, N.; THIMONIER, J. Le "Cabrit créole" de Guadeloupe et ses caractéristiques zootechniques: monographie. **Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v.37, p.225-238, 1984.

CONSEIL CONSTITUTIONNEL. **Constituição francesa de 1953, em português**. Guadeloupe (F.W.I.), 12 março 2015. Disponível em: [http://www.conseil-constitutionnel.fr/conseil.../constitution\\_portugais.pdf](http://www.conseil-constitutionnel.fr/conseil.../constitution_portugais.pdf). Acessado em: 12/março/2015.

- COSTA, C.A.F.; VIEIRA, L.S. **Controle de nematóides gastrintestinais de caprinos e ovinos no estado do Ceará**. EMBRAPA-CNPC, Sobral, Comunicado Técnico, n.13, 6p., 1984.
- COSTA, C.A.F.; VIEIRA, L.S.; BERNE, M.E.A.; SILVA, M.U.D.; GUIDONI, A.L.; FIGUEIREDO, E.A.P. Variability of resistance in goats infected with *Haemonchus contortus* in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.88, p.153-158, 2000.
- ECHEVARRIA, F.A.M.; TRINDADE, G.N.P. Anthelmintic resistance by *Haemonchus contortus* to ivermectin in Brazil. **Veterinary Record**, v.124, p.147-148, 1989.
- EPSTEIN, H.F. Eosinophilia. **New England Journal of Medicine**, v.338, p.1592-1599, 1998.
- FAO / FAOSTAT - **Food and Agriculture Organization of the United Nations/Statistics Division**. Viçosa, 28 dezembro 2015. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/search/goat/E>. Acessado: 28 dezembro 2015.
- FARIAS, M.T.; BORDIN, E.L.; FORBES, A.B.; NEWCOMB, K. A survey on resistance to anthelmintic in sheep stud farms of southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.72, p.209-214. 1997.
- FRAZER, K.A.; MURRAY, S.S.; SCHORK, N.J.; TOPOL, E.J. Human genetic variation and its contribution to complex traits. **Nature Reviews**. v.10, p.241-251, 2009.
- GASBARRE, L.C.; LEIGHTON, E.A.; SONSTEGARD, T.S. Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.98, p.51-64, 2001.
- GRAY, G.D. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. **Veterinary Parasitology**, v.72, n.3, p.345-366, 1997.

GUIAVIAGEM. **Guadalupe: duas ilhas bem diferentes entre elas.** Guadeloupe, Guadeloupe (F.W.I.), 17 junho 2015. Disponível em: <http://www.guiaviagem.org/guadalupe/#>. Acessado em: 17/Junho/2015.

GUNIA, M.J. **Conception et optimisation d'un programme de sélection de petits ruminants en milieu tropical: cas du caprin Créole en Guadeloupe.** Petit-Bourg: AgroParisTech, 27p. (Tese de Doutorado), 2012.

GUNIA, M.; MANDONNET, N.; ARQUET, R; ALEXANDRE, G.; GOURDINE, J-L; NAVES, M.; ANGEON, V.; PHOCAS, F. Economic values of body weight, reproduction and parasite resistance traits for a Creole goat breeding goal. **Animal**, v.7, n.1, p.22-33, 2013

HISTORIANET. **América colônia: franceses na América.** Guadeloupe (F.W.I.), 3 maio 2015. Disponível em: <http://www.historianet.com.br/conteudo/default.aspx?codigo=602>. Acessado em: 3/Maio/2015.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Cidades@ - Informações Estatísticas - Pecuária 2015.** Viçosa, 12 março 2016. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>. Acessado em: 12 março 2016.

KIDANE, A., HOUDIJK, J., ATHANASIADOU, S., TOLKAMP, B., KYIRIAZAKIS. Nutritional sensitivity of periparturient resistance to nematode parasites in two breeds of sheep with different nutrient. **British Journal of Nutrition**. v.104, 1477-1486, 2010.

KRECEK, R. C.; GROENEVELD, H. T.; VAN WIK, J. A. Effects of time of day, season and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigated pasture. **Veterinary Parasitology**, v. 40, p. 87-98, 1991.

- KU, C.S.; LOY, E.Y. The pursuit of genome-wide association studies: where are we now? **Journal of Human Genetics**, v. 55, p.195-206, 2010.
- MANDONNET, N.; AUMONT, G.; FLEURY, J.; GRUNER, L.; BOUIX, J.; KHANG, J.V.T.; VARO, H. Résistance aux strongles gastro-intestinaux des caprins. Influence de différents environnements tropicaux sur l'expression du potentiel génétique de résistance. **INRA Productions Animales**, v.10, p.91-98, 1997.
- MANDONNET, N.; BACHAND, M.; MAHIEU, M.; ARQUET, R.; BAUDRON, F.; ABINNE-MOLZA, L.; VARO, H.; AUMONT, G. Impact on productivity of periparturient rise in fecal egg counts in Créole goats in the humid tropics. **Veterinary Parasitology**, v.134, p.249-259, 2005.
- MANDONNET, N.; NAVES, M.; GUNIA, M.; ARQUET, R.; ALEXANDRE, G. An evaluation grid to characterize phenotypical traits in Creole goat of Guadeloupe. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 10, Recife, Brazil. **Proceedings...** Recife: 2010.
- MENDES, D.M.; CAMARGO, M.F.; AUN, V.V.; FERNANDES, M.F.M.; AUN, W.T.; MELLO, J.F. Eosinophilia. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**. v.23, n.2, p.84-91, 2000. Guadeloupe (F.W.I.), 12 outubro 2015. Disponível em: <http://www.asbai.org.br/revistas/Vol232/eosino.htm>. Acessado em: 12/Outubro/2015.
- MERCADANTE, M.E.Z.; PACKER, I.U.; RAZOOK, A.G.; CYRILLO, J.N.S.G.; FIGUEIREDO, L.A. Dias ao parto de fêmeas Nelore de um experimento de seleção para crescimento. I - Modelo de repetibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1715-1725, 2002a.
- MERCADANTE, M.E.Z.; PACKER, I.U.; RAZOOK, A.G.; MELO, C.M.R.; CYRILLO, J.N.S.G.; FIGUEIREDO, L.A. Dias ao parto de fêmeas Nelore de um experimento de seleção para crescimento. II - Modelo de regressão aleatória. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1726-1733, 2002b.

MILLER, J.E.; GRAY,G.D. Resistência genética a helmintos em ruminantes. In: Padilha, T. (ed.) **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco: EMBRAPA – CNPGL, p.237-258, 1996.

NARI, A.; CARDOZO, H. Nematodos Gastrointestinales. In.: **Enfermidades de los lanares - Tomo I**. Montevideo: Editorial Agropecuaria Hemisfério Sur S.R.L., 1-51p., 1987.

NAVES, M.; LEIMBACHER, F.; ALEXANDRE, G.; JAQUOT, M.; FONTAINE, O.; MANDONNET N. Etat des lieux et perspectives de programmes d'amélioration génétique des ruminants dans les départements d'Outre Mer. In: RENCONTRES AUTOUR DES RECHERCHES SUR LES RUMINANTS, 16, Paris. **Proceedings...** Paris: 2012. Guadeloupe (F.W.I.), 5 fevereiro 2015. Disponível em: [http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/2009\\_09\\_01\\_Naves.pdf](http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/2009_09_01_Naves.pdf). Acessado em: 5/Fevereiro/2015.

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, p.1-15, 2006.

ODEADOM. **Office de Développement de l'Economie Agricole d'Outre-Mer: Filières Diversification animales**. Guadeloupe (F.W.I.), 5 outubro 2015. Disponível em: [http://www.odeadom.fr/wp-content/uploads/2009/02/plaquette-productions-animalesbat-06\\_02\\_2009.pdf](http://www.odeadom.fr/wp-content/uploads/2009/02/plaquette-productions-animalesbat-06_02_2009.pdf). Acessado em: 5/Outubro/2015.

OLIVEIRA, J.A. **Avaliação do crescimento e de modelos de regressão aleatória em caprinos da raça Alpina**. Viçosa: UFV, 14p. (Dissertação Mestrado), 2009.

OLIVEIRA, J.A.; LEITE, C.D.S.; SILVA, L.P.; EUCLYDES, R.F.; TORRES, R.A.; SOUSA, W.H.; PIRES, L.C.; MACHADO, T.M.M. Modelos de regressão aleatória em curvas de crescimento de caprinos da raça Alpina. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 21, 2011, Maceió. **Anais...**, Maceió: ZOOTEC, 2011a.

OLIVEIRA, J.A.; PIRES, L.C.; EUCLYDES, R.F.; TORRES, R.A.; SOUSA, W.H.; MACHADO, T.M.M.; CUNHA, M.G.G.; OLIVEIRA, M.L.H. Avaliação da curva de crescimento em caprinos da raça Alpina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 21, 2011, Maceió. **Anais...**, Maceió: ZOOTEC, 2011b.

ONYIAH, L.C.; ARSLAN, O. Simulating the development period of a parasite of sheep on pasture under varying temperature conditions. **Journal of Thermal Biology**, v.30, p.203-211, 2005.

PASSAFARO, T.L.; SANTOS, L.L.; RAIDAN, F.S.S.; MORAIS, M.M.; BOTERO, J.P.C.; LEITE, R.C.; TORAL, F.L.B. Genetic parameters for resistance to parasites in Nellore cattle through random regression. In: WORLD CONGRESS OF GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 10, Vancouver, Canadá, **Proceedings...** Vancouver: 2014.

PERRY, B.D.; RANDOLPH, T.F.; MCDERMOTT, J.J.; SONES, K.R.; THORNTON, P.K. **Investing in animal health research to alleviate poverty**. Nairobi, Kenya: International Livestock Research Institute, 148p., 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária - um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1770p., 2002.

REIS FILHO, J.C.; VERNEQUE, R.S.; TORRES, R.A.; RIBEIRO, V.M.P.; TORAL, F.L.B. Modelos para avaliação genética da produção de leite em múltiplas lactações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.50, n.4, p.298-305, 2015.

- ROCHA, F.M.M. **Seleção de estruturas de covariância para dados com medidas repetidas**. São Paulo: USP, 114 p. (Dissertação Mestrado), 2004.
- ROCHA, R.A.; BRESCIANI, K.D.S; BARROS,T.F.M.; FERNANDES, L.H.; SILVA, M.B.; AMARANTE, A.F.T. Sheep and cattle alternately: Nematode parasitism and pasture decontamination. **Small Ruminant Research**, v.75, p.135-143, 2008.
- RODRIGUES, A.E.; MARQUES, J.R.F.; ARAÚJO, C.V.; CAMARGO JÚNIOR, R.N.C.; DIAS, L.N.S. Estimação de parâmetros genéticos para características produtivas em búfalos na Amazônia Oriental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.3, p.712-717, 2010.
- SALLÉ, G.; MORENO, C.; BOITARD, S.; RUESCHE, J.; TIRCAZES-SECULA, A.; BOUVIER, F.; ALETRU, M.; WEISBECKER, J.-L.; PRÉVOT, F.; BERGEAUD, J.-P.; TRUMEL, C.; GRISEZ, C.; LIÉNARD, E.; JACQUIET, P. Functional investigation of a QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Research**, 2014, v.45, n.68, p.1-12, 2014.
- SANGSTER, N.C.; BANNAN, S.C.; WEISS, A.S.; NULF, S.C.; KLEIN, R.D.; GEARY, T.G. *Haemonchus contortus* sequence heterogeneity of internucleotide binding domains from glycoproteins and an association with avermectin resistance. **Experimental Parasitology**, v.91, p.250-257, 1999.
- SCOTT, L.J.; MOHLKE, K.L.; BONNYCASTLE, L.L.; WILLER, C.J.; LI, Y.; DUREN, W.L.. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. **Science**. v. 316, p.1341-1345, 2007.
- SILVA, A.M.; ALENCAR, M.M.; REGITANO, L.C.A.; OLIVEIRA, M.C.S. Estimativas de herdabilidade e repetibilidade do grau de infestação por ectoparasitos em fêmeas de quatro grupos genéticos de bovinos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...**, João Pessoa: SBZ, 2006.

- SILVA, B.F.; AMARANTE, M.R.V; KADRI, S.M.; MAUAD, J.R.C.; AMARANTE, A.F.T. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. **Veterinary Parasitology**, v.158, p.85-92, 2008.
- SILVA, W.W.; BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.A. Variação sazonal de nematóides gastrintestinais em caprinos traçadores no Semiárido Paraibano, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.2, p.71-75. 2003.
- SINGER, J.M.; NOBRE, J.S.; ROCHA, F.M.M. **Análise de dados longitudinais**. 2015. Teresina, 11 dezembro 2015. Disponível em: <http://www.ime.usp.br/~jmsinger/MAE0610/Singer&Rocha&Nobre2015fev.pdf>. Acessado em 11/Dezembro/2015.
- SOTOMAIOR, C.S. Seleção de ovinos em resistentes e susceptíveis aos helmintos gastrintestinais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPECIALIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA, 1, 2002, Curitiba. **Anais...**, Curitiba: CBEMV, 2002
- SOULSBY, E. J. L. **Parasitologia y enfermedades parasitarias en los animales domésticos**. 782p., 1987.
- TAYLOR, M.A.; COPP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 215p., 2010.
- THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, F.P.; SOTOMAIOR, C.; CASTRO, E.A.; MILCZEWSKI, V.; MOCELIN, G.; SILVA, M.C.P. Resistance of gastrointestinal nematodes of anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, p.41-47, 2004.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 3ª ed. Tóquio, 84p., 1994.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 273p.,1998.

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 Veterinary Research**, v.66, p.273-284, 1999.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, p.99-103. 1999.

WALLER, P.J.; ECHEVARRIA, F.; EDDI, C.; MACIEL, S.; NARI, A.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General review. **Veterinary Parasitology**, v.62, p.181-187, 1996.

WOOLASTON, R.R.; BAKER, R.I. Prospects of breeding small ruminants for resistance to internal parasites. **International Journal for Parasitology**, v.26, p.845-855, 1996.

**CAPÍTULO 1:**

**AVALIAÇÃO GENÉTICA DE CARACTERÍSTICAS DE  
RESISTÊNCIA AO *HAEMONCHUS CONTORTUS* EM CAPRINOS  
CRIoulos**

## RESUMO

OLIVEIRA, Joashlenny Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2016. **Avaliação genética de características de resistência ao *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos.** Orientador: Fabyano Fonseca e Silva. Coorientador: Robledo de Almeida Torres.

Objetivou-se com este estudo comparar diferentes modelos estatísticos (repetibilidade - REP; e regressão aleatória - MRA) na avaliação genética quanto à resistência em caprinos Crioulos infectados com o *Haemonchus contortus*. Os fenótipos considerados foram os perfis parasitológico (ovos por grama de fezes - OPG) e histológico (volume globular - VG; e contagem de eosinófilos sanguíneos - EOSI) observados durante 56 dias em duas etapas (Desafio 1 - correspondente à imunização do animal ao parasita; e Desafio 2 - correspondente à resposta da imunização adquirida pelo animal após a primeira infecção artificial). Os dados foram coletados entre os anos de 2009 a 2013, no rebanho de caprinos pertencentes ao INRA (*Institut National de Recherche Agronomique*) localizados na ilha de Guadalupe, território ultramarino francês. O MRA foi ajustado considerando as ordens dois (função linear) e três (função quadrática) para descrever as estruturas de (co)variâncias em função do tempo. Ambos os modelos (REP e MRA) foram comparados pelos critérios de informação de Akaike (AIC) e Bayesiano de Schwarz (BIC) através do software WOMBAT. Os avaliadores de qualidade (AIC e BIC) indicaram os seguintes MRA (denotados pela ordem dos polinômios de Legendre para a curva fixa, efeito genético aditivo e de ambiente permanente) como sendo os mais plausíveis para descrever os dados em questão: 3,2,3; 3,3,2 e 2,2,3 respectivamente para as características OPG, EOSI e VG no Desafio 1; e 3,2,3; 3,2,2 e 3,3,2 para estas mesmas características no Desafio 2. Para a característica OPG, as estimativas de herdabilidade obtidas por meio dos MRA selecionados variaram entre 0,23 a 0,26 (Desafio 1) e entre 0,24 a 0,27 (Desafio 2); e o REP proporcionou estimativas herdabilidades de 0,20 e 0,25, respectivamente para os Desafio 1 e 2. Para EOSI a herdabilidade proveniente do MRA variou de 0,14 a 0,26 (Desafio 1) e entre 0,52 e 0,56 (Desafio 2); e o REP produziu estimativas de 0,16 e 0,50 para os Desafio 1 e 2,

respectivamente. Para a característica VG o MRA reportou herdabilidades variando entre 0,08 a 0,52 (Desafio 1) e entre 0,06 a 0,17 (Desafio 2); enquanto que o REP reportou estimativas de 0,21 e 0,0006, respectivamente para os Desafio 1 e 2. Assim, o MRA foi considerado o melhor modelo para representar a curva de resistência de caprinos Crioulos infectado com *Haemonchus contortus* nos dois desafios em estudo.

**Palavras-chave:** ovos por grama de fezes, eosinófilos, volume globular, regressão aleatória, repetibilidade, parâmetro genético, ilha de Guadalupe.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Joashlenny Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, may, 2016. **Genetic evaluation of resistance traits to *Haemonchus contortus* in Creole goats**. Adviser: Fabyano Fonseca e Silva. Co-Adviser: Robledo de Almeida Torres.

The objective of this study was to compare different statistical models (repeatability - REP, and random regression - MRA) in the genetic evaluation for resistance in Creole goats infected with *Haemonchus contortus*. The phenotypes were given by parasitological profiles (fecal eggs count – FEC) and histological packed cell volume - PCV, and counting blood eosinophils - EOSI) profiles observed during 56 days considering two different challenges (Challenge 1 - corresponding to immunization of the animal to the parasite; and Challenge 2 - corresponding to the response of immunization acquired by the animal after the first artificial infection). Data were collected between the years 2009 and 2013 from the herd of Creole goats belonging to the INRA (*Institut National de Recherche Agronomique*) located on the island of Guadeloupe, overseas French territory. The MRA were fitted considering two orders (linear function) and three (quadratic function) to describe the structures of (co) variance as a function of time. All models (REP and MRA) were compared by the Akaike Information (AIC) and Bayesian Schwarz (BIC) Criteria by using the WOMBAT software. The results indicated the following MRA (denoted by order of Legendre polynomials to the fixed curve, additive genetic effects and permanent environmental) as the most plausible to describe the data in question: 3,2,3; 3,3,2 e 2,2,3 respectively for the FEC features EOSI and PCV at Challenge 1; and 3,2,3; 3,2,2 e 3,3,2 for these same traits at Challenge 2. For FEC, the heritability estimates obtained by the selected MRA ranged from 0,23 to 0,26 (Challenge 1) and from 0,24 to 0,27 (Challenge 2); and for RAP these estimates were 0,20 and 0,25, respectively for Challenges 1 and 2. For EOSI, heritabilities varied from 0,14 to 0,26 (Challenge 1) and between 0,52 and 0,56 (Challenge 2) when using MRA, and RAP provided estimates of 0,16 and 0,50 for the Challenge 1 and 2, respectively. For PCV, the MRA reported heritability ranging from 0,08 to 0,52 (Challenge 1) and from 0,06 to 0,17 (Challenge 2);

while the REP reported estimates of 0,21 and 0,0006, respectively, for the Challenge 1 and 2. Thus, the MRA was considered the best model to represent the Creole goat genetic resistance curve to *Haemonchus contortus*.

**Key-words:** fecal eggs count, eosinophils, packed cell volume, random regression, repeatability, genetic parameter, island of Guadeloupe.

## INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade explorada em todo o mundo, e tem como grande desafio aumentar cada vez mais o consumo de seus produtos (carne, leite e pele) nos principais centros mundiais. Porém, um dos maiores problemas da caprinocultura moderna são os estrongilídeos gastrintestinais (p.e. *Haemonchus contortus*) que promovem o aumento da carga parasitária no organismo do hospedeiro, onde os prejuízos econômicos são mais intensos em regiões tropicais e subtropicais (Forbes et al., 2002).

Uma solução para este problema é a seleção de animais geneticamente resistentes a parasitoses. Alguns trabalhos reportaram a existência de variabilidade genética desses animais para resistência à nematóides gastrintestinais em pequenos ruminantes (Aumont et al., 2003; Sallé et al., 2014), principalmente em espécies nativas, como por exemplo: caprinos Crioulos (Mandonnet et al., 2005; Bambou et al., 2013), criados na ilha de Guadalupe (Antilhas Francesas). Porém, para que um programa de melhoramento animal tenha êxito, tem-se a necessidade de obter as expressões fenotípicas ao longo da vida dos animais sob seleção. Segundo Cabaret et al. (1998), os seguintes marcadores fenotípicos apresentam grande aplicabilidade em programas de melhoramento visando aumento de resistência à verminoses: OPG (contagem de ovos por gamas de fezes), EOSI (contagem de eosinófilos sanguíneos) e VG (volume globular ou hematócrito).

A contagem de OPG é um exame com características de alta variabilidade, por ter maior precisão na obtenção de resultados, e ainda por fornecer estimativa de herdabilidade mediana; entretanto, sua resposta é dependente da exposição dos hospedeiros aos endoparasitas através de desafios naturais ou artificiais (Thomaz-Soccol et al., 2004).

Os EOSI são importantes componentes celulares da resposta inflamatória contra helmintos (Mendes et al., 2000), e seu número de eosinófilos pode crescer rapidamente (fenômeno conhecido como “eosinofilia”) no sangue e/ou outros tecidos afetados pelas infecções do parasita, resultando na destruição do *Haemonchus contortus* em estágio larval L3 (Balic et al., 2006).

O VG (também conhecido como hematócrito) indica a concentração de eritrócitos (ou glóbulos vermelhos) em determinado volume sanguíneo (Taylor et al., 2010). Por ser um exame hematológico muito utilizado em laboratórios pela facilidade e rapidez (técnica do micro hematócrito), é uma ferramenta de extrema importância para diagnóstico do grau de anemia (Bull et al., 2003) causado principalmente pelo parasita *Haemonchus contortus*.

A curva de infecção (natural ou artificial) endoparasitária pode ser calculada para cada hospedeiro utilizando medições semanais. Ou seja, a quantificação (ou coleta) de informações das características de interesse (OPG, EOSI e VG), relacionados à resistência de pequenos ruminantes aos nematóides gastrintestinais, é considerada como dados longitudinais, e estes podem ser medidos repetidamente ao longo da vida do animal. As avaliações genéticas de dados longitudinais podem ser obtidas por Modelos de Repetibilidade (REP) e de Regressão Aleatória (MRA). No uso do REP considera-se que a característica contemplada é a mesma em todos os tempos, portanto um único valor de herdabilidade é reportado. Os MRA admitem que a herdabilidade da característica varie ao longo do tempo, sendo possível identificar períodos de tempo em que a seleção seja mais efetiva para aumento do ganho genético.

Diante de tais informações, objetivou-se com este estudo comparar dois modelos de avaliação genética (Repetibilidade e Regressão Aleatória) a fim de avaliar aquele que melhor descreve geneticamente a curva da resistência de caprinos Crioulos ao estrongilídeo gastrintestinal *Haemonchus contortus* em duas etapas (Desafio 1 e 2).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Localização do Experimento**

O *Institut National de Recherche Agronomique* (INRA - Antilhas Francesa) na *Unité de Recherches Zootechniques* (URZ) está localizada no município de Petit-Bourg (16°12'9,67"N; 61°39'44,73"W), na região da ilha chamada Basse-Terre, com uma elevação ao nível do mar de 107,48 m;

também está distante 15,8 km por terra e 7,9 km por mar do centro económico Pointe-à-Pitre; e a 43,7 km da capital Basse-Terre, na ilha de Guadalupe. No período de 15/dez./2014 a 6/nov./2015 foram realizados todas as análises do banco de dados oriundos do laboratório pertencente ao INRA – URZ.

## **Exame Coproparasitológico**

Amostras de fezes são coletadas semanalmente, diretamente da ampola retal de cada animal e colocadas em sacos plásticos devidamente identificados e transportados ao Laboratório do INRA, para realização do exame coproparasitológico (Raynaud, 1970, modificado por Aumont et al., 1997).

A quantidade de OPG é conseguida por meio da técnica de flutuação de ovos leves, em que as fezes são colocadas dentro de um tecido e amarradas. Logo em seguida, este material é colocado dentro de um grande recipiente contendo água, e sob a ação da gravidade os elementos sobem para a superfície fazendo com que o material de interesse que se encontra no fundo do recipiente seja coletado e colocado em vasilhas com identificação.

O conteúdo de cada uma das vasilhas pode passar por qualquer um dos processos, tais como: processo de separação deste material utilizando um tecido e uma pequena peneira, e a espera de 30 a 45 minutos para que ocorra a decantação do mesmo; ou o material é colocado em um pequeno recipiente para ser centrifugado durante 10 minutos.

A finalidade destes processos é conseguir um maior número de material (ovos) concentrado no fundo de cada recipiente, para serem analisados minuciosamente em microscópio ocular.

## **Exames Hematológicos**

A cada 7 dias, amostras de sangue são coletadas diretamente da veia jugular de animais infectados com *Haemonchus contortus*, e colocadas em tubos de *Vacutainers*® (5mL) que continha anticoagulante EDTA (*ácido etilenodiamino tetra-acético*), para determinação do EOSI e VG. Cada amostra era identificada (número de animais, data, etc.) e certificada de que a mesma

estava de forma homogênea utilizando o *Vortex*®, a fim de prevenir a coagulação do sangue. Para verificação do grau de anemia, o procedimento para VG é realizado através do método do micro-hematócrito (Schalm, 1965; Bull et al., 2003), onde foram feitas leituras em tubos capilares com a ajuda do cartão micro-hematócrito (Figura 9). O princípio deste método é para observar a relação entre a porção de sólido e a parte líquida do sangue, após a centrifugação de cada amostra de sangue. Ou seja, é possível saber a fração representada por os elementos celulares (glóbulos vermelhos e brancos, plaquetas) como também o volume total de plasma sanguíneo.

Durante uma infestação de parasitas *Haemonchus contortus*, o número de EOSI na circulação sanguínea aumenta, ou seja, há um incremento do número de leucócitos no organismo do animal infectado. Isso reflete a resposta imunológica do hospedeiro. Para a preparação da solução de Carpentier (coloração do EOSI), foram utilizados 1mL de eosina aquosa à 20 g/L, 1,5mL de formaldeído saturado em CaCo<sub>3</sub> e 50mL de água destilada. Essa solução foi adicionada em 50 µL de sangue. Após essa diluição, as amostras foram colocadas em uma lâmina de Malassez e em seguida a leitura foi realizada em microscópio óptico com objetiva de 10 vezes (Dawkins et al., 1989). Os resultados foram expressos em número de células por µL de sangue.

## **Caracterização Biológica dos Animais**

O caprino Crioulo tem corpo pequeno e robusto, cabeça com perfil reto, possui orelhas côncavas e curtas apontando pra frente. Pelagem curta e de cor preto, marrom, castanha, camurça ou selvagem. Apresentam mucosas e cascos na cor preta. Os caprinos jovens pesam em média 7,8 kg (desmame), e já adultos podem chegar a pesar 28 kg (fêmea) e 38 kg (macho) (Alexandre et al., 1997).

## **Dispositivo Experimental de Fenotipagem**

As informações eram semanalmente monitoradas sobre a carga parasitária de nematóides no organismo animal; totalizando 56 dias de

monitoramento. Ou seja, foram totalizados oito registros (tempo de coleta dos dados) durante os anos de 2009 a 2013. O dispositivo experimental de fenotipagem (Figura 10) foi montado com animais criados em gaiolas metabólicas acima do solo e infectados artificialmente com 10.000 larvas L3 de *Haemonchus contortus*, em 2 etapas (Desafio 1 e 2).

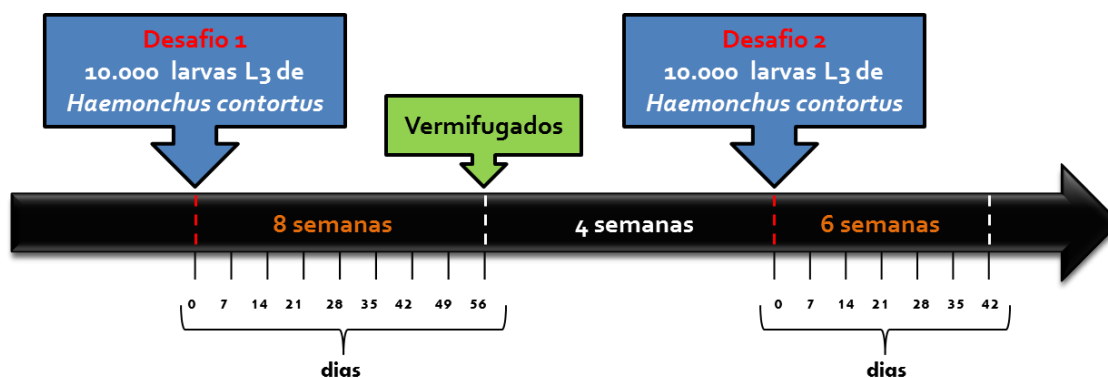


Figura 10. Dispositivo experimental de fenotipagem. Ilustração: INRA - Antilhas Francesa

Oito semanas após o Desafio 1 os animais foram vermifugados em dose única (1mL) de *Panacur*® (composto ou grupo: benzimidazol; Produto: Panacur Suspensão; Fabricante: MSD; Composição: Fenbendazol (3 g); Indicação: Ovinos/Caprinos; Dose: 1 mL/20 kg PV; Administração: Oral; Período de carência em ovinos/caprinos: 8 dias para carne, e 0 dias para leite), e quatro semanas depois, os animais foram reinfetados (Desafio 2) sendo monitorados por mais um período de seis semanas. As amostras de fezes foram encaminhadas para realização coproparasitológico (OPG), e amostras de tecido sanguíneo para exames hematológicos (EOSI e VG). Neste estudo, a resistência desses animais ao parasitismo foi analisada separadamente para cada característica de interesse nas duas etapas: Desafio 1 - correspondente à imunização do animal ao parasita; e Desafio 2 - correspondente à resposta da imunização adquirida pelo animal após a primeira infecção artificial.

## Banco de Dados

Utilizaram-se 5.796 registros de 138 animais, em três características de interesse: contagem de ovos por grama de fezes (OPG), contagem de eosinófilos sanguíneos (EOSI) e volume globular (VG), em caprinos Crioulos

para obtenção da resposta à resistência ao parasitismo *Haemonchus contortus* ao longo do tempo. O banco de dados foi constituído de informações de parentesco dos animais, tendo como informação mínima o pai e a mãe do caprino. O arquivo continha dados completos de “pedigree”, em que incluiu 468 (Desafio 1) e 486 (Desafio 2) de caprinos Crioulos, dando um total de 189 (Desafio 1) e 190 (Desafio 2) indivíduos na matriz de parentesco, nas duas etapas, o coeficiente de endogamia média na população foi nula (zero), calculado através do programa computacional WOMBAT (Meyer, 2007).

### **Análise Estatística e Estimação de Parâmetros Genéticos**

Para as características associadas à resistência de caprinos Crioulos, vale destacar que OPG e EOSI não apresentaram distribuição normal, inviabilizando uma análise de forma direta, como ocorrida em VG. Como alternativa, utilizou-se a transformação logarítmica (Log + 15) das características OPG e EOSI visando normalizar os dados, e a partir disso os dados foram submetidos ao teste de normalidade pela metodologia proposta por Shapiro-Wilk (Shapiro e Wilk, 1965) através do software SAS (versão 8.0, 1999).

As contagens médias de EOSI sanguíneos e VG foram realizadas no primeiro instante da infestação artificial para os dois Desafios (1 e 2). Já para a contagem média de OPG foi realizada a partir da terceira semana, em ambos Desafios, para melhor observação do comportamento animal na resistência ao *Haemonchus contortus*.

Para detecção de caprinos resistentes ao nematóide *Haemonchus contortus*, foram comparados modelos de repetibilidade (REP) e de regressão aleatória (MRA), este último foi analisado oito modelos diferentes em três níveis de efeitos aleatórios através do uso de polinômios ortogonais de Legendre de ordem três. Foi utilizada uma estrutura de variância residual sendo considerada heterogênea para as 3 características propostas (OPG, EOSI e VG), com oito classes na coletada de dados (1-7, 8-14, 15-21, 22-28, 29-35, 36-42, 43-49 e 50-56 dias de monitoramento).

O modelo estatístico para REP está representado na seguinte equação:

$$y_{ij} = F_{ij} + \sum_{n=0}^2 \beta \phi_{ij} + \alpha_{ij} + \rho_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

em que:  $y_{ij}$  = resposta da característica de interesse (OPG, EOSI ou VG) à resistência ao parasitismo gastrointestinal observadas ao longo do tempo  $j$  no animal  $i$ ;  $F_{ij}$  = conjunto de efeitos fixos incluídos no modelo (grupo de contemporâneos, sexo, data da coleta de dados, e o tipo de alimentação);  $\beta$  = coeficiente de regressão para o efeito fixo linear da característica de interesse à resistência do animal  $i$  ao parasitismo gastrointestinal em função ao tempo da coleta dos dados  $\phi_{ij}$  nos Desafios 1 e 2;  $\alpha_{ij}$  e  $\rho_{ij}$  = efeito genético aditivo direto e ambiente permanente do animal  $i$ , respectivamente; e  $\varepsilon_{ij}$  = efeito aleatório residual.

O modelo estatístico para MRA está representado na seguinte equação:

$$y_{ij} = F_{ij} + \sum_{m=0}^{k_{\beta}-1} \beta_m \phi_m + \sum_{m=0}^{k_a-1} \alpha_{im} \phi_m + \sum_{m=0}^{k_p-1} \rho_{im} \phi_m + \varepsilon_{ij}$$

em que:  $y_{ij}$  = observação da resistência do animal  $i$  através das características de interesse (OPG, EOSI e VG) observadas ao longo do tempo  $j$ ;  $F_{ij}$  = conjunto de efeitos fixos incluídos no modelo (grupo de contemporâneos, sexo, Desafios 1 e 2, e o tipo de alimentação);  $\beta_m$  = coeficiente de regressão para efeito fixo da característica de interesse à resistência do animal  $i$  ao parasitismo gastrointestinal observadas ao longo do tempo  $j$  nos Desafios 1 e 2, sobre o polinômio de Legendre, com  $k_{\beta} = 3$  (função quadrática) para modelar a trajetória média da população;  $\phi_m$  = função polinomial de Legendre  $m$  do tempo de coleta dos dados padronizado (-1 a +1);  $\alpha_{im}$  e  $\rho_{im}$  = coeficientes de regressão aleatória para os efeitos aleatórios genético aditivo direto e ambiente permanente do animal  $i$ , respectivamente;  $k_a$  e  $k_p$  são as ordens dos polinômios a serem ajustados, sendo no máximo de 3 e 3, respectivamente; e  $\varepsilon_{ij}$  = efeito aleatório residual.

Foram formados grupos de contemporâneos entre anos 2009 a 2013, observados nos Desafios 1 e 2 em cada característica de interesse associadas à resistência de caprinos Crioulos.

Os polinômios de Legendre de ordem  $k$  foram definidos, de acordo com Kirkpatrick et al. (1990), pela seguinte fórmula:

$$\phi_m = \frac{1}{2^k} \sqrt{\frac{2k+1}{2}} \sum_{m=0}^{\lfloor k/2 \rfloor} (-1)^m \binom{k}{m} \binom{2k-2m}{k} (a_{ij}^*)^{k-2m}$$

em que o monitoramento de informações (em dias) do animal  $i$ , para a resposta da resistência ao parasitismo  $j$  observado, foi padronizada, para o intervalo de -1 a 1, da seguinte maneira  $a_{ij}^* = (2(a_{ij} - a_{\min}) / (a_{\max} - a_{\min})) - 1$ , tal que  $a_{\max}$  e  $a_{\min}$  são, respectivamente, a primeiro e último monitoramento do intervalo considerado e os colchetes  $\lfloor \cdot \rfloor$  sobre o somatório indicam que o número em seu interior é arredondado para baixo, considerando o valor inteiro mais próximo.

Em notação matricial, o modelo anterior com suas respectivas pressuposições é descritos como:

$$y = XB + Z\alpha + W\rho + \varepsilon$$

$$E \begin{bmatrix} y \\ \alpha \\ \rho \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} XB \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad e \quad \text{Var} \begin{bmatrix} \alpha \\ \rho \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} K_a \otimes A & 0 & 0 \\ 0 & K_p \otimes I_{Nd} & 0 \\ 0 & 0 & R \end{bmatrix}$$

em que:  $y$  = vetor de  $N$  observações referentes  $Nd$  animais;  $X$ ,  $Z$  e  $W$  = matrizes de incidência correspondentes;  $B$  = vetor que contém os efeitos fixos e os coeficientes  $\beta_m$  na regressão fixa;  $\alpha$  = vetor  $k_a \times Nd$  de coeficientes de regressão aleatória genéticos aditivos diretos, em que  $Nd$  denota o número total de animais na matriz de parentesco;  $\rho$  = vetor  $k_p \times Nd$  de coeficientes de regressão aleatória de ambiente permanente de animal;  $k_a$  e  $k_p$  = matrizes de (co)variâncias entre os coeficientes de regressão aleatórios genético aditivo direto e ambiente permanente de animal;  $A$  = matriz dos numeradores do coeficiente de parentesco entre os indivíduos;  $I_{Nd}$  = matriz identidade de dimensão  $Nd$ ;  $\otimes$  = operador produto direto; e  $R$  = matriz diagonal de variâncias residuais ou seja,  $R = \text{diagonal} [\sigma^2_{ij}]$ .

Os diferentes modelos foram comparados pelo logaritmo da função de verossimilhança (Log L), que tende a favorecer modelos com maior número de parâmetros. Assim, foram usados também os critérios de informação de Akaike (AIC). Este critério além de simples é muito útil a fim de selecionar um modelo mais adequado ao ajuste entre modelos alternativos (Akaike, 1973). Outro critério informação largamente utilizado é o critério de informação Bayesian-Schwarz (BIC) (Schwarz, 1978), onde este é bem mais rigoroso do que a AIC.

Os critérios de informação são definidos como:

$$AIC = -2 \ln L + 2p \quad \text{e} \quad BIC = -2 \ln L + p \cdot \ln(N - r(\mathbf{X}))$$

em que:  $\ln L$  = função de verossimilhança;  $p$  = número de parâmetros estimados;  $N$  = número total de observações; e  $r(\mathbf{X})$  = posto da matriz de incidência dos efeitos fixos do modelo.

Ambos os critérios aceitam fazer comparações entre os modelos não-aninhados, mas o BIC além de penalizar modelos com maior número de parâmetros, favorece os modelos mais parcimoniosos. É possível que ocorra situações em que os dois critérios podem não conduzir a resultados concordantes. Portanto, o modelo com menor AIC e BIC é considerado o de melhor ajuste.

Os diferentes modelos foram comparados, pela mudança no logaritmo da função de verossimilhança (Log L), por meio do teste da razão de verossimilhança (TRV). A estatística TRV foi realizada entre os modelos considerados como os mais adequados com base nos Log L, AIC e BIC, sendo obtida pela seguinte expressão:

$$TRV_{12} = 2 \ln L_1 - 2 \ln L_2$$

em que:  $\ln L_1$  = função de verossimilhança para o modelo completo 1;  $\ln L_2$  = função de verossimilhança para o modelo reduzido 2.

A estimativa TRV foi calculada e comparada pelo teste qui-quadrado, com  $v$  graus de liberdade e nível de significância de 1%, em que  $v$  é a diferença entre o número de parâmetros oriundos dos modelos completo e reduzido (aninhados). As conclusões foram feitas da seguinte maneira: se  $TRV > \chi^2_{(0,01;v)}$  o teste seria significativo e o modelo completo forneceria melhor ajuste em

relação ao modelo reduzido. A hipótese de nulidade testada foi de que os modelos: completo e reduzido não diferiram entre si.

Os componentes de (co)variâncias foram obtidos pelo software WOMBAT (Meyer, 2007), para as análises sob os modelos REP e MRA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações dos marcadores fenotípicos: parasitológico (OPG) e hematológico (EOSI e VG) estão descritas no decorrer deste estudo.

**Tabela 1.** Número de animais (N), média ( $\mu$ ), desvio padrão (DP) observados em caprinos Crioulos criados na ilha de Guadalupe, região das Antilhas Francesa.

Dias	OPG (ovos/g)			EOSI (células/ $\mu$ l)			VG (%)			
	N	$\mu$	DP	N	$\mu$	DP	N	$\mu$	DP	
DESAFIO 1	0	–	–	–	112	461,607	630,51	109	32,284	5,195
	7	–	–	–	114	637,711	556,94	111	32,378	4,886
	14	–	–	–	141	680,596	674,08	138	29,536	5,236
	21	80	2.295,588	2.736,071	114	726,096	651,68	111	24,261	5,666
	28	106	5.453,075	5.361,250	114	642,535	586,54	111	22,505	5,387
	35	140	4.349,200	4.152,931	141	636,206	599,44	138	22,493	4,929
	42	131	5.773,099	5.345,403	135	704,896	718,78	132	22,106	5,149
	49	27	4.365,630	4.139,624	27	1.273,963	1.138,98	27	21,852	2,179
	56	27	7.931,296	5.208,110	27	965,556	785,14	27	20,778	2,517
DESAFIO 2	0	–	–	–	157	470,688	495,20	134	30,739	4,043
	7	–	–	–	97	2.438,206	1.8326,26	74	31,554	5,450
	14	–	–	–	97	644,918	617,63	74	29,216	4,436
	21	156	1.338,250	2.716,643	157	853,656	872,08	132	24,689	4,540
	28	154	2.069,760	2.998,267	154	747,071	687,19	134	26,478	4,810
	35	152	4.296,237	4.526,923	120	762,208	791,41	100	24,830	4,513
	42	139	3.950,662	4.244,687	139	805,137	981,97	119	26,261	4,138

OPG: ovos por grama de fezes; EOSI: eosinófilos sanguíneos; VG: volume globular.

No Desafio 1 (Tabela 1), aos 21 dias, a contagem média de OPG foi de 2.296 ovos/g, e a partir de então este valor mais que dobrou e oscilou entre 4.349 a 5.773 ovos/g entre 28 e 49 dias, e ao término da coleta dos dados aos 56 dias esta contagem média obteve o maior índice, com 7.931 ovos/g. O desvio padrão para OPG variou de 2.736 a 5.361 ao longo do tempo de coleta dos dados. A contagem média de EOSI sanguíneos variou entre 462 a 726 células/ $\mu$ l de sangue, no primeiro momento de infecção até aos 42 dias de coleta dos dados. E o maior valor foi de 1.274 células/ $\mu$ l de sangue registrados aos 49 dias. Logo em seguida, houve um decréscimo para 966 células/ $\mu$ l de sangue até o final da aquisição das informações (aos 56 dias). O desvio padrão para EOSI oscilou de 557 a 1.139 em todo o tempo na coleta das informações. O incremento do nível da infecção parasitária por *Haemonchus contortus* refletiu na redução dos valores médios semanais do VG, coincidindo com o aumento médio do OPG ao longo de todo o experimento. O desvio padrão indicados para VG variou de 2,18 a 5,67 ao longo do tempo.

No Desafio 2 (Tabela 1), a contagem média de OPG teve um aumento de 1.338 ovos/g aos 21 dias, para 4.296 ovos/g aos 35 dias. A partir desse momento houve um decréscimo para 3.950 ovos/g até os 42 dias. O desvio padrão registrado para OPG obteve variações de 2.717 a 4.527 em toda esta etapa. Na contagem média de EOSI, o maior valor atingido foi de 2.438 células/ $\mu$ l de sangue aos sete dias de observação, e a partir desse momento houve redução para 645 células/ $\mu$ l de sangue aos 14 dias. Até o final desta etapa (aos 42 dias) o valor alcançado foi de 805 a 645 células/ $\mu$ l de sangue. O desvio padrão observados em EOSI variou de 495 a 1.8326 em todo o tempo na coleta das informações. O valor médio do VG não apresentou diferença ( $P>0,05$ ) em nenhuma das semanas experimentais, apresentando animais mais resistentes com VG mínimo de 25% e máximo de 32%, o que comprova que estes animais estavam respondendo ao aumento da infecção.

Visto que neste Desafio 1 era correspondente à imunização do animal ao parasita, o comportamento na variação do OPG, EOSI e VG pode ser atribuído à diferença de idade (6 a 9 meses) entre os animais utilizados para nesta etapa. Animais jovens têm o sistema imunológico desenvolvido mais lentamente que o animal adulto, assim estes são mais susceptíveis aos endoparasitas. Amarante (2004) afirma que a resposta imunológica de

pequenos ruminantes é controlada por diversos genes, presentes em muitos loci, cuja localização está em distintos cromossomos.

O Desafio 2 representa a resposta da imunização adquirida pelo animal após a primeira infecção, observadas através da variação do OPG, EOSI e VG, onde estes indivíduos tinham entre 10 a 11 meses de idade. Conforme os animais vão crescendo e se tornando adultos poderão apresentar resistência por desenvolver imunidade frente à ação do endoparasitismo.

Os resultados das análises para OPG, EOSI e VG quanto aos critérios utilizados em todos os Desafios 1 e 2, na comparação dos diferentes modelos adotados (REP e MRA) são apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4.

**Tabela 2.** Ordem do polinômio para a curva fixa ( $k_f$ ), e para os efeitos genéticos aditivo direto ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ), número de parâmetros (NP), logaritmo da função de verossimilhança (Log L), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação Bayesiano de Schwarz (BIC) para a característica **OPG**.

	<b>MRA</b>	<b>NP</b>	<b>Log L</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
<b>DESAFIO 1</b>	F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	-94,136	202,273	231,576
	F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	-89,135	198,270	240,132
	F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	-88,958	197,916	239,778
	F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	-57,631	141,262	195,682
	F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	-88,502	191,004	237,192
	F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	-54,276	128,552	170,374
	F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	-81,200	182,400	224,220
	F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	-80,452	186,904	241,270
	<b>REP</b>	3	-126,791	259,582	272,326
<b>DESAFIO 2</b>	F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	-115,939	245,878	275,478
	F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	-106,151	232,302	274,586
	F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	-107,708	235,416	277,700
	F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	-105,493	236,986	291,956
	F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	-114,400	242,800	272,372
	F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	-103,068	226,136	268,380
	F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	-104,951	229,902	272,146
	F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	-102,477	230,954	285,874
	<b>REP</b>	3	-139,421	284,842	297,528

MRA: Modelo de Regressão Aleatória; REP: Modelo de Repetibilidade; OPG: ovos por grama de fezes.

**Tabela 3.** Ordem do polinômio para a curva fixa ( $k_f$ ), e para os efeitos genéticos aditivo direto ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ), número de parâmetros (NP), logaritmo da função de verossimilhança (Log L), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação Bayesiano de Schwarz (BIC) para a característica **EOSI**.

		<b>MRA</b>	<b>NP</b>	<b>Log L</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
<b>DESAFIO 1</b>		F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	359,219	-704,438	-670,892
		F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	360,712	-701,424	-653,502
		F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	361,686	-703,372	-655,450
		F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	362,529	-699,058	-636,758
		F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	364,140	-714,280	-680,750
		F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	365,606	-711,212	-663,312
		F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	367,386	-714,772	-666,870
		F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	367,920	-709,840	-647,568
		<b>REP</b>	3	323,380	-658,000	-644,384
<b>DESAFIO 2</b>		F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	402,319	-790,638	-758,252
		F <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	402,528	-785,056	-738,788
		F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	404,603	-789,206	-742,938
		F <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	404,647	-783,294	-723,146
		F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	7	405,229	-796,458	-764,090
		F <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	10	405,590	-791,180	-744,940
		F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	10	407,420	-794,840	-748,598
		F <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	13	407,669	-789,338	-729,224
		<b>REP</b>	3	377,142	-748,284	-734,404

MRA: Modelo de Regressão Aleatória; REP: Modelo de Repetibilidade; EOSI: eosinófilos sanguíneos.

**Tabela 4.** Ordem do polinômio para a curva fixa ( $k_f$ ), e para os efeitos genéticos aditivo direto ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ), número de parâmetros (NP), logaritmo da função de verossimilhança (Log L), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação Bayesiano de Schwarz (BIC) para a característica **VG**.

		<b>MRA</b>	<b>NP</b>	<b>Log L</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
<b>DESAFIO 1</b>	$F_2A_2P_2$		7	-1781,504	3577,008	3610,556
	$F_2A_2P_3$		10	-1651,758	3323,516	3371,438
	$F_2A_3P_2$		10	-1767,499	3554,998	3602,922
	$F_2A_3P_3$		13	1767,133	3560,266	3622,566
	$F_3A_2P_2$		7	-1777,673	3569,346	3602,876
	$F_3A_2P_3$		10	-1765,715	3551,430	3599,330
	$F_3A_3P_2$		10	-1755,374	3530,748	3578,650
	$F_3A_3P_3$		13	-1758,371	3542,742	3605,014
	<b>REP</b>		3	-1831,570	3669,138	3683,516
		<b>MRA</b>	<b>NP</b>	<b>Log L</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
<b>DESAFIO 2</b>	$F_2A_2P_2$		7	-1315,743	2645,486	2677,882
	$F_2A_2P_3$		10	-1313,420	2646,840	2693,120
	$F_2A_3P_2$		10	-1310,285	2640,570	2686,850
	$F_2A_3P_3$		13	-1309,634	2645,268	2705,432
	$F_3A_2P_2$		7	-1314,092	2642,184	2674,562
	$F_3A_2P_3$		10	-1311,989	2643,978	2690,232
	$F_3A_3P_2$		10	-1309,749	2639,498	2685,752
	$F_3A_3P_3$		13	-1309,087	2644,174	2704,304
	<b>REP</b>		3	-1348,490	2702,984	2716,868

MRA: Modelo de Regressão Aleatória; REP: Modelo de Repetibilidade; VG: volume globular.

De acordo com o critério de ajuste AIC e BIC para MRA a fim de descreverem as mudanças dos perfis parasitológico e hematológico na resistência do *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos:

- Tabela 2: o modelo  $F_3A_2P_3$  para ambos os Desafios (1 e 2) foi o mais adequado para descrever a contagem OPG;

- Tabela 3: os modelos  $F_3A_3P_2$  (Desafio 1) e  $F_3A_2P_2$  (Desafio 2) foram os mais parcimoniosos para representarem a contagem de EOSI sanguíneos neste estudo;

- Tabela 4: os modelos  $F_2A_2P_3$  e  $F_3A_3P_2$  mostraram-se os mais apropriados para descreverem a contagem de VG, nos Desafios 1 e 2, respectivamente.

Quanto maior o número de efeitos aleatórios, com seus respectivos níveis e número de parâmetros, maior será o Log L, mostrando ser o melhor neste critério. O Log L, no Desafio 1, para contagem de OPG ( $F_3A_2P_3$ ) e VG ( $F_2A_2P_3$ ) obtiveram os melhores ajustes.

Em contra partida, os modelos REP, considerando os mesmos critérios de ajuste, mostraram-se insatisfatórios para as mesmas finalidades.

O teste TRV indicou que os modelos avaliados diferiram estatisticamente entre si, ou seja, o modelo completo apresentou melhor ajuste em comparação ao modelo reduzido.

As estimativas de (co)variâncias, correlações entre o intercepto e os coeficientes de regressão aleatória em cada MRA eleito por cada etapa de infecção artificial, e analisados para OPG, EOSI e VG são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Estimativas de componentes de variância (diagonal), covariância (abaixo da diagonal), correlações entre o intercepto e os coeficientes de regressão aleatória (acima da diagonal) para cada MRA escolhidos.

Desafio 1			Desafio 2		
<b>OPG → <math>F_3A_2AP_3</math></b>			<b>OPG → <math>F_3A_2AP_3</math></b>		
<b>Efeito genético aditivo direto (<math>k_a = 2</math>)</b>			<b>Efeito genético aditivo direto (<math>k_a = 2</math>)</b>		
1,345x10 <sup>-1</sup>	-2,240.10 <sup>-1</sup>		3,211.10 <sup>-1</sup>	-4,219.10 <sup>-1</sup>	
-2,076.10 <sup>-2</sup>	6,386.10 <sup>-1</sup>		-2,357.10 <sup>-2</sup>	9,717.10 <sup>-3</sup>	
<b>Efeito ambiente permanente do animal (<math>k_p = 3</math>)</b>			<b>Efeito ambiente permanente do animal (<math>k_p = 3</math>)</b>		
1,926.10 <sup>-1</sup>	4,271.10 <sup>-1</sup>	-4,741.10 <sup>-1</sup>	4,194.10 <sup>-1</sup>	1,374.10 <sup>-1</sup>	-3,885.10 <sup>-1</sup>
4,856.10 <sup>-2</sup>	6,712.10 <sup>-2</sup>	-9,986.10 <sup>-1</sup>	2,332.10 <sup>-2</sup>	6,877.10 <sup>-2</sup>	-9,660.10 <sup>-1</sup>
-4,635.10 <sup>-2</sup>	-5,763.10 <sup>-2</sup>	4,963.10 <sup>-2</sup>	-4,028.10 <sup>-2</sup>	-4,056.10 <sup>-2</sup>	2,563.10 <sup>-2</sup>
<b>EOSI → <math>F_3A_3P_2</math></b>			<b>EOSI → <math>F_3A_2P_2</math></b>		
<b>Efeito genético aditivo direto (<math>k_a = 3</math>)</b>			<b>Efeito genético aditivo direto (<math>k_a = 2</math>)</b>		
6,601.10 <sup>-2</sup>	5,705.10 <sup>-1</sup>	-4,206.10 <sup>-1</sup>	1,072.10 <sup>-1</sup>	-9,040.10 <sup>-2</sup>	
1,043.10 <sup>-2</sup>	5,063.10 <sup>-3</sup>	-9,844.10 <sup>-1</sup>	-3,015.10 <sup>-3</sup>	6,149.10 <sup>-3</sup>	
-7,546.10 <sup>-3</sup>	-4,892.10 <sup>-3</sup>	6,601.10 <sup>-2</sup>			
<b>Efeito ambiente permanente do animal (<math>k_p = 2</math>)</b>			<b>Efeito ambiente permanente do animal (<math>k_p = 2</math>)</b>		
4,311.10 <sup>-2</sup>	9,917.10 <sup>-1</sup>		1,790.10 <sup>-3</sup>	7,591.10 <sup>-1</sup>	
1,674.10 <sup>-3</sup>	6,614.10 <sup>-5</sup>		1,184.10 <sup>-3</sup>	1,358.10 <sup>-3</sup>	
<b>VG → <math>F_2A_2P_3</math></b>			<b>VG → <math>F_3A_3P_2</math></b>		
<b>Efeito genético aditivo direto (<math>k_a = 2</math>)</b>			<b>Efeito genético aditivo direto (<math>k_a = 3</math>)</b>		
5,143	-5,763.10 <sup>-1</sup>		3,591	-1,631.10 <sup>-1</sup>	-9,963.10 <sup>-1</sup>
-3,219	6,066		-3,050.10 <sup>-1</sup>	9,745.10 <sup>-1</sup>	7,880.10 <sup>-2</sup>
			-1,089	4,488.10 <sup>-2</sup>	3,332.10 <sup>-1</sup>
<b>Efeito ambiente permanente do animal (<math>k_p = 3</math>)</b>			<b>Efeito ambiente permanente do animal (<math>k_p = 2</math>)</b>		
9,480	-8,500.10 <sup>-3</sup>	-1,144.10 <sup>-1</sup>	18,905	3,166.10 <sup>-1</sup>	
-2,023.10 <sup>-4</sup>	5,944.10 <sup>-5</sup>	9,944.10 <sup>-1</sup>	1,094	6,328.10 <sup>-1</sup>	
-4,185	9,111.10 <sup>-2</sup>	141,22			

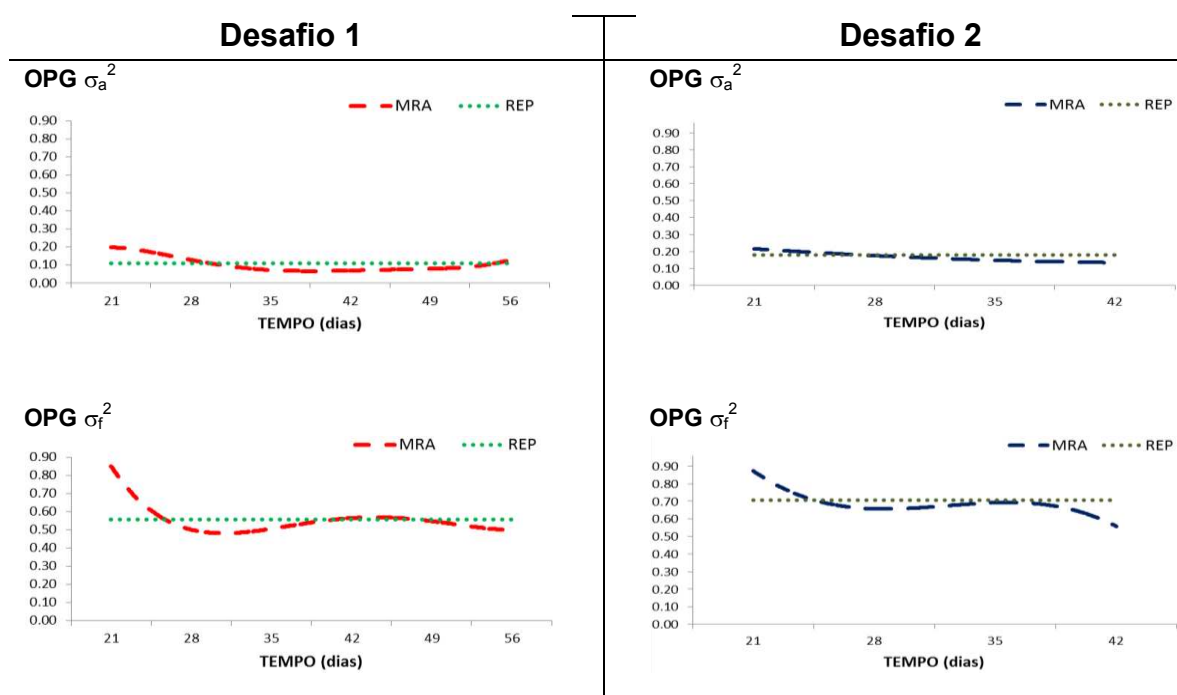
$F_{k_i}A_{k_a}P_{k_p}$ : ordem da função de covariâncias para a curva fixa ( $k_i$ ) e para os efeitos genético aditivo ( $k_a$ ) e de ambiente permanente ( $k_p$ ); OPG: ovos por grama de fezes; EOSI: eosinófilos sanguíneos; VG: volume globular.

As maiores variâncias estiveram associadas aos coeficientes lineares e quadráticos, utilizados para modelar os efeitos genético aditivo direto e de ambiente permanente (Tabela 5).

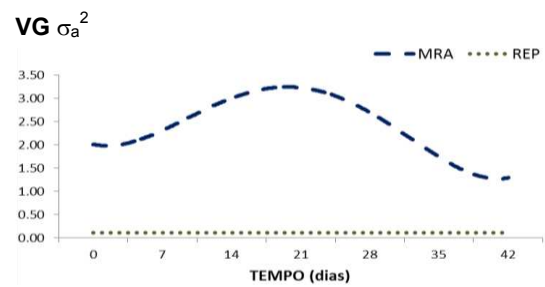
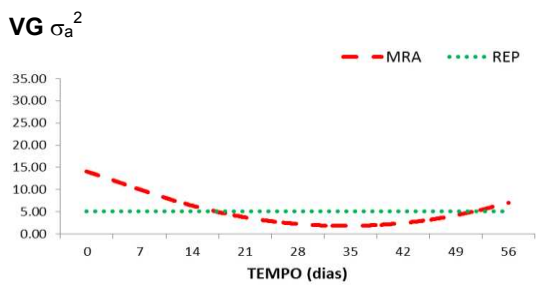
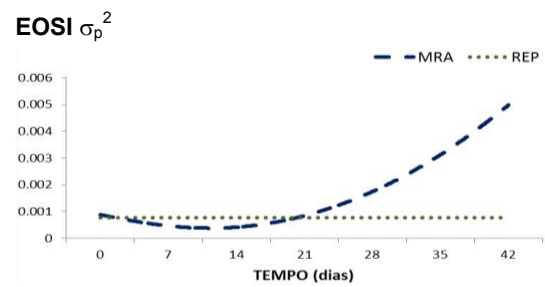
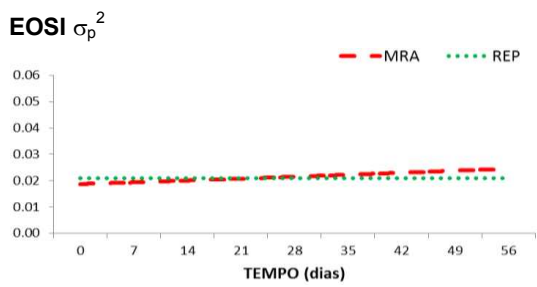
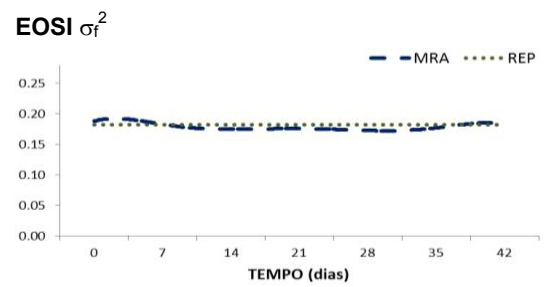
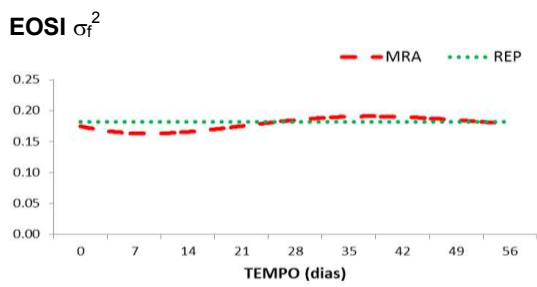
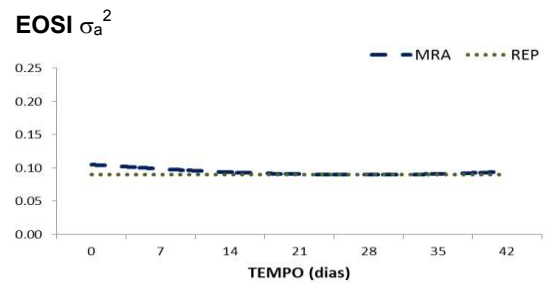
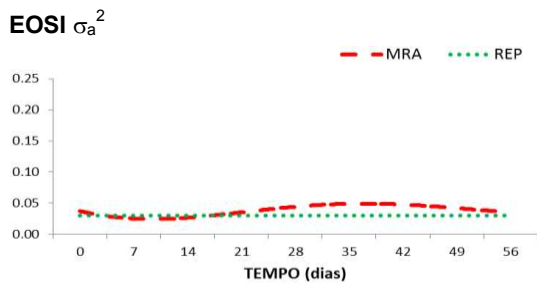
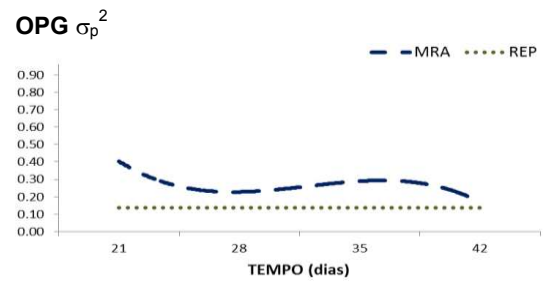
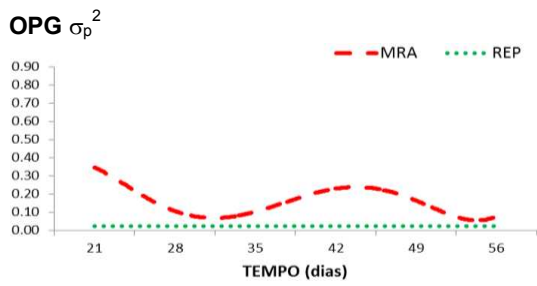
Em ambos os Desafios em estudo, as covariâncias e correlações do intercepto com o coeficiente de regressão aleatória foram muito baixas, além de alguns valores serem negativos em todas as características analisadas por cada etapa em estudo, para estudo de resistência de caprinos Crioulos ao endoparasitismo do *Haemonchus contortus*.

Silva et al. (2011) trabalharam com polinômios de Legendre para um melhor ajuste da trajetória média da contagem de OPG, em bovinos da raça Angus. Estes autores constataram maiores valores: na estimativa de variância para o intercepto das matrizes de covariância aditiva direta e de ambiente permanente, e também nas covariâncias e correlações positivas entre o intercepto e o coeficiente linear das mesmas matrizes.

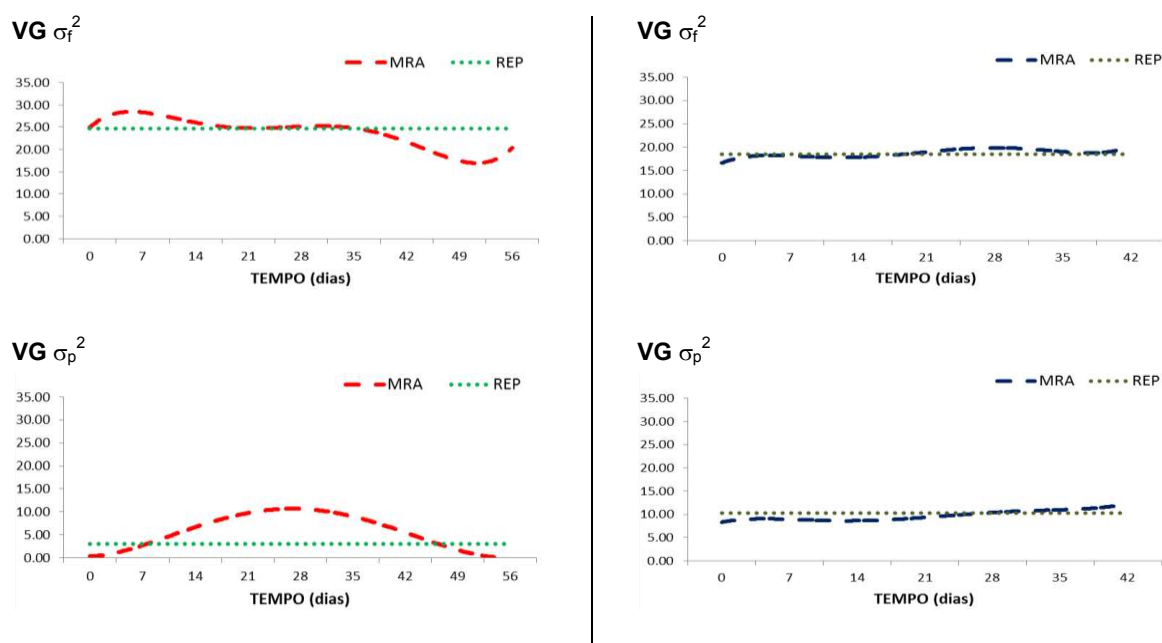
As estimativas de componentes de variância para os caracteres (OPG, EOSI e VG) de resistência em caprinos Crioulos por em cada etapa (Desafio 1 e 2), observados semanalmente, utilizando MRA (modelos já selecionados) e REP são apresentadas na Figura 11.



## Continuação da Figura 11



## Continuação da Figura 11



**Figura 11.** Estimativas de componentes de variância genética aditiva direta ( $\sigma_a^2$ ), fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) e efeito de ambiente permanente ( $\sigma_p^2$ )

Todas as informações para estimação dos componentes de variância genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ), fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) e efeito de ambiente permanente ( $\sigma_p^2$ ), nos Desafios 1 e 2, foram sempre maiores aos 21 dias da infestação artificial, registrado somente para a contagem de OPG em MRA. No Desafio 1, os valores registrados foram de 0,20 para  $\sigma_a^2$ ; 0,85 para  $\sigma_f^2$ ; 0,36 para  $\sigma_p^2$ ; Já no Desafio 2 as informações obtidas foram de 0,22 para  $\sigma_a^2$ ; 0,87 para  $\sigma_f^2$ ; 0,40 para  $\sigma_p^2$ . Na análise do REP para contagem de OPG, durante o Desafio 1 as informações coletadas foram de 0,11 para  $\sigma_a^2$ ; 0,56 para  $\sigma_f^2$ ; 0,03 para  $\sigma_p^2$ . Já no Desafio 2 os valores foram de 0,18 para  $\sigma_a^2$ ; 0,71 para  $\sigma_f^2$ ; 0,14 para  $\sigma_p^2$ .

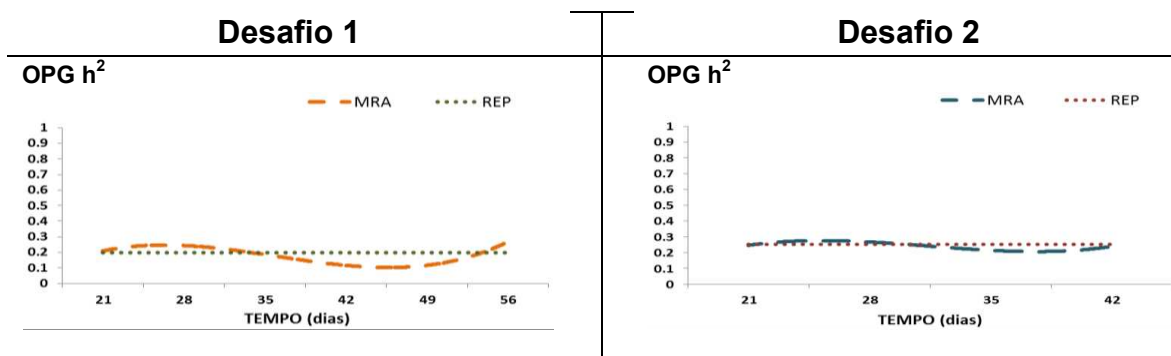
No Desafio 1, o MRA para EOSI, foi registrado um alto índice aos 35 e 42 dias de observação para ambas às estimações de  $\sigma_a^2$  e  $\sigma_f^2$ ; e um leve crescimento na estimação do  $\sigma_p^2$  registrados aos 35 até os 56 dias de coleta dos dados. Para no Desafio 2, o  $\sigma_a^2$  e  $\sigma_f^2$  obtiveram um aumento logo no início do experimento, a partir disso um houve pequeno decréscimo de ambas estimativas e mantiveram-se constante ao longo do tempo; porém, o mesmo não ocorreu para a estimação do  $\sigma_p^2$ , que registrou um aumento gradual a partir dos 14 até os 42 dias experimentais. Na avaliação do REP para EOSI, o

Desafio 1 informou 0,03 para  $\sigma_a^2$ ; 0,18 para  $\sigma_f^2$ ; 0,02 para  $\sigma_p^2$ . Durante o Desafio 2 as informações foram de 0,09 para  $\sigma_a^2$ ; 0,18 para  $\sigma_f^2$ ; 0,0008 para  $\sigma_p^2$ .

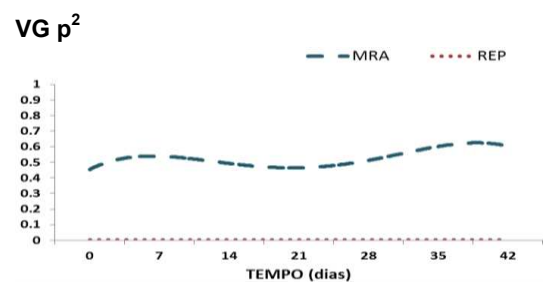
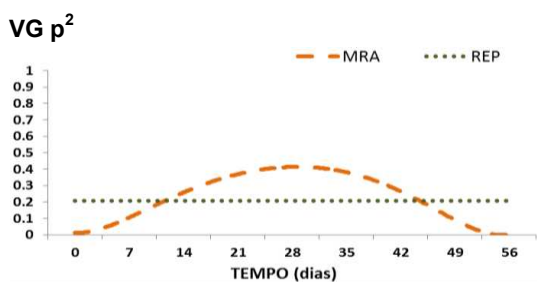
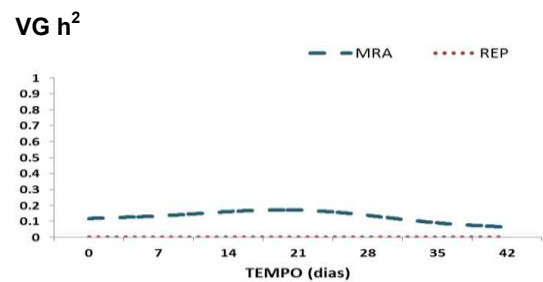
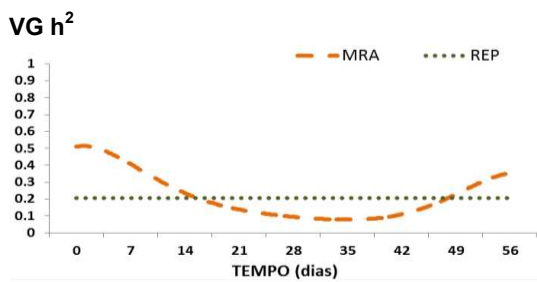
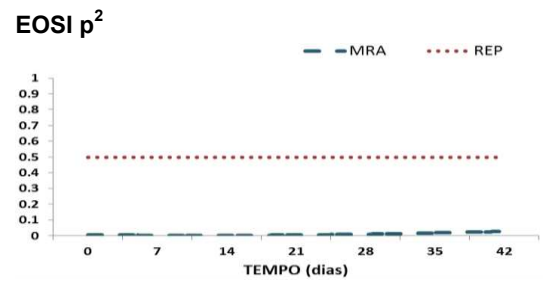
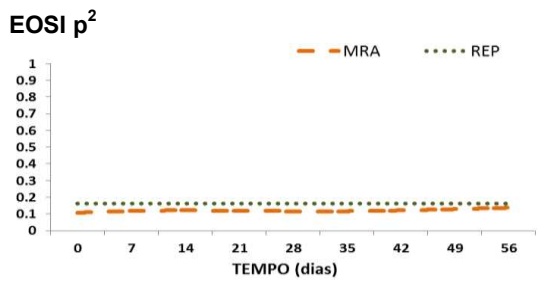
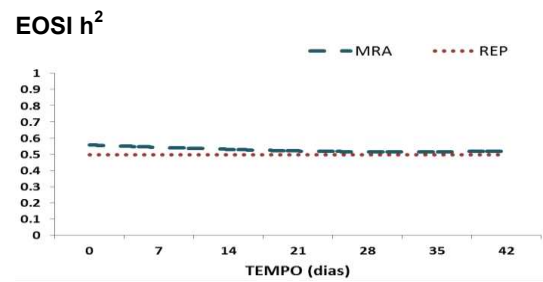
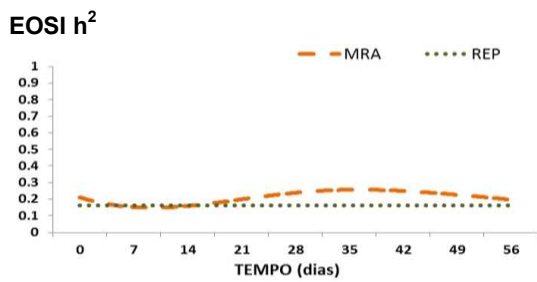
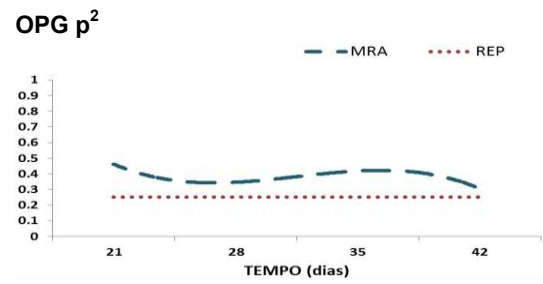
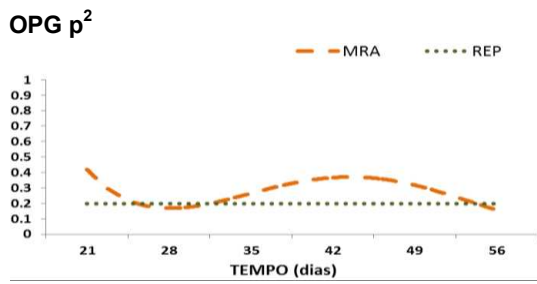
Para VG observadas no Desafio 1 e com MRA, as estimativas permaneceram altas para  $\sigma_a^2$  (duas primeiras semanas) e  $\sigma_f^2$  (primeira até a quinta semana); já para a estimativa  $\sigma_p^2$  o maior valor registrado foi aos 28 dias para a mesma etapa analisada e modelo. No Desafio 2 a estimativa de  $\sigma_a^2$  foi crescente até aos 21 dias, e logo em seguida houve uma diminuição até o final do experimento; no entanto, as estimativas de  $\sigma_f^2$  e  $\sigma_p^2$  foram sempre crescentes ao longo do tempo de coleta das informações. No REP para VG, o Desafios 1 reportou 5,04 para  $\sigma_a^2$ ; 2,99 para  $\sigma_f^2$ ; 24,63 para  $\sigma_p^2$ . No Desafio 2 os registros foram de 0,11 para  $\sigma_a^2$ ; 18,49 para  $\sigma_f^2$ ; 10,29 para  $\sigma_p^2$ .

Lôbo et al. (2009) observaram em dois desafios (ou infecções) naturais, a resistência de ovinos da raça Santa Inês aos endoparasitas, através do uso do MRA, a fim de obterem as estimativas de  $\sigma_f^2$ ,  $\sigma_a^2$  e  $\sigma_p^2$  para OPG e VG. Estes autores verificaram que  $\sigma_f^2$ ,  $\sigma_a^2$  e  $\sigma_p^2$  foi mais pronunciado no 2º desafio do que no 1º desafio, onde os mesmos se mostraram praticamente inalterado para o estudo da contagem de OPG. Já para a análise do VG as variações se comportaram o inverso do OPG, ou seja, OPG cresceu, enquanto que houve uma diminuição observada no VG.

As estimativas de herdabilidade aditiva direta e de ambiente permanente como proporção da variância fenotípica total das análises OPG, EOSI e VG por Desafio (1 e 2) estimados através do tempo (em dias), utilizando MRA (modelos já escolhidos) e REP são apresentadas na Figura 12.



Continuação da **Figura 12**



**Figura 12.** Estimativas de herdabilidade ( $h^2$ ) e de ambiente permanente ( $p^2$ )

No Desafio 1 para o MRA, a contagem de OPG mostrou estimativas de herdabilidade aditiva direta ( $h^2$ ) crescentes de 0,23 para 0,25 aos 21 e 28 dias, respectivamente; e ao término da observação dos dados a  $h^2$  marcou 0,26. A herdabilidade de ambiente permanente ( $p^2$ ) registou 0,42 logo nas primeiras observações do experimento, e oscilou entre 0,16 a 0,37 ao longo do tempo na coleta dos dados. As estimações de  $h^2$  e  $p^2$  para o REP foram iguais e constantes a 0,20 do início até o final da coleta de informações. No Desafio 2, também houve um pequeno aumento da  $h^2$  de 0,25 (aos 21 dias) a 0,27 (aos 28 dias); e até o final da coleta de informações, o registro foi de 0,24 (aos 42 dias). Para a  $p^2$  o maior registro foi de 0,46 aos 21 dias, e oscilou entre 0,31 a 0,42 em todo tempo de coleta das análises. No REP tanto a  $h^2$ , como a  $p^2$  obtiveram os mesmos valores constantes (0,25) em todo o experimento.

Para a característica EOSI com MRA (Desafio 1), a  $h^2$  foi de 0,21 no primeiro da coleta dos dados e chegou ao pico de 0,26 aos 35 dias; e  $p^2$  obteve um aumento progressivo desde o primeiro momento de observação da infestação artificial parasitária até o final das análises com valor de 0,14. REP manteve-se constante nos dois Desafios (1 e 2), com valor fixo de 0,16 para ambas estimativas de  $h^2$  e  $p^2$ . No Desafio 2, a estimativa de herdabilidade para EOSI obteve o maior valor de 0,56 para  $h^2$ , e a partir disso não houve muitas alterações ao longo do tempo. Já para  $p^2$  os registros foram muito baixos e quase chegando a zero, onde até o final do experimento o valor indicado foi de 0,027. O REP se destacou em relação ao MRA, que obteve altas estimativas para  $h^2$  e  $p^2$ , com valor fixo de 0,50 para ambos as etapas de estudo.

No Desafio 1, a estimativa de herdabilidade para VG e com MRA, a  $h^2$  foi alta (0,52) logo no começo da coleta dos dados, mas ao longo do tempo esse valor foi diminuindo, até chegar a 0,08 aos 35 dias, a partir de então essa estimativa da herdabilidade pode dar um salto para 0,35 até o final do experimento. Já para  $p^2$  ocorreu o inverso, aonde as informações nos extremos chegou à zero, e o seu pico foi registrado com 0,41 aos 28 dias. O REP registrou valores constantes ao longo do tempo ( $h^2 = p^2 = 0,21$ ) de estudo. Já no Desafio 2 para MRA, a curva para  $h^2$  foi crescente até obter um valor máximo de 0,17 aos 21 dias, e até o final da coleta dos dados essa curva assumiu comportamento contrário, chegando a um valor de 0,06 aos 42 dias. Para estimação da herdabilidade  $p^2$  os valores foram sempre altos ao longo do

tempo, com destaque para os 42 dias de observação que registrou um valor máximo de 0,61. Para o REP não obteve destaque em relação ao MRA, pois seus valores chegaram a quase zero, e permaneceu inalterada ao longo do tempo para ambas estimativas de herdabilidades ( $h^2$  e  $p^2$ ).

Neste estudo foi possível observar que animais jovens não conseguem responder de maneira eficiente às infecções gastrointestinais. E está de acordo com Vieira et al. (1997), em que à medida que os caprinos Crioulos se desenvolvem, a resposta à resistência contra endoparasitismo torna-se crescente e eficaz quanto aos efeitos negativos causados ao hospedeiro. Também corrobora com as informações obtidas por Amarante (2004), onde a habilidade com que esses pequenos ruminantes adquirem, e também expressam a imunidade contra ao *Haemonchus contortus* é direcionada para as futuras gerações.

Stear et al. (2001) listaram estimativas de herdabilidade para EOSI com valores de 0,48 e 0,43, em pequenos ruminantes infectados com endoparasitas com idades de quatro e cinco meses, respectivamente. Vanimisetti et al. (2004) informaram herdabilidades estimadas para OPG de 0,25, 0,22, 0,20, 0,07 e 0,00, respectivamente, em três, quatro, cinco, seis e sete semanas após um desafio artificial, em pequenos ruminantes infectados com *Haemonchus contortus*. Bishop et al. (2004) investigaram a herança da resistência de cordeiros Texel contra infecções de parasita gastrointestinais criados no Reino Unido, e encontraram herdabilidade para OPG oscilando entre 0,26 a 0,38. Sayers et al. (2005) observaram herdabilidade do OPG para resistência de ovinos Sulffock e Texel com estimativas entre 0,14 a 0,44. Prince et al. (2010) comprovaram herdabilidade direta de 0,15 para OPG em pequenos ruminantes infeccionados com *Haemonchus contortus*. Assenza et al. (2014) encontrou para OPG algumas herdabilidades relacionadas quanto a resistência de pequenos ruminantes à infestação artificial de *Haemonchus contortus*: 0,10 a 0,15 (antes da infestação); 0,21 a 0,38 (durante a primeira infestação); e 0,48 a 0,55 (durante a segunda infestação).

Stear et al. (1990) acharam herdabilidade para OPG variando entre 0,35 e 0,51 em bovinos da raça Belmont Red resistentes endoparasitas gastrintestinais. Gasbarre et al. (2001) encontraram herdabilidade para OPG variando entre 0,30 e 0,40 em rebanhos bovinos criados nos EUA. Passafaro et

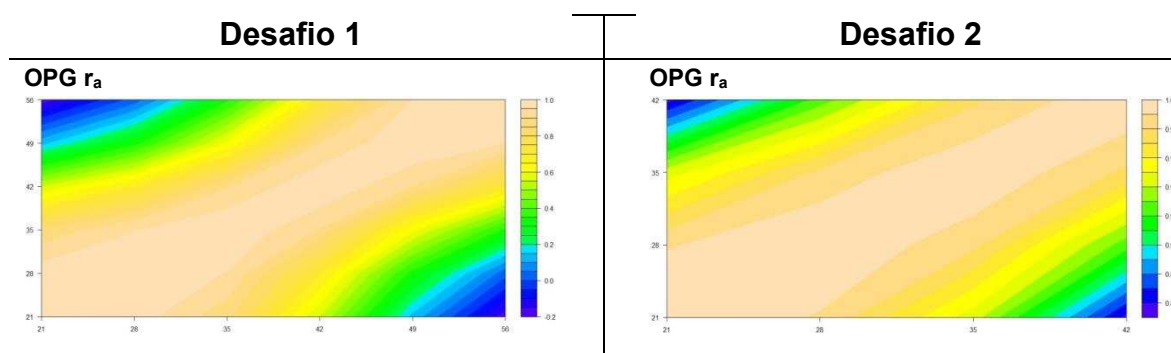
al. (2014) confirmaram herdabilidade para OPG variando entre 0,02 a 0,34 para a resistência a nematóides gastrintestinais em bovinos da raça Nelore.

Gauly e Erhardt (2001) afirmam que a herdabilidade de OPG variou entre 0,11 a 0,48; e herdabilidade de VG oscilou de 0,19 a 0,26, onde essas informações foram suficientes para a seleção à resistência de ovinos da raça Rhön contra nematóides gastrintestinais.

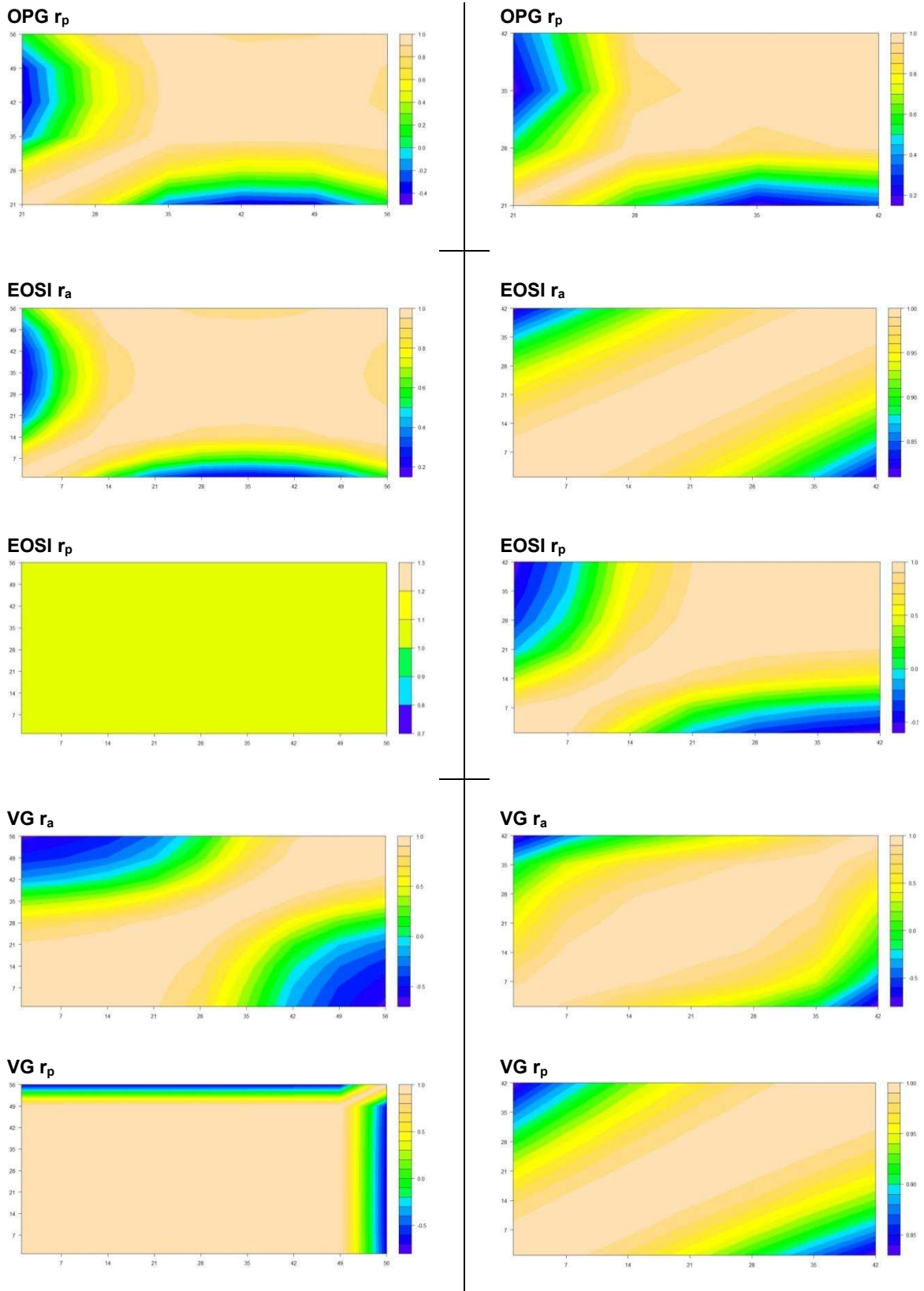
Lôbo et al. (2009) verificaram estimativas variáveis para a herdabilidade de OPG em ovinos da raça Santa Inês, com as seguintes informações: 0,04 a 0,27 em um 1º desafio natural com nematóides gastrintestinais, e 0,01 a 0,52 em um 2º desafio também natural. Os mesmos autores encontraram para VG, herdabilidades de 0,31 (1º desafio) e 0,12 (2º. desafio).

Mandonnet et al. (2001) relataram um estudo sobre a variabilidade genética da resistência de caprinos da raça Créole ao endoparasitismo, onde os valores para a herdabilidade de OPG foi de 0,37 durante a desmama e a herdabilidade para VG variou entre 0,10 e 0,33.

Algumas vantagens que o MRA teve sobre o REP para as características (OPG, EOSI e VG) avaliadas foram: a retirada da variação ambiental no banco de dados fenotípicos, dando atenção aos efeitos ambientais comuns de cada coleta de dados nas duas etapas (Desafios 1 e 2); e a utilização de um grande número de informações (registros) por animal e por etapa. Assim, as estimativas de correlação ao longo do tempo para estas características em estudo (OPG, EOSI e VG) para cada Desafio (1 e 2) utilizando MRA (modelos já escolhidos) são apresentadas na Figura 13.



Continuação da **Figura 13**



**Figura 13.** Correlações genética aditiva direta ( $r_a$ ) e efeitos de ambiente permanente ( $r_p$ ) entre tempos (dias) e entre os Desafios 1 e 2.

Para a característica OPG observadas no Desafio 1, a  $r_a$  variou de -0.180 (28 aos 56 dias) a próximo de um (0,980) dos 21 aos 28 dias; e para a  $r_p$  houve uma variação de -0,415 (21 aos 42 dias) que chegou próximo de um (0,999) dos 42 aos 49 dias. Para o Desafio 2, já no início da coleta dos dados (aos 21 dias) a  $r_a$  oscilou de 0,857 (até aos 42 dias) a próximo de um (0,989, até aos 28 dias); e a  $r_p$  registrou dados que variaram de 0,170 (21 aos 35 dias) até próximo de um (0,990) dos 35 aos 42 dias.

No Desafio 1 para a característica EOSI, a  $r_a$  obteve oscilações de 0,192 (28 aos 56 dias) até um (21 aos 49 dias; e 28 aos 42 dias); e a  $r_p$  registrou valor igual a um, ou seja, não ocorreu variação desde o início até o fim do experimento (aos 56 dias). No Desafio 2, desde o início do experimento, a  $r_a$  variou de 0,816 (até aos 42 dias) a próximo de um (0,997, até aos 7 dias); já para a  $r_p$  houve variação de -0.545 (21 aos 35 dias) a próximo de um (0,997) dos 35 aos 42 dias.

No início da coleta dos dados para a característica VG observadas no Desafio 1, a  $r_a$  variou de -0,627 (até aos 56 dias) a próximo de um (0,997, até aos 7 dias); a  $r_p$  oscilou de -0,705 (14 aos 56 dias) até um (7 aos 28 dias; 14 aos 35 dias; 21 aos 42 dias; 28 aos 42 dias; e 35 aos 42 dias). No período IV, a  $r_a$  registrou um valor negativo de -0,789 (início do experimento até aos 42 dias) que variou até próximo de um (0,997) dos 35 aos 42 dias.

Passafaro et al. (2014) encontraram valores baixos para  $r_a$  em características (OPG) de resistência dos bovinos da raça Nelore à nematóides gastrintestinais. Pollott et al. (2004) apontam a  $r_a$  de -0,63 para análise do OPG à procura da resistência em pequenos ruminantes a endoparasitas gastrointestinais. Lôbo et al. (2009) verificaram as  $r_a$  entre as características OPG e VG, que não diferiram de zero: 0,04 e 0,02, respectivamente, para resistência em ovinos da raça Santa Inês. Assenza et al. (2014) encontraram para OPG  $r_a$  iguais a zero durante a primeira infestação artificial de *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes, mas durante a segunda infestação o  $r_a$  foi de -0,480; já para VG a  $r_a$  foi igual a -0,210 (primeira infestação) -0,410 (segunda infestação).

De modo geral, as correlações  $r_a$  e  $r_p$ , entre cada característica analisada (OPG, EOSI e VG), para os dois Desafios (1 e 2), obtiveram grandes diferenças entre todas as modelagens de MRA escolhidas, a fim de analisar a

resistência de caprinos Crioulos conta o *Haemonchus contortus*. Onde a maioria das  $r_a$  e  $r_p$  foram baixas, e estas passando de moderadas à altas ao longo do tempo. Essas variações podem ser resultantes a heterogeneidade de resposta imune dos hospedeiros, relacionados às diferenças de idade entre os caprinos.

## CONCLUSÃO

Mediante comparação de diferentes modelos de avaliação genética, o Modelo de Regressão Aleatória (MRA), identificados pela ordem dos polinômios de Legendre para a curva fixa, efeito genético aditivo e de ambiente permanente, através dos avaliadores de qualidade (AIC e BIC), foi o melhor em descrever geneticamente a curva de resistência de caprinos Crioulos inoculados com *Haemonchus contortus* nos dois períodos considerados (Desafio 1 e 2).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAIKE, H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INFORMATION THEORY, 2, Budapest: Akademiai Kiado. (Eds B.N. Petrov and F. Csaki), 267-281. **Proceedings...** Budapest: 1973.
- ALEXANDRE, G.; AUMONT, G.; FLEURY, J.; MAINAUD, J.C.; KANDASSAMY, T. Performances zootechniques de la chèvre Créole allaitante de Guadeloupe. Bilan de 20 ans dans um élevage expérimental de l'INRA. **INRA Productions Animales**, v.10, p.7-20, 1997.
- AMARANTE, A.F.T. Resistência genética a helmintos gastrintestinais. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: SBMA, 2004.

- ASSENZA, F.; ELSEN, J.-M.; LEGARRA, A.; CARRÉ, C.; SALLÉ, G.; ROBERT-GRANIÉ, C.; MORENO, C.R. Genetic parameters for growth and faecal worm egg count following *Haemonchus contortus* experimental infestations using pedigree and molecular information. **Genetics Selection Evolution**, v.46, n.13, p.1-9, 2014.
- AUMONT, G.; GRUNER, L.; HOSTACHE, G. Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolates of *Haemonchus contortus* of Black Belly sheep in Guadeloupe (F.W.I) and of INRA 401 sheep in France. **Veterinary Parasitology**, v.116, p.139-150, 2003.
- AUMONT, G.; POUILLOT, R.; MANDONNET, N.; NZOBADILA, G. Méthodologie de la coproscopie quantitative chez les petits ruminants infestés par les strongles gastro-intestinaux, Résultats 1995 et 1996. **Rapport Annuel 1996 e Action Thématique programmée 72/94**, 1997.
- BALIC, A.; CUNNINGHAM, C.P.; MEEUSEN, E.N.T. Eosinophil interactions whit *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. **Parasite Immunology**, v.28, p.107-115, 2006.
- BAMBOU, J. C.; LARCHER, T.; CËI, W.; DUMOULIN, P. J.; MANDONNET, N. Effect of experimental infection with *Haemonchus contortus* on parasitological and local cellular responses in resistant and susceptible young créole goats. **BioMed Research International**, v.2013, article ID 902759, p.1-9, 2013.
- BISHOP, S.C.; JACKSON, F.; COOP, R.L.; STEAR, M.J. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programs. **Journal of Animal Science**, v.78, p.185-194, 2004.
- BULL, B.; FUJIMOTO, K.; HOUWEN, B.; KLEE, G.; van HOVE, L.; van ASSENDELFT, O. Recommendations for “Surrogate Referece” Method for

the Packed Cell Volume. In: INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY, **Proceedings...**, v.9, p.1-9, 2003. Guadeloupe (F.W.I.), 23 fevereiro 2015. Disponível em: <http://www.upei.ca/~diagser/cp.htm>. Acessado em: 23/Fevereiro/2015.

CABARET, J.; GASNIER, N.; JACQUIET, P. Faecal egg counts are representative of digestive-tract strongyle worm burdens in sheep and goats. **Parasite**, n.5, p.137-142, 1998.

DAWKINS, H.J.S.; WINDON, R.G.; EAGLESON, G.K. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, v.19, n.2, p.199-205, 1989.

FORBES, A.B.; CUTLER, K.L.; RICE, B.J. Sub-clinical parasitism in spring-born, beef suckler calves: epidemiology and impact on growth performance during the first grazing season. **Veterinary Parasitology**, v.104, p.339-344, 2002.

GASBARRE, L.C.; LEIGHTON, E.A.; SONSTEGARD, T.S. Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.98, p.51-64, 2001.

GAULY, M., ERHARDT, G. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhon sheep following natural infection. **Veterinary Parasitology**, v.102, p. 253-259, 2001.

KIRKPATRICK, M.; LOFSVOLD, D.; BULMER, M. Analysis of the inheritance, selection and evolution of growth trajectories. **Genetics Selection Evolution**, v.124, p.979-993, 1990.

- LÔBO, R.N.B.; VIEIRA, L.S.; OLIVEIRA, A.A.; MUNIZ, E.N.; SILVA, J.M. Genetics parameters for faecal egg count, packed-cell volume and body-weight in Santa Ines. **Genetics and Molecular Biology**, v.32, n.2, p.288-294, 2009.
- MANDONNET, N.; AUMONT, G.; FLEURY, J.; ARQUET, R.; VARO, H.; GRUNER, L.; BOUIX, J.; KHANG, J.V. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Créole goats in the humid tropics. **Journal Animal Science**, v.79, p.1706-1712, 2001.
- MANDONNET, N.; BACHAND, M.; MAHIEU, M.; ARQUET, R.; BAUDRON, F.; ABINNE-MOLZA, L.; VARO, H.; AUMONT, G. Impact on productivity of periparturient rise in fecal egg counts in Créole goats in the humid tropics. **Veterinary Parasitology**, v.134, pp.249-259, 2005.
- MENDES, D.M.; CAMARGO, M.F.; AUN, V.V.; FERNANDES, M.F.M.; AUN, W.T.; MELLO, J.F. Eosinophilia. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**. v.23, n.2, p.84-91, 2000. Guadeloupe (F.W.I.), 12 outubro 2015. Disponível em: <http://www.asbai.org.br/revistas/Vol232/eosino.htm>. Acessado em: 12/Outubro/2015.
- MEYER, K. WOMBAT: A tool for mixed model analyses in quantitative genetics by REML, **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v.8, n.11, p.815-821, 2007.
- PASSAFARO, T.L.; SANTOS, L.L.; RAIDAN, F.S.S.; MORAIS, M.M.; BOTERO, J.P.C.; LEITE, R.C.; TORAL, F.L.B. Genetic parameters for resistance to parasites in Nelore cattle through random regression. In: WORLD CONGRESS OF GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 10, Vancouver, Canadá, **Proceedings...** Vancouver: 2014.

POLLOTT, G.E.; KARLSSON, L.J.; EADY, S.; GREEFF, J.C. Genetic parameters for indicators of host resistance to parasites from weaning to hogget age in Merino sheep. **Journal Animal Science**, v.82, n. 10, p.2852-64, 2004.

PRINCE, L.L.; GOWANE, G.R.; SWARNKAR, C.P.; SINGH, D.; ARORA, A.L. Estimates of genetic parameters for faecal egg count of *Haemonchus contortus* infection and relationship with growth traits in Avikalin sheep. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, n.4, p.785-91, 2010.

RAYNAUD, J. P. Étude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v.45, n.3, p.321-342, 1970.

SALLÉ, G.; MORENO, C.; BOITARD, S.; RUESCHE, J.; TIRCAZES-SECULA, A.; BOUVIER, F.; ALETRU, M.; WEISBECKER, J.-L.; PRÉVOT, F.; BERGEAUD, J.-P.; TRUMEL, C.; GRISEZ, C.; LIÉNARD, E.; JACQUIET, P. Functional investigation of a QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Research**, v.45, n.68, p1-12, 2014.

SAS. **Statistical Analysis System: user's guide**. System for Windows<sup>NT</sup>, versão 8.0, Cary. 1999.

SAYERS, G.; GOOD, B.; HANRAHAN, J.P.; RYAN, M.; SWEENEY, T. Intron of the interferon gama gene: It's role i nematode resistance in Sulffolk and Texel sheep breeds. **Research in Veterinary Science**. Oxford. v.79. p.191-196. 2005.

SCHALM, O. **Veterinary Hematology**. 2a Ed. Lea & Febiger, 1965.

- SCHWARZ, G. Estimating the dimension of a model. **Annals of Statistics**, v.6, p.461-464, 1978.
- SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test of normality (complete samples). **Biometrika**, v.52, p.591-611, 1965.
- SILVA, M.V.G.B.; VAN TASSELL, C.P.; SONSTEGARD, T.S.; COBUCI, J.A.; GASBARRE, L.C. Box-Cox transformation and random regression model for fecal egg count data. **Frontiers in Genetics**, v.2, p.112-125, 2011.
- STEAR, M.J.; BISHOP, S.C.; MALLARD, B.A.; RAADSMA, H. The sustainability feasibility and desirability of breeding livestock for disease resistance. **Research Veterinary Science**, v.71, n.1, p.1-7, 2001.
- STEAR, M.J.; HETZEL, D.J.S.; BROWN, S.C.; GERSHWIN, L.J.; MACKINNON, M.J.; NICHOLAS, F.W. The relationships among ecto- and endoparasite levels, class I antigens of the bovine major histocompatibility system, immunoglobulin e levels and weight gain. **Veterinary Parasitology**, v.34, p.303-321, 1990.
- TAYLOR, M.A.; COPP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 215p., 2010.
- THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, F.P.; SOTOMAIOR, C.; CASTRO, E.A.; MILCZEWSKI, V.; MOCELIN, G.; SILVA, M.C.P. Resistance of gastrointestinal nematodes of anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, p.41-47, 2004.
- VANIMISSETTI, H.B.; ANDREW, S.L.; ZAJAC, A.M.; NOTTER, D.R. Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1602-1611, 2004.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; XIMENES, L.J.F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do Nordeste do Brasil. **Circular Técnica**. Embrapa/Caprinos-Merial, Sobral, 49p., 1997.

**CHAPTER 2:  
GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY AND IDENTIFICATION  
OF CANDIDATE GENES FOR FECAL EGGS COUNT IN CREOLE  
GOATS**

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Joashlenny Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, may, 2016. **Genome wide association study and identification of candidate genes for fecal eggs count in Creole goats.** Adviser: Fabyano Fonseca e Silva. Co-Adviser: Robledo de Almeida Torres.

An alternative control of gastrointestinal nematode infestation (GNI) in goats can be achieved by the identification of genes controlling the resistance mechanisms, which can be used in breeding programs under a marker-assisted selection and gene introgression frameworks. In this context, we aimed to perform genome-wide association studies (GWAS) for fecal eggs count (FEC) of *Haemonchus contortus* in Creole goats from Guadeloupe, and to identify possible candidate genes associated with GNI resistance in this population. A total of 138 Creole goats were phenotyped for FEC in two different periods, first (FC) and second (SC) Challenges. After quality control, 46,643 SNP (single nucleotide polymorphism) markers were considered in the GWAS. The significant associations were identified by fitting linear mixed models separately for each period. A total of 7 significant SNPs (on chromosomes 4, 6, 11 and 17) associated to FEC in the FC, and 5 (on chromosomes 3, 8, 9 and 24) in the SC were reported. Candidate genes annotation was performed at the positions of the significant markers. The identified genes were related to damage to the intestine (*PROM1* in the FC), inflammation process (*FGFBP1* in FC), immune response (*LIMCH1* in the FC, and *FSD1L* in the SC), hemorrhage control (*ADAMTS3* in the FC) and muscle weakness (*SUCLG1* in the FC, and *FKTN* in the SC). Since the symptoms provided by severe *Haemonchus contortus* infections are related with the mentioned functions, we believe that annotation analysis make sense and these genes might be better studied under an integrated immunological viewpoint in future gene expression assays.

**Key-words:** fecal eggs count, *Haemonchus contortus*, SNP marker, mixed models.

## RESUMO

OLIVEIRA, Joashlenny Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2016. **Estudo de Associação Genômica Ampla e identificação de genes candidatos para a contagem de ovos por grama de fezes em caprinos Crioulos.** Orientador: Fabyano Fonseca e Silva. Coorientador: Robledo de Almeida Torres.

Um controle alternativo contra a infestação de nematódeos gastrointestinal (ING) em caprinos pode ser realizado através da identificação de genes que controlam os mecanismos de resistência. Estes genes podem ser utilizados em programas de melhoramento sob o enfoque de seleção assistida por marcadores. Neste contexto, objetivou-se realizar um Estudo de Associação Genômica Ampla (*Genome-Wide Association Study - GWAS*) para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de *Haemonchus contortus* em caprinos Crioulos de Guadalupe, e identificar possíveis genes candidatos associados à resistência a ING. Um total de 138 caprinos Crioulos foram fenotipados para OPG em dois períodos diferentes, primeiro (PD) e segundo (SD) desafios. Depois do controle de qualidade, 46.643 marcadores SNPs (*single nucleotide polymorphism*) foram considerados para a GWAS. As associações significativas foram identificadas através de modelos lineares mistos ajustados separadamente para cada período. Foram reportados um total de 7 SNPs (no cromossomo 4, 6, 11 e 17) no PD, e 5 SNPs (nos cromossomos 3, 8, 9 e 24) na SC, estatisticamente associados com OPG. A anotação dos genes candidatos foi realizada nas posições destes marcadores significativos. Os genes identificados foram relacionados a danos ao intestino (*PROM1* no PD), processo de inflamação (*FGFBP1* no PD), resposta imune (*LIMCH1* no PD, e *FSD1L* no SD), controle da hemorragia (*ADAMTS3* no PD) e debilidade (ou fraqueza) muscular (*SUCLG1* no PD, e *FKTN* no SD). Uma vez que os sintomas promovidos por infecções graves através do *Haemonchus contortus* estão relacionados com as funções mencionadas, acredita-se que estes genes podem ser melhor estudados sob um ponto de vista imunológico em futuros ensaios de expressão gênica.

**Palavras-chave:** ovos por grama de fezes, *Haemonchus contortus*, marcador SNP, modelos mistos.

## INTRODUCTION

The control of gastrointestinal nematodes infestation (GNI) represents a challenge for the sustainability of small ruminant production, particularly for goat husbandry in the humid tropics (Mandonnet et al., 2005). As reviewed by Mandonnet et al. (2015), the wide use of anthelmintic drugs has been considered in various programmes for the development of small ruminant production, resulting in the selection of anthelmintic resistant strains of parasites.

Thus, an interesting alternative to control GNI infestation in small ruminants is the selection of genetically resistant animals as well as the identification of chromosome regions controlling the resistance mechanisms. Once identified, these regions can be used in breeding programs under a marker-assisted selection and gene introgression approaches. Molecular genetics has reached great advances due to the development of dense panels of single nucleotide polymorphisms (SNP) markers. Given this large amount of genomic information, some markers can be close to relevant genes make possible to relate them to measurable traits through genome-wide association studies (GWAS). In relation to GNI, one general trait that can be used in GWAS is the fecal egg count (FEC), which is a simple procedure that can be performed at herds to get an approximation of the parasite load that animals are carrying.

Recently, GWAS have been carried out for FEC in ruminants. In Angus cattle, Kim et al. (2015) reported six significant genomic regions located on bovine chromosomes 3, 5, 8, 15 and 27. Annotation analysis within these regions suggested genes involved in inflammatory response to infections. In sheep, Sallé et al. (2015) using a backcross (Romane x Martinik Black Belly) population identified four QTL regions on chromosomes 5, 12, 13, and 21; and Benavides et al. (2015) and Atlija et al. (2016) using backcross (Red Maasai x Dorper) and Spanish Churra populations, respectively, reported significant QTL region located on chromosome 6.

Although these results are encouraging for cattle and sheep, information like that are scarce for goats and must be supplied given the importance of GNI for tropical breeds. For this purpose, we aimed to perform GWAS for FEC in

Creole goats from Guadeloupe and to identify possible candidate genes associated with GNI resistance in this population.

## MATERIAL AND METHODS

### Phenotypic and Genotypic Data

The experiment was conducted under farm-like conditions at the INRA experimental farm in Guadeloupe (16° 20 N, 61° 20 W). The climate was oceanic-tropical: the mean monthly maximum temperature was in the range 29 - 31°C, mean minimum 22 - 25°C, annual rainfall was 1000 - 1500 mm, with a dry season between January and July.

A total of 138 Creole goats, reared in individual cages raised above the ground, were used in the experiment. The animals were artificially infected with 10,000 larvae L3 of *Haemonchus contortus*. After this first challenge (FC), the animals were weekly phenotyped for FEC during 8 weeks (56 days). At the end of this period, the animals were drenched for the first time, so that four weeks after this they were infected again with 10.000 larvae. After this second challenge (SC), the animals were weekly phenotyped again for FEC during 6 weeks (42 days). In summary, the animals were phenotyped for FEC in two different periods, for the FC the FEC were collected at 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 and 56 days; and for the SC at 21, 28, 35 and 42 days. The contemporary groups were defined by combining information from year and season of birth, and sex. A total of nine contemporary groups were considered. The age of animals varied from 173 to 307 days old.

All the animals were genotyped using the Illumina goat SNP50 BeadChip (Illumina Inc. San Diego, CA) containing 53,347 SNPs. In relation to quality control procedures, SNPs with a GenCall score less than <0.05, a minor allele frequency less than <0.01 and frequency of missing genotypes greater than >0.05 were excluded from the dataset. After quality control, genotypes of 138 animals for 46,643 SNPs were included in the GWAS.

## Statistical Analyses

The data from two periods (FC and SC) were analyzed separately. The original phenotypic observations (log transformed FEC) were pre-correct for fixed effects of contemporary groups, collection days and age (linear covariate). The pre-corrected phenotypes were defined as the residual estimates from a linear model containing the mentioned fixed effects plus the general phenotypic mean.

Genome association studies were performed using the following mixed model (Zhang et al. 2010, Kang et al. 2010):

$$Y = Zu + Ma + e$$

where: **Y** represents the vector of pre-corrected phenotypic observation for each animal; **u** is the vector of random animal polygenic effect,  $u \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{G}\sigma_u^2)$ , being **G** the additive genomic relationship matrix; **a** represents the fixed SNP additive effect and **e** represents the residual vector,  $e \sim N(\mathbf{0}, I\sigma_e^2)$ . The matrices **Z** and **M** represent the incidence matrices for **u** and **a**, respectively. The polygenic effect was used to point out for possible sub-population structure (e.g. family). The presented model was fitted using the *GWAS* function of the *rrBLUP* package of R software (R Core Team, 2015).

To infer on the statistical significance of each SNP, the reported model was fitted separately for each marker and the t-test was used to access the significance. The FDR (False Discovery Rate) method was used to correct the P-values for multiple tests, since each SNP was tested separately in the model.

## SNP Derived Candidate Gene Annotation

We exploited the functions of the annotated genes underlying the significant SNP markers (q-value<0.05). In order to track the genes that were within or close to markers, we used the package *Map2NCBI* (Hanna and Riley, 2014) of the R software based on the CHIR\_1.0 assembly of the goat genome sequence.

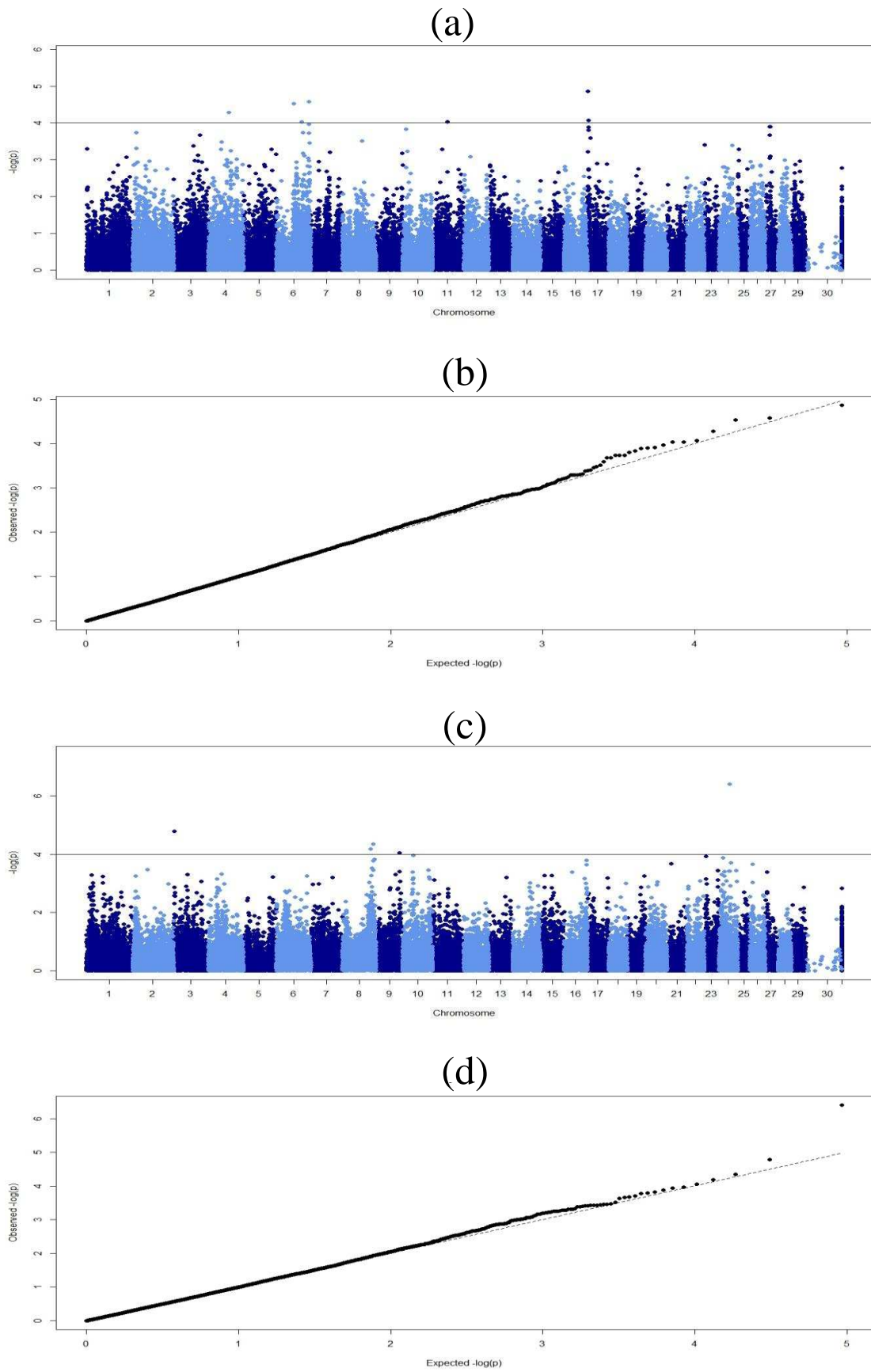
Information about the identity and function of annotated genes at mapped SNP markers were obtained from the chromosomal positions at the NCBI Genome Browser 2015 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=goat>). Lists of the genes that are located closest to the significant SNPs were

extracted while allowing for a maximum distance of 0.0530 Mb. This value represents the mean distance (in Mb) between marker according to mean LD measure reported by Brito et al. (2015) that studied jointly the genome scan of several goat breeds (LaMancha, Nubian, Toggenburg and Boer), between the SNP and annotated genes. Putative genes that were identified for goat breeds were established by a BLAST homology search of known, identified human gene transcripts, which were downloaded from the genome databanks of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK143764/>). Under this approach, it was possible to identify the biological mechanisms and functions involving the identified genes as well as to highlight the most relevant genes that are putatively associated with gastrointestinal parasitic nematodes resistance and immunologic response. When no information was available for goat genes, cattle, human, rat, and mouse biological function annotations were used to proceed with the in-silico functional analyses.

## **RESULTS**

The Manhattan plots for FEC at first (FEC-FC) and second (FEC-SC) Challenges are shown, respectively in Figures 14a and 14b; and QQ-plots in Figures 14c and 14d, respectively. We identified 7 significant SNPs (on chromosomes 4, 6, 11 and 17) associated to FEC-FC, and 5 (on chromosomes 3, 8, 9 and 24) to FEC-SC.

A total of 6 genes were annotated within the window from significant SNPs for FEC-FC, while 5 genes were annotated for FEC-SC (Table 6). The main chromosome in terms of number of annotated genes for FEC-FC was the 6, and for FEC-SC was the 8.



**Figure 14.** Manhattan plot and QQ-plot for fecal egg count (FEC) at first (a and c) and second (b and d) Challenges.

**Table 6.** Significant SNP markers for fecal egg count (FEC) at first (FC) and second (SC) Challenges, their respective position in chromosomes, q-values (p-values corrected by FDR),  $-\log_{10}$  (q-value) (transformed q-values used in the Manhattan plots) and annotated genes within SNP region.

Trait	Chr	Pos (bp)	q-value	$-\log_{10}$ (q-value)	Genes
FEC at FC	4	68903053	2.6429E-05	4.577918662	-
	6	108176232	5.23417E-05	4.281152116	FGFBP1, PROM1
	6	58726236	2.96302E-05	4.528265895	LIMCH1
	6	84762610	9.21265E-05	4.035615516	ADAMTS3
	11	49961843	9.37661E-05	4.027954108	SUCLG1
	17	2550190	1.36435E-05	4.865075432	LRAT
	17	3405070	8.50186E-05	4.070485854	-
FEC at SC	3	2534062	4.50397E-05	4.346404752	FAM78B
	8	102957754	1.65176E-05	4.782052664	-
	8	93355024	8.87882E-05	4.051644657	SLC44A1, FSD1L, FKTN
	9	80282768	6.51755E-05	4.185915345	ZDHHC14
	24	36211877	3.91551E-07	6.407211867	-

## DISCUSSION

### Manhattan and Q-Q plots

The Manhattan plots in Figure 14a and 14c assume that each point is a SNP laid out across the goat chromosomes from left to right, and the heights correspond to the strength of the association to FEC. For the first challenge, the significant SNPs located at chromosomes 6 and 17 are closed to other non-significant SNPs in the same peak. Similarly, for the second challenge, the significant SNPs in the chromosome 8 are also located in a remarkable peak. In general, peaks including significant SNPs in the same chromosome suggest that they are expressing together, implying in a physical relevant region to be studied under an annotation gene framework. Thus, hypotheses about candidate genes associated with FEC on these regions can be raised.

With respect to Q-Q plots (Figure 14b and 14d), the deviations from the identity line suggest that the sample contains values arising by a true association. This behavior is observed for both conditions, first and second

Challenges. In general, the Q-Q plots is a simple way to validate the results reports in the Manhattan plots. Thus, in the present results, it is possible to infer that this validation was successfully realized for both mentioned conditions. Furthermore, there is no inflation of observed statistics at the beginning of the trajectory, indicating that the inclusion of polygenic effect in the used model was able to adjust the GWAS for possible population structure effects.

## **SNP Derived Candidate Gene Annotation**

### **First Challenge Annotated Genes**

According to Karim et al. (2014), the *PROM1* (Prominin-Like Protein 1) gene located at chromosome 6 (Table 6) plays a role in regulating intestinal homeostasis and that these results clearly illustrate the role of this gene in intestinal regeneration. The reported *FGFBP1* (Fibroblast Growth Factor Binding Protein-1) gene at chromosome 6 is associated, among other functions, with regulation of the inflammatory response by FGF (Fibroblast Growth Factor) signaling and macrophage recruitment in inflammatory conditions (Schwertfeger et al., 2006). In this same chromosome, the identified *LIMCH1* (Calponin Homology Domains) gene is related with immune response. The actin cytoskeleton plays a major role in cell motility that is essential for the function of phagocytes, and Calponin is an actin associated regulatory protein. The actin cytoskeleton of leukocytes plays a central role in the locomotion, transmigration, and phagocytosis. These activities are essential for the function of myeloid cells, including neutrophils, monocytes, and macrophages, in defensive and autoimmune responses (Huang et al., 2008). According to Rocks et al. (2008), the last annotated gene at chromosome 6 (*ADAMTS3* - disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 3) plays roles in cell adhesion, cell migration, hemorrhage control (coagulation) and inflammation. In summary, since the *Haemonchus contortus* infection causes remarkable damage to the intestine, sometimes generating inflammation process and blood loss of the infected animals, the mentioned functions of these annotated genes make

sense and might be studied under an integrated immunological response viewpoint.

The *SUCLG1* (Succinate-CoA Ligase, Alpha Subunit) gene at chromosome 11 is not directly connected with infection such as those mentioned on chromosome 6. However, Ostergaard (2008) commented that some *SUCLG1* mutations results in a somewhat less form of succinate-CoA ligase deficiency that is characterized by very weak muscle tone (hypotonia) and uncontrolled movements, which sometimes are symptoms provided by severe *Haemonchus contortus* infections.

For two significant SNPs (at chromosomes 4 and 17) there were no annotated genes within the considered region. Thus, other studies involving gene mapping and primer identification must be realized in order to infer about some possible new genes that can be annotated in the future on this region. For other significant SNP at chromosomes 17, the *LRAT* gene was identified. However, this gene is not related with immunological process that can be associated with resistance to *Haemonchus contortus*. Zolfaghari et al. (2012) reported that *LRAT* has influence on photoreceptor cells and concentration of retinal. In summary, it can be classified as a retinoid homeostatic gene.

## **Second Challenge Annotated Genes**

The *FSD1L* (Fibronectin Type III And SPRY Domain Containing 1-Like) gene located at chromosome 8 mediates a wide variety of cellular interactions and plays important roles in cell adhesion, migration and differentiation, which are commonly associated with immune response process. Furthermore, according to Pankov and Yamada (2002) the interaction of fibronectin with fibrin is involved in macrophage clearance and circulation after trauma or in inflammation. In general, the association of Fibronectin with immune regulation has been reported in the literature for a long time. For example, Stecher et al. (1986) suggested the influence of fibronectin on acute and chronic inflammation process; and Jalkanen and Jalkanent (1992) reported actions of fibronectin on lymphocyte CD44 cells by using ELISA assays.

According to Mercuri et al. (2003), the *FKTN* (Fukutin-Related Protein) gene that is also located at chromosome 8, present some mutations (identified through immunolabeling studies) related with severe weakness and inability to stand unsupported muscle power, contractures and loss of functional abilities. Similarly to *SUCLG1* gene identified in the first challenge, these muscular disorders might be related with symptoms provided by severe *Haemonchus contortus* infections.

For two significant SNPs (at chromosomes 8 and 24) there were no annotated genes within the considered region. Thus, the same implications related to the validation of these new regions must be also considered here. Although the *FAM78B*, *SLC44A1* and *ZDHHC14* genes have been identified within significant SNP regions, the roles of these genes are no direct associated with possible immune or physiological expression front of *Haemonchus contortus* infection. In summary, *FAM78B* gene is correlated to chronic kidney disease; *SLC44A1* is related to postural orthostatic tachycardia syndrome; and *SLC44A1* has been associated with biphenotypic and acute myeloid leukemia.

## **Implications and Future Research**

The SNP derived gene function annotation that was used in the present study identified candidate genes and their role in the resistance for *Haemonchus contortus*. However, a complementary study associated with the validation of GWAS candidate genes, like expression analyses, re-sequencing of genes, and haplotype blocks, may be considered in the future. Initially, we may propose a quantitative real-time PCR (qPCR) under contrasting groups of animals that are genetically different (low and high resistance). These groups can be selected by means of the predicted breeding values for FEC. Other methods to validate or refine the identified candidate genes in future studies can be done directly by a re-sequencing approach. The advent of next-generation sequencing (NGS), and the highly decreased whole-genome sequencing associated costs, allow us to sequence specific genome regions (related to genes of interest) of a few contrasting individuals and to access, for example, by alignment algorithms, causal polymorphisms underlying these regions.

## REFERENCES

- ATLIJA, M.; ARRANZ, J-J; MARTINEZ-VALLADARES, M.; GUTIÉRREZ-GIL, B. 2016. Detection and replication of QTL underlying resistance to gastrointestinal nematodes in adult sheep using the ovine 50K SNP array. **Genetics Selection Evolution**, v.48, n.4, p.1-16, 2016.
- BENAVIDES, M.V.; SONSTEGARD, T.S.; KEMP, S.; MUGAMBI, J.M.; GIBSON, J.P.; BAKER, R.L.; HANOTTE, O.; MARSHALL, K.; VAN TASSELL, C.V. Identification of Novel Loci Associated with Gastrointestinal Parasite Resistance in a Red Maasai x Dorper Backcross Population. **PLoS ONE**, v.10, n.4, p1-20, 2015.
- BRITO, L.F.; JAFARIKIA, M.; GROSSI, D.A.; KIJAS, J.W.; PORTO-NETO, L.R.; VENTURA, R.V.; SALGORZAEI, M.; SCHENKEL, F.S. Characterization of linkage disequilibrium, consistency of gametic phase and admixture in Australian and Canadian goats. **BioMed Central Genetics**, v.16, n.67, p.1-15, 2015.
- HANNA, L.L.H.; RILEY, D.G. Mapping genomic markers to closest feature using the R package Map2NCBI. **Livestock Science**, v.162, p.59-65, 2014.
- HUANG, Q.Q.; HOSSAIN, M.M.; WU, K.; PARAI, K.; POPE, R.M.; JIN, JP. Role of H2-calponin in regulating macrophage motility and phagocytosis. **Journal of Biological Chemistry**, v.283, n.38, p. 25887–25899, 2008.
- JALKANEN, S.; JALKANEN, M. Lymphocyte CD44 binds the COOH-terminal heparin-binding domain of fibronectin. **Journal of Cell Biology**, v.116, n.3, p.817-825, 1992.
- KANG, H.M.; SUL J.H.; SERVICE, S.K.; ZAITLEN, N.A.; KONG, S-Y; FREIMER, N.B.; SABATTI, C.; ESKIN, E. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. **Nature Genetics**, v.42, n.4, p.348-358, 2010.

- KARIM, B.O.; RHEE, K-J; LIU, G.; YUN, K.; BRANT, S.R. *Prom1* function in development, intestinal inflammation, and intestinal tumorigenesis. **Frontiers in Oncology**, v.4, n.323, p.1-7, 2014.
- KIM, E.S.; SONSTEGARD, T.S.; SILVA, M.V.G.B.; GASBARRE, L.C.; VAN TASSELL, C.P. Genome-Wide Scan of Gastrointestinal Nematode Resistance in Closed Angus Population Selected for Minimized Influence of MHC. **PLoS ONE**. v.10, n.3, p1-18, 2015.
- MAHIEU, M.; GAUTHIER, V.; ARQUET, R.; CALIF, B.; ARCHIMÈDE, H.; MANDONNET, N. Feasibility of a "leader-follower" grazing system instead of specialised paddocks with regard to integrated gastrointestinal control in small ruminant farming. **Tropical Animal Health and Production**, v.47, n.4, p.773-778, 2015.
- MANDONNET, N.; BACHAND, M.; MAHIEU, M.; ARQUET, R.; BAUDRON, F.; ABINNE-MOLZA, L.; VARO, H.; AUMONT, G. Impact on productivity of periparturient rise in fecal egg counts in Créole goats in the humid tropics. **Veterinary Parasitology**, v.134, pp.249-259, 2005.
- MERCURI, E.; BROCKINGTON, M.; STRAUB, V.; QUIJANO-ROY, S.; YUVA, Y.; HERRMANN, R.; BROWN, S.C.; TORELLI, S.; DUBOWITZ, V.; BLAKE, D.J.; ROMERO, N.B.; ESTOURNET, B.; SEWRY, C.A.; GUICHENEY, P.; VOIT, T.; MUNTONI, F. Phenotypic spectrum associated with mutations in the fukutin-related protein gene. **Annals of Neurology**, v.53, p.537-542, 2003.
- OSTERGAARD, E. Disorders caused by deficiency of succinate-CoA ligase. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v.31, n.2, p.226-229, 2008.
- PANKOV, R.; YAMADA, K.M. Fibronectin at a glance. **Journal of Cell Science**, v.115, p.3861-3863, 2002.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available online at: <http://www.R-project.org/>. Accessed: 14/ December/2015.

ROCKS, N.; PAULISSEN, G.; EL HOUR, M.; QUESADA, F.; CRAHAY, C.; GUEDERS, M.; FOIDART, J.M.; NOEL, A.; CATALDO, D. 2008. Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer. **Biochimie**, v.90, n. 2, p.369-379, 2008

SALLÉ, G.; JACQUIET, P.; GRUNER, L.; CORTET, J.; SAUVÉ, C.; PRÉVOT, F.; GRISEZ, C.; BERGEAUD, J.P.; SCHIBLER, L.; TIRCAZES, A.; FRANÇOIS, D.; PERY, C.; BOUVIER, F.; THOULY, J.C.; BRUNEL, J.C.; LEGARRA, A.; ELSEEN, J.M.; BOUIX, J.; RUPP, R.; MORENO, C. R. A genome scan for QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **Journal of Animal Science**, v.90, n.13, p.4690-4705, 2015.

SCHWERTFEGER, K.L.; XIAN, W.; KAPLAN, A.M.; BURNETT, S.H.; COHEN, D.A.; ROSEN, J.M. A critical role for the inflammatory response in a mouse model of preneoplastic progression. **Cancer Research**, v.66, n.11, p.5676-5685, 2006.

STECHER, V.J.; KAPLAN, J.E.; CONNOLLY, K.; MIELENS, Z.; SAELENS, J.K. Fibronectin in acute and chronic inflammation. **Arthritis Rheumatology**, v.29, n.3, p. 394-399, 1986.

SU, A.I.; WILTSHIRE, T.; BATALOV, S.; LAPP, H.; CHING, K.A.; BLOCK, D.; ZHANG, J.; SODEN, R.; HAYAKAWA, M.; KREIMAN, G.; COOKE, M.P.; WALKER, J.R.; HOGENESCH, J.B. A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.**, v.101, n.16, p. 6062-6077, 2004.

ZHANG, Z.; ERSOZ, E.; LAI, C-Q; TODHUNTER, R.J.; TIWARI, H.K.; GORE, M.A.; BRADBURY, P.J.; YU, J.; ARNETT, D.K.; ORDOVAS, J.M.;

BUCKLER, E.S. Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. **Nature Genetics**, v.42, p.355-360, 2010.

ZOLFAGHAR, R.; CHEN, Q.; ROSS, A.C. DHRS3, a retinal reductase, is differentially regulated by retinoic acid and lipopolysaccharide-induced inflammation in THP-1 cells and rat liver. **Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.303, n.5, p.578–588, 2012.

## ANEXOS

### Input do SAS - grupo contemporâneo (OPG, EOSI e VG)

```
PROC IMPORT OUT= WORK.GCtemp
            DATAFILE= "C:\Users\Joahsy\Desktop\GCtemp\GCtemp.xls"
            DBMS=EXCEL2000 REPLACE;
            SHEET="Plan2$";
            GETNAMES=YES;
RUN;

DATA GCtemp;
    INPUT nanim sex pere mere nnat$ dnais index dose period band$
    dateinf statut date OPG VG EOSI AGEfenot ageinf2;

PROC MEANS DATA = GCtemp;
    VAR OPG VG EOSI;
PROC PRINT;
RUN;

DATA b; SET GCtemp;
    trait = OPG;
    numero=1;
    idade=agefenot;
    idade2=ageinf2;
RUN;
proc sort; BY nanim;
RUN;

DATA c; SET GCtemp;
    trait = VG;
    numero=2;
    idade=agefenot;
    idade2=ageinf2;
RUN;
proc sort; BY nanim;
RUN;

DATA d; SET GCtemp;
    trait = EOSI;
    numero=3;
    idade=agefenot;
    idade2=ageinf2;
run;
proc sort; BY nanim;
RUN;

DATA junta; SET b c d; BY nanim;
RUN;

DATA GC; SET junta;
```

```

        grc=compress (sex||statut||band);
RUN;
PROC PRINT;
RUN;
PROC SORT; BY nanim;
RUN;

DATA exclui; SET GC;
    IF OPG = -123456789 THEN delete;
    IF VG = -123456789 THEN delete;
    IF OPG = -123456789 THEN delete;
RUN;
PROC PRINT;
RUN;
PROC SORT; BY nanim;
RUN;

DATA exclui1; SET exclui;
PROC SORT nodupkey; BY nanim;
RUN;

PROC MEANS DATA=exclui1;
    CLASS grc;
    VAR nanim;
    OUTPUT OUT=x3 N=num MEAN=manim;
RUN;

DATA GC1; SET x3;
    IF num<4 THEN DELETE;
    IF num>173 THEN DELETE;
PROC PRINT;
RUN;

DATA GC1; SET GC1;
    DROP _type_ _freq_ num;
RUN;
PROC SORT DATA=GC; BY grc;
RUN;
PROC SORT DATA=GC1; BY grc;
RUN;

DATA juntos; MERGE GC (in=a) GC1(in=b); BY grc;
    IF a;
    IF b;
RUN;
PROC SORT; BY nanim;
RUN;

DATA renum; SET GC1;
PROC SORT nodupkey; BY grc;
RUN;

DATA renum1; SET renum;
    grc1+1;

```

```

        KEEP grc1 grc;
RUN;
PROC SORT DATA=juntos; BY grc;
RUN;
PROC SORT DATA=renuml; BY grc;
RUN;

DATA juntos1; MERGE juntos renum1; BY grc;
    num = 1;
RUN;
PROC SORT; BY nanim;
RUN;
PROC SUMMARY DATA=juntos1; BY nanim;
    VAR OPG; OUTPUT OUT = seila MEAN = media;
RUN;

DATA hoi; MERGE juntos1 seila; BY nanim;
    IF _FREQ_ <3 THEN DELETE; run;

DATA final; SET hoi;
    IF trait = -123456789 THEN DELETE;
RUN;

DATA FINALE;SET final; FILE
'C:\Users\Joahsy\Desktop\GCTemp\dados_Jo_multi_teste.dat';
PUT numero nanim 8.-r +1 sex 1. -r +1 pere 8.-r +1 mere 8.-r +1 dnais
5.-r +1 date 5.-r +1 grc 7. -r +1 trait 11.-r +1 idade 3. -r +1 idade2
4.-r +1;
RUN;

```

## Input do WOMBAT - modelo de repetibilidade (OPG, EOSI e VG)

COM teste	COM teste	COM teste
PED ped.txt	PED ped.txt	PED ped.txt
DAT dados_Jo_OPG.txt	DAT dados_Jo_EOSI.txt	DAT dados_Jo_VG.txt
number	number	number
animal	animal	animal
pere	pere	pere
mere	mere	mere
period	period	period
gc	gc	gc
subject	subject	subject
OPG	EOSI	VG
agefenot	agefenot	agefenot
ageinf2	ageinf2	ageinf2
end	end	end
ANA UNI	ANA UNI	ANA UNI
MODEL	MODEL	MODEL
FIX period	FIX period	FIX period
FIX gc	FIX gc	FIX gc
RAN animal NRM	RAN animal NRM	RAN animal NRM
RAN subject IDE	RAN subject IDE	RAN subject IDE
COV agefenot (2, POL)	COV agefenot (2, POL)	COV agefenot (2, POL)
COV ageinf2 (2, POL)	COV ageinf2 (2, POL)	COV ageinf2 (2, POL)
TR OPG	TR EOSI	TR VG
END	END	END
VAR animal 1	VAR animal 1	VAR animal 1
10	10	10
VAR subject 1	VAR subject 1	VAR subject 1
10	10	10
VAR error 1	VAR error 1	VAR error 1
10	10	10

## Input do WOMBAT - modelo de regressão aleatória (OPG, EOSI e VG)

COM teste	COM teste	COM teste
ANA RR	ANA RR	ANA RR
PEDS ped.txt	PEDS ped.txt	PEDS ped.txt
DATA dados_Jo_OPG.txt	DATA dados_Jo_EOSI.txt	DATA dados_Jo_VG.txt
number	number	number
animal	animal	animal
pere	pere	pere
mere	mere	mere
period	period	period
gc	gc	gc
subject	subject	subject
OPG	EOSI	VG
agefenot	agefenot	agefenot
ageinf2	ageinf2	ageinf2
END	END	END
MODEL	MODEL	MODEL
FIX period	FIX period	FIX period
FIX gc	FIX gc	FIX gc
COV agefenot(2,leg)	COV agefenot(2,leg)	COV agefenot(2,leg)
COV ageinf2(2,leg)	COV ageinf2(2,leg)	COV ageinf2(2,leg)
RRC agefenot	RRC agefenot	RRC agefenot
RAN animal(2,leg) nrm	RAN animal(2,leg) nrm	RAN animal(2,leg) nrm
RAN subject(2,leg)	RAN subject(2,leg)	RAN subject(2,leg)
trait OPG	trait EOSI	trait VG
END MOD	END MOD	END MOD
VAR animal 2 1	VAR animal 2 1	VAR animal 2 1
4500	4500	4500
800	800	800
300	300	300
VAR subject 2 2	VAR subject 2 2	VAR subject 2 2
1500	1500	1500
10	10	10
100	100	100
VAR residual 1 HOM	VAR residual 1 HOM	VAR residual 1 HOM
100	100	100

## Input do R - GWAS utilizando o pacote rrBLUP (OPG)

```
##### reading original "link" data #####
link=read.csv("link between genotypes and phenotypes.csv",sep=";", h=T)
link1=link[,c(1,4)]
colnames(link1)=c("id","ID")

##### reading phenotypic data reported by Jo:dados_Jo_OPG.dat #####
phen=data.frame(read.table("dados_Jo_OPG.dat"),-1)
colnames(phen)=c("id", "sire", "dam", "period", "cg", "id1", "opg", "coltime", "age")

## selecting only data from period 2
phen <- phen[ which(phen$period== 2), ]

# pre-correction of the phenotypes for systematics(fixed) effects
ystar=mean(phen$opg) + lm(opg~factor(cg)+factor(coltime)+age, data=phen)$residuals
phen1=data.frame(phen$id,ystar)
colnames(phen1)=c("id","ystar")

# since we've repeated values over time by Ids, we take the mean by ID (each ID has now only
one value)
phen2=aggregate( ystar ~ id, data=phen1, mean )

## The original genotypic data (TYP_Caprin_3SR.csv) it was read at

##file Program_reading_original_genotype_data and saved as geno_FINAL_Jo.txt

##### reading genotypic data:geno_FINAL_Jo.txt #####
gen=read.table("geno_FINAL_Jo.txt",h=T)
gen_id=merge(link1,gen,by=intersect("ID","ID"))
gen_id1=gen_id[,-1]
gen_id2=merge(phen2,gen_id1,by=intersect("id","id"))
gen_id3=gen_id2[-(1:2)]
```

```

gen_id3=as.matrix(gen_id3)

gen_id3[gen_id3==0]<--1
gen_id3[gen_id3==1]<-0
gen_id3[gen_id3==2]<-1

gen_id4=t(gen_id3)
dim(gen_id4)
colnames(gen_id4)=gen_id2[,1]
gen_id4[1:3,1:4]

#####reading SNP name file#####
snp_name= read.table("carte_280715.st", header=T, sep=",")
head(snp_name)
dim(snp_name)
snp_name1= data.frame(snp_name[,-c(1,4)])
colnames(snp_name1)=c("marker", "chrom", "pos")
head(snp_name1)

gen_id5=matrix(rownames(gen_id4))
gen_id5=as.data.frame(gen_id5)
colnames(gen_id5) = c("marker")
gen_id6=cbind(gen_id5,gen_id4)
rownames(gen_id6)=NULL
gen_id6[1:3,1:4]

gen_id7=merge(snp_name1,gen_id6, by=intersect("marker","marker"))
dim(gen_id7)

snp_name2 = data.frame(gen_id7[,1:3])
dim(snp_name2)
head(snp_name2)

phen_id5=data.frame(gen_id2[, (1:2)])
dim(phen_id5)
head(phen_id5)

```

```
#####Gwas using the function GWAS of rrBLUP package os R software###  
library(rrBLUP)  
  
result_opg=GWAS(phen_id5,gen_id7,plot=TRUE)  
threshold<-4.0  
abline(h=threshold,lwd=1.1,col="black")  
  
result_opg1=cbind(snp_name2,result_opg$ystar)  
result_opg2=result_opg1[order(result_opg1[,4], decreasing =TRUE), ]  
  
## ordered SNPs according to significance are saved at file results_opg_2p.xls  
  
## significant SNPs are highlighted in yellow in this .xls file  
  
write.table(result_opg2, file="results_opg_2p.txt", col.names=T, row.names=F, quote=F)
```