

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JÉSSICA HEINZEN VICENTIN

PROSPECÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À MANIFESTAÇÃO DE
HÉRNIA ESCROTAL EM SUÍNOS COMERCIAIS

PALOTINA

2020

JÉSSICA HEINZEN VICENTIN

PROSPECÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À MANIFESTAÇÃO DE
HÉRNIA ESCROTAL EM SUÍNOS COMERCIAIS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestre, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, linha de pesquisa Nutrição, Manejo Animal e Forragicultura da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Leseur dos Santos

Coorientadora: Dra. Jane de Oliveira Peixoto

PALOTINA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

V633 Vicentin, Jéssica Heinzen
 Prospecção de regiões genômicas associadas à manifestação
 de hérnia escrotal em suínos comerciais / Jéssica Heinzen Vicen-
 tin – Palotina, 2020.
 101f.

Orientador: Alexandre Leseur dos Santos
Coorientadora: Jane de Oliveira Peixoto
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Hérnia escrotal . 2. GWAS. 3. Genes candidatos. 4. Suino-
cultura. 5. Genética. I. Santos, Alexandre Leseur dos. II. Peixoto,
Jane de Oliveira. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título

CDU 636.4



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JESSICA HEINZEN VICENTIN** intitulada: **Prospecção de regiões genômicas associadas à manifestação de hérnia escrotal em suínos comerciais**, sob orientação do Prof. Dr. ALEXANDRE LESEUR DOS SANTOS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 12 de Março de 2020.

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

20/03/2020 09:32:39.0

ALEXANDRE LESEUR DOS SANTOS

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

20/03/2020 09:34:02.0

MÔNICA CORRÊA LEDUR

Avaliador Externo (EMBRAPA - SUÍNOS E AVES)

Assinatura Eletrônica

22/03/2020 14:29:02.0

JANE DE OLIVEIRA PEIXOTO

Coordenador - Avaliador Externo (EMBRAPA - SUÍNOS E AVES)

Assinatura Eletrônica

20/03/2020 09:46:43.0

GERALDO CAMILO ALBERTON

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Sidnei e Ivone,

Ao meu irmão Giovani,

Ao meu namorado Marcio,

Às minhas avós, Eliza e Odília, estrelas no céu

E a todos que fizeram parte desta conquista, Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

...primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por me conceder inteligência e discernimento para trilhar este caminho.

...à minha família, em especial aos meus pais, Ivone e Sidnei, e ao meu irmão, Giovani, por me apoiarem e me incentivarem durante estes anos de estudos.

...ao meu namorado, Marcio, por ser compreensivo e sempre me encorajar e me fazer acreditar no meu potencial.

...ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Leseur dos Santos, por todos os ensinamentos partilhados durante estes anos de graduação e mestrado.

...à minha coorientadora, Dra. Jane de Oliveira Peixoto, pela paciência e por todo o auxílio prestado durante a pesquisa.

...à Dra. Mônica Corrêa Ledur, pela assistência nas correções e melhorias desta dissertação.

...à Dra. Adriana Guaratini Ibelli e à Pós-doutoranda Michele Porto Pires, pela ajuda com as análises e com a interpretação dos dados.

...à EMBRAPA, por me acolher e proporcionar a execução do experimento. E também a todos os funcionários e estagiários que lá conheci, por partilharem sorrisos e experiências.

...aos meus amigos e amigas por todo apoio e companheirismo.

...à Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do mestrado.

...à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

...e a todos os envolvidos durante esta etapa.

Vocês foram essenciais. Muito obrigada!

EPÍGRAFE

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.
(Leonardo da Vinci)

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

RESUMO

A hérnia escrotal é um dos defeitos mais observados na suinocultura e acarreta perdas produtivas no campo e na indústria, além de comprometer o pleno bem-estar animal. Também é um dos problemas mais frequentes em humanos, o que torna o suíno um excelente modelo animal para estudos. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi prospectar regiões do genoma suíno, relacionadas a manifestação de hérnia escrotal, a fim de encontrar possíveis genes candidatos à doença por meio do estudo de associação global do genoma (GWAS). As análises foram realizadas utilizando-se duas metodologias: marcadores únicos e marcadores múltiplos. Para tal, utilizaram-se os *softwares* computacionais Plink 1.9 e Blossoc, respectivamente. O estudo foi organizado em delineamento caso-controle, e para isso foram usadas amostras de 296 suínos comerciais machos, de linhagem híbrida (Agroceres PIC®). O DNA genômico foi extraído das amostras com *kits* específicos e posteriormente enviado para genotipagem com o painel de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) *GGP porcine BeadChip* (Neogen, Lincon, NE, EUA), que contém 51.558 SNPs distribuídos pelo genoma suíno. Ao final do controle de qualidade das amostras restaram 294 animais, sendo 101 casos e 193 controles. O controle de qualidade dos SNPs começou com 50.697 SNPs e terminou com 39.450 SNPs (metodologia de marcadores únicos) e 39.371 SNPs (metodologia de marcadores múltiplos). Foram gerados os gráficos *Manhattan Plot*, *QQ-Plot* e o gráfico de *scores*. Os dados foram enriquecidos através das bases de dados DAVID, REVIGO e STRING. Ao total, 27 SNPs distribuídos nos cromossomos SSC3, SSC8, SSC9, SSC14, SSC15, SSC16 e cromossomo sexual, foram significativos nas análises do Plink, 57 genes foram prospectados, sendo 38 caracterizados e 19 não caracterizados. Nas análises do Blossoc, 395 SNPs ultrapassaram o nível sugestivo de significância, 381 genes foram prospectados, sendo 235 caracterizados e 146 não caracterizados. Os SNPs com maior significância foram observados nos cromossomos 8 e 15, para ambas as metodologias, sendo que os SNPs presentes no cromossomo 15 foram mapeados em regiões muito semelhantes. No total, 19 genes foram prospectados nas análises de ambas as metodologias, sendo assim considerados fortes candidatos. Entretanto, também foram considerados os genes singulares a cada metodologia, com o intuito de encontrar genes de menor efeito, principalmente por meio das análises de múltiplos marcadores. Diversos SNPs foram observados próximos aos genes *SLIT2*, *RAB28*, *WDR1*, *CLNK*, *COL4A4*, *KCNIP4*, *FRYL*, *DRD2*, *GPER1*, *CANB4* e *STIM2*. Os genes prospectados enriqueceram processos biológicos de contratilidade muscular, estimulação do fator de crescimento, resposta inflamatória, metabolismo de colágeno, entre outras, os tornando fortes candidatos à manifestação de hérnia escrotal em suínos. Os genes prospectados nestas análises não foram relacionados a manifestação de hérnia escrotal em suínos até o momento. Pesquisas futuras poderão ser realizados a partir deste estudo, com o intuito de validar os genes prospectados.

Palavras-chave: hérnia escrotal, GWAS, genes candidatos, suinocultura, genética.

ABSTRACT

Scrotal hernia is one of the most common defects in swine and results in productive losses in the field and in the industry, also compromising the animal welfare. It is also one of the most frequent problems in humans, which makes the pig an excellent animal model for studies. Thus, the objective of this study was to search for regions of the swine genome, related to the manifestation of scrotal hernia, to find possible candidate genes for this disorder using a genome-wide association study (GWAS) approach. The analyses were performed using two methodologies: single marker and multiple marker association, which were performed with Plink 1.9 and Blossoc software, respectively. The study followed a case-control design with 296 samples of males from a commercial hybrid line of pigs (Agroceres PIC®). The genomic DNA was extracted from the samples with specific kits and sent for genotyping with the single nucleotide polymorphism (SNP) panel GGP porcine BeadChip (Neogen, Lincoln, NE, USA), which contains 51.558 SNPs distributed across the porcine genome. After the data quality control, 294 animals remained, 101 cases and 193 controls. The quality control of SNPs started with 50.697 SNPs and ended with 39.450 SNPs (single marker) and 39.371 SNPs (multiple markers). Manhattan Plots, QQ-Plots and score graphs were generated. The genes found were enriched in the DAVID, REVIGO and STRING databases. In total, 27 SNPs distributed on chromosomes SSC3, SSC8, SSC9, SSC14, SSC15, SSC16 and sex chromosome, were significant in the single marker analysis, 57 genes were prospected, of which 38 were characterized and 19 were not characterized. In the multiple marker analysis, 395 have passed the suggestive level of significance, 381 genes were prospected, of which 235 were characterized and 146 were not characterized. The most significant SNPs were observed on chromosomes 8 and 15, for both methodologies, and the SNPs located on SSC15 were mapped in very similar regions. In total, 19 genes were found with the analysis using both methodologies which were considered strong candidates for SH onset. However, genes unique to each methodology were also prospected mainly through the analysis of multiple markers. Several SNPs were observed in regions near the *SLIT2*, *RAB28*, *WDR1*, *CLNK*, *COL4A4*, *KCNIP4*, *FRYL*, *DRD2*, *GPER1*, *CANB4* and *STIM2* genes. The prospected genes enriched biological processes of muscle contractility, growth factor stimulation, inflammatory response, collagen metabolism, among others, making them strong candidates for the manifestation of scrotal hernia in pigs. The genes prospected in these analyses have not yet been related to the manifestation of scrotal hernia in pigs so far. Future research may be carried out to validate the prospected genes from this association study.

Keywords: scrotal hernia, GWAS, candidate genes, swine, genetics.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1: Pirâmide de produção na atividade suinícola 19
- Figura 2: Vista posterior de um suíno comercial acometido por hérnia escrotal 23
- Figura 3: Vista lateral de um suíno comercial acometido por hérnia escrotal 23

CAPÍTULO 1

- Figure 1: Q-Q Plot showing the observed p-values vs expected for the association of loci with scrotal hernia. The $1,156$ lambda reflects how well the data is adjusted to the model. The red line represents the null hypothesis, that is, no SNP is associated with the manifestation of scrotal hernia. SNPs that are far away from the null hypothesis are the ones with the highest level of significance, thus being associated with the presence of the anomaly. 44
- Figure 2: Manhattan plot of the single marker genome-wide association test for scrotal hernia in crossbred pigs using Plink software. The red line represents a 5% significant Bonferroni threshold ($7,658 \times 10^{-6}$), the black line is a moderate association (5×10^{-5}) based on the WTCCC (2007) and the blue line represents suggestive association ($1,531 \times 10^{-4}$). 45
- Figure 3: TreeMap generated by the REVIGO database with the 5 superclusters enriched by genes related to SH in pigs with Plink analysis. Each color indicates a supercluster. 49
- Figure 4: Gene network constructed with genes located in regions associated to SH in pigs, with the single marker methodology, using Plink software. Colored circles represent genes and lines represent the predicted interactions between genes. The light blue and purple lines are known interactions from curated databases and experimentally determined, respectively. The red, green and dark blue lines are predicted interactions from gene neighborhood, gene fusions and gene co-occurrence, respectively. The yellow and black lines are other types of interactions from text mining and co-expression, respectively. 50

- Figure 5: Plot with the SNPs score distribution generated by Blossoc Software. The blue line represents low significance and 199 SNPs were observed, the black line represents a moderate significance and 157 SNPs were observed, and the red line represents high significance and 39 SNPs were observed. 51
- Figure 6: Manhattan plot of the multiple markers genome-wide association for scrotal hernia in crossbred pigs using Blossoc. The red line represents a significant threshold (≥ 9.92280), the black line is a moderate association (< 9.92280 and ≥ 6.96683) and the blue line represents suggestive association (< 6.96683 and ≥ 5.82355). 52
- Figure 7: TreeMap generated by the REVIGO database with the 13 superclusters enriched by genes related to SH in pigs with Blossoc analysis. Each color indicates a supercluster. 69
- Figure 8: Gene network constructed with genes located in regions associated to SH in pigs with the multiple marker methodology, using Blossoc. Colored circles represent genes and lines represent the predicted interactions between genes. The light blue and purple lines are known interactions from curated databases and experimentally determined, respectively. The red, green and dark blue lines are predicted interactions from gene neighborhood, gene fusions and gene co-occurrence, respectively. The yellow and black lines are other types of interactions from text mining and co-expression, respectively. 70

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 - Custo de produção de suínos ciclo completo no ano de 2018 r\$/kg vivo nos estados Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.....	17
Tabela 2 - Composição do custo de produção de suínos – ciclo completo – no estado do Paraná no ano de 2018.....	17

CAPÍTULO 1

Table 1: The 27 SNPs associated with SH, identified in the porcine genome with single marker methodology, using plink software, according to the significance level of association(p-value): 5 % significance ($7,658 \times 10^{-6}$), moderate association (5×10^{-5}) and suggestive significance ($1,531 \times 10^{-4}$). 45	45
Table 2: Annotated genes in regions associated to scrotal hernia with the single marker methodology, using Plink software.	46
Table 3: Biological processes of genes prospected in the single marker analyses, performed through the DAVID database.....	48
Table 4: SNPs associated with Scrotal Hernia through the multiple marker methodology using Blossoc software, according to their significance level: high, moderate and suggestive significance.	52
Table 5: Annotated genes in regions associated to scrotal hernia using Blossoc software.....	63

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	JUSTIFICATIVA	13
1.2	OBJETIVOS	14
1.2.1	Objetivo geral	14
1.2.2	Objetivos específicos.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	A SUINOCULTURA NO BRASIL E NO MUNDO	15
2.2	BEM-ESTAR, MANEJO, NUTRIÇÃO, SANIDADE E CUSTOS DE PRODUÇÃO.....	16
2.3	MELHORAMENTO GENÉTICO	18
2.3.1	Parâmetros genéticos.....	20
2.4	HÉRNIAS EM SUÍNOS.....	22
2.4.1	Definição	22
2.4.2	Patogenia	22
2.4.3	Fatores predisponentes	24
2.5	GENES CANDIDATOS À HERNIA ESCROTAL.....	26
2.5.1	Disintegrin and Metalloproteinase Domain-Containing Protein 12 (<i>ADAM12</i>)	27
2.5.2	Ubiquitin Conjugating Enzyme E2 L6 (<i>UBE2L6</i>)	27
2.5.3	Four and a Half LIM Domains 1 Protein, Isoform C (<i>FHL1C</i>)	28
2.5.4	Matrix Metalloproteinase 1 (<i>MMP1</i>)	28
2.5.5	Matrix Metalloproteinase 2 (<i>MMP2</i>)	29
2.5.6	Homeobox A10 (<i>HOXA10</i>)	30
2.5.7	Glucuronidase Beta (<i>GUSB</i>).....	30
2.5.8	Actin Alpha 1 (<i>ACTA1</i>)	31
2.5.9	Myosin Binding Protein C (<i>MYBPC1</i>).....	32

2.5.10	Collagen Type XXIII Alpha 1 Chain (<i>COL23A1</i>).....	32
2.5.11	Fibromodulin (<i>FMOD</i>).....	33
2.5.12	Desmin (<i>DES</i>)	33
2.6	METODOLOGIAS DE PROSPECÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS	34
3	CAPÍTULO 1 – PROSPECTION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH SCROTAL HERNIA MANIFESTATION IN COMMERCIAL PIGS	37
3.1	ABSTRACT	37
3.2	INTRODUCTION.....	38
3.3	MATERIAL AND METHODS	39
3.3.1	Animals and sample collection.....	39
3.3.2	Genomic DNA extraction and SNP genotyping.....	40
3.3.3	Data quality control.....	40
3.3.4	Association analysis	41
3.3.5	Gene identification.....	42
3.3.6	Enrichment analysis	42
3.4	RESULTS.....	42
3.5	DISCUSSION.....	71
3.5.1	Single marker association using Plink software	72
3.5.2	Multiple marker association using Blossoc Software.....	75
3.6	CONCLUSION	79
	REFERENCES	80
	REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO

Em resposta ao constante crescimento populacional e visando atender as demandas de mercado interno e externo, a produção de suínos vem aumentando gradativamente com o passar dos anos. Segundo o Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal (2018), no Brasil, a produção total de carne suína no ano de 2017 chegou a 3,75 milhões de toneladas, sendo que, deste total, 81,5% permaneceram para consumo interno e 18,5% tiveram como destino a exportação (ABPA, 2018).

Objetivando melhores números de produtividade e índices zootécnicos, o sistema brasileiro de produção de suínos tem investido em grandes avanços tecnológicos e organizacionais, e a base para uma boa produtividade respeita um tripé interligando genética, nutrição e sanidade, tudo isso atrelado a um bom manejo dos animais e das instalações (Manual Brasileiro de Boas Práticas Agropecuárias na Produção de suínos, 2011).

O suíno doméstico sofreu grandes modificações morfológicas e fisiológicas durante seu período evolutivo. Graças aos programas de nutrição e melhoramento genético o animal reduziu a quantidade de gordura na carcaça, sendo 50 a 60% de carne magra, com 1,0 a 1,5 cm de espessura de toucinho. Outra característica relevante é a potente hiperprolificidade das matrizes, originando assim, grande quantidade de leitões/porca/ano (ABCS, 2014).

Acompanhando as evoluções na produção de suínos, algumas anomalias características da espécie passaram a ser mais evidentes. Dentre elas as chamadas hérnias, que podem ser de origem umbilical, inguinal ou escrotal. Em geral, hérnias possuem caráter congênito, poligênico, com herdabilidade de moderada a alta e são uma das mais frequentes afecções que acometem suínos a campo atualmente (GATPHAYAK et al., 2005; ELANSARY et al., 2015).

Grandes perdas podem ser relacionadas a esta anomalia, tanto no campo, quanto na indústria. Animais com hérnias possuem desempenho deficiente gerado pelo desconforto das saculações resultantes da anomalia, que também podem resultar em morte. Já na indústria a afecção pode causar contaminação da carcaça devido ao rompimento de vísceras (GRINDFLEK et al., 2006; ZANCHIN et al., 2015).

O desenvolvimento de hérnias parece estar ligado não somente a fatores ambientais, como também a fatores genéticos, conferindo a animais com

determinados alelos, maior vulnerabilidade ou susceptibilidade de serem acometidos com esta anomalia.

Avanços nas metodologias de sequenciamento do genoma e de genotipagem, vem permitindo o desenvolvimento de técnicas para a análise global do genoma suíno. Para a prospecção de regiões genômicas, genes e marcadores associados a características de interesse econômico, uma das metodologias mais utilizadas é o estudo de associação genômica ampla (GWAS). Alguns estudos já vêm utilizando a técnica com o objetivo de analisar e avaliar genes relacionados a presença das hérnias, comparando o material genético de animais afetados com o material genético de animais controles (não afetados), com o intuito de entender melhor os mecanismos bioquímicos relacionados à anomalia para, possivelmente, no futuro realizar a seleção de animais geneticamente superiores (DU et al., 2009; SEVILLANO et al., 2015; LAGO et al.; 2018).

1.1 JUSTIFICATIVA

As hérnias são anomalias que causam grandes perdas econômicas, tanto para os produtores, diretamente no campo, com perdas por baixa produtividade ou morte dos animais acometidos, como também indiretamente, nas indústrias, com contaminação de carcaças resultando em condenação total ou parcial das mesmas, e pelo comprometimento do bem-estar animal. Outro aspecto importante é a ampla utilização de suínos como modelo biológico para compreensão de doenças em humanos, tendo em vista que hérnias são patologias encontradas em várias espécies de mamíferos. Sendo assim, a identificação de regiões genômicas envolvidas com o aparecimento de hérnias é de grande interesse para a indústria, para os produtores, para o mercado consumidor em geral e para o bom entendimento dos caminhos bioquímicos cursados pelos genes relacionados a esta anomalia.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Prospectar regiões do genoma suíno relacionadas à manifestação de hérnia escrotal, utilizando diferentes metodologias de Associação Genômica Ampla (GWAS).

1.2.2 Objetivos específicos

Identificar regiões no genoma associadas à manifestação de hérnia escrotal através de um estudo de associação global do genoma, utilizando animais afetados pela anomalia e animais saudáveis (controles), por meio da metodologia de marcadores únicos, com o *software* Plink 1.9.

Identificar regiões no genoma associadas à manifestação de hérnia escrotal através de um estudo de associação global do genoma, utilizando animais afetados pela anomalia e animais saudáveis (controles), por meio da metodologia de marcadores múltiplos, com o *software* Blossoc.

Comparar as regiões genômicas prospectadas em cada metodologia e buscar genes candidatos associados a esta desordem em suínos.

Investigar com auxílio das bases de dados e da literatura os caminhos bioquímicos realizados pelos genes e avaliar se as variantes genéticas detectadas pelas análises podem ser as responsáveis por causar a manifestação da hérnia escrotal em suínos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A SUINOCULTURA NO BRASIL E NO MUNDO

A suinocultura é uma ramificação da cadeia pecuária que gera milhões de empregos no Brasil e no mundo. O crescimento na demanda de carne suína, que é a proteína animal mais consumida no mundo, acarreta um aumento nas produções para consumo interno e exportações. Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Suínos (ABCS), a movimentação de toda cadeia produtiva suinícola no Brasil gerou um Produto Interno Bruto (PIB) de R\$149.867 bilhões de reais, no fechamento do ano de 2015 (ABCS, 2016).

De acordo com os cálculos da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO (FAO, 2017), até o ano de 2050 a população mundial será de 9,8 bilhões aproximadamente. Para atender a demanda alimentar gerada pelo crescimento no número mundial de habitantes estima-se que a produção precisará crescer cerca de 70%, ou seja, no cenário da produção de carne, precisará aumentar em mais de 200 milhões de toneladas.

O Brasil é considerado o quarto maior produtor de carne suína (40 milhões de cabeças), atrás apenas da China (708 milhões), União Europeia (271,5 milhões) e Estados Unidos (133,9 milhões) (USDA, 2019). A produção nacional vem aumentando consideravelmente, fechando o ano de 2017 com 3,75 milhões de toneladas de carne, recorde de produtividade comparado aos últimos anos. Mesmo com 81,5% da carne produzida ficando retida para o mercado interno, o consumo per capita (kg/hab) ainda é baixo, e oscilou muito pouco nos últimos 10 anos. Os estados que detêm maior porcentagem de abate se concentram na região sul do Brasil e são, respectivamente, Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul (ABPA, 2018).

Embora os números relacionados à produção aumentem ano após ano, o número de matrizes alojadas vem diminuindo. Ao se comparar, por exemplo, o ano de 2017 ao ano de 2008, nota-se cerca de 17% de redução. Isso se dá graças ao uso de linhagens de matrizes mais prolíferas com machos de alta performance produtiva, resultando em elevado número de leitões viáveis/porca/ano (ABPA, 2018).

Os sistemas de criação de suínos no Brasil se diversificam conforme a região analisada. Na região Sul, por exemplo, predomina-se a produção no estilo cooperativismo, entre pequenos, médios e grandes produtores, responsáveis por

determinada fase da produção, com as empresas de processamento. Enquanto na região sudeste, é marcante o estilo de produção independente e de sítios de ciclo completo (ABCS, 2016). Mundialmente são cada vez mais observados os sistemas intensivos e tecnificados, contando com grandes galpões, aparelhagem moderna e sanidade controlada, onde o animal passa toda sua vida em instalações fechadas. Estes recursos buscam atender as exigências do mercado consumidor referentes a qualidade e inocuidade do produto.

2.2 BEM-ESTAR, MANEJO, NUTRIÇÃO, SANIDADE E CUSTOS DE PRODUÇÃO

Com o gradual aumento na produção de suínos e na popularização da carne, é crescente a preocupação dos consumidores com o tipo de manejo ao qual os animais são submetidos durante o período nas granjas, no transporte e no abate. De fato, em muitos países a população busca por animais criados dentro dos padrões de bem-estar e, inclusive, pagam mais por este tipo de produto (ROCHA; LARA; BAIÃO, 2008; QUEIROZ et al., 2014).

No continente Europeu é evidente a preocupação das indústrias com a opinião dos clientes. Existem rotulagens específicas para produtos que atendem as cinco liberdades durante a criação dos suínos. O país líder em sistemas de rotulagem é a União Europeia, com a certificação “*Freedom Food*”. Além disso também criaram o selo “*Assured Food Standards*” que busca atender à segurança alimentar, ao bem-estar animal e à proteção ambiental (ABCS, 2014).

Outro aspecto importante é quanto a remuneração dos produtores que recebem pelo peso do animal (quantidade de carne na carcaça) entregue à indústria. Com o passar dos anos, eles aprenderam a relacionar que um bom manejo é diretamente proporcional a um melhor desempenho dos animais e uma falha no bem-estar, em qualquer etapa da produção, pode refletir em prejuízo oneroso nas receitas (EMBRAPA, 2006).

Um manejo adequado de fêmeas e machos é fundamental para que o animal seja capaz de expressar o máximo desempenho possível, para evitar entrada e disseminação de doenças no plantel e para evitar desperdícios e mortes de animais. Falhas no manejo podem comprometer a viabilidade de leitões e favorecer o aparecimento de enfermidades no plantel, como as hérnias, uma das anomalias mais comuns em granjas mal manejadas (BORTOLETTO et al. 2014).

Machos e fêmeas possuem diferentes exigências nutricionais, por isso o manejo nutricional deve ser feito de forma cautelosa visando atender as necessidades metabólicas nas diferentes fases do animal. De acordo com a Embrapa (2018), o custo médio total de um suíno produzido em ciclo completo no estado do Paraná chega a ser R\$3,56/Kg (Tabela 1), sendo que destes gastos, a alimentação corresponde ao mais oneroso custo de produção, variando de 65 a 75% dos custos totais (Tabela 2).

TABELA 1 - CUSTO DE PRODUÇÃO DE SUÍNOS CICLO COMPLETO NO ANO DE 2018 | R\$/Kg VIVO | NOS ESTADOS PARANÁ, SANTA CATARINA E RIO GRANDE DO SUL

Estado	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
PR	3,11	3,24	3,52	3,63	3,73	3,70	3,61	3,68	3,75	3,65	3,60	3,61
RS	3,37	3,67	3,85	3,98	4,18	4,21	4,15	4,21	4,20	4,15	4,13	4,08
SC	3,49	3,63	3,89	3,96	4,07	4,17	4,10	4,06	4,08	3,97	3,89	3,84

FONTE: Embrapa (2018).

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DO CUSTO DE PRODUÇÃO DE SUÍNOS – CICLO COMPLETO – NO ESTADO DO PARANÁ NO ANO DE 2018

Item do custo	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	%
Alimentação	2,23	2,36	2,63	2,73	2,82	2,78	2,67	2,73	2,77	2,65	2,57	2,56	73,55
Outros	0,45	0,45	0,45	0,46	0,46	0,47	0,46	0,47	0,48	0,48	0,49	0,49	13,12
Mão de obra	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	5,13
Custo de Capital	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,18	0,18	0,19	0,20	4,73
Depreciação	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17	3,48
Total	3,11	3,24	3,52	3,63	3,73	3,70	3,61	3,68	3,75	3,65	3,60	3,61	100

FONTE: Embrapa (2018).

O manejo sanitário é um dos mais importantes a ser empregado de forma correta nas criações de suínos, com o objetivo de evitar a entrada e disseminação de doenças nas granjas e conseqüentemente evitar custos adicionais e não planejados.

É essencial que matrizes tenham aptidão para alta produção de leite, uma vez que as seis camadas da placenta epiteliochorial impedem a passagem de anticorpos para o feto e naturalmente para o leitão. Sendo assim, a imunocompetência destes animais fica sob responsabilidade do colostro e do leite até o desmame. No colostro da leitoa, 100% da IgG, 40% da IgA e 85% da IgM são derivados do soro. No leite 70% da IgG e 90% da IgM e da IgA são sintetizados localmente na glândula mamária (ABCS, 2014).

A implantação de um quarentenário nas granjas para a permanência de animais recém-chegados reforça a qualidade do manejo sanitário. É indicado que o período

de quarentena seja superior a 28 dias, para identificar possíveis problemas de risco e posterior tratamento. A inserção de um animal sentinela, oriundo da granja em questão, reforça a eficácia na identificação das doenças (EMBRAPA, 2003).

A vantagem de manter o animal saudável, com o emprego de um correto calendário vacinal atrelado ao bom manejo sanitário, é a resistência contra doenças (EMBRAPA, 2003). Animais sadios gastam energia com a própria produtividade, não ficam abatidos e economizam metabolismo energético ativando o sistema imune.

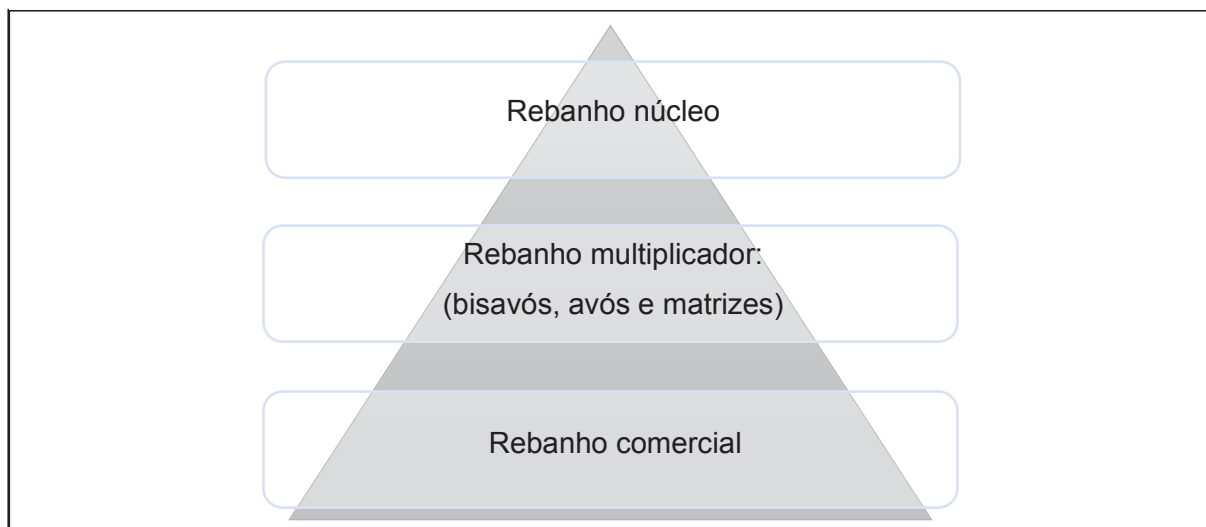
2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO

Na suinocultura, o melhoramento genético tem se sobressaído graças aos avanços na produção e a intensa demanda de mercado. Desde o sequenciamento completo do genoma suíno (*Sus scrofa domesticus*), da raça Duroc, em 2012, tem-se investido cada vez mais em reconhecer genes de importância para a produção, ora envolvidos com a manifestação de doenças, ora envolvidos com características de interesse econômico (GROENEN et al. 2012).

O melhoramento genético no Brasil tem se desenvolvido através da importação de sêmen congelado e de reprodutores oriundos de países líderes em produção de material genético como Dinamarca, Alemanha, Inglaterra, Irlanda, Estados Unidos, Canadá, França e Holanda. Também graças ao desenvolvimento de programas de melhoramento de empresas nacionais (FIGUEIREDO; PEIXOTO; LEDUR, 2016).

Para a correta execução dos programas de melhoramento genético de suínos, respeita-se uma ordem hierárquica em forma piramidal (Figura 1) onde, no topo da pirâmide encontram-se as granjas núcleos, responsáveis pelos animais de raças puras e seleção. Na parte intermediária da pirâmide, estão localizadas as granjas multiplicadoras de material genético puro com seleção (granjas de bisavós e avós) e com cruzamento (granjas de matrizes). Já na base da pirâmide encontram-se os rebanhos comerciais com produção de animais híbridos de alto desempenho, destinados ao abate (FIGUEIREDO; PEIXOTO; LEDUR, 2016).

Figura 1: Pirâmide de produção na atividade suinícola



Fonte: Figueiredo, Peixoto, Ledur (2016).

Com a evolução do melhoramento genético muito tem sido feito para conhecer e detectar genes envolvidos com características produtivas em suínos. Exemplo disso é a identificação do gene halotano, diretamente relacionado com a qualidade da carne. Animais positivos para o gene halotano, também conhecido como gene da hipertermia maligna, são mais propensos a desenvolverem carne PSE (pálida, mole e exsudativa). Atualmente, após a identificação do gene, o alelo recessivo do gene halotano (Haln) tem sido eliminado dos rebanhos de seleção, com o objetivo de evitar a predisposição genética dos reprodutores e seus descendentes ao estresse (FÁVERO; FIGUEIREDO, 2009).

No Brasil, um grande exemplo da evolução do melhoramento genético é a comparação entre os animais atuais, conhecidos por sua carne magra, de alta qualidade e hiperprolificidade das raças, com os animais de antigamente, conhecidos como porco tipo banha, com grande quantidade de gordura na carcaça. A EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) tem dirigido pesquisas para desenvolver programas de melhoramento genético eficazes. Em 2018 a empresa divulgou a linhagem Embrapa MS115, conhecida como suíno light, que promete superioridade no desempenho dos animais e conseqüentemente maior rentabilidade para a suinocultura (LIMA; FIGUEIREDO, 2018).

O reprodutor terminal Embrapa MS115 cruzado com fêmeas F1 (Landrace x Large White) produzem animais para o abate, livres do Gene Halotano, sendo assim, mais resistentes ao estresse. De acordo com Lima e Figueiredo (2018, p. 2) “a

linhagem Embrapa MS115 tem potencial genético para carne na carcaça acima de 62%, reduzida espessura de toucinho e ótima conformação, com excelente concentração de carne no lombo, pernil e paleta”.

2.3.1 Parâmetros genéticos

A genética quantitativa é responsável por estudar os caracteres quantitativos demonstrados durante a vida do animal. Esses caracteres são expressos por vários genes e sofrem grande interferência do ambiente, sendo assim, manifestando variações contínuas dentro da população.

Para um bom desenvolvimento e execução de programas de melhoramento genético é essencial que haja corretas estimativas de (co)variância, herdabilidade e repetibilidade para uma acurada estimação dos parâmetros genéticos (COSTA et al. 2001; YOKOO et al. 2007). Na teoria da probabilidade e em estatística, a covariância indica o quão duas características ou variáveis aleatórias são independentes entre si. Ela é frequentemente utilizada em casos onde o pesquisador precisa ajustar as variáveis, mas não consegue controlá-las (NETER et al. 1996). Já a repetibilidade é a porcentagem da variação fenotípica entre os animais, que é correspondente ao genótipo do animal, associada ao ambiente permanente. Atribui-se a características medidas mais de uma vez durante a vida do animal (características longitudinais), como tamanho da leitegada (PEREIRA; ELER; STERMAN, 2000).

Os parâmetros genéticos de uma população são descritos por Lira, Rosa e Garnerio (2008) como uma ferramenta usada para a obtenção das predições das respostas direta e correlacionada à seleção, do valor genético dos animais e na elaboração de índices de seleção. Cada população tem seus parâmetros específicos, que podem variar conforme a seleção, mudanças de manejo, métodos e modelo de estimação (YOKOO et al. 2007).

A herdabilidade e a correlação genética são os parâmetros genéticos mais importantes dentro de um programa de melhoramento genético, pois com base em seus valores, se decide o tipo de estratégia a ser utilizada, como por exemplo, a seleção, objetivando um melhor ganho genético. (TORRES FILHO et al. 2005; BARBOSA et al. 2010). As características presentes em um animal podem sofrer variações de origem genética ou ambiental, sendo assim, se a maior parte da variação é de origem genética, sem interferência do ambiente, espera-se que as diferenças na

população sejam geradas pelos genes que cada animal carrega, conseqüentemente, parte deles será repassado para a progênie.

Os valores da herdabilidade podem variar entre 0 e 1, onde valores próximos a 0 são descritos como herdabilidade baixa e as variações fenotípicas verificadas não são de origem genética e sim de origem ambiental. Enquanto valores próximos a 1 indicam que as variações observadas nos animais são de origem genética e praticamente não sofrem influência do ambiente. Normalmente, características reprodutivas como: fertilidade e intervalo entre partos, possuem baixa herdabilidade e estão associadas a porca (CHEN et al. 2002; TORRES FILHO et al. 2005). Características produtivas como: produção de leite, eficiência no ganho de peso e peso ao abate, possuem herdabilidade de média e alta. E características relacionadas a qualidade da carne como: maciez da carne e espessura de toucinho, possuem herdabilidade alta (JOHNSON; CHEWNING; NUGENT, 2002; TORRES FILHO et al. 2005).

A correlação genética é um parâmetro utilizado para medir o grau de associação entre duas características. Ela pode ser negativa, quando por exemplo analisa-se as correlações entre idade da porca ao parto e número de leitões nascidos, indicando que porcas mais jovens tendem a ser mais prolíferas. E pode ser positiva, como na correlação entre peso da leitegada ao nascimento e peso dos animais ao desmame (TORRES FILHO, 2005).

As hérnias em suínos são consideradas características poligênicas, ou seja, quando vários pares de genes, de pequeno efeito, interagem, resultando na característica (ELANSARY et al., 2015). Gatphayak et al (2005) aponta que a herdabilidade estimada para a anomalia varia de 0,2 a 0,6, e a prevalência para a característica pode variar entre raças e populações existentes.

2.4 HÉRNIAS EM SUÍNOS

2.4.1 Definição

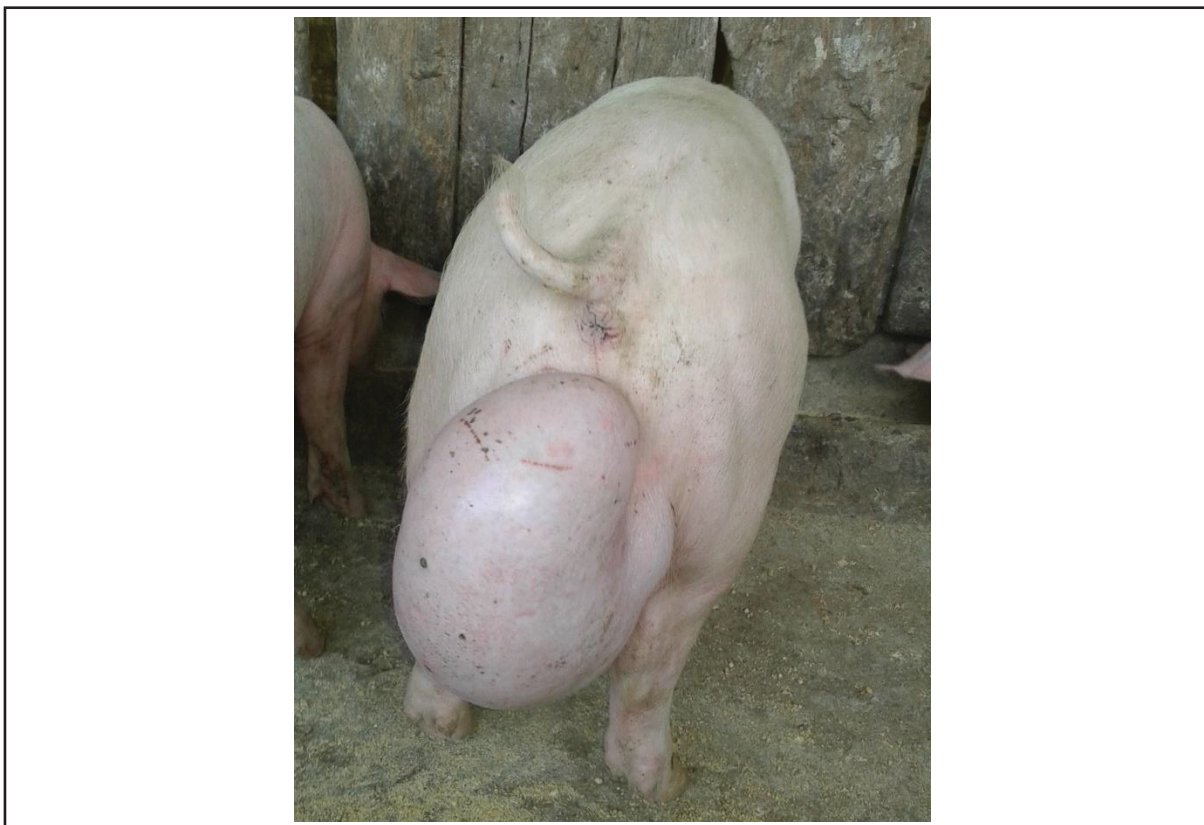
Hérnias, em geral, são malformações que acometem grande parte dos mamíferos, inclusive humanos. Elas se apresentam como saculações pedunculares e de tamanhos variáveis, que podem se desenvolver em diferentes etapas da vida (SOBESTIANSKY et al. 2012). Hérnias umbilicais e inguinais podem acometer machos e fêmeas, enquanto hérnias escrotais afetam exclusivamente os machos. A origem dessa anomalia pode ter caráter genético ou ambiental.

2.4.2 Patogenia

Existem aproximadamente dez tipos de hérnias em animais e isso depende da localização anatômica onde elas se encontram. Algumas são mais comuns, como inguinal, umbilical e escrotal (GRINDFLEK et al., 2006; LIAO et al., 2015) e outras são mais inusitadas e complexas, como perineal, paracostal, lateral dorsal, pré-púbica, femoral, ventral e diafragmática (SLATTER, 1998; HILL; HUANG; GAGEA, 2016).

O termo hérnia diz respeito a protusão total ou parcial de um órgão para fora de sua cavidade natural, formando uma saculação (Figuras 2 e 3). Os órgãos mais comumente encontrados confinados em um saco herniário são intestinos, fígado, baço e bexiga. A projeção de um ou mais órgãos pela falha na musculatura pode acontecer entre as cavidades dentro do corpo (hérnia interna), como também por um defeito na musculatura do abdômen, que permite o extravasamento do conteúdo, mantendo-se íntegros o peritônio e a pele, também conhecidas como hérnias de parede (hérnia externa) (MILLER et al., 1995; BRITANNICA ACADEMY, 2019). Casos onde as vísceras se excedem para o exterior do organismo, ultrapassando a barreira de peritônio e pele, são consideradas eviscerações, sendo assim, este termo se exclui do conceito de hérnia (LEX, 1963).

Figura 2: Vista posterior de um suíno comercial acometido por hérnia escrotal



Fonte: Igor Ricardo Savoldi (2018).

Figura 3: Vista lateral de um suíno comercial acometido por hérnia escrotal



Fonte: Igor Ricardo Savoldi (2018).

Brandt (2008) constatou que, em humanos, as hérnias inguinais acontecem por uma falha na integridade estrutural da parede abdominal e fraqueza da região inguinal, ligada a descida testicular e a oclusão deficiente da invaginação na embriogênese. Bendavid (2004) ainda afirma que a fraqueza da parede inguinal posterior é resultado da degeneração das fibras musculares e/ou aponeuróticas do transverso abdominal e oblíquo interno. Distúrbios relacionados ao metabolismo do colágeno e estrutura da matriz extracelular também podem prejudicar o bom funcionamento dos fibroblastos, células responsáveis por realizar a reparação do tecido, resultando em diminuição da resistência a tração (BENDAVID, 2004; FRANZ, 2008).

Anatomicamente, uma hérnia é formada por três partes principais, são elas: anel herniário, saco herniário e conteúdo. A região inguino-abdominal onde são formadas as hérnias mais comuns encontradas em suínos é formada por pele, subcutâneo, músculos, fáscia transversalis e seus reforços e peritônio. Para uma hérnia ser classificada como verdadeira, é necessário que ela tenha em sua formação os três componentes principais: anel, saco e conteúdo.

O anel herniário é uma abertura anormal na parede abdominal causada pelo enfraquecimento dos músculos e aponeuroses constituintes dessa região. São responsáveis por sua formação: peritônio, fáscia transversal, tecido fibroso, colágeno, fibras elásticas, parte de aponeurose e músculo liso (FARIA; LÁZARO DA SILVA; ROCHA, 1996; BARBOSA; AMARAL; LÁZARO DA SILVA, 2000).

O saco herniário é constituído basicamente por peritônio e pele. Em seu interior encontra-se o conteúdo extravasado, podendo ser simples (apenas um órgão) ou composto (mais de um órgão). O saco herniário pode ter duas características: ser redutível ou irreduzível. Quando este se encontra na forma redutível, é possível reposicionar o conteúdo para dentro de sua cavidade natural, forma mais branda da patologia. A forma mais delicada da anomalia é quando o saco herniário se encontra na forma irreduzível, ou seja, o conteúdo herniado encontra-se encarcerado pelo anel e não é possível reposicioná-lo para cavidade natural. Essa forma pode ainda progredir para condição estrangulada, resultando em congestão e inflamação devido ao estrangulamento dos vasos que irrigam o(s) órgão(s), ocasionando uma necrose local e possível morte por sepse (SILVA et al., 2015).

2.4.3 Fatores predisponentes

Por ser uma anomalia de característica poligênica, isto é, controlada por diversos genes, vários fatores podem interferir em sua manifestação. A hérnia é uma anomalia que pode ter origem genética (congenita) (GATPHAYAK et al., 2005) ou ambiental (BATES; STRAW, 2008).

2.4.3.1 Origem genética

O mecanismo de transmissão das hérnias por via congênita ainda não está totalmente esclarecido. Sabe-se que a doença pode ter caráter hereditário e diversos genes já foram descritos como possíveis envolvidos (característica poligênica), bem como regiões cromossômicas e alguns locus de características quantitativas (QTLs) (ZHAO et al. 2009; ARRINGTON et al. 2012).

As estimativas de herdabilidades para hérnias já foram especificadas e variam conforme as populações avaliadas. Gatphayak et al. (2005) estimou uma herdabilidade variando entre 0,2 a 0,6 para hérnias escrotais na espécie suína. Já Sevillano et al. (2015) observou uma variabilidade de 0,31 ($\pm 0,01$) para hérnia escrotal/inguinal. Porém, de acordo com a observação de herdabilidades moderadas, deve-se levar em consideração a influência do ambiente.

Embora a hérnia escrotal se manifeste exclusivamente em animais machos, as fêmeas reprodutoras também podem ser portadoras dos alelos referentes à doença, sendo assim capazes de contribuir de forma negativa para manter esta anomalia nos plantéis. Portanto, indica-se a exclusão dessas matrizes durante o processo de seleção (BATES; STRAW, 2008; MANALAYSAY et al., 2017).

Existe ainda, uma variação da prevalência da anomalia referente as diferentes raças disponíveis no mercado. No geral, a frequência média relatada é de, aproximadamente, 2%. Suínos da raça Duroc apresentaram maior propensão ao desenvolvimento da anomalia (2,1%) quando comparados a animais da raça Yorkshire (1,2%) (SEARCY-BERNAL; GARDNER; HIRD, 1994). Para a raça Landrace já foram relatadas frequências de 0,6% a 1,5% para esta afecção (MATTSSON, 2011; SEVILLANO et al., 2015).

2.4.3.2 Origem ambiental

Diversos fatores ambientais podem predispor a manifestação de hérnias nos suínos, dentre eles: manejo inadequado no pré ou pós-parto, superlotação nas baias, instalações e falhas durante o processo de castração dos leitões machos (THALLER; DEMPFLER; HOESCHELE, 1996; BATES; STRAW, 2008).

O acompanhamento do parto da matriz é essencial para que o funcionário da granja realize os cuidados iniciais com os leitões recém-nascidos. É fundamental que o manejo amarra-corte do cordão umbilical e posterior antissepsia sejam feitos imediatamente após o nascimento do animal, tomando como precaução a tração exagerada sobre a musculatura da parede, uma vez que isso pode predispor o aparecimento de hérnia umbilical (DI CAMPOS et al., 2004; POMMEREHN et al. 2014). A rapidez no corte do cordão umbilical também evita com que a porca pise ou deite sobre o mesmo e cause danos a musculatura do abdômen do leitão.

Falhas durante o manejo de castração dos leitões machos, como a tração exacerbada das gônadas no momento da cirurgia, pode ser um fator predisponente para o desenvolvimento futuro de hérnia escrotal. Ainda, animais recém-nascidos, pressionados contra o chão ou a parede da baia, também podem desenvolver a anomalia (DI CAMPOS et al., 2004).

2.5 GENES CANDIDATOS À HERNIA ESCROTAL

Existem variações na sequência do DNA conhecidas como marcadores moleculares, por meio delas torna-se possível acompanhar a dinâmica dos genes em populações. Os marcadores podem ou não estar ligados a regiões (locus) de interesse que determinam características importantes economicamente, nesse caso tornando possível a seleção por meio de marcadores (ALZATE-MARIN et al., 2005). Um exemplo dessas variações presentes em grande quantidade no genoma são os SNPs (Polimorfismo de Nucleotídeo Único).

Genes localizados em regiões de QTLs (lôcus de característica quantitativa), envolvidos em funções bioquímicas e metabólicas do organismo, onde o aumento ou a diminuição de sua expressão pode estar relacionado à manifestação e ao desenvolvimento de patologias, são chamados de genes candidatos (BRANDA SICA et al. 2011). Em suínos, uma das mais importantes variações causais já identificadas é a do gene halotano (*ryanodine receptor 1 gene – RYR1*), descrita por Fujii et al. (1991) como responsável por causar a síndrome do estresse, favorecendo o

desenvolvimento de carne PSE (pálida, mole e exsudativa), e prejudicando sua qualidade. Por outro lado, quando se trata de hérnias, diversos genes podem estar envolvidos com a manifestação da característica. A partir dos estudos genéticos, diversos genes candidatos já foram identificados, os quais participam de processos biológicos potencialmente relacionados à manifestação das hérnias. Abaixo alguns destes genes são apresentados.

2.5.1 Disintegrin and Metalloproteinase Domain-Containing Protein 12 (*ADAM12*)

As *ADAMs* são glicoproteínas solúveis, ancoradas à transmembrana, contendo Desintegrina e Metaloproteinase (*ADAM12*), estão localizadas no cromossomo 14 do suíno (ENSEMBL, 2019). Parecem estar relacionadas com a adesão celular, proteólise e com a regulação da chave de sinalização (ativação) do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) (BLOBEL, 2005). Outros processos biológicos como a interação célula-célula e célula-matriz, incluindo fertilização, desenvolvimento muscular e neurogênese também foram descritos (NCBI, 2019).

O gene *ADAM12* já foi vinculado a uma vasta variedade de doenças, como câncer (FRÖHLICH et al. 2006; ROY, MOSES; 2012; NARITA et al., 2012), fibrose hepática (BOURD-BOITTIN et al., 2008) e hipertrofia cardíaca (WANG et al., 2009). Rocks et al. (2008) trabalhando com células epiteliais brônquicas, concluíram que o *ADAM12* colaborou com o aumento da liberação de fatores de crescimento epidérmico de ligação à heparina (HB-EGF) das membranas plasmáticas ocasionando aumento da proliferação celular e diminuição do processo apoptótico (morte celular programada). Uma falha no mecanismo de apoptose do músculo pode prejudicar a correta oclusão do *processus vaginalis*, favorecendo o aparecimento de hérnia escrotal (TANYEL et al., 2002).

2.5.2 Ubiquitin Conjugating Enzyme E2 L6 (*UBE2L6*)

O gene *UBE2L6* (enzima que conjuga a ubiquitina) também conhecido por *UBCH8*, está localizado no cromossomo 2 do suíno (NCBI, 2019). A principal função da ubiquitina é a regulação de proteínas, através da marcação de proteínas indesejadas e deformadas, afim de que sejam degradadas pelo proteossoma

(GENECARDS, 2019). Existem três classes de enzimas necessárias para a ubiquitinação, são elas: enzimas ativadoras da ubiquitina (E1), enzimas conjugadoras da ubiquitina (E2) e a ubiquitina ligase (E3) (NCBI, 2019).

O gene *UBE2L6* é considerado um membro do grupo das enzimas conjugadas e é encontrado sendo superexpresso no epitélio oral, baço, monócitos e pele. Ele ainda está relacionado com a ocorrência do processo de morte celular programada (apoptose), sendo assim, diretamente relacionado com processos inflamatórios, infecção por vírus e tumores (TRIPATHI; CHAUDHURI, 2011; FALVEY, 2017). Falvey et al. (2017) em seus estudos com câncer de esôfago em humanos, associou a expressão desse gene com a competência do processo apoptótico pelo organismo e à repressão da autofagia (autodestruição da célula). A eficiência do processo apoptótico durante a obliteração do processo vaginal é extremamente importante, sendo assim, falhas nesse mecanismo podem predispor o desenvolvimento da hérnia escrotal.

2.5.3 Four and a half LIM domains 1 protein, isoform C (*FHL1C*)

Localizado no cromossomo sexual ou cromossomo X dos suínos, o gene *FHL1C* (Proteína LIM Muscular Esquelética 1) é responsável pela codificação de proteínas abundantes no músculo esquelético, cardíaco e em diversos outros tecidos como cérebro, placenta, fígado, baço e rim (KREMPLER et al., 2000; POPARIC et al., 2011). Os membros da família *FHL1* podem ser subdivididos em A, B e C e eles possuem domínios proteicos conhecidos como dedo de zinco, que tem a propriedade de se ligarem ao DNA (UNIPROT, 2019). Fu et al. (2014) identificaram que a superexpressão de *FHL1C* induziu a apoptose das células de Jukart, em pacientes com leucemia linfoblástica aguda de células T. Este gene é responsável pela regulação negativa do processo de apoptose e Romano et al. (2017) relataram a diminuição na expressão desse gene em suínos afetados com hérnia.

2.5.4 Matrix Metallopeptidase 1 (*MMP1*)

O gene da Metalopeptidase de Matriz 1 (*MMP1*) é uma endopeptidase dependente de zinco. Localiza-se no cromossomo 9 dos suínos e está relacionado com a quebra da matriz extracelular durante processos fisiológicos e patológicos,

principalmente relacionados a remodelação tecidual (GENECARDS, 2019). É responsável por codificar um tipo de colagenase, enzimas que quebram as ligações peptídicas do colágeno, com intuito de degradar o colágeno dos tecidos danificados (BELLAYR; UM; LI, 2009). Ele desempenha função fundamental no processo de cicatrização de feridas por meio da regulação da inflamação e degradação da matriz extracelular, promovendo a migração de novas células (XUE; LE; JACKSON, 2006). Ainda é capaz de promover a diferenciação celular, apoptose e angiogênese (WANG et al., 2009).

No geral, sua expressão é vista em fibroblastos, osteoblastos e macrófagos e principalmente durante a fase de desenvolvimento embrionário, sendo silenciada em adultos, a menos que haja algum tipo de lesão, doença ou gravidez, onde a reativação da expressão se torna evidente (CHOI et al., 2009; AKHAVANI et al., 2009). Bellayr, Mu e Li (2009) afirmam que um alto nível de *MMPs* durante uma lesão na pele é benéfico, entretanto a atividade excessiva desse gene pode favorecer o desenvolvimento de feridas crônicas (XUE; LE; JACKSON, 2006). Guillen-Marti et al. (2009) trabalhando com hérnias incisionais em humanos, constataram que o desequilíbrio entre *MMPs* e *TIMPs* (inibidores teciduais de metaloproteinases) acompanhado de uma resposta inflamatória desordenada, podem contribuir para o desenvolvimento de um defeito funcional da rede da matriz extracelular por mecanismos pós-traducionais, favorecendo a perda de tecido da parede abdominal com posterior ruptura.

2.5.5 Matrix Metalloproteinase 2 (*MMP2*)

As *MMPs*, já supracitadas, são endopeptidases dependentes de zinco. A variante *MMP2* pertence ao grupo das gelatinases, que desempenha diversos papéis importantes no organismo, dentre eles, a capacidade de auxiliar na regeneração muscular, graças a sua capacidade de clivar a gelatina (BELLAYR; UM; LI, 2009) e o colágeno tipo IV (STAMENKOVIC, 2000) que são componentes estruturais básicos da membrana basal.

Nos suínos, esse gene é encontrado no cromossomo 6 (NCBI, 2019) e já se mostrou predominantemente expresso nos testículos e no útero e em menor quantidade no cérebro e no músculo longíssimos (HUANG et al. 2009), com potencial efeito estimulante sobre a proliferação celular e inibição da apoptose (STERNLICHT;

WERB, 1999), além de possuir a capacidade de modular as atividades mitogênicas e angiogênicas do fator de crescimento dos fibroblastos (LEVI et al., 1996). Matsumura et al. (2005) observaram que uma queda na expressão da *MMP2*, seja por interferência farmacológica ou falhas na produção natural do organismo, reduziram a infiltração de macrófagos no tecido. Em seus estudos, Zhao et al. (2009) relataram forte associação entre o gene *MMP2* e a manifestação de hérnia escrotal em suínos. Por estar envolvido no metabolismo do colágeno, este gene é um forte candidato à manifestação da hérnia escrotal.

2.5.6 Homeobox A10 (*HOXA10*)

Localizado no cromossomo 18 dos suínos (NCBI, 2019), o gene *HOXA10* faz parte da família dos genes reguladores, atuante na regulação da embriogênese e na hematopoese definitiva (SHAH et al., 2012). Graças ao seu poder de ligação ao DNA, ele pode regular a expressão gênica, a morfogênese e a diferenciação (GENECARDS, 2019). Em humanos e camundongos fêmeas a expressão do gene *HOXA10* é observada no trato reprodutor, principalmente no útero em desenvolvimento (formação do endométrio) e na implantação do embrião (HOMBRIA; LOVEGROVE, 2003) e em machos está relacionado com a diferenciação gubernacular. É também ativado durante o processo de mielopoiese (produção de granulócitos - eosinófilos, basófilos e neutrófilos) e a sua desregulação resulta em doenças relacionadas à medula óssea (SHAH et al. 2012).

Estudos relataram que a deficiência, ausência ou mutação de *HOXA10* prejudicou as características sexuais de machos e fêmeas, já que em machos, observou-se a não descida uni ou bilateral dos testículos (criptorquidia) e em fêmeas constatou-se útero subdesenvolvido, ovários diminutos, esterilidade e mortalidade embrionária (SATOKATA; BENSON; MAAS, 1995; FENG et al. 2006). Zhao et al. (2009) observaram o envolvimento do gene *HOXA10* no metabolismo do colágeno e notaram que animais afetados por hérnia escrotal apresentaram variantes nesse genótipo. Desta forma, o gene *HOXA10* foi altamente associado a hérnia escrotal, sendo assim, um forte candidato.

2.5.7 Glucuronidase Beta (*GUSB*)

O gene da Beta Glucoronidase (*GUSB*) é responsável por codificar uma hidrolase que degrada os glicosaminoglicanos (principalmente sulfato de heparano, sulfato de dermatano e o sulfato de condroitina), componentes fundamentais da matriz extracelular e dos tecidos conjuntivos, além de estar envolvido na via catabólica do ácido hialurônico (BECK et al., 2002).

Em suínos, esse gene está localizado no cromossomo 3 (NCBI, 2019) e é considerado um gene fortemente candidato à manifestação de hérnia escrotal, tanto pelo seu mecanismo bioquímico, quanto pela sua localização dentro de uma região cromossômica associada a hérnia (BECK et al., 2006). Isso se dá pois durante o desenvolvimento fetal o gubernáculo (cordão fibroso responsável por ligar os testículos fetais ao fundo do escroto e auxiliar a descida testicular) se dilatada, se preparando para a descida dos testículos, reação essa, mediada pela formação e deposição de ácido hialurônico dentro do tecido gubernacular. Posteriormente, o ácido hialurônico é removido e o gubernáculo diminui, a fim de que os testículos desçam para o escroto (FENTENER VAN VLISSINGEN et al., 1989; HEYNS et al., 1990). O acúmulo de ácido hialurônico causado por falhas ou ausência na degradação enzimática, pela Beta Glucoronidase, no interior desse tecido, pode ocasionar inchaço exagerado do gubernáculo e consequente alargamento anormal do canal inguinal, resultando em predisposição à hérnia escrotal (BECK et al.2006).

2.5.8 Actin alpha 1 (*ACTA1*)

O gene da Alfa Actina 1 (*ACTA1*) está localizado no cromossomo 14 dos suínos e é encontrado no músculo esquelético, sua expressão ocorre principalmente no músculo *longíssimus dorsi* e psoas maior (NCBI, 2019). A actina é responsável pela formação de microfilamentos localizados no citoplasma e um dos três componentes essenciais constituintes do citoesqueleto. A isoforma alfa, em especial, é descrita como a principal integrante do aparato contrátil (GENECARDS, 2019). Por ser um gene com sequências conservadas, alterações em seu segmento podem gerar patologias.

Em humanos, mutações no gene *ACTA1* são responsáveis por causar miopatias congênitas graves no músculo esquelético, representadas por fraqueza muscular e hipotonia (RAVENS-CROFT et al., 2011). Também são descritas doenças cardiovasculares como cardiomiopatia hipertrófica e cardiomiopatia dilatada, bem

como aneurismas e dissecação da aorta torácica (OLSON et al., 2000; MOGENSEN et al., 2004; GUO et al., 2009). Por ser uma proteína multifuncional, relacionada com a dobra, polimerização, contratilidade e regulação da contratilidade muscular (FENG; MARSTON, 2009), falhas na expressão desse gene podem prejudicar o desenvolvimento e a fisiologia normal do músculo esquelético. Lorenzetti (2018) constataram uma expressão diminuída do gene *ACTA1* em animais acometidos com hérnia escrotal.

2.5.9 Myosin binding protein C (*MYBPC1*)

O gene da Proteína C de ligação com miosina do tipo lento (*MYBPC1*) está mapeado no cromossomo 5 dos suínos e sua expressão ocorre principalmente no músculo esquelético, em fibras musculares de contração lenta (NCBI, 2019). A família das Proteínas C de ligação com miosina (*MYBPC*), em geral, possuem grande importância no organismo devido a sua função estrutural e regulação da função muscular (JAMES; ROBBINS, 2011). Graças a sua ligação com a titina, proteína que auxilia na manutenção da integridade estrutural do sarcômero (regulação do comprimento e da tensão), existe uma maior estabilidade dos filamentos espessos, presentes no músculo (FREIBURG; GAUTEL, 1996). Ela pode também modular a contratilidade ao interagir com a região da cabeça da actina e regular a homeostase energética durante a contração muscular ao interagir com a creatina-quinase (GRUEN; GAUTEL, 1999; OAKLEY et al., 2007; CHEN et al., 2011).

Em peixes, foi constatado que falhas ou ausência na expressão do *MYBPC1* pode prejudicar a estrutura normal dos tecidos e ocasionar patologias graves como anomalia muscular, estimulação retardada e curvatura corporal anômala (HA et al., 2013).

2.5.10 Collagen Type XXIII Alpha 1 Chain (*COL23A1*)

Localizado no cromossomo 2 dos suínos, o gene Colágeno tipo XXIII cadeia alfa 1 (*COL23A1*) é um exemplo de colágeno transmembranoso que desempenha importantes funções no organismo animal relacionados ao metabolismo do colágeno (DU et al., 2009; ENSEMBL, 2019). Os principais locais de expressão desse gene são pele, tendões, córnea, cérebro, pulmões e rins (KOCH et al., 2006).

A função do colágeno no organismo é colaborar com a integridade da matriz extracelular, auxiliar na fixação de células à matriz e fornecer resistência e elasticidade aos tecidos (SILVA; PENNA, 2012). O metabolismo anormal desse gene influi diretamente no desenvolvimento de hérnia escrotal. Em seus estudos analisando genes candidatos posicionais e funcionais, Du et al. (2009) identificaram o gene *COL23A1* como relacionado ao desenvolvimento de hérnia. Xu et al. (2017), analisando o gene *COL23A1* em pacientes com carcinoma de células renais, observaram que no tecido tumoral havia maior quantidade de RNAm de *COL23A1* (regulação positiva), em comparação com tecidos não afetados. Em contrapartida, eles silenciaram o gene e observaram o bloqueio na progressão do ciclo celular da doença.

2.5.11 Fibromodulin (*FMOD*)

O gene da fibromodulina (*FMOD*) está localizado no cromossomo 9 dos suínos (ENSEMBL, 2019), é membro da família dos pequenos proteoglicanos ricos em leucina com capacidade regulatória sobre a montagem, organização e degradação da matriz extracelular, por meio da ligação com colágenos (OLDBERG et al., 2007). Desempenha importantes papéis na regulação da angiogênese e na cicatrização de feridas (ADINI et al., 2014; ZHENG et al., 2014). A expressão desse gene é observada principalmente em tecidos conjuntivos regulares densos, menos flexíveis e mais resistentes à tração, como tendões, ligamentos e cartilagens, entretanto sua expressão é baixa ou nula em vísceras, ossos e pele (SÄÄMÄNEN et al., 2001).

Zheng et al. (2014) ao trabalharem com a observação de feridas cutâneas, observaram que além dos fatores angiogênicos do gene *FMOD*, ele também é capaz de regular positivamente outros genes relacionados com a formação de vasos sanguíneos em roedores adultos. Zheng et al. (2011) analisaram a participação do gene *FMOD* durante o mecanismo de cicatrização de feridas em camundongos e constataram que animais com variantes neste gene apresentaram falhas na cicatrização tecidual, como fechamento tardio de feridas, aumento do tamanho da cicatriz e rede de fibras colágenas frouxas com fibrilas aumentadas de diâmetro.

2.5.12 Desmin (*DES*)

Localizado no cromossomo 15 dos suínos (NCBI, 2019), o gene desmina (*DES*) encontra-se notadamente expresso em células musculares e é a principal proteína do filamento intermediário do músculo. Inicialmente, a proteína mais abundante sendo expressa durante o desenvolvimento do tecido cardíaco e do músculo esquelético é a vimentina, ao decorrer das fases evolutivas, ela é gradualmente substituída pela desmina, que é então, permanentemente expressa nas fibras musculares adultas. Os filamentos de desmina são responsáveis por ligar as miofibrilas à estrutura da linha Z do músculo esquelético (QUINLAN; MOIR; STEWART, 1989; BÄR et al., 2014).

A desativação do gene *DES* foi responsável por causar malformação muscular, em músculo liso, cardíaco e esquelético em camundongos. Também foram observadas lesões graves, como degeneração, necrose e calcificação do músculo cardíaco (CAPETANAKI, 2002). Boriek et al. (2001) relataram o papel essencial da desmina sobre a resistência do músculo do diafragma. Ainda foi mencionado que a expressão diminuída desse gene causou diminuição da rigidez e da elasticidade do tecido muscular diafragmático em desenvolvimento (LI et al., 1996). Por estar envolvido na regulação da força contrátil e na organização celular, mutações no gene *DES* são relacionadas ao desenvolvimento de miopatias graves e doenças musculares congênitas (PAULIN; LI, 2004), o que o torna um gene fortemente candidato ao desenvolvimento de hérnia escrotal.

2.6 METODOLOGIAS DE PROSPECÇÃO DE REGIÕES GENÔMICAS

Existem no genoma, regiões responsáveis por controlar características quantitativas denominadas de QTL (Locus de Características Quantitativas). Em suínos, diversos estudos tem sido realizados identificando QTLs em importantes regiões do genoma, relacionadas a características de interesse econômico, como por exemplo, características de crescimento, conformação de carcaça, reprodução, bem como características relacionadas à saúde do animal (ANDERSON et al., 1994; MARKLUND et al., 1996; WANG et al., 1998; MILAN et al., 1998; DE KONING et al., 1999; DE KONING et al., 2001; MALEK et al., 2001; BINK et al., 2002). Na base de dados PigQTLdb foram referenciados até o momento 30.170 QTLs que representam 688 características diferentes, deste número, 54 QTLs, distribuídos pelos cromossomos 1 a 8, 10, 13, 15 a 18 e cromossomo sexual, foram relacionados a

hérnia escrotal, com base nas contagens de dados relatados. Os cromossomos 13, 2 e 8 são os que concentram o maior número de QTLs para a anomalia em questão, sendo 18, 8 e 6, respectivamente (HU; PARK; REECY, 2016).

Desde o sequenciamento completo do genoma suíno (*Sus scrofa domestica*), realizado graças a união de pesquisadores de todo o mundo, em 2012 (GROENEN et al., 2012), tornou-se possível a implementação de novas técnicas relacionadas a investigação de alterações genômicas referentes ao desenvolvimento de doenças. Sabe-se a partir de então que o genoma do *Sus scrofa domestica* é composto por cerca de 2,8 bilhões de pares de base (2,8 Gb) e abrange 21.641 genes codificadores de proteínas distribuídos em 18 pares de cromossomos autossômicos e 2 cromossomos sexuais (NCBI, 2019).

Existem variações na sequência do DNA conhecidas como marcadores moleculares. Por meio delas torna-se possível acompanhar a dinâmica dos genes em populações de suínos. Os marcadores podem ou não estar ligados a regiões (locus) de interesse que determinam características importantes economicamente, nesse caso tornando possível a seleção por meio de marcadores (ALZATE-MARIN et al., 2005).

Uma das alterações mais frequentes observadas no genoma, que podem ser utilizadas como marcadores moleculares são os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), resultantes da troca de uma das bases nitrogenadas (Adenina, Guanina, Citosina, Timina) por outra qualquer ao longo da dupla hélice de DNA (PENNISI, 1998). A frequência de ocorrência dessa mutação varia de acordo com a pressão seletiva, recombinações homólogas e fatores exógenos (MOUNTAIN et al. 1992). Para que desempenhe a função de marcador molecular é importante que o Alelo de Menor Frequência (MAF) esteja presente em, no mínimo, 1% a 5% da população analisada (BROOKES, 1999; FLINT, 2013).

Ramos et al. (2009) usaram a tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS) com o intuito de desenvolver um SNP chip de alta densidade para espécie suína. Os autores utilizaram suínos de cinco diferentes raças, Duroc, Landrace, Large White, Pietrain e Javali selvagem, para o sequenciamento. O resultado intitulado de *Illumina Porcine 60K SNP iSelect Beadchip (PorcineSNP60)* contém 64.232 SNPs. Além disso, foram validados 62.621 loci, onde 58.994 foram polimórficos.

Com os avanços em biotecnologia, desenvolveu-se um método denominado Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS) (WTCCC, 2007), utilizado para

encontrar variantes genéticas relacionadas com características quantitativas e/ou manifestação de doenças (FLINT, 2013) por meio da genotipagem de SNPs. O objetivo dessa metodologia é identificar regiões genômicas associadas as manifestações fenotípicas de interesse, para realizar a investigação dos mecanismos biológicos subsequentemente (YANG et al., 2013).

Embora seja um excelente método para a detecção de variações genômicas comparando animais caso-controle, não exija conhecimento prévio sobre fisiologia e bioquímica animal, e seja economicamente viável, uma das desvantagens observadas é a necessidade de um tamanho amostral considerável para que haja um poder estatístico maior (WANG et al., 2005; CANTOR; LANGE; SINSHEIMER, 2010) bem como a adequação de modelos e metodologias.

Estudos por meio da metodologia GWAS tem sido cada vez mais utilizados na suinocultura. Lago et al. (2018) ao realizarem uma análise GWAS em suínos afetados com hérnia escrotal, observaram 3 marcadores localizados no cromossomo sexual e próximos ao gene receptor de andrógenos, possivelmente relacionados à anomalia. Sevillano et al. (2015) do mesmo modo, utilizaram a metodologia GWAS para identificar regiões genômicas associadas ao aparecimento de hérnias (inguinal/escrotal) em suínos.

Atualmente, existem diversas ferramentas e metodologias para a realização das análises de associação do genoma. O Plink é um *software* utilizado para selecionar SNPs individualmente, com a possibilidade de observar na população amostral, a relação entre os indivíduos, por meio da estimativa da IBD (identidade por descendência) (GILKS, 2017). Dentre as principais vantagens desse *software*, estão descritas facilidade de manuseio através de uma interface simples, possibilidade de avaliar grandes amostras e rapidez na rodagem das análises (PURCELL et al., 2007). Outro *software* rápido e preciso, disponível para seleção de SNPs em análises de GWAS é denominado Blossoc, que tenta construir genealogias perfeitas (MAILUND, 2006). Diferentemente do Plink, que busca por marcadores únicos, o Blossoc é capaz de analisar marcadores múltiplos (blocos de haplótipos) e pode reduzir o número de falsos positivos de uma análise (MAILUND, BESENBACHER, SCHIERUP, 2006; LI, ZHOU, ELSTON, 2006).

3 CAPÍTULO 1 – PROSPECTION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH SCROTAL HERNIA MANIFESTATION IN COMMERCIAL PIGS

3.1 ABSTRACT

Scrotal hernia (SH) is one of the most common defects in swine and results in productive losses in the farms and meat industry, also compromising animal welfare. Thus, the objective of this study was to prospect genomic regions related to scrotal hernia, in order to find possible candidate genes for the manifestation of this disorder. A Genome-Wide Association Study (GWAS) was performed using two methodologies, single marker and multiple markers. This study was carried out in a case-control design with a total of 296 commercial pig samples. Several genomic regions and SNPs were associated to scrotal hernia and candidate genes were prospected spanning of the associated regions using the Ensembl database (*S. scrofa* 11.1 genome assembly). In silico functional analyses were performed using DAVID, REVIGO and STRING databases. A total of 27 SNPs distributed on chromosomes SSC3, SSC8, SSC9, SSC14, SSC15, SSC16 and sex chromosome were significant in the single marker analysis, 57 genes were prospected, of which 38 were characterized and 19 were not characterized. Furthermore, in the multiple marker association analysis, 395 SNPs have passed the suggestive level of significance (high, moderate or suggestive association), 381 genes were prospected, being 235 annotated and 146 not characterized in the swine genome. The most significant SNPs were observed on chromosomes 8 and 15, for both methodologies, and the SNPs located on SSC15 were mapped in very similar regions. In total, 19 genes were found with the analysis using both methodologies which were considered strong candidates for SH onset. However, genes unique to each methodology were also prospected mainly through the analysis of multiple markers. Several SNPs were observed in regions near the *SLIT2*, *RAB28*, *WDR1*, *CLNK*, *COL4A4*, *KCNIP4*, *FRYL*, *DRD2*, *GPER1*, *CANB4* and *STIM2* genes. The prospected genes enriched biological processes of muscle contractility, growth factor stimulation, inflammatory response, collagen metabolism, among others, making them strong candidates for the manifestation of scrotal hernia in pigs. The genes prospected in these analyses have not yet been related to the manifestation of scrotal hernia in pigs so far. Future research may be carried out to validate the prospected genes from this association study.

3.2 INTRODUCTION

Concomitant with the increase in population density of herds and the intense selection in breeding programs, manifestations of diseases from an environmental and genetic nature are notably observed. Scrotal hernia (SH) is one of the most common deformities found in pig herds with incidence varying between 1% to 7% (VOGT; ELLERSIECK, 1990; SOBESTIANSKY; CARVALHO; BARCELLOS, 2012) and estimated heritability ranging from 0.2 to 0.6 in different populations (GATPHAYAK et al. 2005; SEVILLANO et al. 2015). These moderate heritability estimates indicate that the influence of both genetic and environment are important to the expression of this condition.

The pathogenesis of SH is described as a protrusion of organs (intestine, bladder, spleen) into the inguinal canal, extending to the scrotum, due to the presence of muscle failures, weakness in the inguinal region and/or problems during the embryological testicular descent process (BRANDT, 2008; MANALAYSAY et al., 2017). The result of these events causes a peduncular sacculation of variable size in the scrotal region (SOBESTIANSKY; CARVALHO; BARCELLOS, 2012), which can promote discomfort, pain and, in more severe cases, death. SH-affected animals can be depressed, stressed and have impaired feed consumption, which directly reflects on productive and reproductive performance (GRINDFLECK et al., 2006).

Despite being considered a disorder of genetic origin, the mechanism of transmission of scrotal hernia has not been well defined, because there are several genes involved in the expression of this condition, as well as a constant influence of the environment (BATES; STRAW, 2008; ZHAO et al., 2009). Scrotal hernia exclusively affects males; however, breeding females can also be carriers of the alleles related to this anomaly (MANALAYSAY et al., 2017). Therefore, females could contribute negatively to maintaining SH in the flocks, impairing the selection against this sex-limited trait.

In a search for quantitative trait loci (QTL) associated with SH, 54 QTL were found in the chromosomes 1 - 8, 10, 13, 15, 18 and in the X sexual chromosome in the pig QTL database (HU; PARK; REECY, 2016). From the complete sequencing of the swine genome (GROENEN et al., 2012), and the development of high-density SNP chips for the specie (RAMOS et al., 2009), genome-wide association studies (GWAS) became possible (WTCCC, 2007), with the advantage of mapping QTL in a smaller

region than QTL mapped with linkage analysis using microsatellite markers (SANCHEZ et al., 2014). Therefore, GWAS is used to find genetic variations in the genome related to the quantitative traits and/or manifestation of diseases, for further investigation of the biological and metabolic mechanisms of genes (FLINT, 2013; YANG et al., 2013).

Currently, there are several tools and methodologies for carrying out genome association analyzes. The single marker methodology is able to select SNPs individually and establish a p-value for each of these SNPs. While the multiple markers methodology performs the analyzes in a group of SNPs / haplotype block, considering the linkage disequilibrium, in order to build phylogenetic trees for each marker, with this, it is possible to observe genes of lesser effect (MAILUND; BESENBACHER; SCHIERUP, 2006; LI; ZHOU; ELSTON, 2006).

Due to great economic losses related to SH and the negative impact in animal welfare, the development of studies to unravel the mechanism of expression of hernias is advantageous for producers, consumers and to the meat industry (LAGO et al.; 2018). Moreover, the pig is an excellent biological model for understanding diseases in humans (VODIČKA et al., 2005; GROENEN et al., 2012), which is an additional stimulus for continuous studies in the genetic area. Some studies investigating important regions of the swine genome and suggesting candidate genes for the development of hernias have already been carried out using GWAS (DU et al., 2009; SEVILLANO et al., 2015; LAGO et al., 2018). Therefore, aiming to improve the understanding of the genetic causes of the SH, the objective of this study was to prospect regions and genes of the swine genome related to the manifestation of scrotal hernia, using GWAS with single and multiple markers approaches.

3.3 MATERIAL AND METHODS

This study was carried out following the practices recommended by the ethics committee for the use of animals (CEUA) from the Embrapa Swine and Poultry National Research Center, under protocol number 011/2014 and the international guidelines on animal welfare.

3.3.1 Animals and sample collection

Samples from 296 Agroceres PIC commercial male pigs were used in this study, of which 103 were cases (affected by the anomaly) and 193 were controls (not affected by the anomaly). The animals came from the same growing farm, with high health status, located in the western region of Santa Catarina State. The study was carried out in a case-control design. The SH identification was carried out through clinical examination, by a trained and experienced professional, aiming to rule out other possible alterations, such as abscesses. Samples obtained from the ear tissue (1cm) were collected using an ear moss, cleaned between each collection with 2% bleach and 70% ethanol to avoid contamination between samples. The material was immediately placed in ice and subsequently stored in an -20 °C freezer until the moment of laboratory analysis.

3.3.2 Genomic DNA Extraction and SNP Genotyping

The extraction of genomic DNA from tissues was carried out using the Purelink Genomic DNA Mini kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), following the manufacturer's instructions. DNA quantity and quality were evaluated by spectrophotometer analysis (ND-2000 NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA). DNA samples ranging from 1.8 to 2.0 in the 260/280 nm ratio were prepared for a final concentration of 500 ng and the genotyping was performed at a commercial genotyping service (Neogen Genomics, Araçatuba, São Paulo, Brazil). The single nucleotide polymorphism (SNP) assay GGP Porcine BeadChip (Neogen, Lincoln, NE, USA) containing 51.558 SNPs distributed throughout the swine genome was used. The positions and distances of the markers were based on the Sscrofa11.1 map, from January 2017 of the Ensembl database.

3.3.3 Data Quality Control

The samples quality control was performed with the Plink 1.9 Software (Purcell et al., 2007). A total of 296 animals, 103 cases and 193 controls, were submitted to analysis. The animals were evaluated for excess of heterozygosity, to check for possible contamination between samples. Samples with a call rate below 90% and / or heterozygosity rate greater than ± 3 standard deviations from the mean were excluded. The IBD (identical by descent) was calculated to exclude duplicate samples. The

population structure was evaluated using the Multi-Dimensional scaling Plot (MDS-PLOT).

The SNPs quality control was also assessed using Plink 1.9 starting with 50.697 SNPs. For the quality control of the SNPs, the following exclusion criteria were used: SNPs with a call rate lower than 98%, SNPs that deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium test ($p < 0.000001$), SNPs with a minor allele frequency (MAF) $< 5\%$ and SNPs on the Y chromosome.

3.3.4 Association analysis

A standard single marker case-control association analysis was performed using the Chi-square test implemented in the Plink 1.9 software (Purcell et al., 2007). The number of independent SNPs (6,529) (LD measured by $r^2 \leq 0.2$) was used to calculate the p-value for the suggestive threshold ($1 / 6,529 = 1.531 \times 10^{-4}$) and a 5% Bonferroni significance ($0.05 / 6.529 = 7.658 \times 10^{-6}$). In addition, a moderate association was also considered with a threshold of 5×10^{-5} based on the recommendations of the Wellcome Trust Case and Control Consortium (WTCCC, 2007). The adjustment of the model was verified with the Quantile-Quantile Plot (QQ-PLOT). All graphs (MDS-PLOT, QQ-PLOT and Manhattan PLOT) were constructed in the software R v3.3 (R Core Team, 2019).

Multiple marker association analysis was performed with Blossoc software (MAILUND, 2006), which uses a Bayesian approach to generate scores for each SNP, based on the evolutionary relationships between markers that may have a common ancestor, that is, through the construction of phylogenetic trees forming blocks of haplotypes. To define the significance thresholds for the association analysis, the SNPs score distribution was plotted and the thresholds calculated based on the assumption that the scrotal hernia is a polygenic trait. Therefore, several regions of the genome must influence this condition. Thus, considering that a priori 1% of the most significant SNPs would be associated with the manifestation of scrotal hernia, this number was split into three levels of significance: 0.01% of all SNPs assessed were considered to be highly significant (threshold ≥ 9.92), 0.5% of all SNPs assessed were moderately significant (excluding those already selected with high significance) (threshold ≥ 6.96 and < 9.92) and 1% of all SNPs were considered as suggestive

(excluding those that have already been selected with high and moderate significance) (threshold ≥ 5.82 and < 6.96).

3.3.5 Gene identification

The significant SNPs were used to identify the candidate genes located using the Ensembl database (http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Info/Index) with the S.scrofa 11.1 genome assembly map. For the search, a coverage window of 300 kb was considered, 150 kb up and 150 kb downstream from the SNP position.

3.3.6 Enrichment analysis

The prospected genes found in the associated regions using both software were submitted to an enrichment analysis in the DAVID database (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) originating group of genes based on their biological functions (HUANG; SHERMAN; LEMPICKI, 2009). Subsequently, these data were submitted to the REVIGO database (Reduce and Visualize gene Ontology), responsible for summarizing and grouping the data, removing redundant terms, and generating the TreeMap, for viewing the DAVID data (SUPEK et al., 2011). Finally, the STRING database was used to verify possible interactions between genes (SZKLARCZYK et al., 2015).

3.4 RESULTS

After the sample quality control, 294 animals remained for further analyses, 101 cases and 193 controls. Two samples were excluded from the analysis because they had an IBD greater than 98%.

A total of 11.247 SNPs were eliminated from the analysis, of which 6.172 had no identified position in the genome, 1.584 had a call rate of less than 98%, 2.699 deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium test ($p < 0.000001$), 777 exhibited minor allele frequency (MAF) $< 5\%$ and 15 SNPs were removed because they were on the Y chromosome. Thus, at the end of the quality control for the analysis performed with the plink software, 39.450 SNPs remained. The analysis regarding quality control for the Blossoc Software eliminated 11.326 SNPs, of which 1.962 SNPs were removed from

the sex chromosomes (1.947 on the X chromosome and 15 on the Y chromosome), 6.172 were removed because they did not have a region identified in the genome of the 11.1 map (Ensembl 98), 1.477 SNPs were eliminated in the call rate, 738 SNPs were eliminated in the MAF criterion and 9 SNPs were eliminated due to a duplicate position in the genome. Therefore, at the end of the SNP quality control, 39.371 SNPs remained for the Blossoc analysis.

For the analysis carried out using the single marker methodology, the QQ and Manhattan plots were generated. The QQ plot of probabilities showing the observed P-values versus the expected values for an association of locus with scrotal hernia formation is shown in Figure 1. In this graph, the adjustment of the model based on the lambda value is shown, Lambda values close to 1 indicate a good adjustment of the data. Therefore, the value obtained reflects a good adjustment for the model in this study. The Manhattan plot showing the association profile between SNPs and scrotal hernia in pigs obtained with Plink is shown in Figure 2. In the single marker analysis, 5 SNPs mapped on chromosomes SSC8 and SSC15 were 5% significant ($7,658 \times 10^{-6}$), 9 SNPs mapped on chromosomes SSC8 and SSC15 showed a moderate level of significance (5×10^{-5}) and 13 SNPs mapped on chromosomes SSC3, SSC8, SSC9, SSC14, SSC15, SSC16 and in the X sex chromosome, showed suggestive significance ($1,531 \times 10^{-4}$).

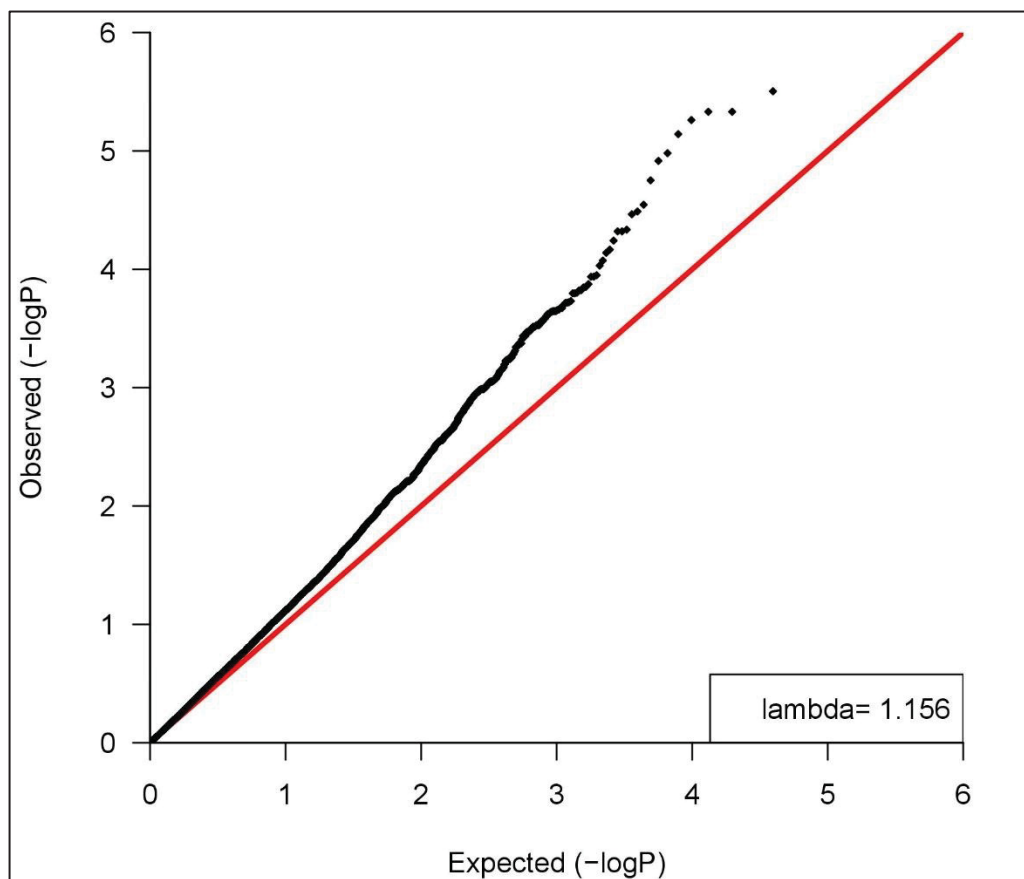


Figure 1: Q-Q Plot showing the observed p-values vs expected for the association of loci with scrotal hernia. The 1,156 lambda reflects how well the data is adjusted to the model. The red line represents the null hypothesis, that is, no SNP is associated with the manifestation of scrotal hernia. SNPs that are far away from the null hypothesis are the ones with the highest level of significance, thus being associated with the presence of the anomaly.

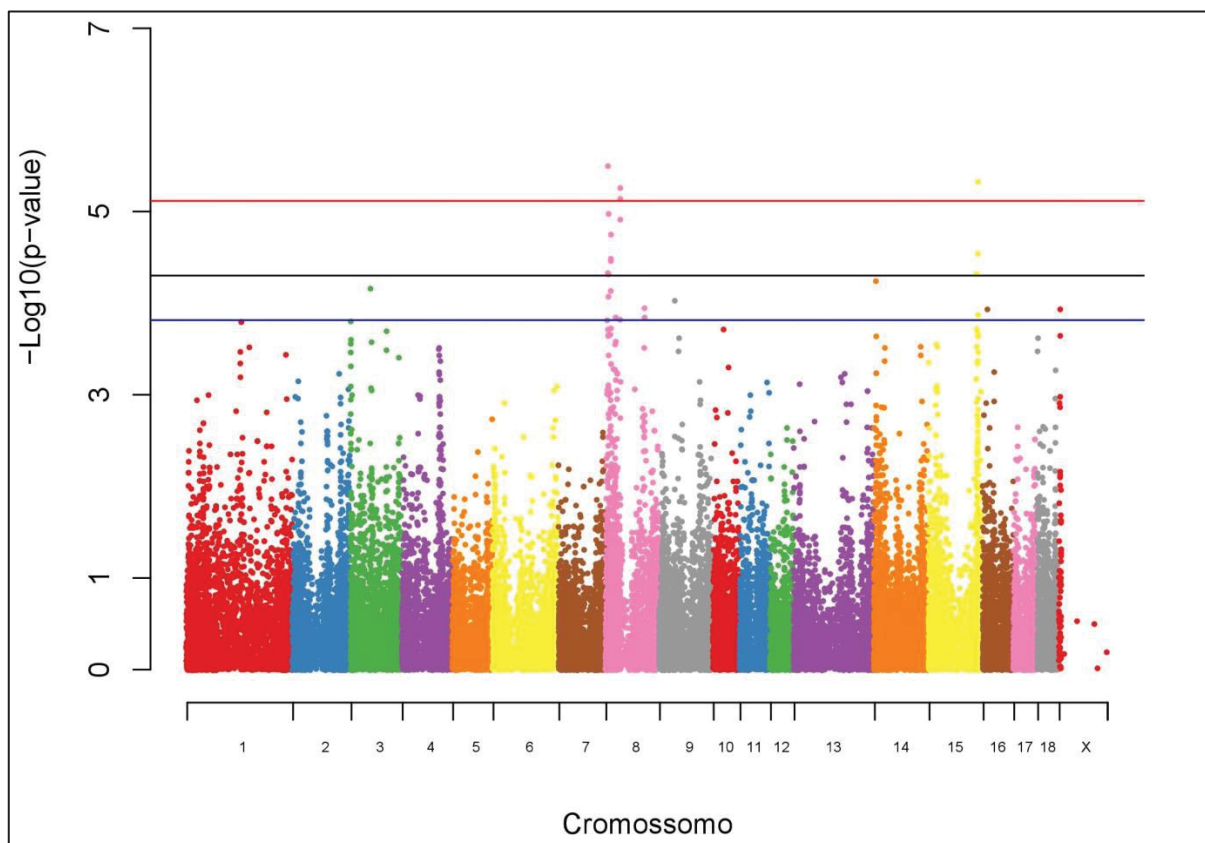


Figure 2: Manhattan plot of the single marker genome-wide association test for scrotal hernia in crossbred pigs using Plink software. The red line represents a 5% significant Bonferroni threshold ($7,658 \times 10^{-6}$), the black line is a moderate association (5×10^{-5}) based on the WTCCC (2007) and the blue line represents suggestive association ($1,531 \times 10^{-4}$).

From the analysis performed with the plink software, for the single marker association, a total of 27 SNPs has passed the suggestive level of significance for association with the manifestation of scrotal hernia in the swine genome. The identified SNPs are listed in Table 1, according to the significance level of association. The most significant SNPs were mapped on chromosomes 8 and 15. Based on the identified SNPs, 57 genes were prospected, of which 38 were characterized and 19 were not characterized in the porcine genome. The characterized genes are listed in Table 2.

Table 1: The 27 SNPs associated with SH, identified in the porcine genome with single marker methodology, using plink software, according to the significance level of association (p-value): 5 % significance ($7,658 \times 10^{-6}$), moderate association (5×10^{-5}) and suggestive significance ($1,531 \times 10^{-4}$).

SSC	SNP Name	SNP Location	P-value
8	WU_10.2_8_6159481	6777847	0,000003134
15	WU_10.2_15_141711088	128040682	0,000004668
15	WU_10.2_15_141594666	128060813	0,000004668
8	ALGA0047711	38710937	0,000005485

8	H3GA0024804	38677773	0,000007214
8	ALGA0106504	8480995	0,00001045
8	ASGA0038738	38728307	0,00001214
8	MARC0054361	14596289	0,00001772
15	WU_10.2_15_141694943	127986551	0,00002848
8	WU_10.2_8_14535368	14396504	0,00003248
8	WU_10.2_8_14204111	14148184	0,00003431
8	WU_10.2_8_5932228	6548221	0,00004625
8	WU_10.2_8_7280341	7823398	0,0000478
15	ASGA0070748	124490911	0,00004781
14	ALGA0074566	5335098	0,00005728
3	ALGA0018974	51711586	0,00006816
8	WU_10.2_8_14241200	14003411	0,00007261
8	WU_10.2_8_7469614	7994852	0,00008439
9	WU_10.2_9_45897796	41068637	0,00009311
8	MARC0056114	101525298	0,0001122
16	ALGA0089146	12268644	0,0001155
19	WU_10.2_X_4177038	3999161	0,0001156
15	WU_10.2_15_142099381	128294153	0,0001335
8	DRGA0008467	26738157	0,0001407
8	INRA0057755	101746250	0,0001423
8	M1GA0011926	38425208	0,0001501
8	WU_10.2_8_2460836	4755563	0,0001512

SSC stands for *Sus scrofa* chromosome P-value for the suggestive association = 1.531×10^{-4} , moderate association = 5×10^{-5} and 5 % significant association ($0.05 / 6.529$) = 7.658×10^{-6} .

Table 2: Annotated genes in regions associated to scrotal hernia with the single marker methodology, using Plink software.

SSC	Transcript Name	Gene Stable ID	Start Location	Final Location
3	IL18R1	ENSSSCG00000008159	51803404	51902079
3	IL1RL1	ENSSSCG000000032795	51803165	51951383
3	IL18RAP	ENSSSCG00000008157	51762119	51789965
3	SLC9A4	ENSSSCG00000008155	51686672	51750073
3	SLC9A2	ENSSSCG00000008153	51535798	51623057
8	KIAA1109	ENSSSCG00000009090	101737086	101937156
8	IL2	ENSSSCG000000033267	101640944	101645609
8	ADAD1	ENSSSCG00000009089	101540401	101715436
8	IL21	ENSSSCG00000009087	101530949	101540738
8	U6	ENSSSCG00000019437	101467989	101468092
8	CETN4	ENSSSCG000000034743	101430245	101433751
8	BBS12	ENSSSCG000000026290	101420649	101430015
8	CWH43	ENSSSCG00000008830	38869138	38943669

8	OCIAD2	ENSSSCG00000008829	38732820	38793234
8	U6	ENSSSCG00000018511	38537473	38537574
8	FRYL	ENSSSCG00000008826	38397375	38697206
8	ZAR1	ENSSSCG00000008824	38386643	38391611
8	SLC10A4	ENSSSCG00000008823	38378798	38386195
8	SLAIN2	ENSSSCG00000008821	38241598	38322031
8	CLNK	ENSSSCG00000022448	6608231	6770094
8	ZNF518B	ENSSSCG00000029711	6559075	6576162
8	WDR1	ENSSSCG00000036501	6413347	6452346
8	EVC2	ENSSSCG00000024399	4893505	5023644
8	EVC	ENSSSCG00000032637	4809155	4891257
8	CRMP1	ENSSSCG00000022896	4734200	4805645
8	JAKMIP1	ENSSSCG00000008710	4492340	4616266
9	DRD2	ENSSSCG00000015048	41068779	41133599
9	TTC12	ENSSSCG00000015047	40988918	41046900
9	NCAM1	ENSSSCG00000015045	40628750	40960608
15	RHBDD1	ENSSSCG00000016243	128346373	128469213
15	IRS1	ENSSSCG00000025729	128245846	128308335
15	MOGAT1	ENSSSCG00000046102	124568435	124607929
15	ACSL3	ENSSSCG00000016223	124568383	124817004
15	FARSB	ENSSSCG00000016226	124472235	124554991
15	SGPP2	ENSSSCG00000025993	124318271	124462851
16	U6	ENSSSCG00000033714	12413883	12413989
16	U2	ENSSSCG00000048632	12354596	12354742
16	CH10	ENSSSCG00000016802	12094707	12277315

After the gene ontology analysis in DAVID, the genes mapped in the regions of interest were grouped into 48 biological processes, listed in Table 3. The REVIGO database excluded redundant terms, and generated a TreeMap, represented in figure 3 where the presence of several rectangles, called clusters, were observed. The size of the rectangles varies according to the p-value of each GO term. Clusters are organized according to related terms, thus forming superclusters. In the present study, the treemap generated with results from the single marker association analysis showed 5 superclusters. Finally, the STRING database was used to organize the data in a network of genes (Figure 4), where it is possible to observe the existing interactions between them. The gene network was used to choose candidate genes, as long as

they had functionality compatible with the SH development mechanism and contained SNPs which have passed the suggestive level of significance.

Table 3: Biological processes of genes prospected in the single marker analyses, performed through the DAVID database.

Function	Genes
Import into cell	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Monovalent inorganic cation homeostasis	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Sodium ion import	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Sodium ion import into cell	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Sodium ion import across plasma membrane	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Cell differentiation	<i>BBS12, FRYL, ADAD1, DRD2, IL21, NCAM1, RHBDD1, SLC9A4</i>
Cell development	<i>FRYL, ADAD1, DRD2, IL21, NCAM1, SLC9A4</i>
Import across plasma membrane	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Cellular developmental process	<i>BBS12, FRYL, ADAD1, DRD2, IL21, NCAM1, RHBDD1, SLC9A4</i>
Inorganic cation import into cell	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Inorganic ion import into cell	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Protein localization	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1, SLC9A2</i>
Protein transport	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1</i>
Secretion	<i>ACSL3, DRD2, IRS1, SLC9A4</i>
Macromolecule localization	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1, SLC9A2</i>
Establishment of protein localization	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1</i>
Multicellular organismal process	<i>BBS12, FRYL, ACSL3, ADAD1, DRD2, IL21, JAKMIP1, NCAM1, RHBDD1, SLC9A4</i>
Inorganic cation transmembrane transport	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Sodium ion transmembrane transport	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Inorganic ion transmembrane transport	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Cation transmembrane transport	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of intracellular pH	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of cellular pH	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Cell projection organization	<i>BBS12, FRYL, DRD2, NCAM1</i>
Single-organism transport	<i>BSS12, ACSL3, DRD2, IRS1, SLC9A2, SLC9A4</i>
Cellular cation homeostasis	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Cellular ion homeostasis	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of pH	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Feeding behavior	<i>BBS12, DRD2</i>

Cellular monovalent inorganic cation homeostasis	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Transport	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1, SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of synaptic plasticity	<i>DRD2, NCAM1</i>
Organic substance transport	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1</i>
Single-organism localization	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, SLC9A2, SLC9A4</i>
Negative regulation of protein secretion	<i>DRD2, IRS1</i>
Cation homeostasis	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of secretion	<i>ACSL3, DRD2, IRS1</i>
Sodium ion transport	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Inorganic ion homeostasis	<i>DRD2, SLC9A4, SLC9A4</i>
Metal ion transport	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Establishment of localization	<i>BBS12, ACSL3, DRD2, IRS1, RHBDD1, SLC9A2, SLC9A4</i>
Cellular chemical homeostasis	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Ion transmembrane transport	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Ion homeostasis	<i>DRD2, SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of protein transport	<i>ACSL3, DRD2, IRS1</i>
Cellular potassium ion transport	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Potassium ion transmembrane transport	<i>SLC9A2, SLC9A4</i>
Regulation of biological quality	<i>BBS12, DRD2, IRS1, NCAM1, SLC9A2, SLC9A4</i>

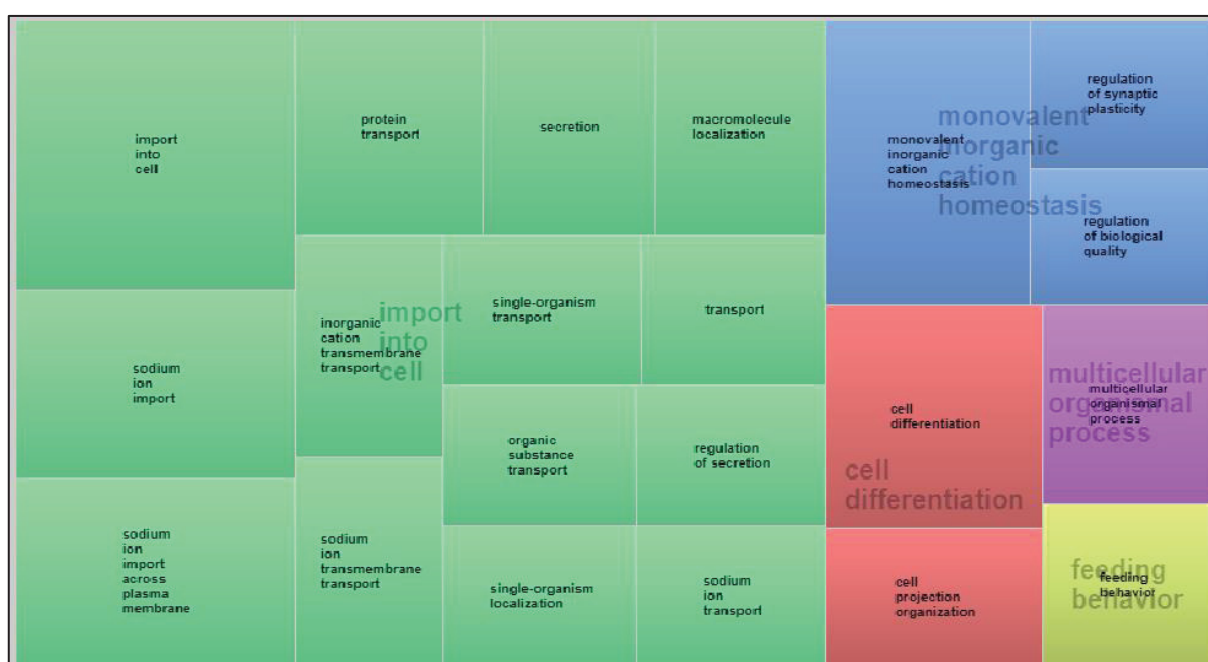


Figure 3: TreeMap generated by the REVIGO database with the 5 superclusters enriched by genes related to SH in pigs with Plink analysis. Each color indicates a supercluster.

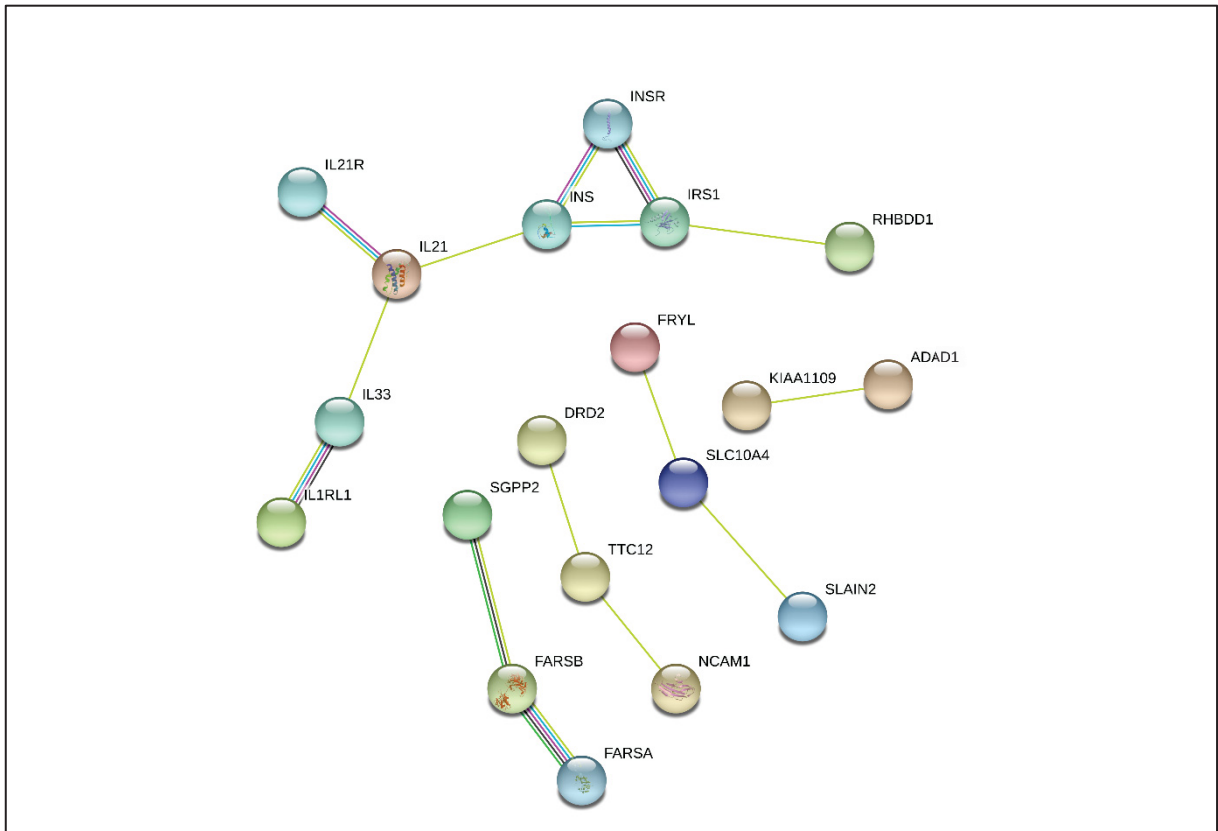


Figure 4: Gene network constructed with genes located in regions associated to SH in pigs, with the single marker methodology, using Plink software. Colored circles represent genes and lines represent the predicted interactions between genes. The light blue and purple lines are known interactions from curated databases and experimentally determined, respectively. The red, green and dark blue lines are predicted interactions from gene neighborhood, gene fusions and gene co-occurrence, respectively. The yellow and black lines are other types of interactions from text mining and co-expression, respectively.

Blossoc software was used for the multiple marker association analysis. A graph with scores distribution (Figure 5) was used to define the thresholds of significance for the association analysis (Figure 6). The scores graph was created based on the assumption a priori, formulated by the previous knowledge that the characteristic under study, scrotal hernia, is polygenic, therefore, several regions of the genome must influence this condition. Consequently, the following values of the scores were assumed: suggestive scores ≥ 5.82355 and < 6.96683 , moderate association ≥ 6.96683 and < 9.92280 and highly associated SNPs ≥ 9.92280 . Thus, 39 SNPs were highly significant, 157 SNPs were moderately associated and 199 SNPs were of low significance or suggestive (Figures 5 and 6).

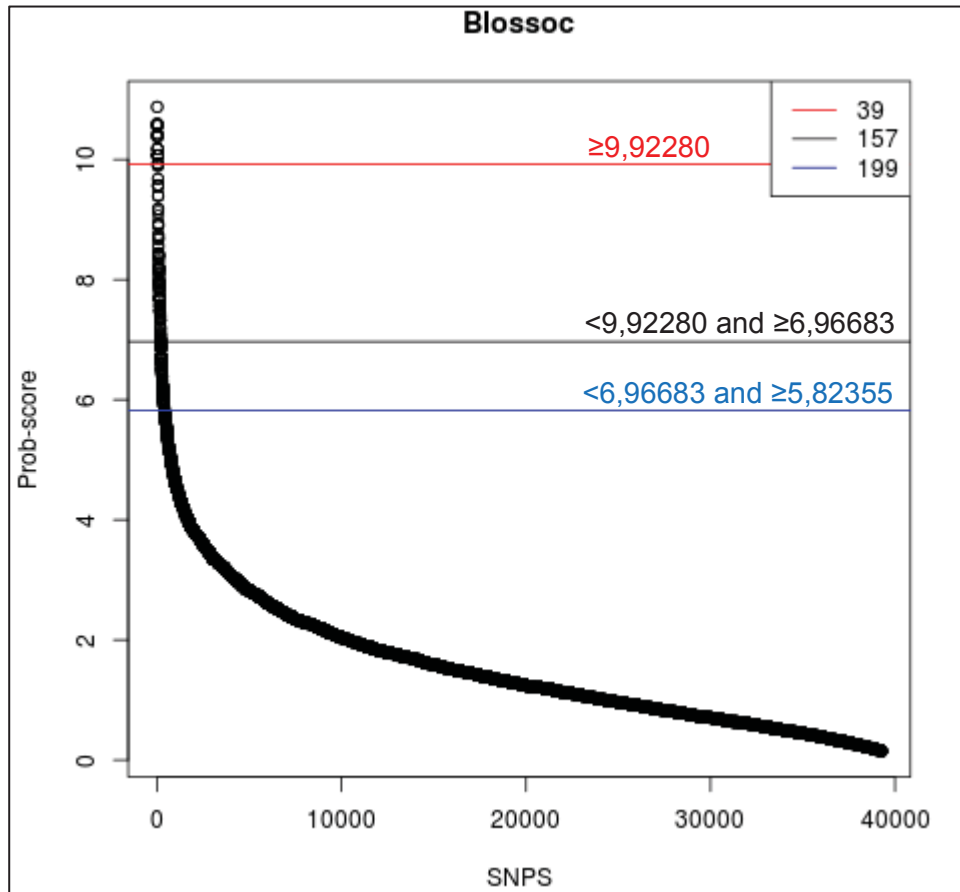


Figure 5: Plot with the SNPs score distribution generated by Blossoc Software. The blue line represents low significance and 199 SNPs were observed, the black line represents a moderate significance and 157 SNPs were observed, and the red line represents high significance and 39 SNPs were observed.

In Figure 6, the region above the red line shows the SNPs that were highly significant in the association analysis (scores ≥ 9.92280), that is, the SNPs that were highly associated with the manifestation of scrotal hernia. Above the black line and below the red line are the moderately associated SNPs (< 9.92280 and ≥ 6.96683) and SNPs located between the blue and black lines were considered to have a suggestive association (< 6.96683 and ≥ 5.82355) with the development of scrotal hernia. In this study, the SNPs with the highest level of significance in the analysis of multiple markers were mapped on SSC8 and SSC15. The region mapped on SSC8 was identified with both methodologies and was very similar. SNPs with a moderate level of significance were mapped on chromosomes SSC2, SSC3, SSC4, SSC6, SSC7, SSC8, SSC10, SSC14 and SSC15, most of them were mapped on SSC8 and SSC15. SNPs with suggestive significance were mapped in all chromosomes of the porcine genome, except for the sex chromosome that was removed from the analysis.

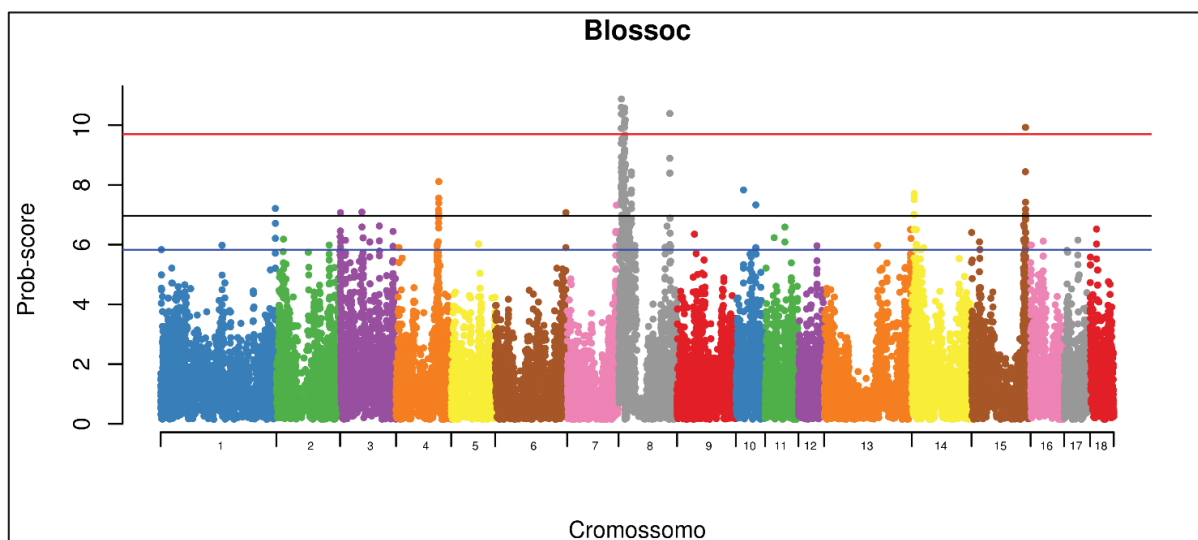


Figure 6: Manhattan plot of the multiple markers genome-wide association for scrotal hernia in crossbred pigs using Blossoc. The red line represents a significant threshold (≥ 9.92280), the black line is a moderate association (< 9.92280 and ≥ 6.96683) and the blue line represents suggestive association (< 6.96683 and ≥ 5.82355).

In the multiple marker association analyses, 395 SNPs were associated with the manifestation of scrotal hernia and are listed in Table 4, organized according to the score value observed for each SNP, from the most significant to the least significant. From those regions, a set of 381 genes were prospected, of which, 235 were characterized (Table 5) and 146 were not characterized. The genes found in the significant regions for scrotal hernia were grouped into 131 biological processes, which were organized into 13 superclusters (Figure 7). Finally, an analysis was performed in the STRING database, which resulted in a graph of the relationship between the analyzed genes (Figure 8). The criterion used for selecting candidate genes was the same for the two methodologies studied.

Table 4: SNPs associated with Scrotal Hernia through the multiple marker methodology using Blossoc software, according to their significance level: high, moderate and suggestive significance.

SSC	SNP_name	SNP_code	Pos_SNP	Escore_SNP
8	WU_10.2_8_6092382	rs327739985	6710408	10,5957
8	WU_10.2_8_6106489	rs333398011	6724514	10,5957
8	WU_10.2_8_6175644	rs344361676	6794010	10,3748
8	WU_10.2_8_6191745	rs331315480	6810112	10,8748
8	ASGA0102441	rs81323760	6828177	10,8748
8	WU_10.2_8_6265476	rs333531017	6883842	10,3748

8	ALGA0046527	rs81402581	13862252	9,93007
8	MARC0016208	rs81285829	13880337	10,4301
8	WU_10.2_8_13852556	rs328047631	13883790	10,4301
8	ALGA0046513	rs81402467	13897758	9,93007
8	ASGA0104872	rs81304931	13937739	9,9228
8	ALGA0119178	rs81326282	13978922	10,0679
8	ASGA0096165	rs81315787	14002260	10,0679
8	WU_10.2_8_14241200	rs328109540	14003411	10,0679
8	H3GA0024333	rs81402716	14128690	10,0679
8	WU_10.2_8_14204111	rs334819197	14148184	10,0679
8	WU_10.2_8_14318518	rs320560211	14261679	10,0679
8	ALGA0046546	rs81402803	14335703	10,0679
8	ASGA0037889	rs81402894	14348271	10,0679
8	WU_10.2_8_14504712	rs345008181	14365849	10,0679
8	WU_10.2_8_14513938	rs333033465	14375075	10,0679
8	WU_10.2_8_14518847	rs318793269	14379984	10,0679
8	WU_10.2_8_14535368	rs335906714	14396504	10,5679
8	WU_10.2_8_14550067	rs337912320	14411200	10,5679
8	WU_10.2_8_14628001	rs329631469	14420789	10,5679
8	WU_10.2_8_14670355	rs331144570	14461461	10,0679
8	WU_10.2_8_14705207	rs333974125	14465436	10,0679
8	WU_10.2_8_14796575	rs340616367	14556707	10,5679
8	MARC0054361	rs81244144	14596289	10,5679
8	ALGA0114672	rs81477048	14631714	10,5679
8	ASGA0037906	rs81403270	14940796	10,1752
8	ASGA0037899	rs81403234	14973392	10,1752
8	WU_10.2_8_16335079	rs332443526	15986265	10,1752
8	H3GA0024356	rs81404230	16002409	10,1752
8	ALGA0049481	rs81404054	121633887	10,3908
8	ALGA0049482	rs81404057	121646785	10,3908
8	WU_10.2_8_130875367	rs342693826	121689137	10,3908
15	WU_10.2_15_141711088	rs339590287	128040682	9,92531
15	WU_10.2_15_141594666	rs329460074	128060813	9,92531
1	ASGA0008146	rs80968258	272108995	7,21118
3	WU_10.2_3_925335	rs325491750	799565	7,07058
3	ALGA0018974	rs80918503	51711586	7,08919
4	ALGA0027373	rs80798441	100971367	7,1647
4	WU_10.2_4_110948153	rs327181363	101110772	7,05478
4	ALGA0027379	rs80845907	101134875	7,55478

4	WU_10.2_4_111043929	rs325416100	101156553	7,55478
4	WU_10.2_4_111219158	rs344532338	101317661	7,39276
4	ALGA0027398	rs80979885	101458668	8,11184
4	WU_10.2_4_111470362	rs341982543	101480020	8,11184
6	WU_10.2_6_155043228	rs318746233	167671485	7,07222
7	ALGA0045260	rs80848286	116844203	7,32153
8	WU_10.2_8_5905891	rs339996073	6521020	9,89151
8	WU_10.2_8_5909602	rs332504480	6524731	9,89151
8	WU_10.2_8_5932228	rs344928960	6548221	9,39151
8	ASGA0088986	rs81306997	6561239	9,39151
8	WU_10.2_8_5958899	rs340640402	6609853	7,89151
8	WU_10.2_8_6027770	rs335853877	6637313	7,47377
8	ASGA0106142	rs81476753	6655834	7,97377
8	WU_10.2_8_6058562	rs329510584	6676590	7,47377
8	WU_10.2_8_6076336	rs321448709	6694362	7,97377
8	WU_10.2_8_6125875	rs319954748	6744237	8,43431
8	WU_10.2_8_6146460	rs328690324	6764825	8,93431
8	WU_10.2_8_6159481	rs81319995	6777847	8,57495
8	WU_10.2_8_6282086	rs328818294	6900448	7,32951
8	ALGA0046317	rs81400484	6913947	7,32951
8	WU_10.2_8_6311315	rs320630523	6929677	7,93431
8	ALGA0046311	rs81400462	6945258	7,93431
8	ASGA0083991	rs81340684	7432564	8,74402
8	WU_10.2_8_6794382	rs345889872	7450725	8,74402
8	WU_10.2_8_6814516	rs331159894	7459614	7,48511
8	ALGA0105308	rs81332609	7468527	7,48511
8	ASGA0092066	rs81310728	7472930	7,48511
8	ASGA0104681	rs81304698	7609535	6,98511
8	ALGA0123384	rs81320492	7611766	6,98511
8	WU_10.2_8_6966976	rs328306674	7617091	6,98511
8	WU_10.2_8_6974971	rs326737732	7625086	7,48511
8	WU_10.2_8_6982699	rs338069159	7632812	7,48511
8	WU_10.2_8_7014505	rs328111499	7664387	8,70363
8	WU_10.2_8_7032186	rs336511079	7681948	8,20363
8	ASGA0037638	rs81400196	7700724	7,70363
8	WU_10.2_8_7327148	rs338390376	7863958	7,87125
8	WU_10.2_8_7365808	rs328372794	7898687	8,39368
8	ASGA0094342	rs81313497	7925883	9,53989
8	ALGA0046186	rs81399698	8225137	6,96683

8	ASGA0037601	rs81399654	8243020	6,96683
8	ALGA0106504	rs81334017	8480995	8,29258
8	WU_10.2_8_7979406	rs329621354	8491372	7,79258
8	WU_10.2_8_7927889	rs329800453	8511328	7,65435
8	WU_10.2_8_8220518	rs326758413	8529838	7,65435
8	WU_10.2_8_8079325	rs327581230	8668929	7,57731
8	WU_10.2_8_8069542	rs320045179	8678711	7,57731
8	ASGA0096928	rs81316759	8801647	8,07731
8	MARC0070206	rs81255629	8819566	8,07731
8	WU_10.2_8_8438742	rs319294425	8927783	7,99021
8	ASGA0090227	rs81308498	11463137	7,67208
8	ASGA0037801	rs81401141	11481050	7,67208
8	ASGA0037799	rs81401114	11570387	7,93391
8	ALGA0046431	rs81401202	11585865	7,43391
8	M1GA0011801	rs81401242	11614841	7,31478
8	M1GA0011802	rs81401276	11637373	7,88633
8	MARC0040190	rs81232934	11670457	8,38633
8	ASGA0092113	rs81310798	11692932	7,88633
8	H3GA0052944	rs81336292	11694236	8,38633
8	MARC0049636	rs81241343	11700518	8,38633
8	WU_10.2_8_11376229	rs332013711	11727295	7,88633
8	ASGA0096118	rs81315723	11753025	7,38633
8	M1GA0011804	rs81401383	11782932	7,38633
8	WU_10.2_8_11659179	rs333099759	11956427	9,39531
8	WU_10.2_8_11676850	rs331540192	11975127	9,39531
8	WU_10.2_8_11742804	rs344846697	11985854	8,92225
8	WU_10.2_8_12081782	rs327507034	12279651	7,93391
8	WU_10.2_8_12111557	rs321368333	12310733	7,93391
8	ALGA0103589	rs81330597	12343253	7,43391
8	ASGA0094463	rs80883904	12484761	8,93391
8	WU_10.2_8_12353100	rs334636790	12550829	7,96854
8	ASGA0084322	rs81342573	12588090	7,96854
8	ASGA0089394	rs81307460	12592573	7,96854
8	ALGA0108110	rs81335971	12604084	7,96854
8	ALGA0116260	rs81345713	12627356	7,46854
8	ASGA0083420	rs81477004	12644260	7,46854
8	ASGA0037859	rs81401851	12677646	7,46854
8	ALGA0046521	rs81402549	13717037	7,6752
8	MARC0067231	rs81254436	13787596	8,1752

8	ASGA0037872	rs81402494	13806400	9,1752
8	WU_10.2_8_13977071	rs322129753	13836704	9,1752
8	WU_10.2_8_13891731	rs342576516	13922935	9,1295
8	ALGA0046536	rs81402671	14056351	9,56789
8	ALGA0046538	rs81402696	14101303	9,06789
8	ALGA0046542	rs81402760	14172213	9,56789
8	WU_10.2_8_14295419	rs334968525	14286477	9,56789
8	WU_10.2_8_14650275	rs332117808	14441382	9,56789
8	WU_10.2_8_14911120	rs324707981	14671046	9,56789
8	WU_10.2_8_14932299	rs319963352	14692182	9,56789
8	ASGA0092178	rs81310872	14706605	8,53893
8	MARC0052559	rs81241650	14772279	8,20425
8	MARC0052560	rs81241649	14772330	8,20425
8	MARC0021322	rs81290040	14832626	9,1752
8	WU_10.2_8_15159523	rs340208630	14919140	9,6752
8	ALGA0046558	rs81403207	14990927	9,6752
8	WU_10.2_8_16181667	rs328356965	15837295	7,70363
8	WU_10.2_8_16071319	rs346092903	15845487	7,70363
8	WU_10.2_8_16075305	rs321745578	15849872	7,70363
8	ASGA0104576	rs81476740	15864779	8,20363
8	WU_10.2_8_16130585	rs328149731	15877735	8,20363
8	MARC0001526	rs81234880	15910982	8,70363
8	ALGA0046597	rs81404111	15928044	8,17208
8	WU_10.2_8_16291610	rs341024489	15942780	8,17208
8	ASGA0037935	rs81404411	16066199	6,96955
8	ALGA0046611	rs81404449	16096473	7,43883
8	WU_10.2_8_16501265	rs329049249	16152497	7,46854
8	ALGA0046619	rs81404555	16167349	7,46854
8	ASGA0037939	rs81404592	16188413	7,46854
8	WU_10.2_8_16606654	rs335779124	16257847	7,67208
8	ALGA0046633	rs81404751	16268670	8,17208
8	WU_10.2_8_16629436	rs324184960	16280631	8,17208
8	MARC0074016	rs81259315	16295726	7,67208
8	WU_10.2_8_16663235	rs321611489	16314430	7,67208
8	WU_10.2_8_16735830	rs329679442	16388951	8,17208
8	ALGA0046640	rs81405013	16400498	8,17208
8	WU_10.2_8_16760566	rs343415602	16413690	7,67208
8	H3GA0024367	rs81405100	16427524	7,17208
8	MARC0082021	rs81264309	16481494	8,67208

8	ALGA0113441	rs81477035	16510585	8,67208
8	ASGA0095984	rs81315551	16524040	8,17208
8	ASGA0084241	rs81342198	16560870	8,17208
8	WU_10.2_8_17045867	rs336313529	16586795	7,67208
8	ASGA0098380	rs81318593	20088776	6,96955
8	ALGA0119129	rs81326224	21163107	7,10843
8	ALGA0118435	rs81325337	21193133	7,10843
8	H3GA0024700	rs81399344	30394981	7,72021
8	WU_10.2_8_31947785	rs81212310	30417552	8,43256
8	ALGA0104055	rs81331151	30453881	8,43256
8	ALGA0115248	rs81344449	30482549	7,82897
8	ASGA0085559	rs81476931	30488090	7,82897
8	ALGA0108672	rs81336606	30492334	8,32897
8	ALGA0110393	rs81338645	30542108	7,36026
8	WU_10.2_8_32387050	rs332019107	30772022	7,20771
8	ASGA0039821	rs81404027	121524222	8,39076
8	ALGA0049466	rs81404031	121536377	8,39076
8	WU_10.2_8_130758954	rs326825533	121572702	8,89076
8	ASGA0039827	rs80913047	121609989	8,89076
8	MARC0113660	rs80797476	122083319	8,39794
10	WU_10.2_10_20661498	rs344336229	18272849	7,83029
10	ALGA0059073	rs81425099	47429091	7,33029
14	WU_10.2_14_5560819	rs344201011	5277812	7,00778
14	ALGA0074557	rs80812523	5292622	7,50778
14	MARC0104617	rs80871561	5311095	7,00778
14	WU_10.2_14_5848439	rs328508801	5521589	7,57358
14	WU_10.2_14_5911768	rs340328825	5584916	7,70771
14	WU_10.2_14_5917284	rs327345628	5590432	7,70771
15	WU_10.2_15_141498643	rs330863154	127795307	7,01715
15	WU_10.2_15_141481865	rs339891372	127812049	7,01715
15	WU_10.2_15_141694943	rs327375412	127986551	8,44016
15	ALGA0087711	rs81455487	128122566	7,41857
15	ASGA0090255	rs81478815	128281740	7,00476
15	WU_10.2_15_142099381	rs343769713	128294153	7,18133
1	ASGA0000285	rs81350668	1896106	5,83264
1	WU_10.2_1_3091800	rs326245031	1920518	5,83264
1	WU_10.2_1_311276737	rs346362251	145590416	5,97822
1	WU_10.2_1_311246650	rs329880727	145620082	5,97822
1	WU_10.2_1_311418877	rs326068358	145643981	5,97822

1	WU_10.2_1_306030961	rs341421843	272022087	6,21118
1	WU_10.2_1_306198036	rs324737773	272139029	6,71118
2	ALGA0104242	rs81331380	16971983	6,18343
2	WU_10.2_2_130805223	rs322004585	125512462	5,986
3	MARC0021428	rs81290188	287497	6,26415
3	WU_10.2_3_69741	rs319317542	290463	6,26415
3	WU_10.2_3_740092	rs340232345	653684	6,45494
3	WU_10.2_3_797466	rs343208916	684615	5,82446
3	WU_10.2_3_807509	rs81266751	690246	6,45494
3	WU_10.2_3_883839	rs325334005	765699	5,82446
3	WU_10.2_3_905589	rs332310793	787569	5,92175
3	WU_10.2_3_1619590	rs327867361	1358261	6,08814
3	ASGA0090008	rs81308254	12674092	6,1449
3	WU_10.2_3_54377933	rs318272937	51855728	6,58919
3	INRA0010640	rs326313151	54482907	6,22373
3	ALGA0108239	rs81475298	54583215	6,22959
3	WU_10.2_3_73716489	rs324715003	70362246	6,08919
3	WU_10.2_3_73827059	rs343811883	70398974	6,08919
3	WU_10.2_3_73816292	rs322935245	70405384	6,08919
3	WU_10.2_3_99101273	rs335338546	93131593	6,62526
3	DIAS0000847	rs323557679	93146149	6,12526
3	WU_10.2_3_134403838	rs320527176	125573762	5,94059
3	H3GA0052445	rs81330309	125578720	6,44059
3	MARC0114235	rs81224522	125581114	5,94059
4	WU_10.2_4_6689709	rs324314880	6924861	5,90174
4	H3GA0013670	rs80932503	97357720	5,99393
4	ASGA0101139	rs80838298	97462229	5,9466
4	MARC0011217	rs80800170	100099034	6,09634
4	ASGA0021414	rs80908839	100917120	6,72366
4	WU_10.2_4_110805778	rs334915501	100943825	6,72366
4	ALGA0027376	rs81382510	101085844	6,55478
4	WU_10.2_4_111208001	rs331565480	101306504	6,89276
5	ALGA0121100	rs81328640	65058807	6,01981
5	WU_10.2_5_67308033	rs318930580	65081513	6,01981
6	H3GA0054834	rs81306837	167518152	5,90174
7	WU_10.2_7_122125882	rs326527967	115261795	6,40249
7	CASI0004483	rs330303348	115347654	5,94338
7	DRGA0008197	-	115464814	6,44338
8	ALGA0118448	rs81325350	2751642	6,16999

8	WU_10.2_8_4449180	rs320673017	2786780	6,16999
8	WU_10.2_8_4489171	rs323215937	2825992	6,16999
8	ASGA0082595	rs81332549	2878443	5,96063
8	M1GA0011703	rs81406450	3396365	6,11706
8	WU_10.2_8_2460836	rs331631066	4755563	5,99462
8	WU_10.2_8_2414437	rs322757873	4803383	6,28837
8	WU_10.2_8_6878675	rs331004548	7513418	6,48511
8	WU_10.2_8_6775010	rs342686480	7544423	5,98511
8	M1GA0024188	rs81330660	7606509	6,48511
8	ASGA0102531	rs81476903	7753343	5,98511
8	WU_10.2_8_7280341	rs339000610	7823398	6,84955
8	WU_10.2_8_7263465	rs324637009	7841394	6,84955
8	WU_10.2_8_7469614	rs341327714	7994852	6,26275
8	ASGA0037616	rs81399851	8211365	6,46683
8	WU_10.2_8_7764319	rs345506246	8293067	6,031
8	ALGA0046197	rs81399793	8306919	6,031
8	ASGA0037612	rs80805343	8320573	6,20363
8	ALGA0046190	rs81399745	8340568	6,70363
8	ASGA0093104	rs81311994	9009666	6,40141
8	MARC0077121	rs81262359	9079310	6,50234
8	ALGA0102711	rs81329579	11255972	6,67208
8	ALGA0046443	rs81401332	11931877	6,862
8	ALGA0046479	rs81401724	12188772	6,4033
8	DRGA0008310	rs341387385	12217635	5,9033
8	ALGA0046473	rs81401659	12230108	5,9033
8	ASGA0100605	rs81476874	12351405	6,93391
8	WU_10.2_8_12685200	rs325979027	12888246	6,20356
8	ALGA0107910	rs81335736	13557904	5,99201
8	MARC0081753	rs81265303	13639109	6,88633
8	WU_10.2_8_16219687	rs343901393	15770741	6,31708
8	ALGA0046607	rs81404336	16044016	6,46955
8	WU_10.2_8_16404007	rs330232159	16055068	6,46955
8	WU_10.2_8_16430384	rs343061329	16081443	6,8629
8	ALGA0046615	rs81404476	16117100	6,93883
8	WU_10.2_8_16482522	rs342173804	16133583	6,93883
8	WU_10.2_8_16709241	rs346187591	16362363	6,20161
8	WU_10.2_8_16921650	rs342414938	16646670	6,67208
8	WU_10.2_8_16888864	rs340694799	16651633	6,67208
8	WU_10.2_8_17446171	rs345028815	17058799	6,31708

8	ALGA0046799	rs81406639	19674492	6,67547
8	H3GA0056590	rs81476739	19726922	6,95027
8	ALGA0111129	rs81339525	19733457	6,45027
8	ASGA0084078	rs81341147	20111114	5,96955
8	WU_10.2_8_20523821	rs331269904	20149965	5,96955
8	WU_10.2_8_20972177	rs338987196	20539848	6,39526
8	ALGA0046848	rs81406765	20545609	6,89526
8	ALGA0046856	rs81406807	20576000	6,41857
8	MARC0008642	rs81253173	20615187	6,41857
8	MARC0075502	rs81260466	20792050	6,01715
8	MARC0065652	rs81253216	20805860	6,51715
8	ALGA0046899	rs81406915	20831553	6,51715
8	ALGA0046934	rs81406998	21353319	6,60843
8	ALGA0111870	rs81340356	21365378	6,10843
8	ALGA0046920	rs81406975	21420112	6,10843
8	WU_10.2_8_22078995	rs341777519	21435990	6,60843
8	ASGA0100864	rs81476877	22294540	6,71152
8	ASGA0038198	rs81407028	22376702	6,21152
8	ALGA0046944	rs80896211	22399178	6,21152
8	MARC0058613	rs81248101	22422691	6,21152
8	H3GA0024522	rs81407035	22446465	6,21152
8	ASGA0038200	rs81407038	22460253	6,71152
8	H3GA0024523	rs81407045	22479343	6,21152
8	ALGA0046955	rs81407053	22513475	6,21152
8	WU_10.2_8_24185560	rs328114819	23322676	6,2285
8	WU_10.2_8_24231526	rs342677738	23368524	6,2285
8	DRGA0008418	-	23522783	6,2285
8	WU_10.2_8_24431698	rs339710074	23568144	6,7285
8	ASGA0094767	rs81314020	24709455	6,41857
8	ASGA0038220	rs81398421	24735805	6,41857
8	ASGA0038219	rs81301806	24800283	6,60451
8	WU_10.2_8_26597187	rs338034191	25337330	5,89532
8	ASGA0038253	rs81398555	26464799	6,2285
8	INRA0029430	rs328709303	26499960	6,2285
8	WU_10.2_8_27860263	rs318795469	26635416	6,2285
8	ALGA0047077	rs81398572	26668180	6,2285
8	DRGA0008467	-	26738157	6,7285
8	WU_10.2_8_28019439	rs318439997	26794396	6,2285
8	ASGA0038260	rs81398578	26826418	6,10843

8	DRGA0008472	-	26897969	6,60843
8	ALGA0047084	rs81398583	26919144	6,60843
8	WU_10.2_8_28449760	rs344709369	27072944	6,2285
8	MARC0086383	rs81269457	30554957	6,86026
8	DIAS0001065	rs327729745	30585907	6,70771
8	ALGA0102181	rs81476916	30711947	6,70771
8	ALGA0107131	rs81334796	30720808	6,70771
8	WU_10.2_8_33821007	rs346410811	32154792	5,9033
8	WU_10.2_8_40736689	rs337687493	38636405	5,9707
8	ALGA0123883	rs81323933	39642693	5,82355
8	ALGA0109821	rs81477007	39669734	5,82355
8	WU_10.2_8_118588740	rs343232113	110554839	5,91069
8	WU_10.2_8_118634925	rs319473549	110600521	5,91069
8	ALGA0049286	rs80898019	115105572	6,61913
8	ASGA0039837	rs81404086	121759276	6,00327
8	ALGA0049494	rs81404106	122167380	5,88379
8	WU_10.2_8_131392141	rs342961141	122204176	5,88379
8	WU_10.2_8_131410773	rs327159332	122222760	6,38379
8	ALGA0049500	rs81404123	122235171	6,38379
8	DRGA0008822	-	122257434	6,88379
8	WU_10.2_8_131469079	rs331021528	122280726	6,88379
8	H3GA0025469	rs81404129	122296032	6,88379
8	WU_10.2_8_132716675	rs345534134	123496573	5,94338
8	WU_10.2_8_132732239	rs322726755	123510871	5,94338
9	WU_10.2_9_45897796	rs324870304	41068637	6,35031
10	WU_10.2_10_52192887	rs338752580	47471417	5,90174
11	SIRI0001365	rs338955808	21587010	6,23225
11	WU_10.2_11_51647459	rs327366464	47026029	6,58814
11	WU_10.2_11_51676133	rs344426349	47054202	6,08814
12	H3GA0053692	rs81345387	44074639	5,95971
13	ASGA0058790	rs80946401	126487524	5,97194
13	ALGA0074054	rs80833248	205031120	6,50476
13	MARC0010205	rs81267428	206090733	6,20619
14	ASGA0060697	rs80815078	5269255	6,50778
14	ALGA0074566	rs80971521	5335098	6,50778
14	ASGA0060707	rs81450780	5350561	6,51444
14	ASGA0060711	rs81450787	5364955	6,51444
14	WU_10.2_14_9992257	rs327160333	8885439	5,83444
14	ALGA0074932	rs80998523	8915195	5,83444

14	WU_10.2_14_10149904	rs80914746	8934274	5,83444
14	DIAS0003616	rs80863686	8994023	5,83444
14	INRA0042505	rs330672045	10255503	6,50476
14	DIAS0004697	rs328710064	10274713	6,00476
14	ASGA0061212	rs80946357	10327418	6,00476
14	ASGA0061216	rs80921520	10353838	6,00476
14	ASGA0061369	rs81449530	11345562	5,97921
14	WU_10.2_14_12552456	rs342580018	11373357	5,97921
14	WU_10.2_14_22449462	rs330236340	20994002	5,82355
14	ALGA0076603	rs80881241	27973397	5,89527
15	WU_10.2_15_157276331	rs328612500	253415	6,40471
15	WU_10.2_15_21436654	rs323291033	18910768	6,09157
15	ALGA0084305	rs81451740	19779255	5,83538
15	ALGA0084318	rs81451766	19823657	5,83538
15	H3GA0043933	rs81451760	19839445	5,83538
15	M1GA0020477	rs80850433	123795801	6,66111
15	WU_10.2_15_137255544	rs337587353	123819897	6,66111
15	WU_10.2_15_137264573	rs342290003	123828922	6,16111
15	ALGA0087297	rs80991817	123851318	6,16111
15	WU_10.2_15_134747336	rs328556701	125369618	6,58493
15	WU_10.2_15_134742181	rs343769895	125374772	6,08493
15	H3GA0045249	rs80954901	127956990	6,18343
15	WU_10.2_15_141637359	rs323436834	127966755	6,18343
15	WU_10.2_15_141579158	rs327349054	128011020	5,90471
15	ALGA0087733	rs81455538	128094691	6,41857
15	WU_10.2_15_141781444	rs318756683	128116535	6,91857
15	ASGA0071096	rs81455493	128134524	6,09634
15	MARC0087583	rs81269190	128318515	6,83958
15	WU_10.2_15_142061058	rs341968839	128332463	5,89507
15	ASGA0091187	rs81478818	128346116	5,89507
15	WU_10.2_15_142038363	rs341298818	128355148	5,89507
15	MARC0024250	rs81292676	128364437	6,39507
16	MARC0077362	rs81262407	1468107	5,986
16	WU_10.2_16_1349729	rs325728808	1479770	5,986
16	MARC0108036	rs81282967	29891002	6,1175
17	H3GA0048589	rs81466088	32836412	6,15127
18	ALGA0097170	rs81471918	15022751	6,01981
18	ALGA0097174	rs81471925	15056071	6,51981

High significant SNPs (score $\geq 9,92280$); moderate significance SNPs (score interval of $\geq 6,96683$ and $< 9,92280$); suggestive significance SNPs (score interval of $\geq 5,82355$ and $< 6,96683$).

Table 5: Annotated genes in regions associated to scrotal hernia using Blossoc software.

SSC	Reg	Gene Stable ID	Transcript Name	Start	Final
1	1	ENSSSCG00000027404	<i>UNC93A</i>	1930020	1958145
1	1	ENSSSCG00000032403	<i>TCP10L2</i>	1980555	1997233
1	1	ENSSSCG00000024562	<i>CCR6</i>	2018608	2019821
1	2	ENSSSCG00000040655	<i>U6</i>	145443754	145443860
1	2	ENSSSCG00000005785	<i>PCSK6</i>	145508636	145697009
1	2	ENSSSCG00000005786	<i>SNRPA1</i>	145707412	145719386
1	2	ENSSSCG00000005787	<i>CTDP1</i>	145769768	145811678
1	3	ENSSSCG00000005720	<i>MED27</i>	271724910	271928367
1	3	ENSSSCG00000005723	<i>NTNG2</i>	272011948	272077018
1	3	ENSSSCG00000005724	<i>SETX</i>	272095358	272170750
1	3	ENSSSCG00000005725	<i>TTF1</i>	272180406	272212483
1	3	ENSSSCG00000005727	<i>CFAP77</i>	272217072	272363722
2	4	ENSSSCG00000031590	<i>SYT13</i>	17120691	17166953
2	5	ENSSSCG00000014231	<i>FTMT</i>	125392394	125393122
2	5	ENSSSCG00000022656	<i>SRFBP1</i>	125507483	125575710
2	5	ENSSSCG00000014232	<i>LOX</i>	125593116	125607594
3	6	ENSSSCG00000020813	<i>FAM20C</i>	163419	200460
3	6	ENSSSCG00000050310	<i>FOXL1</i>	206547	207945
3	6	ENSSSCG00000007541	<i>PDGFA</i>	303311	323036
3	6	ENSSSCG00000007542	<i>PRKAR1B</i>	327199	425165
3	6	ENSSSCG00000007543	<i>DNAAF5</i>	417324	461817
3	7	ENSSSCG00000007544	<i>SUN1</i>	486020	532979
3	7	ENSSSCG00000040103	<i>GET4</i>	532966	547525
3	7	ENSSSCG00000007547	<i>ADAP1</i>	547367	634437
3	7	ENSSSCG00000038964	<i>COX19</i>	630481	635280
3	7	ENSSSCG00000007549	<i>CYP2W1</i>	642494	648909
3	7	ENSSSCG00000038777	<i>C7orf50</i>	648140	745331
3	7	ENSSSCG00000018712	<i>ssc-mir-339-1</i>	666918	666997
3	7	ENSSSCG00000026422	<i>GPER1</i>	712160	715982
3	7	ENSSSCG00000007554	<i>ZFAND2A</i>	756433	775796
3	7	ENSSSCG00000007555	<i>UNCX</i>	804177	809770
3	8	ENSSSCG00000038766	<i>MAD1L1</i>	1236066	1559041
3	10	ENSSSCG00000008153	<i>SLC9A2</i>	51535798	51623057
3	10	ENSSSCG00000008155	<i>SLC9A4</i>	51686672	51750073
3	10	ENSSSCG00000008157	<i>IL18RAP</i>	51762119	51789965
3	10	ENSSSCG00000032795	<i>IL1RL1</i>	51803165	51951383

3	10	ENSSSCG00000008159	<i>IL18R1</i>	51803404	51902079
3	10	ENSSSCG00000023550	<i>IL1RL2</i>	51980026	52011602
3	11	ENSSSCG00000008179	<i>REV1</i>	54135532	54862224
3	12	ENSSSCG00000008310	<i>EXOC6B</i>	69939173	70546702
3	13	ENSSSCG00000008427	<i>KCNK12</i>	92990220	93044555
3	13	ENSSSCG00000008428	<i>MSH2</i>	93081219	93163628
3	13	ENSSSCG00000008429	<i>EPCAM</i>	93168852	93185653
3	14	ENSSSCG00000008629	<i>ROCK2</i>	125353119	125491963
3	14	ENSSSCG00000019059	<i>U6</i>	125485002	125485113
3	14	ENSSSCG00000008631	<i>SLC66A3</i>	125494417	125507239
3	14	ENSSSCG00000033463	<i>KCNF1</i>	125664365	125665879
4	15	ENSSSCG00000018757	<i>ssc-mir-30d</i>	6948669	6948747
4	15	ENSSSCG00000019231	<i>ssc-mir-30b</i>	6952794	6952869
4	15	ENSSSCG00000030947	<i>ZFAT</i>	7016753	7374053
4	16	ENSSSCG00000006610	<i>S100A11</i>	97233499	97243423
4	16	ENSSSCG00000006612	<i>S100A10</i>	97261815	97272513
4	16	ENSSSCG00000006614	<i>THEM5</i>	97349021	97358440
4	16	ENSSSCG00000021540	<i>C2CD4D</i>	97368453	97369514
4	16	ENSSSCG00000026427	<i>RORC</i>	97375136	97400231
4	16	ENSSSCG00000026259	<i>LINGO4</i>	97400876	97406473
4	16	ENSSSCG00000027770	<i>TDRKH</i>	97415894	97438691
4	16	ENSSSCG00000027091	<i>OAZ3</i>	97439993	97448493
4	16	ENSSSCG00000028343	<i>MRPL9</i>	97448169	97474061
4	16	ENSSSCG00000041677	<i>RIIAD1</i>	97495798	97507684
4	16	ENSSSCG00000006618	<i>CELF3</i>	97514224	97528481
4	16	ENSSSCG00000006619	<i>SNX27</i>	97525151	97620789
4	17	ENSSSCG00000006697	<i>ACP6</i>	99930361	99968412
4	17	ENSSSCG00000006698	<i>BCL9</i>	99970395	100058188
4	18	ENSSSCG00000024481	<i>PDE4DIP</i>	100646938	100863250
4	18	ENSSSCG00000029963	<i>U6</i>	100772103	100772206
4	18	ENSSSCG00000020964	<i>SEC22B</i>	100880914	100906062
4	18	ENSSSCG00000006709	<i>NOTCH2</i>	100951507	101150198
4	18	ENSSSCG00000006713	<i>ADAM30</i>	101314710	101316893
4	18	ENSSSCG00000040947	<i>REG4</i>	101337282	101357025
4	18	ENSSSCG00000036808	<i>HMGCS2</i>	101385512	101443405
4	18	ENSSSCG00000006717	<i>PHGDH</i>	101408308	101478144
4	18	ENSSSCG00000006718	<i>ZNF697</i>	101521766	101548728
4	18	ENSSSCG00000006719	<i>HSD3B1</i>	101550934	101573828
4	18	ENSSSCG00000006720	<i>HAO2</i>	101588861	101787823

5	19	ENSSSCG0000000712	<i>VWF</i>	64519186	65002098
5	19	ENSSSCG00000033544	<i>NTF3</i>	65052517	65123788
6	20	ENSSSCG00000034059	<i>ST3GAL3</i>	167363355	167595871
6	20	ENSSSCG00000035849	<i>PTPRF</i>	167656680	167743721
6	20	ENSSSCG00000018576	<i>U6</i>	167753449	167753555
6	20	ENSSSCG00000003940	<i>HYI</i>	167809093	167816779
6	20	ENSSSCG00000003941	<i>SZT2</i>	167811594	167861307
7	21	ENSSSCG00000040253	<i>FAM181A</i>	115184995	115206690
7	21	ENSSSCG00000002467	<i>ASB2</i>	115207557	115258654
7	21	ENSSSCG00000039415	<i>CCDC197</i>	115280586	115295931
7	21	ENSSSCG00000002469	<i>OTUB2</i>	115304870	115327056
7	21	ENSSSCG00000002470	<i>DDX24</i>	115325619	115352929
7	21	ENSSSCG00000035297	<i>ISG12(A)</i>	115356519	115363069
7	21	ENSSSCG00000002474	<i>PPP4R4</i>	115412448	115522688
7	21	ENSSSCG00000002475	<i>SERPINA6</i>	115535694	115554570
7	21	ENSSSCG00000002476	<i>SERPINA1</i>	115604285	115614633
7	22	ENSSSCG00000002495	<i>SYNE3</i>	116665430	116770309
7	22	ENSSSCG00000020462	<i>SCARNA13</i>	116785959	116786234
7	22	ENSSSCG00000002496	<i>GLRX5</i>	116787432	116800554
7	22	ENSSSCG00000002497	<i>TCL1B</i>	116912976	116917934
8	23	ENSSSCG00000032151	<i>CPZ</i>	2620768	2642524
8	23	ENSSSCG00000033873	<i>TRMT44</i>	2678905	2708418
8	23	ENSSSCG00000008724	<i>ACOX3</i>	2716914	2775333
8	23	ENSSSCG00000008723	<i>HTRA3</i>	2793797	2820185
8	23	ENSSSCG00000008722	<i>SH3TC1</i>	2846004	2883958
8	23	ENSSSCG00000008721	<i>ABLIM2</i>	2916788	3054966
8	24	ENSSSCG00000037539	<i>SORCS2</i>	3207098	3760393
8	24	ENSSSCG00000008714	<i>PSAPL1</i>	3511207	3516207
8	25	ENSSSCG00000008710	<i>JAKMIP1</i>	4492340	4616266
8	25	ENSSSCG00000022896	<i>CRMP1</i>	4734200	4805645
8	25	ENSSSCG00000032637	<i>EVC</i>	4809155	4891257
8	25	ENSSSCG00000024399	<i>EVC2</i>	4893505	5023644
8	26	ENSSSCG00000036501	<i>WDR1</i>	6413347	6452346
8	26	ENSSSCG00000029711	<i>ZNF518B</i>	6559075	6576162
8	26	ENSSSCG00000022448	<i>CLNK</i>	6608231	6770094
8	27	ENSSSCG00000021515	<i>HS3ST1</i>	7389774	7423869
8	27	ENSSSCG00000019000	<i>U6</i>	7631365	7631472
8	27	ENSSSCG00000022358	<i>RAB28</i>	8774795	9125237
8	27	ENSSSCG00000034181	<i>NKX3-2</i>	9180233	9182693

8	27	ENSSSCG0000008735	<i>BOD1L1</i>	9197036	9254386
8	28	ENSSSCG0000008742	<i>CD38</i>	11083682	11130785
8	28	ENSSSCG0000008741	<i>FGFBP1</i>	11186368	11189241
8	28	ENSSSCG0000008745	<i>PROM1</i>	11215659	11317312
8	28	ENSSSCG00000021828	<i>TAPT1</i>	11365431	11416289
8	28	ENSSSCG00000029227	<i>LDB2</i>	11641060	12037265
8	28	ENSSSCG00000034811	<i>QDPR</i>	12335252	12549603
8	28	ENSSSCG00000023941	<i>CLRN2</i>	12551892	12564379
8	28	ENSSSCG00000023604	<i>LAP3</i>	12590330	12619102
8	28	ENSSSCG00000029989	<i>MED28</i>	12624109	12635334
8	28	ENSSSCG00000026232	<i>FAM184B</i>	12634367	12741488
8	28	ENSSSCG00000040393	<i>DCAF16</i>	12750694	12751963
8	28	ENSSSCG00000008747	<i>NCAPG</i>	12759639	12810050
8	28	ENSSSCG00000008748	<i>LCORL</i>	12806878	12969296
8	29	ENSSSCG00000008749	<i>SLIT2</i>	14756619	15149510
8	29	ENSSSCG00000023893	<i>ssc-mir-218-1</i>	15047602	15047685
8	30	ENSSSCG00000023934	<i>KCNIP4</i>	15211916	16346170
8	30	ENSSSCG00000008753	<i>ADGRA3</i>	16666603	16787256
8	31	ENSSSCG00000008754	<i>GBA3</i>	16897317	17137315
8	32	ENSSSCG00000022446	<i>SEL1L3</i>	19535483	19649695
8	32	ENSSSCG00000040571	<i>SMIM20</i>	19701078	19714561
8	33	ENSSSCG00000022155	<i>RBPJ</i>	19922779	20166755
8	33	ENSSSCG00000023501	<i>CCKAR</i>	20186189	20199477
8	33	ENSSSCG00000008761	<i>TBC1D19</i>	20254765	20370215
8	34	ENSSSCG00000029272	<i>U6</i>	20444769	20444881
8	34	ENSSSCG00000008762	<i>STIM2</i>	20456363	20609282
8	37	ENSSSCG00000008765	<i>PCDH7</i>	23459475	23872006
8	41	ENSSSCG00000008785	<i>FAM114A1</i>	30114602	30274165
8	41	ENSSSCG00000023785	<i>TMEM156</i>	30289407	30342607
8	41	ENSSSCG00000008787	<i>KLHL5</i>	30361386	30440754
8	41	ENSSSCG00000008789	<i>WDR19</i>	30463862	30553703
8	41	ENSSSCG00000008788	<i>RFC1</i>	30552375	30635880
8	41	ENSSSCG00000026297	<i>KLB</i>	30653572	30691349
8	41	ENSSSCG00000029385	<i>LIAS</i>	30699330	30720335
8	41	ENSSSCG00000030150	<i>UGDH</i>	30725288	30759326
8	41	ENSSSCG00000021793	<i>SMIM14</i>	30765418	30840363
8	41	ENSSSCG00000033602	<i>UBE2K</i>	30887829	30963762
8	42	ENSSSCG00000022168	<i>APBB2</i>	31921587	32301975
8	42	ENSSSCG00000031454	<i>U6</i>	32188097	32188203

8	43	ENSSSCG0000008826	<i>FRYL</i>	38397375	38697206
8	43	ENSSSCG00000018511	<i>U6</i>	38537473	38537574
8	43	ENSSSCG0000008829	<i>OCIAD2</i>	38732820	38793234
8	44	ENSSSCG00000036284	<i>USP46</i>	39517512	39581727
8	44	ENSSSCG0000008835	<i>RASL11B</i>	39702613	39708167
8	44	ENSSSCG0000008836	<i>SCFD2</i>	39715534	40145887
8	45	ENSSSCG00000009128	<i>AP1AR</i>	110386776	110505320
8	46	ENSSSCG00000032094	<i>DKK2</i>	114862228	114974322
8	47	ENSSSCG00000028420	<i>EIF4E</i>	121409731	121466899
8	47	ENSSSCG00000029813	<i>TSPAN5</i>	121657322	121843242
8	47	ENSSSCG00000022353	<i>RAP1GDS1</i>	121866803	122007452
8	48	ENSSSCG00000019720	<i>U6</i>	122034253	122034355
8	48	ENSSSCG00000009188	<i>STPG2</i>	122115066	122441327
8	48	ENSSSCG00000033468	<i>U6</i>	122373559	122373665
9	50	ENSSSCG00000015045	<i>NCAM1</i>	40628750	40960608
9	50	ENSSSCG00000015047	<i>TTC12</i>	40988918	41046900
9	50	ENSSSCG00000015048	<i>DRD2</i>	41068779	41133599
10	51	ENSSSCG00000010879	<i>KIF26B</i>	17711443	18219870
10	51	ENSSSCG00000022034	<i>SMYD3</i>	18267603	19019537
10	52	ENSSSCG00000011056	<i>FRMD4A</i>	47385718	48049718
11	53	ENSSSCG00000038733	<i>SIAH3</i>	21501549	21562077
11	53	ENSSSCG00000009417	<i>SPERT</i>	21612034	21622392
12	55	ENSSSCG00000017753	<i>KSR1</i>	43985740	44135833
12	55	ENSSSCG00000017754	<i>LGALS9</i>	44140471	44173634
12	55	ENSSSCG00000017755	<i>NOS2</i>	44174944	44327111
13	56	ENSSSCG00000011811	<i>LPP</i>	125782471	126489650
13	57	ENSSSCG00000024336	<i>TMPRSS2</i>	204876561	204902561
13	57	ENSSSCG00000020673	<i>KRTAP1012</i>	204986825	204988525
13	57	ENSSSCG00000012083	<i>RIPK4</i>	205127239	205153007
13	57	ENSSSCG00000012084	<i>PRDM15</i>	205173515	205241458
13	58	ENSSSCG00000030016	<i>PDE9A</i>	205938334	206034981
13	58	ENSSSCG00000023078	<i>WDR4</i>	206074943	206094297
13	58	ENSSSCG00000021991	<i>NDUFV3</i>	206111408	206127732
13	58	ENSSSCG00000037663	<i>PKNOX1</i>	206151647	206195470
13	58	ENSSSCG00000040779	<i>CBS</i>	206205946	206230243
14	60	ENSSSCG00000009648	<i>NEFM</i>	8961911	8967912
14	60	ENSSSCG00000009649	<i>NEFL</i>	8990750	8997300
14	61	ENSSSCG00000009657	<i>PPP2R2A</i>	10195443	10284709
14	61	ENSSSCG00000009658	<i>BNIP3L</i>	10318714	10345683

14	61	ENSSSCG0000009659	<i>PNMA2</i>	10422331	10428389
14	61	ENSSSCG00000030130	<i>DPYSL2</i>	10427500	10545703
14	62	ENSSSCG0000009665	<i>CHRNA2</i>	11191842	11207381
14	62	ENSSSCG0000009666	<i>EPHX2</i>	11216977	11293412
14	62	ENSSSCG0000009667	<i>GULO</i>	11300044	11336155
14	62	ENSSSCG0000009668	<i>CLU</i>	11336590	11352475
14	62	ENSSSCG00000020846	<i>SCARA3</i>	11367427	11410978
14	62	ENSSSCG00000024972	<i>CCDC25</i>	11455957	11495075
14	62	ENSSSCG0000009670	<i>ESCO2</i>	11496665	11532895
14	63	ENSSSCG00000029331	<i>PALLD</i>	20678451	21020125
14	63	ENSSSCG0000009720	<i>DDX60</i>	21083350	21163563
14	64	ENSSSCG0000009754	<i>TMEM132B</i>	27707897	28075396
14	64	ENSSSCG0000009755	<i>AACS</i>	28109841	28169609
15	65	ENSSSCG00000016399	<i>STAM2</i>	115119	168657
15	65	ENSSSCG00000029073	<i>CACNB4</i>	186315	459856
15	66	ENSSSCG00000023479	<i>NCKAP5</i>	18800620	19462259
15	67	ENSSSCG00000015707	<i>GPR39</i>	19557918	19798053
15	67	ENSSSCG00000015709	<i>SLC35F5</i>	19919999	19971710
15	69	ENSSSCG00000023032	<i>SCG2</i>	125419847	125426278
15	70	ENSSSCG00000019560	<i>U6</i>	127651685	127651795
15	70	ENSSSCG00000025729	<i>IRS1</i>	128245846	128308335
15	70	ENSSSCG00000016243	<i>RHBDD1</i>	128346373	128469213
15	70	ENSSSCG00000016244	<i>COL4A4</i>	128472228	128612379
16	71	ENSSSCG00000016780	<i>CTNND2</i>	508634	1521611
16	72	ENSSSCG00000026527	<i>HCN1</i>	29439263	29809748
17	73	ENSSSCG00000007166	<i>PTPRA</i>	32633612	32797104
17	73	ENSSSCG00000007167	<i>VPS16</i>	32803412	32825950
17	73	ENSSSCG00000007168	<i>PCED1A</i>	32825998	32831044
17	73	ENSSSCG00000007169	<i>TMEM239</i>	32838160	32838618
17	73	ENSSSCG00000040428	<i>C20orf141</i>	32839362	32840174
17	73	ENSSSCG00000007170	<i>CPXM1</i>	32845254	32852063
17	73	ENSSSCG00000007171	<i>EBF4</i>	32874820	32944765
17	73	ENSSSCG00000007173	<i>IDH3B</i>	32955101	32960106
17	73	ENSSSCG00000027676	<i>NOP56</i>	32960099	32965370
17	73	ENSSSCG00000018196	<i>SNORD57</i>	32961509	32961580
17	73	ENSSSCG00000018650	<i>SNORD56</i>	32961837	32961907
17	73	ENSSSCG00000018372	<i>SNORD86</i>	32962324	32962409
17	73	ENSSSCG00000019046	<i>SNORD110</i>	32964197	32964264
17	73	ENSSSCG00000007172	<i>TMC2</i>	32977995	33048080

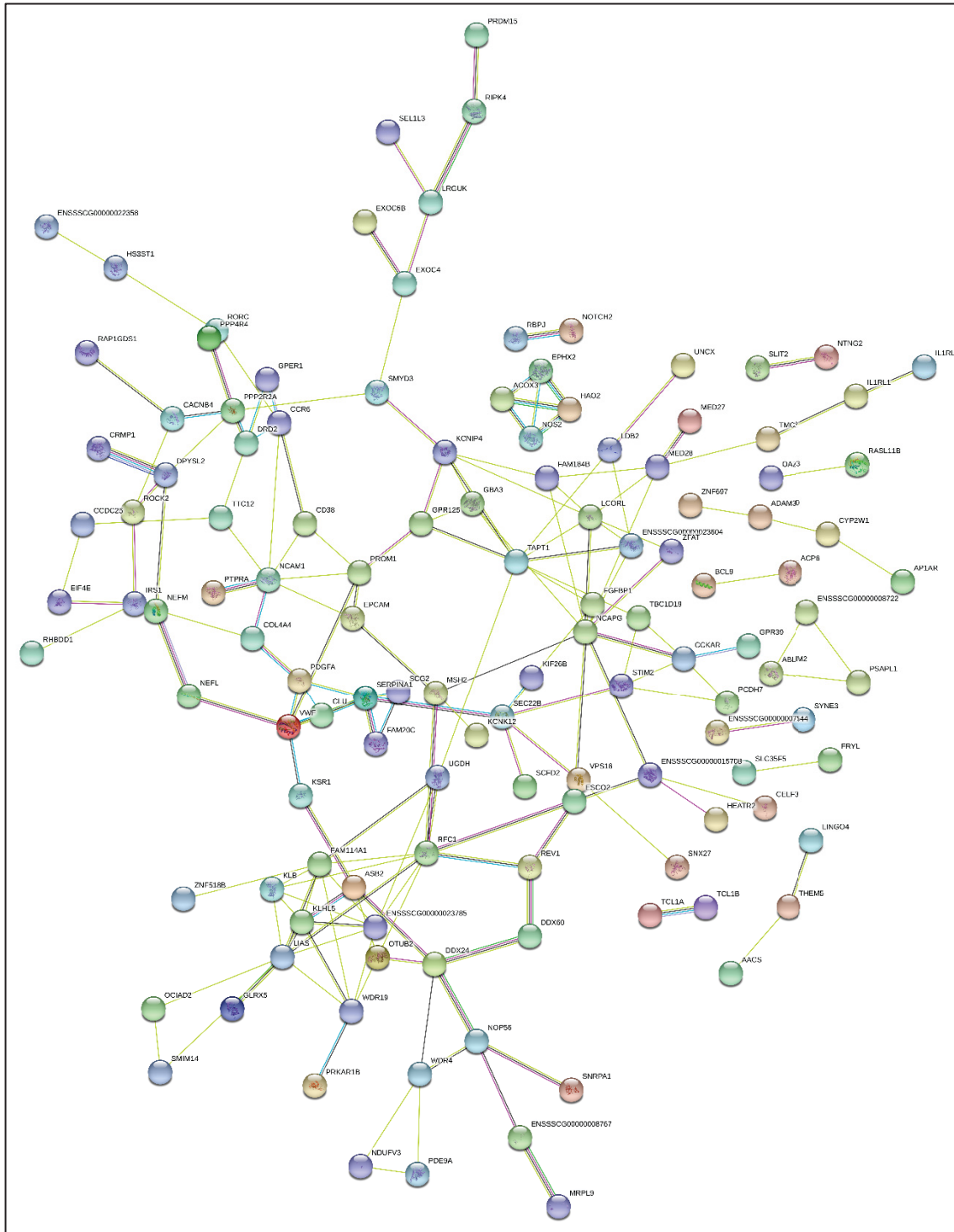


Figure 8: Gene network constructed with genes located in regions associated to SH in pigs with the multiple marker methodology, using Blossoc. Colored circles represent genes and lines represent the predicted interactions between genes. The light blue and purple lines are known interactions from curated databases and experimentally determined, respectively. The red, green and dark blue lines are predicted interactions from gene neighborhood, gene fusions and gene co-occurrence, respectively. The yellow and black lines are other types of interactions from text mining and co-expression, respectively.

3.5 DISCUSSION

Studies trying to understand the genetic mechanisms involved in the manifestation of hernias in pigs has gained prominence in the scientific community in the last years due to the high economic losses, the negative impact on animal welfare and the possibility of using the pig as an animal model for herniation in human medicine (VODIČKA et al., 2005; GROENEN et al., 2012; LAGO et al., 2018). In the United States, for example, expenditures attributable to inguinal hernia treatments in humans exceed \$ 2.5 billion per year and are one of the most common procedures performed in surgical practice (MATTHEWS; NEUMAYER, 2008; ZENDEJAS et al., 2013). In Brazil, hernias affect about 25% of the country's adult population and it is the most performed surgery by general surgeons (DATASUS, 2019).

The genetic mechanism involved in the development of scrotal hernia in pigs is still unclear. Some QTL regions are described in the literature, as well as some candidate genes, since the disease has a polygenic character (GRINDFLEK et al. 2006). The QTL regions already identified are on chromosomes 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 17 and X (GRINDFLEK et al., 2006; SEVILLANO et al., 2015). Some candidate genes already described are *GUSB*, *HOXA10*, *ZFPM2*, *COL2 α 1*, *MMP*, *COL23A1*, *ELF5* and *INSL3* (KNORR et al., 2004; BECK et al., 2006; ZHAO et al., 2009; DU et al., 2009). In the present study, using two association methodologies, genomic regions were significantly associated with scrotal hernia. The most significant SNPs were observed exclusively on chromosomes 8 and 15, in the analyses of both software. Some prospected genes were also common to both approaches, among them *IL18RAP*, *IL1RL1*, *IL18RL1*, *CLNK*, *FRYL* and *DRD2*, while others were observed exclusively in the single marker (*KIAA1109*, *IL21* and *IL2*), or exclusively in the multiple markers association analyses, for example *RAB28*, *SLIT2*, *COL4A4*, *SERPINA1* and *SERPINA6*, among others. From these significant regions of the genome, new genes were prospected and associated with the manifestation of scrotal hernia. The genes will be discussed based on the graphs generated by the STRING database (Figures 7 and 11).

The GWAS was performed using two different approaches. The Plink software performed the test of single markers while the Blossoc tested multiple markers simultaneously. Although Blossoc is a haplotype-based method, each SNP receives its own score based on the SNPs from their neighborhood, taking into account the

linkage disequilibrium between SNPs. Therefore, this methodology is able to detect SNPs of medium or small effect, which may be affecting the trait, better than with single marker analysis (LEDUR; NAVARRO; PÉREZ-ENCISO, 2009). Although tests using single markers are the most commonly used (BECKER; HEROLD, 2009), there are reports of the type 1 statistical error, where the null hypothesis is rejected, when it should be accepted (LI; LEAL, 2008).

3.5.1 Single marker association using Plink software

3.5.1.1 Changes in muscle caused by inflammation

From the genes identified in this case and control study, obtained from the single marker methodology in Plink software, it was possible to observe a group (cluster) related to the immune system and to the development of the inflammatory response: several interleukin family genes such as *IL18RAP*, *IL1RL1*, *IL18R1*, *IL21*, *IL2* (suggestive significance) and *CLNK* (high significance). The proteins encoded by the *IL18RAP*, *IL1RL1* and *IL18R1* genes are involved in biological processes related to interleukin, a cytokine influencing the inflammatory response at the site of tissue damage, produced by several types of cells, especially leukocytes (OLIVEIRA et al., 2011).

The *CLNK* gene, also known as *MIST* (Mast Cell Immunoreceptor Signal Transducer) (GENECARDS, 2019), had a high association with the manifestation of SH in this study (p -value $3,134 \times 10^{-6}$). The protein encoded by this gene is related to the regulation of positive immunoreceptor signaling (YU; RIOU; DAVIDSON, 2001). Xu et al. (2015) investigated the role of *CLNK* on mouse cells and observed that this gene is involved in cell death induced by TNF (tumor necrosis factor). In addition, the cells of animals with *CLNK* deficiency (*CLNK mut*) showed resistance to TNF-induced cell death. TNF is one of the necessary components for the extrinsic pathway of the apoptosis process (TANYEL, 2004).

Proteins involved with the inflammatory mechanism can directly interfere with the physiological metabolism of the muscle leading to the development of abnormalities. Inflammation of muscle tissue leads to muscle weakness and the persistence of inflammation can cause the muscle to develop fibrosis, that is an abnormal increase in connective tissue, making the functionality of the muscle

compromised (LIEBER; WARD, 2013). In this way, the genes involved in the regulation of inflammation are strong candidates for causing scrotal hernia in pigs.

Moreover, another gene possibly related to the inflammatory response is *KIAA1109* (Fragile Site-Associated Protein), which was close to a SNP suggestively associated with SH in this study. The biological function of the protein encoded by this gene is still not well understood. Its role in the autoimmune response has already been studied; however, the authors have not obtained conclusive results (TEIXEIRA et al., 2009; BOUZID et al., 2014). It also appears to play a role in regulating growth and epithelial differentiation in mammals (GENECARDS, 2020).

3.5.1.2 Changes in muscle structure

The *FRYL* gene (*FRY Like Transcription Coactivator*), located on SSC8 (NCBI, 2019), acts during morphogenesis, maintaining the integrity of polarized cell extensions and regulating the actin cytoskeleton (GENECARDS, 2019). The location of this gene in the porcine genome is close to a QTL region for scrotal hernia (QTL 8776) (HU; PARK; REECY, 2016). An important paralogous of the *FRYL* gene is the *FRY*, sharing about 60% of its identity in the amino acid sequence and with the ability to perform similar functions in vertebrates (NAGAI; MIZUNO, 2014; BYUN et al., 2018). The functions of the protein encoded by the *FRYL* gene are still uncertain, but appear to be similar to those of its *FRY* paralogous (BYUN et al., 2018). In humans, one of the functions described for the *FRYL* gene is the regulation of the actin cytoskeleton (UNIPROT, 2020). It is a conserved gene, structurally and functionally, during evolution in several species (BYUN et al., 2018), so this gene is a strong candidate for scrotal hernia in pigs. Other regulating genes for actin expression have already been studied as possible involved in the manifestation of hernias in pigs, for example *ACTA1* and *ACTG2*, which were also differentially expressed between scrotal hernia-affected and normal pigs (ROMANO et al., 2020).

Furthermore, the *WDR1* gene was identified in a region of SNPs of high and moderate significance were mapped to the *WDR1* gene. Located on swine chromosome 8, *WDR1* is able to assist in inducing the disassembly of the actin filaments, an essential cytoskeletal protein that participates in the cell contraction mechanism (YUAN et al., 2014).

The relationship between actin regulatory genes and the manifestation of scrotal hernia can be explained by the actin protein fundamental role in muscle functionality, since actin is a fundamental protein linked to the contractile mechanism of muscle and other cells. Therefore, a failure or a decrease in muscle contraction can compromise the obliteration of the inguinal ring and sphincter mechanism (BRITANNICA ACADEMIC, 2018; ROMANO et al., 2020). In addition, α -actin is one of the components of smooth muscle, present in the vaginal process, involved in the pathogenesis of scrotal hernia (YOUSSEF; RASLAN, 1971).

Byun et al. (2018), analyzing mice mutant for the *FRYL* gene, observed that most of the animals died shortly after birth and the few survivors had kidney defects, such as hydronephrosis and abnormalities in the cell layer of the collecting ducts. Several studies associate hydronephrosis as a secondary condition to herniation, due to compression of the ureter (s) (BURGU, 2010; WAGNER; ARCAND; BAMBERGER, 2004).

3.5.1.3 Non-obliteration of the Processus Vaginalis

Failures during the obliteration of the *processus vaginalis* is one of the main causes of inguinal/scrotal hernia and cryptorchidism (SCORER, FARRINGTON, 1971; RAFAILIDIS et al., 2016). The occurrence of the apoptotic process is essential after the descent of the testicles, so that smooth muscle disappears and the *processus vaginalis* is properly closed (TANYEL et al., 2002).

The *DRD2* gene (Dopamine Receptor D2), located on the pig chromosome 9 (NCBI, 2019) was identified in a suggestive region in this study and has not been previously associated with the development of SH. Dopamine is a monoaminergic neurotransmitter; its receptors are subdivided into D1, D2, D3, D4 and D5 and are involved in motor control, neuroendocrine function and cognitive development (SEEMAN; VAN TOL, 1994). The *DRD2* gene is mapped in a region of chromosomal duplication and has already been associated with brain defects, such as intellectual disability, microcephaly and brain malformations in humans (BEN-ABDALLAH-BOUHJAR et al., 2013). Changes in this gene are also related to brain and behavioral disorders such as schizophrenia, attention deficit hyperactivity disorder (BERTOLINO et al., 2009; RIPKE et al., 2014; KIM et al., 2018). In studies evaluating the partial duplication of chromosome 11 in humans, several clinical signs have been described

in the affected patients, including inguinal hernia (BEN-ABDALLAH-BOUHJAR et al., 2013).

One of the physiological roles played by dopamine outside the nervous system, on the periphery, is sympathetic regulation (MISSALE et al., 1998). Apoptosis of smooth muscle, a necessary mechanism for the physiological obliteration of the vaginal process, is triggered by the decrease in sympathetic tone while simultaneously increasing parasympathetic tone. Thus, failures in the decrease in sympathetic tone, such as changes in time, intensity or duration, can cause hernias (TANYEL, 2004). Therefore, the *DRD2* gene is a strong candidate to manifestation of scrotal hernia.

3.5.2 Multiple marker association using Blossoc Software

3.5.2.1 Changes in the muscle structure

Collagen, one of the most abundant proteins in the body, performs functions directly related to tissue resistance and elasticity. Therefore, changes in collagen controlling genes may be related to the manifestation of scrotal hernia (KLINGE et al., 2000; BENDAVID, 2004). Some genes involved in the collagen metabolic pathway have already been associated with the development of hernias, the most frequently involved in discussions are types I, III and XXIII (KLINGE et al., 1998; DU et al., 2009).

In the present study, the *COL4A4* gene, located on the SSC15, was identified in a region where several SNPs of different levels of significance were associated to SH, which makes this gene a strong candidate for this disorder in pigs. Type 4 collagen is one of the main components that make up the structure of the basement membrane, a component of the extracellular matrix (EMC) of fundamental importance for the support of epithelial tissue (MEGURO et al., 2012). In a healthy organism, the maintenance of the ECM is conducted in a balanced way, with the renewal of the elements, so, the old components are replaced by new ones, in order to maintain the integrity of the tissue (KARSDAL et al., 2013). Therefore, it is possible that changes or failures in this balance result in damage to the quality of the extracellular matrix and to the renewal of epithelial tissue, or even, that there is an abnormal accumulation of ECM, which consequently would result in muscle fibrosis, reducing muscle contractility (LIEBER; WARD, 2013). Thus, the *COL4A4* gene is another strong candidate for scrotal hernia.

As observed in the single marker analysis, the *WDR1* gene was identified in a region of SNPs of high and moderate significance associated to SH in the analysis with multiple markers. The importance of actin regulatory genes and their involvement in the pathogenesis of scrotal hernia has already been described. Thus, the *WDR1* gene was considered a strong candidate for scrotal hernia.

3.5.2.2 Cell involvement

The association analyses performed by both methodologies (single marker and multiple marker) demonstrated the involvement of genes related to the immune response to inflammation. The *IL18RAP*, *IL1RL1* and *IL18R1* genes, involved in biological processes related to interleukin, were prospected in the analyses of both software, strengthening the hypothesis that they are genes possibly involved in the development of scrotal hernia. Several SNPs of high and moderate significance with the multiple marker association were in the region where the *CLNK* gene is located. The protein encoded by the *CLNK* gene is involved in the regulation of immunoreceptor signaling. Since this gene presents several markers of high and moderate significance associated to SH in both methodologies, and exhibits functionality compatible with the involvement of this anomaly, the *CLNK* gene is also a strong candidate to trigger the development of SH.

The genes *SERPINA1* and *SERPINA6*, located on SSC7, were prospected in this study from regions detected by SNPs of suggestive significance. The protein encoded by the *SERPINA1* gene is capable of irreversibly inhibiting serine protease enzymes (GENECARDS, 2020). On the other hand, the protein encoded by the *SERPINA6* gene, although it is in a region containing several other inhibitory genes, acts on hormonal transport and has no inhibitory properties (SILVERMAN et al., 2001). *SERPINA1* is an inhibitor gene, capable of destroying proteases such as elastase, plasmin, thrombin, trypsin, chymotrypsin and plasminogen activator (CARREL; LOMAS, 2002; GENECARDS, 2020). Particularly, elastase is a protease which the main function is the degradation of elastin, a structural protein that forms elastic fibers, essential to maintain the structure of the transversalis fascia (RODRIGUES JUNIOR et al., 2002). Alterations in the genes that control the balance of the extracellular matrix may reduce muscle strength and elasticity, impairing the muscle's response to tension forces, leading to the appearance of inguinal hernia. In studies evaluating inguinal

hernia in humans, imbalances in the metabolism of collagen and elastic fibers may be involved in the predisposition to the development of hernia (RODRIGUES JUNIOR et al., 2002).

3.5.2.3 Alterations in the apoptosis process

Six SNPs associated to SH were located in a region where the *GPER1* gene is mapped, 1 SNP was harboring the *CACNB4* gene and 7 SNPs were close to the *STIM2* gene, all SNP of suggestive significance, except for one of moderate significance close to the *GPER1*. Thus, these genes were considered associated with the development of scrotal hernia in the present study and are listed as candidate genes for the development of this anomaly. The proteins encoded by these genes act directly on the mobilization and/or cellular regulation of calcium (GENECARDS, 2020).

Genes involved with calcium mobilization and/or metabolism (Ca^{2+}) can be strong candidates for the development of scrotal hernia, since this chemical element is involved in the process of cell death, essential for the obliteration of smooth muscle, after testicular descent (BERRIDGE, 1995). Ca^{2+} participates in important processes in the body, such as muscle contractility, it can also stimulate cell death by both necrosis and apoptosis. The necrosis process occurs due to the cytotoxic power of calcium. Therefore, the Ca^{2+} overload activates the cell death process. The regulation of the apoptotic process happens through the mitochondrial permeability mediated by Ca^{2+} which stimulates the release of cytochrome C, present inside the mitochondria and signaling the activation of the caspase chain, proteases responsible for cell death by apoptosis. This cascade of events is called the intrinsic pathway of the apoptosis process (ORRENIUS; ZHIVOTOVSKY; NICOTERA, 2003; TANYEL, 2004).

The *RAB28* gene was prospected only in the multiple marker association analysis, in a region of 41 SNPs associated to SH, most of which were of moderate significance (27 SNPs). This gene is responsible for encoding a protein of the small GTPases related to RAS (Rat Sarcoma Virus) (ROOSING et al., 2013). The best-known functions of these proteins are regulation of cell growth, differentiation and migration (ZHOU; HERBST-ROBINSON; ZHANG, 2012). Also, this gene can negatively regulate the apoptotic process and the migration of endothelial cells (JIANG et al., 2013). The *RAB28* gene was considered a strong candidate for scrotal hernia in

this study, since it had a functional role compatible with the mechanism of development of the anomaly in question.

3.5.2.4 Nervous system involvement

The *DRD2*, *FRYL*, *KIF26B*, *NTNG2*, *NEFL* and *SLIT2* genes prospected in this study enriched bioprocesses related to the nervous system, especially the development of axons and neurons. The *DRD2* (*Dopamine Receptor D2*) and *FRYL* (*FRY Like Transcription Coactivator*) genes were evidenced in both association analyses (Plink and Blossoc), which highlights their involvement with the manifestation of scrotal hernia in swine. The protein encoded by the *KIF26B* gene (*Kinesin Family Member 26B*) belongs to the family of kinesin proteins, characterized as motor proteins, responsible for axonal transport (HASHIMOTO et al., 2012). Studies suggest that this gene is related to the regulation of the synapse, that is, the transmission of nerve impulses (HASHIMOTO et al., 2012; HEINRICH et al., 2012).

The synapse is an essential mechanism for muscle contraction. Consequently, genes involved in the regulation of muscle contraction can be strong candidates for the development of scrotal hernia, since this process is essential for the narrowing of the inguinal ring. Romano et al. (2020) observed that several genes linked to muscle contractility were downregulated in pigs affected with scrotal hernia.

The prospection of *NTNG2*, *NEFL* and *SLIT2* genes involved with axonal processes such as axon orientation, intracellular transport of axons and dendrites, and axonal orientation and neuronal migration, respectively (GENECARDS, 2020), can be due to the role of axons in muscle contractility, since the synapse is transmitted through the axon of the motor neuron. In addition to participating in processes related to axon orientation, the *SLIT2* gene also has a wide expression pattern, and it is suggested that it plays a role in the immune system, being able to inhibit the chemotaxis of leukocytes, blood cells related to the inflammatory response, however, this function has not yet been clarified (WU et al., 2001). It is important to note that the *SLIT2* gene was mapped in a region of 46 SNPs associated to SH, of which 26 were highly significant and 18 had moderate significance, so this gene is a strong candidate for scrotal hernia development. Here, the *SLIT2* gene has been related to the manifestation of scrotal hernia in pigs for the first time.

The *KCNIP4* (Kv channel interacting protein4) gene, prospected in the Blossoc analysis, was considered another strong candidate of triggering scrotal hernia, because it was identified in a region of 38 SNPs associated to SE with different levels of significance, mainly high and moderate levels. Moreover, *KCNIP4* is involved with biological processes of the nervous system, more specifically with the regulation of type A potassium current, responsible for the rate of firing in neurons (WEISSFLOG et al., 2013). The firing rate is essential for the physiological mechanism of muscle flexion/contraction to happen (BIGLAND-RITCHIE et al. 1992). Thus, the *KCNIP4* is an important positional and functional candidate gene for the development of scrotal hernia in pigs.

The *CRMP1* and *DPYSL2* genes, located on SSC8 and SSC14, respectively, were mapped to a region of SNPs suggestively associated to SH and those genes had strong interaction between them (Figure 8). Both encode proteins involved with the response to collapsin (GENECARDS, 2020). The *DPYSL2* gene, better known as *CRMP2* (PHAM et al., 2016), and *CRMP1* are involved in the processes of growth and orientation of axons and dendrites (BRETIN et al., 2005). Abnormalities caused by flaws in genes regulating the development of dendrites and axons, such as deficient muscle contractility, have already been described.

3.6 CONCLUSION

In this study, genes with different functionalities were explored, such as genes related to the modulation of inflammation, genes that act in the regulation of muscle proteins such as actin and collagen, genes that regulate apoptosis and can interfere in the mechanism of obliteration of the vaginal process and, mainly, genes involved with muscle contraction. It is estimated that hundreds of genes may be involved in the manifestation of the scrotal hernia, which highlights its polygenic character. Several genes prospected by both methodologies, of single and multiple markers, as well as the genes unique to each methodology, were marked with SNPs of high and moderate significance and presented functionality compatible with the pathogenesis of the hernia, thus being considered candidates for the scrotal hernia onset. According to our analyses, the *SLIT2*, *RAB28*, *WDR1*, *CLNK*, *COL4A4*, *KCNIP4*, *FRYL*, *DRD2*, *GPER1*, *CANB4* and *STIM2* genes were considered strong candidates for scrotal hernia and, consequently, should be evaluated in future studies.

REFERENCES

- AMATO, G.; AGRUSA, A.; ROMANO, G. et al. Histological findings in direct inguinal hernia. **Hernia**, 17, p. 757-763. Jan. 2013.
- AMATO, G.; MARASA, L.; SCIACCHITANO, T. et al. Histological findings of the internal inguinal ring in patients having indirect inguinal hernia. **Hernia**, 13, p. 259–262. Jun. 2009.
- BATES, O.; STRAW, B. Hernias in growing pigs. **Michigan State University Pork Quarterly**, v. 13, n. 1, p. 9-11. Apr. 2008.
- BECK, J.; BORNEMANN-KOLATZKI, K.; KNORR, C. et al. Molecular characterization and exclusion of porcine GUSB as a candidate gene for congenital hernia inguinalis/scrotalis. **BMC Veterinary Research**, 2, 14. Apr. 2006.
- BECKER T.; HEROLD C. Joint analysis of tightly linked SNPs in screening step of genome-wide association studies leads to increased power. **European Journal of Human Genetics**, 17, 8, p.1043-1049. Aug. 2009.
- BEN-ABDALLAH-BOUHJAR, I.; MOUGOU-ZERELLI, S.; HANNACHI, H. et al. Phenotype and Micro-array characterization of duplication 11q22.1-q25 and review of the literature. **Gene**, v. 519, i. 1, p. 135-141. Apr. 2013.
- BENDAVID, R. The Unified Theory of hernia formation. **Hernia**, 8, p. 171–176. Apr. 2004.
- BERRIDGE, M. J. Calcium signalling and cell proliferation. **BioEssays**, v. 17, i. 6, p. 491-500. Jun. 1995.
- BERTOLINO, A.; FAZIO, L.; CAFORIO, G. et al. Functional variants of the dopamine receptor D2 gene modulate prefronto-striatal phenotypes in schizophrenia. **Brain**, v. 132, i. 2, p. 417-425. Feb. 2009.
- BIGLAND-RITCHIE, B.; THOMAS, C. K.; RICE, C. L. et al. Muscle temperature, contractile speed, and motoneuron firing rates during human voluntary contractions. **Journal of Applied Physiology**, 73, 6, p. 2457-2461. 1992.
- BOSTRÖM, H.; WILLETTS, K.; PEKNY, M. et al. PDGF-A signaling is a critical event in lung alveolar myofibroblast development and alveogenesis. **Cell**, v. 85, i. 6, p. 863-873. Jun. 1996.
- BOUZID, D.; FOURATI, H.; AMOURI, A. et al. Autoimmune diseases association study with the KIAA1109–IL2–IL21 region in a Tunisian population. **Molecular Biology Reports**, v. 41, i. 11, p. 7133–7139. Jul. 2014.
- BRANDT, M. L. Pediatric Hernias. **The Surgical Clinics of North America**, v. 88, n. 1, p. 27–43, 2008.

BRETIN, S.; REIBEL, S.; CHARRIER, E. et al. Differential expression of CRMP1, CRMP2A, CRMP2B, and CRMP5 in axons or dendrites of distinct neurons in the mouse brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 486, i. 1, p. 1-17. Apr. 2005.

BRITANNICA ACADEMIC. Actin. Available in: academic-eb-britannica.ez22.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/actin/3598. Access in: 6 Sep. 2019.

BURGU, B.; RESORLU, B.; SÜER, E. Scrotal hernia of the ureter in association with posterior urethral valves. **Journal of Pediatric Urology**, v. 6, i. 1, p. 87-88. Feb. 2010.

BYUN, Y.; KIM, E.; ARAKI, K. et al. Fryl deficiency is associated with defective kidney development and function in mice. **Experimental Biology and Medicine (Maywood)**, v. 243, i. 5, p. 408–417. Mar. 2018.

CARREL, R. W.; LOMAS, D. A. Alpha1-Antitrypsin Deficiency — A Model for Conformational Diseases. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 1, p. 45-53. Jan. 2002.

DATASUS. Available in: <http://datasus.saude.gov.br/> Access in: 15, oct. 2019.

DU, Z.Q.; ZHAO, X.; VUKASINOVIC, N. et al. Association and Haplotype Analyses of Positional Candidate Genes in Five Genomic Regions Linked to Scrotal Hernia in Commercial Pig Lines. **Plos One**, v. 4, i. 3, e. 4837. Mar. 2009.

FLINT, J. GWAS. **Current Biology**, v. 23, i. 7, p. R265-R266. Apr. 2013.

GATPHAYAK, K.; CHONGKASIKIT, N.; CHAROENSOOK, R. et al. Present Situation of porcine hernia inguinalis/ scrotalis in Thailand. **The Global Food & Product Chain**, Deutscher Tropentag, Stuttgart. Oct. 2005.

GENECARDS. CACNB4 Gene. Available in: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CACNB4&keywords=cacnb4> Access in: 04, feb. 2020.

GENECARDS. CLNK Gene. Available in: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CLNK&keywords=CLNK> Access in: 24, jan. 2020.

GENECARDS. COL4A4 Gene. Available in: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=COL4A4&keywords=col4a4> Access in: 26, jan. 2020.

GENECARDS. CRMP1 Gene. Available in: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CRMP1&keywords=crmp1> Access in: 18, apr. 2020.

GENECARDS. DPYSL2 Gene. Available in: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DPYSL2&keywords=dpysl2> Access in: 18, apr. 2020.

GENECARDS. FRYL Gene. Available in: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FRYL&keywords=FRYL> Access in: 06 sep. 2019.

GENECARDS. GPER1 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GPER1&keywords=GPER1>> Access in: 04, feb. 2020.

GENECARDS. IL18R1 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL18R1&keywords=IL1RL1>> Access in: 24, jan. 2020.

GENECARDS. IL18RAP Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL18RAP&keywords=IL1RL1>> Access in: 24, jan. 2020.

GENECARDS. IL1RL1 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL1RL1&keywords=IL1RL1>> Access in: 24, jan. 2020.

GENECARDS. KIAA1109 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=KIAA1109&keywords=kiaa1109>> Access in: 18, apr. 2020.

GENECARDS. SERPINA1 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SERPINA1&keywords=SERPINA>> Access in: 03, feb. 2020.

GENECARDS. SERPINA6 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SERPINA6&keywords=SERPINA6>> Access in: 03, feb. 2020.

GENECARDS. STIM2 Gene. Available in: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=STIM2&keywords=stim2>> Access in: 04, feb. 2020.

GRINDFLEK, E.; MOE, M.; TAUBERT, H. et al. Genome-wide linkage analysis of inguinal hernia in pigs using affected sib pairs. **BMC Genetics**, 7, 25, 2006.

GROENEN, M. A. M. ARCHIBALD, A. L.; UENISHI, H. et al. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. **Nature**, 491, p.393–398. Nov. 2012.

GUARINO, N.; SHIMA, H.; PURI, P. The hypoplastic heart in congenital diaphragmatic hernia: reduced expression of basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor. **Pediatric Surgery International**, 16, p. 243-246. May. 2000.

HASHIMOTO, M.; BOGDANOVIC, N.; NAKAGAWA, H. et al. Analysis of microdissected neurons by 18O mass spectrometry reveals altered protein expression in Alzheimer's disease. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 16, i. 8, p. 1686–1700. Aug. 2012.

HEINRICH, J.; PROEPPER, C.; SCHMIDT, T. et al. The postsynaptic density protein Abelson interactor protein 1 interacts with the motor protein Kinesin family member 26B in hippocampal neurons. **Neuroscience**, v. 221, p. 86-95. Sep. 2012.

HU, Z.L.; PARK, C.A.; REECY, J.M. Developmental progress and current status of the Animal QTLdb. **Nucleic Acids Research**, 44 (D1), p. D827-D833. 2016.

HUANG, D.W.; SHERMAN, B.T.; LEMPICKI, R.A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. **Nucleic Acids Research**, v. 37, i. 1, p. 1-13. Jan. 2009.

HUANG, D.W.; SHERMAN, B.T.; LEMPICKI, R.A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. **Nature Protocols**, v. 4, n. 1, p. 44-57. 2009.

JIANG, J.; QI, Y.X.; ZHANG, P. et al. Involvement of Rab28 in NF- κ B Nuclear Transport in Endothelial Cells. **PLOS ONE**, 8(2): e56076. 2013.

KARSDAL, M. A.; NIELSEN, M. J.; SAND, J. M. et al. Extracellular Matrix Remodeling: The Common Denominator in Connective Tissue Diseases Possibilities for Evaluation and Current Understanding of the Matrix as More Than a Passive Architecture, but a Key Player in Tissue Failure. **ASSAY and Drug Development Technologies**, v. 11, i. 2. Mar. 2013.

KIM, J.I.; KIM, J.W.; LEE, J.M. et al. Interaction between DRD2 and lead exposure on the cortical thickness of the frontal lobe in youth with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 82, p. 169-176. Mar. 2018.

KLINGE, U.; SI, Z. Y.; ZHENG H. et al. Abnormal Collagen I to III Distribution in the Skin of Patients with Incisional Hernia. **European Surgical Research**, v. 32, n. 1, p. 43-48. 2000.

KNORR, C.; TÄUBERT, H.; PETERS, U. et al. Characterization of two SNPs (single nucleotide polymorphisms) in the porcine INSL3 gene and their exclusion as a common genetic basis of hernia inguinalis in pigs. **Biochemical Genetics**, v. 42, n. 1-2, p. 11-19. Feb. 2004.

LAGO, L.V.; SILVA, A.N.; ZANELLA, E.L. et al. Identification of Genetic Regions Associated with Scrotal Hernias in a Commercial Swine Herd. **Veterinary Science**, 5, 15. Jan. 2018.

LEDUR, M.C.; NAVARRO, N.; PÉREZ-ENCISO, M. Data modeling as a main source of discrepancies in single and multiple marker association methods. **BMC Proceedings**, 3(Suppl 1):S9. Feb. 2009.

LI, B.; LEAL, S. M. Methods for detecting associations with rare variants for common diseases: application to analysis of sequence data. **American Journal of Human Genetics**, 83, 3, p.311-321. Sep. 2008.

LI, J.; ZHOU, Y.; ELSTON, R. C. Haplotype-based quantitative trait mapping using a clustering algorithm. **BMC Bioinformatics**, 7, 258. Mai. 2006.

LIEBER, R.L.; WARD, S.R. Cellular Mechanisms of Tissue Fibrosis. 4. Structural and functional consequences of skeletal muscle fibrosis. **American Journal of Physiology: Cell Physiology**, v. 305, i. 3, p. C241-C252. Aug. 2013.

MAILUND, T. Getting Started with Blossoc: An introduction to the Blossoc association mapping tool. 2006. Disponível em: < <http://docplayer.net/60047472-Getting-started-with-blossoc.html> > Acesso em: 26, nov. 2019.

MAILUND, T.; BESENBACHER, S.; SCHIERUP, M.H. Whole genome association mapping by incompatibilities and local perfect phylogenies. **BMC Bioinformatics**, 7, 454. Oct. 2006.

MANALAYSAY, J. G.; ANTONIO, N. D.; APILADO, R. L. R. et al. Screening of BCL-2 associated X protein gene polymorphism associated with scrotal hernia in domesticated swine using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 2, p. 262–266, 2017.

MATTHEWS, R.D.; NEUMAYER L. Inguinal hernia in the 21st century: an evidence-based review. **Current Problems in Surgery**, v. 45, i. 4, p. 261-312. Apr. 2008.

MEGURO, A.; IDETA, H.; OTA, M. et al. Common Variants in the COL4A4 Gene Confer Susceptibility to Lattice Degeneration of the Retina. **Plos One**, v.7, i. 6, e39300. Jun. 2012.

MISSALE, C.; NASH, S. R.; ROBINSON, S. W. et al. Dopamine Receptors: From Structure to Function. **Physiological Reviews**, v. 78, i. 1, p. 189-225. Jan. 1998.

NAGAI, T.; MIZUNO, K. Multifaceted roles of Furry proteins in invertebrates and vertebrates. **Journal of Biochemistry**, v. 155, i. 3, p.137–146. Mar. 2014.

NCBI. DRD2: dopamine receptor D2 [*Sus scrofa* (pig)]. Available in: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100624857>> Access in: 16, sep. 2019.

NCBI. FRYL FRY like transcription coactivator. Available in: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=fryl+sus+scrofa>> Access in: 17, oct. 2019.

OLIVEIRA, C. M. B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M. et al. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 61, 2, p. 255-265. Mar/Apr. 2011.

ORRENIUS, S.; ZHIVOTOVSKY, B.; NICOTERA, P. Regulation of cell death: the calcium–apoptosis link. **Nature Reviews: Molecular Cell Biology**, v. 4, p. 552–565. Jul. 2003.

PHAM, X.; SONG, G.; LAO, S. et al. The DPYSL2 gene connects mTOR and schizophrenia. **Translational Psychiatry**, v. 6, p. 933. 2016.

PURCELL, S.; NEALE, B.; TODD-BROWN, K. et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. **American Journal of Human Genetics**, v. 81, i. 3, p. 559-575. Sep. 2007.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

RAFAILIDIS, V.; VARELAS, S.; APOSTOLOPOULOU, F. et al. Nonobliteration of the Processus Vaginalis. **Journal of Ultrasound in Medicine**, v. 35, i. 4, p. 805-818. Apr. 2016.

RAMOS, A.M.; CROOIJMANS, R.P.M.A.; AFFARA, N.A. et al. Design of a High-Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized by Next Generation Sequencing Technology. **Plos One**, v. 4, i. 8, e. 6524. Aug. 2009.

RIPKE, S.; NEALE, B.; CORVIN, A. et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. **Nature**, 511, p. 421–427. Jul. 2014.

RODRIGUES JUNIOR, A. J.; RODRIGUES, C. J.; DA CUNHA, A. C. P. et al. Quantitative analysis of collagen and elastic fibers in the transversalis fascia in direct and indirect inguinal hernia. **Revista do Hospital das Clínicas**, v. 57, n. 6, p.265-270. Nov/Dec. 2002.

ROMANO, G. S.; IBELLI, A. M. G.; LORENZETTI, W. R. et al. Inguinal Ring RNA Sequencing Reveals Downregulation of Muscular Genes Related to Scrotal Hernia in Pigs. **Genes**, 11, 117. Jan. 2020.

ROOSING, S.; ROHRSCHEIDER, K.; BERYOZKIN, A. et al. Mutations in RAB28, encoding a farnesylated small GTPase, are associated with autosomal-recessive cone-rod dystrophy. **American Journal of Human Genetics**, 93, p. 110–117. Jul. 2013.

SCORER, C. G.; FARRINGTON, G. H. **Congenital deformities of the testis and epididymis**. London: Butter Worths & Co, 1971.

SEEMAN, P.; VAN TOL, H. H. Dopamine receptor pharmacology. **Trends in Pharmacological Science**, v. 15, i. 7, p. 264–270. Jul. 1994.

SEVILLANO, C. A.; LOPES, M. S.; HARLIZIUS, B. et al. BASTIAANSEN, J. W. M. Genome-wide association study using deregressed breeding values for cryptorchidism and scrotal/inguinal hernia in two pig lines. **Genetics Selection Evolution**, v. 47, n. 1, p.18, 2015.

SILVERMAN, G. A.; BIRD, P. I.; CARRELL, R. W. et al. The Serpins Are an Expanding Superfamily of Structurally Similar but Functionally Diverse Proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 36, p. 33293-33296. Sep. 2001.

SOBESTIANSKY, J.; CARVALHO, L. F. O. S.; BARCELLOS, D. Hérnias. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos**. 2ªed. Goiânia: Cãnone Editorial, 2012. p. 641-642.

SUPEK, F.; BOŠNJAK, M.; ŠKUNCA, N. et al. Revigo summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. **Plos One**, v. 6, i. 7, e. 21800. Jul. 2011.

SZKLARCZYK, D.; FRANCESCHINI, A.; WYDER, S. et al. STRING v10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. **Nucleic Acids Research**, v. 43, i. D1, p. D447–D452. Jan. 2015.

TANYEL, F. C. Obliteration of processus vaginalis: aberrations in the regulatory mechanism result in an inguinal hernia, hydrocele or undescended testis. **The Turkish Journal of Pediatrics**, 46, 18-27. Feb. 2004.

TANYEL, F. C.; ERDEM, S.; BÜYÜKPAMUKÇU, N. et al. Smooth muscle within incomplete obliterations of processus vaginalis lacks apoptotic nuclei. **Urologia internationalis**, v. 69, n.1, p. 42-45. Jul. 2002.

TEIXEIRA, V. H.; PIERLOT, C.; MIGLIORI, P. et al. Testing for the association of the KIAA1109/Tenr/IL2/IL21 gene region with rheumatoid arthritis in a European family-based study. **Arthritis Research & Therapy**, v. 11, n. 2. R45. Mar. 2009.

THE WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM (WTCCC). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. **Nature**, 447, p. 661–678. Jun. 2007.

UNIPROT. UniProtKB - D6R9B9 (D6R9B9_HUMAN). Available in: <<https://www.uniprot.org/uniprot/D6R9B9>> Access in: 18, apr. 2020.

VODIČKA, P.; SMETANA JR, K.; DVOŘÁNKOVÁ, B. et al. The Miniature Pig as an Animal Model in Biomedical Research. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1049, p. 161-171. May. 2005.

VOGT, D. W.; ELLERSIECK, M. R. Heritability of susceptibility to scrotal herniation in swine. **American Journal of Veterinary Research**, 51(9), p.1501-1503. Sep. 1990.

WAGNER, A. A.; ARCAND, P.; BAMBERGER, M. H. Acute renal failure resulting from huge inguinal bladder hernia. **Urology**, v. 64, i. 1, p. 156-157. Jul. 2004.

WEISSFLOG, L.; SCHOLZ, C. J.; JACOB, C. P. et al. KCNIP4 as a candidate gene for personality disorders and adult ADHD. **European Neuropsychopharmacology**, v. 23, i. 6, p. 436-447. Jun. 2013.

WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. **Nature**, 447, p.661–678. Jun. 2007.

WU, J.Y.; FENG, L.; PARK, H.T. et al. The neuronal repellent Slit inhibits leukocyte chemotaxis induced by chemotactic factors. **Nature**, 410, p. 948–952. Apr. 2001.

XU, M.; CHENGFENG, C.; SUN, X. et al. Clnk plays a role in TNF-alpha-induced cell death in murine fibrosarcoma cell line L929. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 463, i. 3, p. 275-279. Jul. 2015.

YANG, J.; LEE, S.H.; GODDARD, M.E.; et al. Genome-wide complex trait analysis (GCTA): methods, data analyses, and interpretations. **Methods in Molecular Biology**, v. 1019, p. 215-236. May. 2013.

YOUSSEF E. H.; RASLAN N. A. Study of the factors which affect the descent of the testicles in man. **Acta Anatomica**, v. 79, n. 3, p. 422-444. 1971.

YU, J.; RIOU, C.; DAVIDSON, D. Synergistic regulation of immunoreceptor signaling by SLP-76-related adaptor Clnk and serine/threonine protein kinase HPK-1. **Molecular and Cellular Biology**, 21, 18, p. 6102-6112. Sep. 2001.

ZENDEJAS, B.; RAMIREZ, T.; JONES, T. et al. Incidence of inguinal hernia repairs in Olmsted County, MN: a population-based study. **Annals of Surgery**, v. 257, i. 3, p. 520-526. Mar. 2013.

ZHAO, X.; DU, Z.Q.; VUKASINOVIC, N. et al. Association of HOXA10, ZFPM2, and MMP2 genes with scrotal hernias evaluated via biological candidate gene analyses in pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 8, p. 1006–1012. Ago. 2009.

ZHOU, X.; HERBST-ROBINSON, K.J.; ZHANG, J. Chapter sixteen – visualizing dynamic activities of signaling enzymes using genetically encodable fret-based biosensors: from designs to applications. **Methods in Enzymology**, v. 504, p. 317-340. 2012.

REFERÊNCIAS

- ABCS (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS). Mapeamento da suinocultura brasileira: Mapping of brazilian pork chain. Brasília, DF, 376 p. 2016.
- ABCS (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS). Produção de suínos: teoria e prática. Coordenação editorial: Associação Brasileira de Criadores de Suínos; Coordenação Técnica da Integrall Soluções em Produção Animal - Brasília, DF, 908p. 2014.
- ABPA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL). Relatório anual de 2018. São Paulo, SP, 2018. 176 p.
- ADINI, I.; GHOSH, K.; ADINI, A. et al. Melanocyte-secreted fibromodulin promotes an angiogenic microenvironment. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 1, p. 425–436. Jan. 2014.
- AKHAVANI, M. A.; MADDEN, L.; BUYSSCHAERT, I. et al. Hypoxia upregulates angiogenesis and synovial cell migration in rheumatoid arthritis. **Arthritis Research and Therapy**, 11, R64. Mai. 2009.
- ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGNI, G. D. L.; MOREIRA, M. A. et al. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4. Jul/Ago. 2005.
- ANDERSON, L.; HALEY, C. S.; ELLEGREN, H. et al. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. **Science**, v. 263, p. 1771-1774. 1994.
- ARRINGTON, C. B.; BLEYL, S. B.; MATSUNAMI, N. et al. A family-based paradigm to identify candidate chromosomal regions for isolated congenital diaphragmatic hernia. **American Journal of Medical Genetics**, v. 158A, i. 12, p. 3137-3147. Dez. 2012.
- BÄR, H.; STRELKOV, S. V.; SJÖBERG, G. et al. The biology of desmin filaments: how do mutations affect their structure, assembly, and organisation? **Journal of Structural Biology**, v. 148, i. 2, p. 137-152. Nov. 2004.
- BARBOSA, C. A.; AMARAL, V. F.; LÁZARO DA SILVA, A. Histopatologia do saco herniário da hérnia inguinal indireta e do peritônio parietal em adultos e crianças: estudo qualitativo da sua musculatura lisa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, v. 27, n. 3. Mai/Jun. 2000.
- BARBOSA, L. T.; REGAZZI, A. J.; BACKES, A. A. et al. Associação entre qualidade da carne e características quantitativas de suínos por meio de correlação canônica. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal** (Online), v. 11, n. 4. p.1150-1162. 2010.
- BATES, O.; STRAW, B. Hernias in growing pigs. **Michigan State University Pork Quarterly**, v. 13, n. 1, p. 9-11. Abr. 2008.

BECK, J.; BORNEMANN-KOLATZKI, K.; KNORR, C. et al. Molecular characterization and exclusion of porcine GUSB as a candidate gene for congenital hernia inguinalis/scrotalis. **BMC Veterinary Research**, v. 2, p. 14. Abr. 2006.

BECK, J.; KNORR, C.; HABERMANN, F. et al. Assignment of the beta-glucuronidase (GUSB) gene to porcine chromosome SSC3p16 -->p14 by FISH and confirmation by hybrid panel analyses. **Cytogenetic Genome Research**, v. 97, n. 3-4, p. 276–277. 2002.

BELLAYR, I. H.; MU, X.; LI, Y. Biochemical insights into the role of matrix metalloproteinases in regeneration: challenges and recent developments. **Future Medicinal Chemistry**, v. 1, n. 6, p. 1095–1111. Set. 2009.

BENDAVID, R. The Unified Theory of hernia formation. **Hernia**, 8, p. 171–176. Apr. 2004.

BINK, M. C. A. M.; UIMARI, M. F. W.; TEDAS, F. et al. Statistical inference on genetic response in selection lines using bivariate finite polygenic and QTL models. In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 7., 2002, Montpellier. **Anais... Montpellier: 2002b**. v.32, p.729-732.

BLOBEL, C. P. ADAMs: key players in EGFR-signaling, development and disease. **Nature Reviews: Molecular Cell Biology**, v. 6, p. 32–43. Jan. 2005.

BORIEK, A.M.; CAPETANAKI, Y.; HWANG W. Desmin integrates the three-dimensional mechanical properties of muscles. **American Journal of Physiology: Cell Physiology**, v. 280, i. 1, p. C46-C52. Jan. 2001.

BORTOLETTO, C.; FERREIRA, G. F.; GASSER, B. et al. Principais causas de problemas reprodutivos em porcas. **Revista Científica De Medicina Veterinária**, Ano XII, n. 23. Jul. 2014.

BOURD-BOITTIN, K.; LE PABIC, H.; BONNIER, D. et al. RACK1, a new ADAM12 interacting protein: contribution to liver fibrogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 38, p. 26000 –26009. Set. 2008.

BRANDA SICA, A.; SORIA, L. A.; CORVA, P. M. et al. Variantes en dos genes candidatos para características de calidad de carne bovina en Argentina. **Archivos de zootecnia (Online)**, v. 60, n. 231, p.521-532. Set. 2011.

BRANDT, M. L. Pediatric Hernias. **The Surgical Clinics of North America**, v. 88, n. 1, p. 27–43, 2008.

BRITANNICA ACADEMIC. Actin. Available in: academic-eb-britannica.ez22.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/actin/3598. Access in: 6 Sep. 2019.

BROOKES, A. J. The essence of SNPs. **Gene**, v. 234, n.2, p. 177-186. Jul. 1999.

CANTOR, R. M.; LANGE, K.; SINSHEIMER, J. S. Prioritizing GWAS Results: A Review of Statistical Methods and Recommendations for Their Application. **The American Journal of Human Genetics**, 86, 1, p. 6–22. Jan. 2010.

CAPETANAKI, Y. Desmin cytoskeleton: a potential regulator of muscle mitochondrial behavior and function. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 12, i. 8, p. 339-348. Nov. 2002.

CHEN, P.; BAAS, T. J.; MABRY, J. W. et al. Genetic parameters and trends for lean growth rate and its components in U.S. Yorksire, Duroc, Hampshire and Landrace pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p.2062-2070. 2002.

CHEN, Z.; ZHAO, T. J.; LI, J. et al. Slow skeletal muscle myosin-binding protein-C (MyBPC1) mediates recruitment of muscle-type creatine kinase (CK) to myosin. **Biochemical Journal**, v. 436, i. 2, p. 437-445. Jun. 2011.

CHOI, S. J.; JUNG, K. L.; OH, S. Y. et al. Cervicovaginal matrix metalloproteinase-9 and cervical ripening in human term parturition. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 142, i. 1, p. 43-47. Jan. 2009.

COSTA, A. R. C.; LOPES, P. S.; TORRES, R. A. et al. Estimacão de parâmetros genéticos em características de desempenho de suínos das raças Large White, Landrace e Duroc. **Revista Brasileira de Zootecnia** (online), v. 30, n. 1, p. 49-55. 2001.

DE KONING, D. J.; JONSS, L. L. G.; RATTINK, A. P. et al. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (SUS SCROFA). **Genetics**, v.152, p.1679-1690. 1999.

DE KONING, D. J.; RATTINK, A. P.; ARLIZIUS, B. et al. Detection and characterization of quantitative trait loci for meat quality traits in pigs. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2812-2819. 2001.

DI CAMPOS, M. S.; DENIPOTE, F. L.; PEREZ, P. G. et al. Avaliaco dos índices zootécnicos de suínos machos anmalos (25-80 kg) criados em baias com cama sobreposta ou com piso de cimento. In: Zootec 2004; a zootecnia e o agronegócio. **Anais...** Brasília: ABZ/AZOO-DF/Faculdades UPIS.

DU, Z.Q.; ZHAO, X.; VUKASINOVIC, N. et al. Association and Haplotype Analyses of Positional Candidate Genes in Five Genomic Regions Linked to Scrotal Hernia in Commercial Pig Lines. **Plos One**, v. 4, i. 3, e. 4837. Mar. 2009.

ELANSARY, M.; STINCKENS, A.; AHARIZ, N. et al. On the use of the transmission disequilibrium test to detect pseudo-autosomal variants affecting traits with sex-limited expression. **Animal Genetics**, v. 46, n. 4, p. 395–402. Mai. 2015.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Boas Práticas de Produção de Suínos**. Concórdia – SC, Dez. 2006. 60 p. Circular técnica, 50.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). Central de inteligência de aves e suínos: mapas e infográficos. 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/mapas>> Acesso em: 20, mar. 2019.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). Produção de suínos: Biossegurança. 2003. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/SP/suinos/biosseguranca.html>> Acesso em: 12, jun. 2019.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). Produção de suínos: Vacinação. 2003. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/SP/suinos/vacinacao.html>> Acesso em: 12, jun. 2019.

ENSEMBL. Gene ADAM12. Disponível em: <https://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Gene/Summary?db=core;g=ENSSSCG00000010746;r=14:135302810-135682159> Acesso em: 18, out. 2019.

ENSEMBL. Gene: COL23A1. Disponível em: <http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Gene/Summary?db=core;g=ENSSSCG00000014029;r=2:80063072-80141566> Acesso em: 06, jun. 2019.

ENSEMBL. Gene: FMOD. Disponível em: <http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Gene/Summary?db=core;g=ENSSSCG00000015270;r=9:64059853-64074106;t=ENSSSCT00000016639> Acesso em: 07, jun. 2019.

FALVEY, C. M.; O'DONOVAN, T. R.; EL-MASHED, S. et al. UBE2L6/UBCH8 and ISG15 attenuate autophagy in esophageal cancer cells. **Oncotarget**, 8, 14, p. 23479–23491. Abr. 2017.

FAO (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO) 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/901168/>> Acesso em: 20, mai. 2019.

FARIA, L. P.; LÁZARO DA SILVA, A.; ROCHA, A. Hérnias incisionais medianas e paramedianas: Estudo do saco herniário à microscopia óptica (mesotélio, tecido conjuntivo frouxo e denso com presença de fibras colágenas, reticulares e elásticas). **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, 23, p. 187-191. 1996.

FÁVERO, A. G.; FIGUEIREDO, E. A. P. Evolução do melhoramento genético de suínos no Brasil. **Revista Ceres**, 56, 4, p. 420-427. Jul/Ago 2009.

FENG, J. J.; MARSTON, S. Genotype-phenotype correlations in ACTA1 mutations that cause congenital myopathies. **Neuromuscular Disorders**, v. 19, n. 1, p. 6–16. Jan. 2009.

FENG, S.; BOGATCHEVA, N. V.; TRUONG, A. et al. Over Expression of Insulin-Like 3 Does Not Prevent Cryptorchidism in GNRHR or HOXA10 Deficient Mice. **The Journal of Urology**, v. 176, i. 1, p. 399-404. Jul. 2006.

FENTENER VAN VLISSINGEN, J. M.; KOCH, C. A.; DELPECH, B. et al. Growth and differentiation of the gubernaculum testis during testicular descent in the pig: changes in the extracellular matrix, DNA content, and hyaluronidase, beta-glucuronidase, and beta-N-acetylglucosaminidase activities. **The Journal of Urology**, 142, 3, p. 837-845. 1989.

FIGUEIREDO, E. A. P.; LEDUR, M. C.; PEIXOTO, J. O. Como melhorar geneticamente os suínos brasileiros seguindo o exemplo americano. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 47p. 2016. Folheto.

FLINT, J. GWAS. **Current Biology**, v. 23, i. 7, p. R265-R266. Abr. 2013.

FRANZ, M. G. The Biology of Hernia Formation. **The Surgical Clinics of North America**, v. 88, n. 1, p. 1–16. Fev. 2008.

FREIBURG, A.; GAUTEL, M. A molecular map of the interactions between titin and myosin-binding protein C. Implications for sarcomeric assembly in familial hypertrophic cardiomyopathy. **European Journal of Biochemistry**, v. 235, i. 1-2, p. 317-323. Jan. 1996.

FRÖHLICH, C.; ALBRECHTSEN, R.; DYRSKJØT, L. et al. Molecular profiling of ADAM12 in human bladder cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 12, i. 24, p.7359–7368. Dez. 2006.

FU, W.; WANG, K.; ZHAO, J.L. et al. FHL1C induces apoptosis in notch1-dependent T-ALL cells through an interaction with RBP-J. **BMC Cancer**, 14, 463. Jun. 2014.

FUJII, J.; OTSU, K.; ZORZATO, F. et al. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. **Science**, v. 253, i. 5018, p. 448-451. Jul. 1991.

GATPHAYAK, K.; CHONGKASIKIT, N.; CHAROENSOOK, R. et al. Present Situation of porcine hernia inguinalis/ scrotalis in Thailand. The Global Food & Product Chain, Deutscher Tropentag, Stuttgart, 2005.

GENECARDS. Gene ACTA1. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACTA1&keywords=acta1>. Acesso em: 06, jun. 2019.

GENECARDS. Gene HOXA1. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HOXA1&keywords=hoxa1> Acesso em: 04, jun. 2019.

GENECARDS. HOXA10 Gene. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HOXA10&keywords=HOXA10> Acesso em: 05, jun. 2019.

GENECARDS. MMP1 Gene. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MMP1&keywords=mmp1> Acesso em: 04, abr. 2019.

GENECARDS. UBE2L6 Gene. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=UBE2L6&keywords=ube2l6#summaries> Acesso em: 03, jun. 2019.

GILKS, W. P. Effect of variable thresholds on calculating linkage disequilibrium and population structure, using Plink 1.9. Disponível em: <https://zenodo.org/record/814933#.Xk_QZmhKjIU> Acesso em: 25, nov. 2019.

GRINDFLEK, E.; MOE, M.; TAUBERT, H. et al. Genome-wide linkage analysis of inguinal hernia in pigs using affected sib pairs. **BMC Genetics**, 7, 25. Mai. 2006.

GROENEN, M. A. M.; ARCHIBALD, A. L.; UENISHI, H. et al. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. **Nature**, 491, p.393–398. Nov. 2012.

GRUEN, M.; GAUTEL, M. Mutations in beta-myosin S2 that cause familial hypertrophic cardiomyopathy (FHC) abolish the interaction with the regulatory domain of myosin-binding protein-C. **Journal of Molecular Biology**, v. 286, i. 3, p. 933-949. Fev. 1999.

GUILLEN-MARTI, J.; DIAZ, R.; QUILES, M. T. et al. MMPs/TIMPs and inflammatory signalling de-regulation in human incisional hernia tissues. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v.13, i.11-12, p. 4432–4443. Nov/Dec. 2009.

GUO, D. C.; PANNU, H.; TRAN-FADULU, V. et al. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) lead to thoracic aortic aneurysms and dissections. *Nature Genetics*, 39, p. 1488-1493. Nov. 2007.

HA, K.; BUCHAN, J. G.; ALVARADO, D. M. MYBPC1 mutations impair skeletal muscle function in zebrafish models of arthrogryposis. **Human Molecular Genetics**, v. 22, i. 24, p. 4967–4977. Dez. 2013.

HEYNS, C. F.; HUMAN, H. J.; WERELY, C. J. et al. The glycosaminoglycans of the gubernaculum during testicular descent in the fetus. **The Journal of Urology**, 143, 3, p. 612-617. Mar. 1990.

HILL, L. R.; HUANG, S. Y.; GAGEA, M. Diaphragmatic Hernia of the Stomach with Gastric Rupture in a Domestic Pig. **Comparative Medicine**, v. 66, n. 5, p. 399–404. Out. 2016.

HOMBRIA, J. C.; LOVEGROVE, B. Beyond homeosis—HOX function in morphogenesis and organogenesis. **Differentiation**, v. 71, i. 8, p. 461-476. Out. 2003.

HU, Z.L.; PARK, C.A.; REECY, J.M. Developmental progress and current status of the Animal QTLdb. *Nucleic Acids Research*, 44 (D1), p. D827-D833. 2016.

HUANG, H.; ZHAO, W.; TANG, Z. et al. Characterization of porcine MMP-2 and its association with immune traits. **Gene**, v. 435, i. 1–2, p. 63-71. Abr. 2009.

JAMES, J.; ROBBINS, J. Signaling and myosin-binding protein C. **The Journal of Biological Chemistry**, 286, p. 9913-9919. Mar. 2011.

JOHNSON, Z. B.; CHEWNING, J. J.; NUGENT, R. A. Maternal effects on traits measured during postweaning performance test of swine from four breeds. **Journal of Animal Science**, v.80, i. 6, p.1470-1477. Jun. 2002.

KOCH, M.; VEIT, G.; STRICKER, S. et al. Expression of type XXIII collagen mRNA and protein. **Journal of Biological Chemistry**, 281, p. 21546–21557. Jul. 2006.

KREMPLER, A.; KOLLERS, S.; FRIES, R.; et al. Isolation and characterization of a new FHL1 variant (FHL1C) from porcine skeletal muscle. **Cytogenetics and Cell Genetics**, 90, p. 106-114. 2000.

LAGO, L. V.; SILVA, A. N.; ZANELLA, E. L. et al. Identification of Genetic Regions Associated with Scrotal Hernias in a Commercial Swine Herd. **Veterinary Science**, 5, 15. Jan. 2018.

LEVI, E.; FRIDMAN, R.; MIAO, H. Q. et al. Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 93, p. 7069-7074. Jul. 1996.

LEX, A. Hérnias em Geral: Revisão didática. **Revista de Medicina - USP**, v. 47 n. 1. Mar. 1963.

LI, J.; ZHOU, Y.; ELSTON, R. C. Haplotype-based quantitative trait mapping using a clustering algorithm. **BMC Bioinformatics**, 7, 258. Mai. 2006.

LI, Z.; COLUCCI-GUYON, E.; PINÇON-RAYMOND, M. Cardiovascular Lesions and Skeletal Myopathy in Mice Lacking Desmin. **Developmental Biology**, 175, n.0122, p. 362–366. 1996.

LIAO, X. J.; LI, L.; ZHANG, Z. Y. et al. Susceptibility Loci for Umbilical Hernia in Swine Detected by Genome-Wide Association. **Genetika**, v. 51, n. 10, p. 1163-1170. Out. 2015.

LIMA, G. J. M. M.; FIGUEIREDO, E. A. P. F. Embrapa MS 115: suíno light. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2018. Folheto: p.2, 3. ed.

LIRA, T.; ROSA, E. M.; GARNERO, A. V. Parâmetros genéticos de características produtivas e reprodutivas em zebuínos de corte (revisão). **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n. 1, p.1-22. Jan/Mar. 2008.

LORENZETTI, W.R. **Análise da expressão gênica em suínos normais e afetados com hérnia escrotal**. 2018. 105p. Dissertação (Mestrado Zootecnia – Ciência e Produção Animal) – Universidade Estadual de Santa Catarina (UDESC). Disponível em: <<http://sistemabu.udesc.br/pergamumweb/vinculos/000047/00004770.pdf>> Acesso em: 20, mai. 2019.

MAILUND, T. Getting Started with Blossoc: An introduction to the Blossoc association mapping tool. 2006. Disponível em: < <http://docplayer.net/60047472-Getting-started-with-blossoc.html> > Acesso em: 26, nov. 2019.

MAILUND, T.; BESENBACHER, S.; SCHIERUP, M. H. Whole genome association mapping by incompatibilities and local perfect phylogenies. **BMC Bioinformatics**, 7, 454. Out. 2006.

MALEK, M.; DEKKERS, J. C. M.; LEE, H. K. et al. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II. Growth and body composition. **Mammalian Genome**, v.12, p.630-636. Ago. 2001.

MANALAYSAY, J. G.; ANTONIO, N. D.; APILADO, R. L. R. et al. Screening of BCL-2 associated X protein gene polymorphism associated with scrotal hernia in domesticated swine using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 2, p. 262–266, 2017.

Manual Brasileiro de Boas Práticas Agropecuárias na Produção de suínos / Elaboração de Conteúdo: Técnico Alexandre César Dias (et al.). Brasília, DF: ABCS; MAPA; Concórdia. Embrapa Suínos e Aves. 140 p. 2011.

MARKLUND, L.; JOHANSSON, M.; HOYHEIM, B. et al. A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig Large White intercross. **Animal Genetics**, v.27, p.255-269. 1996.

MATSUMURA, S.; IWANAGA, S.; MOCHIZUKI, S.; et al. Targeted deletion or pharmacological inhibition of MMP-2 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice. **The Journal of Clinical Investigation**, 115, 3, p. 599-609. Mar. 2005.

MATTSSON, P. Prevalence of congenital defects in Swedish Hampshire, Landrace and Yorkshire pig breeds and opinions on their prevalence in Swedish commercial herds. 2011. Disponível em: <https://stud.epsilon.slu.se/2390/1/mattsson_p_110330.pdf>. Acesso em: 14, set. 2019.

MILAN, D.; BIDANEL, J. P.; LE ROY, P. Current status of QTL detection in Large White x Meishan crosses in France. In: Congress on the Quantitative Genetics of Livestock, 6., 1998, Armidale. **Anais...** Armidale: 1998. v.26, p.414-417.

MILLER, P. A.; MEZWA, D. G.; FECZKO, P. J. et al. Imaging of abdominal hernias. **RadioGraphics**, v. 15, n. 2, p. 333-347. Mar. 1995.

MOGENSEN, J.; PERROT, A.; ANDERSEN, P. S. et al. Clinical and genetic characteristics of alpha cardiac actin gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Medical Genetics**, v. 41, i. 1, e10. 2004.

MOUNTAIN, J. L.; LIN, A. A.; BOWCOCK, A. M. et al. Evolution of Modern Humans: Evidence from Nuclear DNA Polymorphisms. **Philosophical Transactions: Biological Sciences**, v. 337, n. 1280, p. 159-165. 1992.

NARITA, D.; SECLAMAN, E.; URSONIU, S. et al. Increased expression of ADAM12 and ADAM17 genes in laser-capture microdissected breast cancers and correlations

with clinical and pathological characteristics. **Acta Histochemica**, v. 114, i. 2, p. 131–139. Fev. 2012.

NCBI. ACTA1 actin alpha 1, skeletal muscle [*Sus scrofa* (pig)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100154254#gene-expression>> Acesso em: 06, jun. 2019.

NCBI. ADAM12: ADAM metallopeptidase domain 12. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/kis/ortholog/8038/?scope=7776>> Acesso em: 29, mai. 2019.

NCBI. DES desmin [*Sus scrofa* (porco)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/396725>> Acesso em: 07, jun. 2019.

NCBI. GUSB glucuronidase beta [*Sus scrofa* (pig)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100144519>> Acesso em: 05, jun. 2019.

NCBI. HOXA10 homeobox A10 [*Sus scrofa* (pig)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100620451>> Acesso em: 05, jun. 2019.

NCBI. MMP2 matrix metallopeptidase 2 [*Sus scrofa* (pig)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/397391>> Acesso em: 05, jun. 2019.

NCBI. MYBPC1 myosin binding protein C, slow type [*Sus scrofa* (pig)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100523187>> Acesso em: 06, jun. 2019.

NCBI. *Sus scrofa* (pig). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Sus%20scrofa%20domesticus>> Acesso em: 11, jun. 2019.

NCBI. UBE2L6 ubiquitin conjugating enzyme E2 L6 [*Sus scrofa* (pig)]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100514753>> Acesso em: 03, jun. 2019.

NETER, J.; KUTNER, M. H.; NACHTSHEIM, C. J. et al. **Applied linear statistical models**. Boston: WCB/MacGraw-Hill, 1996. 1408p.

OAKLEY, C.E.; CHAMOUN, J.; BROWN, L. J. et al. Myosin binding protein-C: enigmatic regulator of cardiac contraction. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 39, 12, p. 2161-2166. 2007.

OLDBERG, A.; KALAMAJSKI, S.; SALNIKOV, A. V. et al. Collagen-binding proteoglycan fibromodulin can determine stroma matrix structure and fluid balance in experimental carcinoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 104, n. 35, p. 13966–13971. Ago. 2007.

OLSON, T. M.; DOAN, T. P.; KISHIMOTO, N. Y. et al. Inherited and de novo mutations in the cardiac actin gene cause hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 32, i. 9, p. 1687-1694. Set. 2000.

PAULIN, D.; LI, Z. Desmin: A major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle. **Experimental Cell Research**, v. 301, n. 1, p. 1–7, 2004.

PENNISI, E. A Closer Look at SNPs Suggests Difficulties. **Science**, v. 281, i. 5384, p. 1787-1789. Set. 1998.

PEREIRA, E.; ELER, J. P.; STERMAN, J. B. F. Correlação Genética Entre Perímetro Escrotal e Algumas Características Reprodutivas na Raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia** (online), v. 29, n. 6, p. 1676-1683. 2000.

POMMEREHN, L.; TAKEUTI, K. L.; NEIS, L. Z. et al. Hérnias: patogenia e causa em leitões. 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/324890772_Hernias_patogenia_e_causa_e_m_leitoes> Acesso em: 21, mai. 2019.

POPARIC, I.; SCHREIBMAYER, W.; SCHOSER, B. et al. Four and a Half LIM Protein 1C (FHL1C): A Binding Partner for Voltage-Gated Potassium Channel Kv1.5. **PlosOne**, v. 6, i. 10, p. 1-10. Out. 2011.

PURCELL, S.; NEALE, B.; TODD-BROWN, K. et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. **The American Journal of Human Genetics on Science Direct**, v. 81, i. 3, p. 559–575. Set. 2007.

QUEIROZ, M. L. V.; BARBOSA FILHO, J. A. D.; ALBIERO, D. et al. Percepção dos consumidores sobre o bem-estar dos animais de produção em Fortaleza, Ceará. **Revista Ciência Agronômica** (online), v. 45, n. 2, p. 379-386. abr-jun, 2014.

QUINLAN, R. A.; MOIR, R. D.; STEWART, M. Expression in Escherichia coli of fragments of glial fibrillary acidic protein: characterization, assembly properties and paracrystal formation. **Journal of Cell Science**, 93, p. 71-83. 1989.

RAMOS, A. M.; CROOIJMANS, R. P. M. A.; AFFARA, N. A. et al. Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized by Next Generation Sequencing Technology. **Plos One**, v. 4, i. 8, e. 6524. Ago. 2009.

RAVENS-CROFT, G.; JACKMAN, C.; BRIGANS, S. et al. Mouse models of dominant ACTA1 disease recapitulate human disease and provide insight into therapies. **Brain**, v. 134, i. 4, p. 1101–1115. Abr. 2011.

ROCHA, J. S. R.; LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C. Produção e bem-estar animal: aspectos éticos e técnicos da produção intensiva de aves. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 11, n. 1, p. 49-55. Abr. 2008.

ROCKS, N.; PAULISSEN, G.; EL HOUR, M. et al. Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer. **Biochimie**, v. 90, i. 2, p. 369-379. Fev. 2008.

ROMANO, G. S.; IBELLI, A. M. G.; PEIXOTO, J. O. et al. Genes diferencialmente expressos no transcriptoma de suínos normais e afetados com hérnia escrotal. In:

Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 12., 2017, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto. 2017.

ROY, R.; MOSES, M. A. ADAM12 induces estrogen-independence in breast cancer cells. **Breast Cancer Research and Treatment**, 131, 3, p. 731–741. Fev. 2012.

SÄÄMÄNEN, A. M.; SALMINEN, H. J.; RANTAKOKKO, A. J. et al. Murine fibromodulin: cDNA and genomic structure, and age-related expression and distribution in the knee joint. **Biochemical Journal**, 1, 355(Pt 3), p. 577-85. Mai. 2001.

SATOKATA, I.; BENSON, G.; MAAS, R. Sexually dimorphic sterility phenotypes in Hoxa10-deficient mice. **Nature**, 374, p. 460–463. Mar. 1995.

SEARCY-BERNAL, R.; GARDNER, I. A.; HIRD, D. W. Effects of and factors associated with umbilical hernias in a swine herd. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 204, p. 1660-1664. 1994.

SEVILLANO, C. A.; LOPES, M. S.; HARLIZIUS, B. et al. BASTIAANSEN, J. W. M. Genome-wide association study using deregressed breeding values for cryptorchidism and scrotal/inguinal hernia in two pig lines. **Genetics Selection Evolution**, v. 47, n. 1, p.18, 2015.

SHAH, C.A.; BEI, L.; WANG, H. et al. HoxA10 Protein Regulates Transcription of Gene Encoding Fibroblast Growth Factor 2 (FGF2) in Myeloid Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, 287, 22, p. 18230–18248. Mai. 2012.

SILVA, C. A.; SOLLA, M. F.; CURI, A. C. P. et al. Hérnia inguino-escrotal encarcerada. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 17, Supl., out. 2015. (32º Congresso da SUMEP).

SILVA, T. F.; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 71, 3, p. 530-539. 2012.

SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. V.1, n.2, São Paulo: Manole, 1998.

SOBESTIANSKY, J.; CARVALHO, L. F. O. S.; BARCELLOS, D. Hérnias. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos**. 2ªed. Goiânia: Cãnone Editorial, 2012. p. 641-642.

STAMENKOVIC, I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. **Seminars in Cancer Biology**, v. 10, i. 6, p. 415-433. Dez. 2000.

STERNLICHT, M. D.; WERB, Z. Matrix metalloproteinase. In: Kreis T, Vale R, editors. **Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins**. New York: Oxford University Press; 1999. p. 503–603.

TANYEL, F. C.; ERDEM, S.; BÜYÜKPAMUKÇU, N. et al. Smooth muscle within incomplete obliterations of processus vaginalis lacks apoptotic nuclei. **Urologia internationalis**, v. 69, n.1, p. 42-45. Jul. 2002.

THALLER, G.; DEMPFLER, L.; HOESCHELE, I. Investigation of the inheritance of birth defects in swine by complex segregation analysis. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 113, i. 1-6, p. 77-92. Jan/Dez. 1996.

THE WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM (WTCCC). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. **Nature**, 447, p. 661–678. Jun. 2007.

TIRANT, I. N.; GENGHINI, R. N.; GONZÁLEZ QUINTANA, H. et al. Morphological and karyotypic characterization of intersex pigs with hernia inguinalis. **The Journal of Agricultural Science**, v. 138, i. 3, p. 333–340. Mai. 2002.

TORRES FILHO, R. A.; TORRES, R. A.; LOPES, P. S. et al. Estimativas de parâmetros genéticos para características de desempenho de suínos em fase de crescimento e terminação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, supl. 2, p.237-244. Set. 2005.

TRIPATHI, M. K.; CHAUDHURI, G. Down-regulation of UCRP and UBE2L6 in BRCA2 knocked-down human breast cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 328, i. 1, p. 43-48. Mar. 2005.

UNIPROT. UniProtKB - A0A5K1U1D1 (A0A5K1U1D1_PIG). Disponível em: <<https://www.uniprot.org/uniprot/A0A5K1U1D1>> Acesso em: 04, jun. 2019.

USDA. Livestock and Poultry. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em 12, mar. 2019.

WANG, L.; YU, T. P.; TUGGLE, C. K. et al. A directed search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2560-2567. 1998.

WANG, W. Y. S.; BARRAT, B. J.; CLAYTON, D. G. et al. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. **Nature Reviews Genetics**, 6, p.109–118. Fev. 2005.

WANG, W.; PAN, H.; MURRAY, K. et al. Matrix metalloproteinase-1 promotes muscle cell migration and differentiation. **The American Journal of Pathology**, v. 174, n. 2, p. 541–549. Fev. 2009.

XU, F. CHANG, K.; MA, J. et al. The Oncogenic Role of COL23A1 in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. **Scientific Reports**, v. 7, n. 9846. Ago. 2017.

XUE, M.; LE, N. T.; JACKSON, C. J. Targeting matrix metalloproteases to improve cutaneous wound healing. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 10, i. 1, p. 143-155. Jan. 2006.

YANG, J.; LEE, S.H.; GODDARD, M.E. et al. Genome-Wide Complex Trait Analysis (GCTA): Methods, Data Analyses, and Interpretations. In: GONDRO, C.; VAN DER

WERF, J.; HAYES, B. (Eds.) **Genome-Wide Association Studies and Genomic Prediction**. Totowa: Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 1019. 2013. Humana Press.

YOKOO, M. J. I.; ALBUQUERQUE, L. G.; LÔBO, R. B. et al. Estimativas de parâmetros genéticos para altura do posterior, peso e circunferência escrotal em bovinos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6 p.1761-1768. Nov/Dez. 2007.

ZANCHIN, F.; MUSKKOPF, G.; PEREIRA, P. R. et al. Diagnósticos diferenciais de hérnias umbilicais em suínos no abate. In: CONGRESSO ABRAVES, 17., 2015. Campinas. **Anais...** p. 380. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2015. v.2.

ZHAO, X.; DU, Z.Q.; VUKASINOVIC, N. et al. Association of HOXA10, ZFPM2, and MMP2 genes with scrotal hernias evaluated via biological candidate gene analyses in pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 8, p. 1006–1012. Ago. 2009.

ZHENG, Z.; JIAN, J.; VELASCO, O. et al. Fibromodulin Enhances Angiogenesis during Cutaneous Wound Healing. **Journal of the American Society of Plastic Surgeons - Global Open**, 2, 12, e275. Dez. 2014.

ZHENG, Z.; NGUYEN, C.; ZHANG, X. et al. Delayed Wound Closure in Fibromodulin-Deficient Mice Is Associated with Increased TGF- β 3 Signaling. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 131, i. 3, p. 769–778. Mar. 2011.