

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 01/04/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DE PRODUÇÃO DE
LEITE E CARACTERÍSTICAS LINEARES DE
CONFORMAÇÃO EM VACAS DA RAÇA GIR DA COLÔMBIA
E O BRASIL**

Pablo Dominguez Castaño

Médico Veterinario Zootecnista

2023

**T
E
S
E**

/

**C
A
S
T
A
Ñ
O**

**P.
D.**

2

0

2

3

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DE PRODUÇÃO DE
LEITE E CARACTERÍSTICAS LINEARES DE
CONFORMAÇÃO EM VACAS DA RAÇA GIR DA COLÔMBIA
E O BRASIL**

Discente: Pablo Dominguez Castaño

Orientador: Prof. Dr. Josineudson Augusto Il Vasconcelos Silva

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal

2023

C346a

Castaño, Pablo Dominguez

Associação genômica ampla de produção de leite e características lineares de conformação em vacas da raça Gir da Colômbia e o Brasil / Pablo Dominguez Castaño. -- Jaboticabal, 2023

80 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Josineudson Augusto II Vasconcelos Silva

1. Bovinos Melhoramento genético. 2. Genética quantitativa. 3. Genômica. 4. Genética animal. 5. Bovinos de leite. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Impacto potencial desta pesquisa

As estimativas de herdabilidade neste estudo indicaram que as características de conformações poderiam responder à seleção. Além disso, as correlações entre essas características e produção de leite ressaltaram a importância de considerar a resposta correlacionada à seleção, sinergias e compensações entre essas variáveis. Finalmente, foram identificadas regiões no genoma e genes candidatos associados à produção de leite e às características de conformação. Esta informação é relevante para a criação seletiva de gado Gir, visando o aumento da produção de leite em ambientes tropicais.

Potential impact of this research

The heritability estimates of this study indicated that body conformations traits could respond to selection. Moreover, the correlations between these traits and milk yield highlighted the importance of considering the correlated response to selection, synergies, and trade-offs between these variables. Finally, genomic regions and candidate genes associated with milk yield and conformation traits were identified. This information is relevant for the selective breeding of Gir cattle, aiming to increase milk yield in tropical environments.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DE PRODUÇÃO DE LEITE E CARACTERÍSTICAS LINEARES DE CONFORMAÇÃO EM VACAS DA RAÇA GIR DA COLÔMBIA E O BRASIL

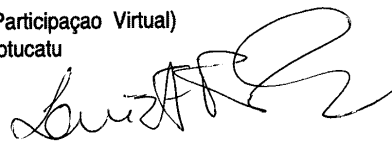
AUTOR: PABLO DOMINGUEZ CASTAÑO

ORIENTADOR: JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS SILVA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, área: Genética e Melhoramento Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS
Data: 04/12/2023 10:21:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Melhoramento e Nutricao Animal / FMVZ UNESP Botucatu



Prof. Dr. LUIZ FERNANDO BRITO (Participação Virtual)
Purdue University / West Lafayette/Indiana

Documento assinado digitalmente
gov.br HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA
Data: 07/11/2023 07:55:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. FRANCISCO RIBEIRO DE ARAUJO NETO (Participação Virtual)
Instituto Federal Goiano / Rio Verde/GO

Documento assinado digitalmente
gov.br FRANCISCO RIBEIRO DE ARAUJO NETO
Data: 09/11/2023 08:08:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora Dra. LENIRA EL FARO ZADRA (Participação Virtual)
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

Documento assinado digitalmente
gov.br LENIRA EL FARO ZADRA
Data: 24/11/2023 09:13:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 31 de outubro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PABLO DOMINGUEZ CASTAÑO - filho de Rodrigo Dominguez Gomez e de Carmenza Castaño Arango. Nasceu na cidade de La Dorada (Caldas, Colômbia), em 26 de setembro de 1987. Em julho de 2006, iniciou o curso de Medicina Veterinária e Zootecnia na Universidad de Caldas em Manizales (Caldas, Colômbia). Fez o estágio de conclusão de curso durante os meses de agosto a dezembro de 2012 na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, sob orientação do Prof. Dr. Josineudson Augusto II Vasconcelos Silva, obtendo o título de Médico Veterinário e Zootecnista em julho de 2013. Em fevereiro de 2014, ingressou no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Josineudson Augusto II Vasconcelos Silva, concluindo-o em abril do 2016 e obtendo o título de mestre em Genética e Melhoramento Animal. Iniciou sua trajetória como professor na “Fundación Universitária Agraria de Colombia – UNIAGRARIA”, na cidade de Bogotá, Colômbia, em fevereiro de 2017. Em agosto do 2019 fez o pedido de afastamento para ingressar ao doutorado no programa de Ciência Animal da FCAV/UNESP, sob orientação do Prof. Dr. Josineudson Augusto II Vasconcelos Silva. Durante o doutorado foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) entre agosto de 2019 e julho de 2022 e bolsista da “Fundación para el Futuro de Colombia (COLFUTURO)” entre agosto de 2022 e julho de 2023. Durante o doutorado, realizou estágio na “The University of Queensland”, Queensland, Austrália, sob supervisão do Profa. Dra. Marina Fortes, entre setembro de 2022 a agosto de 2023, com bolsa COLFUTURO.

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer a meus pais que me ensinaram a disciplina e amor pelo que faço; a minha namorada Maria Camila pelo amor, paciência e apoio nas minhas decisões nesta caminhada pelo aprendizado e crescimento profissional.

Desejo expressar meu grande e profundo agradecimento e afeto para o professor Augusto, grande maestro, pessoa e amigo, que sempre esteve prestes para me ajudar e apoiar. Seu jeito engraçado e suas piadas sempre traziam alegria.

À professora Marina Fortes, seus conselhos e ensinamentos, além da sua disciplina me deram valor para escrever parte da minha tese em inglês, além das suas contribuições permitiram gerar um trabalho mais robusto.

Gostaria também de reconhecer as contribuições de Matheus Vargas, Gabriel Costa, Pedro Fernandes e Alejandra Toro que compartilhamos grandes momentos enquanto contribuíamos para coletar a informação do projeto.

Aos meus colegas Juliana Afonso, Elmer, Andre, Basil, Tunde, Alana do Livestock Genomic Group na University of Queensland, que se converteram em amigos e compartilhamos belos momentos almoçando juntos e nas reuniões a cada semana na faculdade.

Desejo expressar meu afeto para meus colegas e amigos da Unesp e o grupo de estudos Gabriel Vicentini, Jose Eduardo Lopes, Jeisson Leon, Kelvin Kelles, Maria Fernanda, Fernando Pereira, Guilherme Queiroz, Caio Teixeira, Gabriela David.

Agradecimento especial para os criadores, Adolfo de Jesus Gonzalez, Alvaro Rosevelt Gonçalves, Anibal Eugenio Vercesi, Antonio Eustaquio Alves de Souza, Alirio Barroso, Aroldo Plinio Gonçalves, Eduardo Costa Simoes, Gabriel Puerta Parra, Guilherme de Melo Marci, Joao Guilherme Maldini Pitanguy, Jose Luiz Junqueira Barros, Jovelino Mineiro e Marcos Valadares Diniz, que permitiram fazer a visita nas fazendas e compartilharam os registros que fizeram esta pesquisa possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMARIO

	Página
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais.....	1
1 Introdução	1
2 Revisão de Literatura	4
2.1 A raça Gir	4
2.2 Características lineares de conformação	5
2.3 Parâmetros genéticos para produção de leite e características lineares de conformação	9
2.4 Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS)	12
3 Referencias	14
CAPITULO 2 - Genetic parameters for milk production and body conformation traits in Dairy Gir cattle.....	19
1 Introduction	19
2 Materials and Methods.....	20
2.1 Dataset and editing	21
2.2 Statistical analysis.....	23
3 Results	24
3.1 Variance components and heritability	24
3.2 Genetic and phenotypic correlation among conformation traits	27
3.3 Genetic and phenotypic correlations between milk yield and conformation traits	28
4 Discussion.....	29
5 Conclusions.....	34
6 References.....	34
APÊNDICE A.....	38

Table 1A. Description of the body conformation traits evaluated in dairy Gir cattle	39
Table 2A. The number of animals genotyped, number of SNPs by chip, and SNPs in common with reference GGP_Indicus_50k_A1 chip to HD and low-density SNPs chips	40
Table 3A. Average of the heritability estimate (h^2) and standard error (SE) using bivariate analyses for milk yield and body conformation traits in dairy Gir cattle.	41
CAPITULO 3 - Genome-wide association study (GWAS) for milk yield, frame and udder conformation traits of Gir dairy cattle ¹	42
1 Introduction	42
2 Materials and methods	44
2.1 Data, genotypes, and heritability estimates	44
2.2 Genome-wide association study	45
2.3 QTL regions and gene search.....	46
3 Results	46
4 Discussion.....	55
5 Conclusion	60
6 Reference.....	61
APÊNDICE B	67
Figure 1B. Linkage disequilibrium decay calculated as the r^2 mean within interval of 5kb between markers from 0 to 300kb and within a 50kb of interval between markers from 300 to 1000kb	68

ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DE PRODUÇÃO DE LEITE E CARACTERÍSTICAS LINEARES DE CONFORMAÇÃO EM VACAS DA RAÇA GIR DA COLÔMBIA E O BRASIL

RESUMO – A Gir é uma raça de gado *Bos indicus* adaptada às regiões tropicais que tem sido intensamente selecionada para a produção de leite no Brasil. Seus programas de seleção também consideram características lineares de conformação corporal, pois elas têm sido associadas à saúde, ao bem-estar e à longevidade das vacas, afetando assim a produtividade. Por tanto, o objetivo deste estudo foi estimar parâmetros genéticos para características lineares de conformação e produção de leite, além de realizar um estudo de associação genômica ampla (GWAS) para identificar regiões genômicas e genes candidatos associados a essas características em gado Gir leiteiro da Colômbia e o Brasil. As características lineares de conformação foram classificadas como características de "dimensão corporal", "pés e pernas" e "sistema mamário". Após a imputação do genótipo e o controle de qualidade, 42.105 SNPs estavam disponíveis para análise e 24.489 vacas com informações de pedigree tinham fenótipos. Modelo animal univariado e bivariado utilizando inferência bayesiana foram usados para estimar os componentes de variância, utilizando informação do pedigree e genótipos. Para o GWAS, foi empregado o método WssGBLUP uni-característica, utilizando janelas genômicas móveis de 0,11Mb, definidas com base no desequilíbrio de ligação. As 10 principais janelas que explicam a maior porcentagem de variação genética aditiva foram selecionadas para anotação de QTL e genes. As estimativas de herdabilidade para as características lineares de conformação variaram de 0,08 a 0,35, e para produção de leite foi de 0,23. A altura na garupa e características do sistema mamário como profundidade do úbere e largura do úbere posterior foram geneticamente correlacionadas com produção de leite. As regiões genômicas identificadas em nosso trabalho se sobrepuseram com QTLs previamente descritos como relacionados à produção de leite, altura do corpo, largura do úbere e profundidade do úbere. No total, 16 genes foram anotados como possíveis genes candidatos. Desses genes, o PIK3R5 e o PIK3R6 já haviam sido relacionados ao tamanho do corpo do gado. Vários dos genes identificados estão envolvidos em características de metabolismo de lipídios, sobrevivência, reprodução e produção de leite. Com base nas estimativas de herdabilidade e correlações obtidas, é importante considerar a possível resposta correlacionada à seleção, sinergias entre as características lineares de conformação e a produção de leite no gado Gir. Além disso, as regiões genéticas identificadas e os genes candidatos estabelecem uma plataforma fundamental para estudos futuros que ajudam a entender as vias biológicas que afetam as características estudadas em bovinos da raça Gir.

Palavras-chave: *Bos indicus*, características morfológicas, gado de leite, genes candidatos, GWAS, parâmetros genéticos

GENOME WIDE ASSOCIATION OF MILK YIELD AND LINEAR CONFORMATION TRAITS IN GIR COWS FROM COLOMBIA AND BRAZIL

ABSTRACT - The Gir is a breed of *Bos indicus* cattle adapted to tropical regions that have been intensively selected for milk production in Brazil. Its selection programs also consider linear body conformation traits, as these have been associated with the health, welfare, and longevity of cows, thus affecting productivity. Therefore, the objective of this study was to estimate genetic parameters for linear conformation and milk yield, in addition to carrying out a genome-wide association study (GWAS) to identify genomic regions and candidate genes associated with these traits in Gir dairy cattle from Colombia and Brazil. Linear conformation traits were classified as "body size", "feet and legs" and "mammary system". After genotype imputation and quality control, 42,105 SNPs were available for analysis and 24,489 cows with pedigree information had phenotypes. Univariate and bivariate animal models using Bayesian inference were used to estimate variance components, using pedigree and genotype information. For GWAS, the single-trait WssGBLUP method was used, using moving genomic windows of 0.11Mb, defined based on linkage disequilibrium. The top 10 windows explaining the highest percentage of additive genetic variation were selected for QTL and gene annotation. Heritability estimates for linear conformation traits ranged from 0.08 to 0.35, and for milk production, it was 0.23. Hip height and traits related to the mammary system, as udder depth and rear udder width were genetically correlated with milk yield. The genomic regions identified in our work overlapped with QTLs previously described to be related to milk yield, body height, udder width, and udder depth. In total, 16 genes were noted as possible candidate genes. Of these genes, PIK3R5 and PIK3R6 have previously been linked to body size in cattle. Several of the identified genes are involved in traits of lipid metabolism, survival, reproduction, and milk production. Based on the heritability estimates and correlations obtained, it is important to consider the possible correlated response to selection and synergies between linear conformation traits and milk yield in Gir cattle. Furthermore, the identified genetic regions and candidate genes establish a fundamental platform for future studies that help to understand the biological pathways that affect the studied traits in Gir cattle.

Keywords: *Bos indicus*, morphological traits, dairy cattle, candidate genes, GWAS, genetic parameters

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Ângulo do casco
AG	Ângulo da garupa
ALT	Altura na garupa
BTA	<i>Bos taurus</i> autosomes
CT	Comprimento de tetos
DT	Diâmetro de tetos
ESS	Effective sample size
FA	Foot angle
GWAS	Estudo de associação ampla do genoma
HG	Heart girth
HH	Hip height
LD	Linkage disequilibrium
LU	Largura do úbere
MAF	Minor allele frequency
MY	305-day cumulative milk yield
PL	Produção de leite acumulada aos 305 dias
PLT	Pernas traseiras-vista lateral
PT	Perímetro torácico
PU	Profundidade do úbere
QTL	Quantitative trait loci
RA	Rump angle
RLS	Rear legs-side view
RU	Rear udder width
TD	Teat diameter
TL	Teat length
UD	Udder depth
WssGBLUP	Weighted single-step genomic approach

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1 Introdução

Na pecuária leiteira em áreas tropicais e subtropicais, como o Brasil e a Colômbia, onde predominam os sistemas de produção extensivos e com forragens de baixa qualidade, as raças taurinas (*Bos taurus taurus*) não conseguem expressar seu potencial produtivo que apresentariam se estivessem produzindo em clima temperado. Entretanto, as raças zebuínas (*Bos taurus indicus*), por seus ancestrais terem desenvolvidos em áreas semelhantes, apresentam adaptação tanto ao clima quanto ao sistema de produção, tornando-se necessárias na produção de leite nos trópicos (Santana Jr et al., 2014).

Entre os zebuínos, a raça Gir tornou-se relevante na cadeia produtiva do Brasil por sua rusticidade, longevidade produtiva, e produção leiteira (Santana Jr et al., 2014). De acordo com Toro et al. (2023), a raça Gir e seus cruzamentos são material genético consolidado para a sustentação da pecuária de países tropicais e subtropicais, demonstrando a importância do estudo da raça, visando aumentar a eficiência de produção de alimento para a população.

O Gir leiteiro brasileiro é o resultado de processo de seleção que começou após as primeiras importações de gado Gir no ano de 1870 provenientes da Índia. A seleção dos reprodutores por mais de 50 anos foi realizada de forma empírica, no entanto, em 1985 a Associação Brasileira de Criadores Gir Leiteiro (ABCGIL) junto com a Embrapa Gado de Leite começaram “Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro”, com o objetivo principal de promover o melhoramento da produção, conformação e manejo no Gir leiteiro (Fernandes et al., 2019). Esta constatação fundamenta o crescente interesse por distintos países pela genética produzida no Brasil.

Inicialmente os programas de melhoramento genético na raça Gir foram direcionados para aumentar a produção de leite (Prata et al., 2015). No entanto, para otimizar a produção, incluindo a produção de leite e a vida produtiva, faz necessário que o indivíduo tenha estrutura morfológica e condição corporal capaz de manter a produção e permanecer no rebanho (Almeida et al., 2017; Saowaphak et al., 2017).

De acordo com Saowaphak et al. (2017) e Fernandes et al. (2019), em programas de melhoramento genético de gado leiteiro, as características de conformação são extremamente importantes, desde estejam focadas na promoção de animais mais eficientemente produtivos.

As diferentes medidas corporais em bovinos tem sido objeto de estudo durante anos e estas variáveis classificadas como quantitativas, estão estritamente ligadas à saúde do indivíduo, produtividade e vida útil (An et al., 2019). Além disto, características de conformação estão correlacionadas com caracteres de importância econômica como facilidade de parto, longevidade, laminitite e eficiência produtiva (Abou-Ismaïl et al., 2017). A avaliação de características lineares de conformação em bovinos leiteiros visa selecionar indivíduos com harmonia entre produção e funcionalidade, permitindo aumentar a permanência dos indivíduos no rebanho e facilitando o manejo. Neste sentido, variáveis de tipo são necessárias em programas de melhoramento com o fim de identificar indivíduos melhor adaptados as condições nos sistemas de produção, evitando o aumento dos custos na substituição dos animais.

A estimativa dos parâmetros genéticos e a relação entre as características de conformação e produção de leite podem apresentar variações entre raças. A maior parte da pesquisa disponível sobre essas estimativas concentra-se em raças taurinas, sendo a raça Holandês, provavelmente a mais estudada. Portanto, entender como as características de conformação corporal e a produção de leite se correlacionam geneticamente, é importante para os programas de melhoramento em gado Gir.

Com o advento de tecnologias como a genotipagem e o sequenciamento completo do genoma bovino, tem surgido oportunidades na produção animal por meio das análises genômicas. Essas abordagens oferecem a possibilidade de compreender mecanismos subjacentes às manifestações de características complexas (Scott et al., 2007). De acordo com Carreño et al. (2019), o sequenciamento do genoma bovino disponibilizou informação que pode ser utilizada na predição de valores genéticos por meio da seleção genômica e na localização de regiões ou genes associados com fenótipos de interesse por meio de estudo de associação ampla do genoma (GWAS). Conhecer as regiões genômicas influenciando a expressão de características lineares

de conformação em bovinos Gir leiteiro favoreceria a seleção de reprodutores permitindo explorar a pecuária de maneira mais eficiente.

Estudos de GWAS fornecem abordagem robusta para descrever efeitos fenotípicos ou mapear características de loci quantitativos (QTL) de variáveis leiteiras importantes no genoma, utilizando para isto marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) (Cole et al., 2011). A detecção de QTL fornece informação relevante que pode facilitar a compreensão dos mecanismos genéticos subjacentes aos fenótipos, além disto, fornece a detecção de polimorfismos causais que permitem acelerar o processo de melhoramento genético usando a seleção genômica (Meuwissen et al., 2001; Vanraden, 2008)

Em bovinos, estudos de associação têm focado nas variáveis de maior importância econômica, incluindo características de produção, reprodução e resistência a doenças (Wu et al., 2013). Diversos estudos de GWAS tem sido reportados em bovinos leiteiros, incluindo o estudo de 17 características funcionais e de tipo em touros holandeses do Canada e utilizando SNPs de genes candidatos (Kolbehdari et al., 2008); o estudo de associação de 18 variáveis de conformação corporal, classificadas em seis grupos, tamanho corporal, forma corporal, úbere, tetos, pernas e pés, em vacas holandesas dos Estados Unidos com painel de 50k (Cole et al., 2011); o estudo em vacas de primeiro parto da raça Holandês na China, avaliando 21 características de conformação linear (Wu et al., 2013); o trabalho realizado com fêmeas Simental na Alemanha, associando 12 QTLs relacionados na conformação da glândula mamária (Pausch et al., 2016); e associação ampla do genoma de 16 variáveis de conformação em vacas holandesas no México (Gonzalez et al., 2017).

Estes estudos forneceram informações consideráveis sobre QTLs, contribuindo para construir um consenso sobre os efeitos em bovinos leiteiros (Cole et al., 2011). No entanto, é importante notar que a maioria dos estudos até o momento tem se concentrado na raça Holandesa. Devido à distância genética entre essa raça e as raças zebuínas, como a Gir, existe preocupação de que os conhecimentos adquiridos possam não ser diretamente aplicáveis ao gado Gir. Além disso, é relevante observar a ausência de estudos de associação genômica relacionados às características lineares de conformação específicas da raça Gir leiteira.

O objetivo deste estudo foi estimar parâmetros genéticos para características de conformação e produção de leite, e realizar um GWAS para identificar regiões genômicas e genes candidatos associados a essas características em gado Gir leiteiro da Colômbia e do Brasil.

5 Conclusion

The association study provided the top 10 windows explaining the highest percentage of additive genetic variance for milk yield, frame and udder traits in Gir dairy cattle. Some of these windows were located within QTL regions previously reported as related to milk yield, body height, udder width and udder depth. Additionally, 16 genes were identified as potential candidate genes for MY, HH, RU and UD. Of these genes, *PIK3R5* and *PIK3R6* had been previously related to cattle body size. Some of the windows were novel genomic locations that could be used to

better understand the complexity of the genetic basis of the studied traits. These findings establish a foundational platform for further studies that aim to understand the biological pathways that affect milk yield, frame and udder traits in dairy cattle, particularly in Gir cattle. This research is relevant to *Bos indicus* cattle and the tropical industries that breed these adapted animals.

6 Reference

Abbasi M-A, Ghafouri-Kesbi F (2011) Genetic (co) variance components for body weight and body measurements in Makooei sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 24:739-743.

Aguilar I, Misztal I, Johnson D, Legarra A, Tsuruta S, Lawlor T (2010) Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science** 93:743-752.

Ardlie KG, Kruglyak L, Seielstad M (2002) Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. **Nature Reviews Genetics** 3:299-309.

Awad A, Russ I, Emmerling R, Förster M, Medugorac I (2010) Confirmation and refinement of a QTL on BTA5 affecting milk production traits in the Fleckvieh dual purpose cattle breed. **Animal genetics** 41:1-11.

Banliat C, Tomas D, Teixeira-Gomes A-P, Uzbekova S, Guyonnet B, Labas V, Saint-Dizier M (2019) Stage-dependent changes in oviductal phospholipid profiles throughout the estrous cycle in cattle. **Theriogenology** 135:65-72.

Bennewitz J, Reinsch N, Grohs C, Levéziel H, Malafosse A, Thomsen H, Xu N, Looft C, Kühn C, Brockmann GA (2003) Combined analysis of data from two granddaughter designs: A simple strategy for QTL confirmation and increasing experimental power in dairy cattle. **Genetics Selection Evolution** 35:1-20.

Bennewitz Jr, Reinsch N, Guiard V, Fritz S, Thomsen H, Looft C, Kühn C, Schwerin M, Weimann C, Erhardt G (2004) Multiple quantitative trait loci mapping with cofactors and application of alternative variants of the false discovery rate in an enlarged granddaughter design. **Genetics** 168:1019-1027.

Boichard D, Grohs C, Bourgeois F, Cerqueira F, Faugeras R, Neau A, Rupp R, Amigues Y, Boscher MY, Levéziel H (2003) Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. **Genetics Selection Evolution** 35:77-101.

Braga LG, Chud TC, Watanabe RN, Savegnago RP, Sena TM, do Carmo AS, Machado MA, Panetto JCDC, da Silva MVG, Munari DP (2023) Identification of copy number variations in the genome of Dairy Gir cattle. **PLoS One** 18:e0284085.

Casas E, Hessman B, Keele J, Ridpath J (2015) A genome-wide association study for the incidence of persistent bovine viral diarrhea virus infection in cattle. **Animal genetics** 46:8-15.

Chen J-B, Zheng W-Z, Li Y-C, Lin S-R, Zhang Z, Wu Y, Jiang Z-M, Gui Y-T (2016) Expression characteristics of the Ccdc70 gene in the mouse testis during spermatogenesis. **Zhonghua nan ke xue= National journal of andrology** 22:12-16.

Cole JB, Wiggans GR, Ma L, Sonstegard TS, Lawlor TJ, Crooker BA, Van Tassell CP, Yang J, Wang S, Matukumalli LK (2011) Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary US Holstein cows. **BMC Genomics** 12:1-17.

Da Cruz AS, Silva DC, Minasi LB, de Farias Teixeira LK, Rodrigues FM, da Silva CC, do Carmo AS, da Silva MVGB, Utsunomiya YT, Garcia JF (2021) Single-Nucleotide Polymorphism variations associated with specific genes putatively identified enhanced genetic predisposition for 305-day milk yield in the Girolando crossbreed. **Frontiers in genetics** 11:573344.

De Haas, Y, Janss, LLG, Kadarmideen HN (2007) Genetic and phenotypic parameters for conformation and yield traits in three Swiss dairy cattle breeds. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 124:12-19.

Dominguez-Castaño P, Fortes MR, Silva JAII (2023) Genetic parameters for milk production and body conformation traits in Dairy Gir cattle. **Animal Production Science**.

Dube B, Dzama K, Banga C, Norris D (2009) An analysis of the genetic relationship between udder health and udder conformation traits in South African Jersey cows. **Animal** 3:494-500.

Fernandes AR, Faro LE, Vercesi Filho AE, Machado CHC, Barbero LM, Bittar ER, Igarasi MS (2019) Genetic evolution of milk yield, udder morphology and behavior in Gir dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia** 48.

Fonseca PA, Suarez-Vega A, Marras G, Cánovas Á (2020) GALLO: An R package for genomic annotation and integration of multiple data sources in livestock for positional candidate loci. **Gigascience** 9:giaa149.

Fortes MR, Porto-Neto LR, Satake N, Nguyen LT, Freitas AC, Melo TP, Scalez DCB, Hayes B, Raidan FS, Reverter A (2020) X chromosome variants are associated with male fertility traits in two bovine populations. **Genetics Selection Evolution** 52: 1-13.

Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Mni M, Reid S, Simon P (2002) Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. **Genome research** 12:222-231.

Hawken R, Zhang Y, Fortes M, Collis E, Barris W, Corbet N, Williams P, Fordyce G, Holroyd R, Walkley J (2012) Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. **Journal of animal science** 90:1398-1410.

Hishikawa D, Hong Y-H, Roh S-G, Miyahara H, Nishimura Y, Tomimatsu A, Tsuzuki H, Gotoh C, Kuno M, Choi K-C (2005) Identification of genes expressed differentially in subcutaneous and visceral fat of cattle, pig, and mouse. **Physiological genomics** 21:343-350.

Johnston D, Mukiibi R, Waters SM, McGee M, Surlis C, McClure JC, McClure MC, Todd CG, Earley B (2020) Genome wide association study of passive immunity and disease traits in beef-suckler and dairy calves on Irish farms. **Scientific Reports** 10:18998.

Koenen E, Groen A (1998) Genetic evaluation of body weight of lactating Holstein heifers using body measurements and conformation traits. **Journal of Dairy Science** 81:1709-1713.

Kominakis A, Hager-Theodorides AL, Zoidis E, Saridaki A, Antonakos G, Tsiamis G (2017) Combined GWAS and 'guilt by association'-based prioritization analysis identifies functional candidate genes for body size in sheep. **Genetics Selection Evolution** 49:1-16.

Laodim T, Elzo MA, Koonawootrittriron S, Suwanasopee T, Jattawa D (2019) Pathway enrichment and protein interaction network analysis for milk yield, fat yield and age at first calving in a Thai multibreed dairy population. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 32:508.

Lemos MV, Chiaia HLJ, Berton MP, Feitosa FL, Aboujaoud C, Camargo GM, Pereira AS, Albuquerque LG, Ferrinho AM, Mueller LF (2016) Genome-wide association between single nucleotide polymorphisms with beef fatty acid profile in Nellore cattle using the single step procedure. **BMC Genomics** 17:1-16.

Lourenco D, Fragomeni B, Bradford H, Menezes I, Ferraz J, Aguilar I, Tsuruta S, Misztal I (2017) Implications of SNP weighting on single-step genomic predictions for different reference population sizes. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 134:463-471.

Lund T, Miglior F, Dekkers J, Burnside E (1994) Genetic relationships between clinical mastitis, somatic cell count, and udder conformation in Danish Holsteins. **Livestock Production Science** 39:243-251.

Marín-Garzón N, Magalhães A, Schmidt P, Serna M, Fonseca L, Salatta B, Frezarim G, Fernandes-Júnior G, Bresolin T, Carvalheiro R (2021) Genome-wide scan reveals genomic regions and candidate genes underlying direct and maternal effects of preweaning calf mortality in Nellore cattle. **Genomics** 113:1386-1395.

McClure M, Morsci N, Schnabel R, Kim J, Yao P, Rolf M, McKay S, Gregg S, Chapple R, Northcutt S (2010) A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass,

post-natal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. **Animal genetics** 41:597-607.

Misztal I, Tsuruta S, Lourenco D, Masuda Y, Aguilar I, Legarra A, Vitezica Z (2018) **Manual for BLUPF90 family programs**. University of Georgia.

Nascimento AVD, Romero ÂRDS, Utsunomiya YT, Utsunomiya ATH, Cardoso DF, Neves HHR, Carneiro R, Garcia JF, Grisolia AB (2018) Genome-wide association study using haplotype alleles for the evaluation of reproductive traits in Nelore cattle. **PLoS One** 13:e0201876.

Nguyen LT, Lau LY, Fortes MRS (2022) Proteomic Analysis of Hypothalamus and Pituitary Gland in Pre and Postpubertal Brahman Heifers. **Frontiers in genetics** 13:935433.

Ning C, Wang D, Zheng X, Zhang Q, Zhang S, Mrode R, Liu J-F (2018) Eigen decomposition expedites longitudinal genome-wide association studies for milk production traits in Chinese Holstein. **Genetics Selection Evolution** 50:1-10.

Otto PI, Guimarães SE, Calus MP, Vandenplas J, Machado MA, Panetto JCC, da Silva MVG (2020) Single-step genome-wide association studies (GWAS) and post-GWAS analyses to identify genomic regions and candidate genes for milk yield in Brazilian Girolando cattle. **Journal of Dairy Science** 103:10347-10360.

Panetto J, Silva M, Verneque R, Machado M, Fernandes A, Machado C, Martins M, Reis DDL, Borges C (2022) **Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro – Sumário Brasileiro de Touros – 5ª Avaliação Genômica de Touros - Resultado do Teste de Progênie– junho/2022**. Juiz de Fora, Embrapa Gado de Leite, documento 265. Available at <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1144060/programa-nacional-de-melhoramento-do-gir-leiteiro---sumario-brasileiro-de-touros---5-avaliacao-genomica-de-touros---resultado-do-teste-de-progenie---junho-2022>

R CT (2022) **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. (Vienna, Austria)

Raven, L-A, Cocks, BG, Hayes, BJ (2014) Multibreed genome wide association can improve precision of mapping causative variants underlying milk production in dairy cattle. **BMC Genomics** 15:1-14.

Rocha RDFB, Garcia AO, Otto PI, Dos Santos MG, da Silva MVB, Martins MF, Machado MA, Panetto JCC, Guimarães SEF (2023) Single-step genome-wide association studies and post-GWAS analyses for the number of oocytes and embryos in Gir cattle. **Mammalian Genome** 1-12.

Santana Jr, M, Pereira, R, Bignardi, A, El Faro, L, Tonhati, H, Albuquerque, L (2014) History, structure, and genetic diversity of Brazilian Gir cattle. **Livestock Science** 163:26-33.

- Sasaki, S, Ibi, T, Kojima, T, Sugimoto, Y (2016) A genome-wide association study reveals a quantitative trait locus for days open on chromosome 2 in Japanese Black cattle. **Animal genetics** 47:102-105.
- Schnabel R, Sonstegard T, Taylor J, Ashwell M (2005) Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. **Animal genetics** 36:408-416.
- Short T, Lawlor T (1992) Genetic parameters of conformation traits, milk yield, and herd life in Holsteins. **Journal of Dairy Science** 75:1987-1998.
- Søndergaard E, Sørensen M, Mao I, Jensen J (2002) Genetic parameters of production, feed intake, body weight, body composition, and udder health in lactating dairy cows. **Livestock Production Science** 77:23-34.
- Thaller G, Kramer W, Winter A, Kaupe B, Erhardt G, Fries R (2003) Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. **Journal of animal science** 81:1911-1918.
- Toro-Ospina AM, Faria RA, Dominguez-Castaño P, Santana ML, Gonzalez LG, Espasandin AC, Silva JAIV (2023) Genotype–environment interaction for milk production of Gyr cattle in Brazil and Colombia. **Genes & Genomics** 45:135-143.
- VanRaden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science** 91:4414-4423.
- Vanvanhossou SFU, Scheper C, Dossa LH, Yin T, Brügemann K, König S (2020) A multi-breed GWAS for morphometric traits in four Beninese indigenous cattle breeds reveals loci associated with conformation, carcass and adaptive traits. **BMC Genomics** 21:1-16.
- Viitala SM, Schulman NF, de Koning D-J, Elo K, Kinos R, Virta A, Virta J, Mäki-Tanila A, Vilkki J (2003) Quantitative trait loci affecting milk production traits in Finnish Ayrshire dairy cattle. **Journal of Dairy Science** 86:1828-1836.
- Visscher PM, Hemani G, Vinkhuyzen AA, Chen G-B, Lee SH, Wray NR, Goddard ME, Yang J (2014) Statistical power to detect genetic (co) variance of complex traits using SNP data in unrelated samples. **PLoS genetics** 10:e1004269.
- Vollema A, Van Der Beek S, Harbers A, De Jong G (2000) Genetic evaluation for longevity of Dutch dairy bulls. **Journal of Dairy Science** 83:2629-2639.
- Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A, Muir W (2012) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research** 94:73-83.
- Wang P, Li X, Zhu Y, Wei J, Zhang C, Kong Q, Nie X, Zhang Q, Wang Z (2022) Genome-wide association analysis of milk production, somatic cell score, and body conformation traits in Holstein cows. **Frontiers in Veterinary Science** 9:932034.

Wang X, Su F, Yu X, Geng N, Li L, Wang R, Zhang M, Liu J, Liu Y, Han B (2020) RNA-Seq whole transcriptome analysis of bovine mammary epithelial cells in response to intracellular *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Veterinary Science** 7:642.

Winnay JN, Solheim MH, Dirice E, Sakaguchi M, Noh H-L, Kang HJ, Takahashi H, Chudasama KK, Kim JK, Molven A (2016) PI3-kinase mutation linked to insulin and growth factor resistance in vivo. **The Journal of clinical investigation** 126:1401-1412.

Wu X, Fang M, Liu L, Wang S, Liu J, Ding X, Zhang S, Zhang Q, Zhang Y, Qiao L, Lund MS, Su G, Sun D (2013) Genome wide association studies for body conformation traits in the Chinese Holstein cattle population. **BMC Genomics** 14:897.

Xie Y, Liu Z, Guo J, Su X, Zhao C, Zhang C, Qin Q, Dai D, Zhao Y, Wang Z (2021) MicroRNA-mRNA regulatory networking fine-tunes polyunsaturated fatty acid synthesis and metabolism in the Inner Mongolia cashmere goat. **Frontiers in genetics** 12:649015.

Yin L, Zhang H, Tang Z, Xu J, Yin D, Zhang Z, Yuan X, Zhu M, Zhao S, Li X (2021) rMVP: a memory-efficient, visualization-enhanced, and parallel-accelerated tool for genome-wide association study. **Genomics, proteomics & bioinformatics** 19:619-628.

Zhang X, Lin Q, Liao W, Zhang W, Li T, Li J, Zhang Z, Huang X, Zhang H (2023) Identification of New Candidate Genes Related to Semen Traits in Duroc Pigs through Weighted Single-Step GWAS. **Animals** 13:365.

Zhang X, Lourenco D, Aguilar I, Legarra A, Misztal I (2016) Weighting strategies for single-step genomic BLUP: an iterative approach for accurate calculation of GEBV and GWAS. **Frontiers in genetics** 7:151.

Zielak-Steciwko AE, Browne JA, McGettigan PA, Gajewska M, Dzięcioł M, Szulc T, Evans AC (2014) Expression of microRNAs and their target genes and pathways associated with ovarian follicle development in cattle. **Physiological genomics** 46:735-745.