

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA
HABILIDADE DE PERMANÊNCIA NO REBANHO NA
RAÇA NELORE, CONSIDERANDO DIFERENTES
IDADES**

Diogo Osmar Silva
Zootecnista

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA
HABILIDADE DE PERMANÊNCIA NO REBANHO NA
RAÇA NELORE, CONSIDERANDO DIFERENTES
IDADES**

Diogo Osmar Silva

Orientadora: Prof.^a Dra. Lucia Galvão de Albuquerque

Coorientador: Dr. Gerardo Alves Fernandes Júnior

**Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Campus de Jaboticabal, como
parte das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Genética e
Melhoramento Animal**

2018

S586e Silva, Diogo Osmar
Estudo de associação genômica para habilidade de
permanência no rebanho na raça nelore considerando
diferentes idades / Diogo Osmar Silva. -- Jaboticabal,
2018
30 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal
Orientadora: Lucia Galvão de Albuquerque
Coorientador: Gerardo Alves Fernandes Junior

1. Características reprodutivas. 2. Single-step. 3. raça
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.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

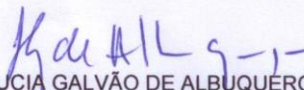
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA HABILIDADE DE PERMANÊNCIA NO REBANHO NA RAÇA NELORE, CONSIDERANDO DIFERENTES IDADES

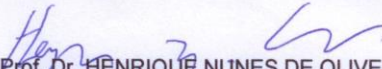
AUTOR: DIOGO OSMAR SILVA

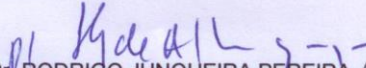
ORIENTADORA: LUCIA GALVÃO DE ALBUQUERQUE

COORIENTADOR: GERARDO ALVES FERNANDES JÚNIOR

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. LUCIA GALVÃO DE ALBUQUERQUE
Departamento de Zootecnia / FCAV / Unesp - Jaboticabal


Prof. Dr. HENRIQUE NUNES DE OLIVEIRA
Departamento de Zootecnia / FCAV / Unesp - Jaboticabal


Prof. Dr. RODRIGO JUNQUEIRA PEREIRA (Videoconferência)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Rondonópolis - MT

Jaboticabal, 19 de dezembro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Diogo Osmar Silva nascido no dia 19 de agosto de 1994, na cidade de Rondonópolis, Mato Grosso, filho de Osmar Antônio da Silva e Diva Bosa. Iniciou o curso de Zootecnia em março de 2012 na Universidade Federal de Mato Grosso, campus de Rondonópolis (atualmente Universidade Federal de Rondonópolis). Foi bolsista de iniciação científica no período entre 2013 e 2017 sob orientação do professor Dr. Rodrigo Junqueira Pereira. Obteve o título de bacharel em Zootecnia em fevereiro de 2017. Em março de 2017, ingressou no curso de mestrado pelo programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, sob orientação da professora Dra. Lucia Galvão de Albuquerque e coorientação do Dr. Gerardo Alves Fernandes Júnior. Foi bolsista de CAPES pelo período de 03 de março a 31 de março de 2017 e bolsista FAPESP de 1 de abril a 31 de dezembro de 2018.

*“Uma mente que se abre a uma nova ideia,
jamais voltará ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

Dedico a meus pais e ao meu irmão pelo apoio incondicional que estes me deram.

Agradecimentos

À Deus, pelas oportunidades que me foram oferecidas.

À minha família que, incondicionalmente, me apoiaram ao longo desta caminhada.

Agradeço à minha orientadora professora Dra. Lucia Galvão de Albuquerque pela orientação, oportunidades e suporte para a realização do projeto.

Ao meu coorientador Dr. Gerardo Alves Fernandes Junior pela ajuda, apoio e conselhos na condução deste projeto.

Aos professores Dr. Fernando Baldi e Dr. Henrique Nunes de Oliveira pelas sugestões na qualificação.

Aos professores Dr. Henrique Nunes de Oliveira e Dr. Rodrigo Junqueira Pereira pelas sugestões na banca de defesa da dissertação.

Aos docentes do programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal.

Aos colegas e amigos de departamento Ana Cristina, Ana Fabricia, André Mauric, André Vieira, Ândrea, Andres, Anderson, Bianca, Bruna, Camila, Dani, Elisa, Gabriela, Ivan, Larissa, Lucas, Lucio, Malane, Natalia, Patrícia, Rafael Espigolan, Sabrinas (Kluska e Amorim), Samuel, Tiago, Thaise, Thomaz, Willian e aos demais pelo convívio, conversas e momentos de distração.

Aos meus amigos que me acompanham desde a graduação: Eric, Carol e Milene pelas conversas, histórias e apoio dado neste período.

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

À CNPq (Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Processo n. 559631/2009-0) e à FAPESP (Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela bolsa de estudos concedida (Processo #

2017/24272-0) e pelo financiamento do projeto (Processo # 2009/16118-5) que foram de suma importância para a condução do projeto.

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram com o projeto e que não recordo no presente momento em que escrevo.

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
3. MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1 Descrição do arquivo de dados	6
3.2 Análises estatísticas	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4 CONCLUSÃO	23
5 REFERÊNCIAS	24

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA PARA HABILIDADE DE PERMANÊNCIA NO REBANHO NA RAÇA NELORE CONSIDERANDO DIFERENTES IDADES

Resumo

A habilidade de permanência no rebanho (HPR) é medida tardiamente na vida do animal. Com isso, quando esta característica é usada como critério de seleção, o intervalo de geração, definido como a média de idade dos pais ao nascimento da progênie, tende a aumentar, provocando a diminuição do ganho genético. A mensuração das fêmeas em uma idade mais precoce seria uma forma de contornar este problema. Neste sentido, um melhor entendimento das regiões genômicas envolvidas na expressão desta característica em diferentes idades/partos é necessário. O objetivo com o presente estudo foi, então, identificar regiões genômicas associadas à HPR medida em diferentes partos de fêmeas da raça Nelore. Considerando apenas fêmeas com idade ao primeiro parto de até 40 meses, os fenótipos para HPR foram gerados observando se cada fêmea teve oportunidade de permanecer no rebanho do segundo ao oitavo parto, de maneira que cada vaca poderia ter até sete observações para HPR. Ao final, o banco de dados possuía 195.452, 161.261, 130.236, 103.043, 79.844, 62.663 e 47.045 fêmeas com fenótipos para o segundo, terceiro, quarto, quinto, sexto, sétimo e oitavo parto, respectivamente. Do total de animais no banco de dados, 3.849 (2.720 fêmeas e 1.129 touros) apresentavam informações genotípicas de 472.640 marcadores do tipo SNPs (Illumina BovineHD BeadChip). Ao todo, foram realizadas sete análises uni-características, considerando modelos *thresholds* com função de ligação *probit*. A metodologia do *single-step* GBLUP foi utilizada para estimar componentes de variância para HPR em cada parto bem como para a realização de estudos de associação genômica, nos quais considerou-se, na identificação das regiões de maior efeito, a variância explicada por janelas de 100 SNPs consecutivos. As estimativas de herdabilidade variaram de 0,15 (terceiro parto) a 0,18 (oitavo parto) e as correlações de Pearson entre os valores genéticos genômicos preditos variaram de 0,52 (entre o segundo e o oitavo parto) a 0,93 (entre o sétimo e o oitavo parto). Em média, as dez janelas com maior importância no estudo de associação explicaram 15,41% da variância genética aditiva, variando entre 13,08% e 17,67% de acordo com o parto avaliado. As janelas selecionadas estavam localizadas em 18 cromossomos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 20, 25 e 28). A região entre 42 Mb e 49 Mb do cromossomo 6 foi identificada para o segundo, terceiro, quarto, quinto e sétimo parto. Esta é uma região de QTL com efeito pleiotrópico, a qual já havia sido associada com outras características como: facilidade de parto, probabilidade de natimorto, consumo alimentar residual e produção de leite e gordura. Várias regiões foram identificadas em comum entre partos adjacentes, como no cromossomo 1, 2, 4, 11, 18 e 19. No geral, a análise funcional das regiões identificadas indicou que a expressão da HPR nos primeiros partos sofre maior influência de fatores reprodutivos, enquanto que, nos últimos partos, fatores adaptativos e relacionados ao metabolismo, principalmente de carboidratos e lipídeos, bem como fatores ligados à saúde do animal, passam a ter maior importância para esta característica. Os resultados apresentados podem favorecer a definição de estratégias eficientes de seleção para HPR na raça

Nelore, uma vez que foram geradas informações importantes sobre o controle genético desta característica ao longo da vida produtiva dos animais.

Palavras-chave: características reprodutivas, single-step, raça zebuína

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY FOR STAYABILITY IN NELORE CATTLE, CONSIDERING DIFFERENT AGES

Abstract

Stayability (STAY) is a trait measured late in the animal's life. Thus, when this trait is used as selection criteria, the generation interval, defined as the parents average age at the progeny birth, tends to increase, causing a decrease in the genetic gain. Measuring females at an earlier age could be a way to circumvent this problem. In this sense, a better understanding of genomic regions involved in the expression of this trait at different ages/calving is necessary. The objective of the present study was to identify genomic regions associated with STAY measured in different calving of Nelore females. Considering only females that had their first calving up to 40 months of age, the phenotypes for STAY were generated by observing whether each female had the opportunity to remain in the herd from the second to the eighth calving, in such a way that each cow could have up to seven records. The final dataset had 195,452, 161,261, 130,236, 103,043, 79,844, 62,663 and 47,045 females with phenotypes for the second, third, fourth, fifth, sixth, seventh and eighth calving, respectively. In total, 3,849 (2,720 females and 1,129 bulls) animals from the whole dataset used in the analyses had genotypic information of 472,640 SNPs (Illumina BovineHD BeadChip) markers. In total, seven single-trait analyzes were performed considering threshold animal models with probit link function. The single-step GBLUP methodology was used to estimate variance components for STAY at each calving as well as to perform genomic association studies, in which the variance explained by windows of 100 consecutive SNPs was used to identify genomic regions with major effect on the trait. The heritabilities ranged from 0.15 (third calving) to 0.18 (eighth calving) and the Pearson correlations between genomic estimated breeding values ranged from 0.52 (between second and eighth calving) to 0.93 (between seventh and the eighth calving). On average, the ten most important windows explained 15.41% of the genetic additive variance, varying between 13.08% and 17.67%. The selected windows were located on 18 chromosomes (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 20, 25, and 28). The region between 42 Mb and 49 Mb of the chromosome 6 was identified for the second, third, fourth, fifth and seventh calving. This is a QTL region with pleiotropic effect that has been associated with calving ease, stillbirth, residual feed intake and milk and fat production. Several regions were identified in common with adjacent calvings, as those in chromosomes 1, 2, 4, 11, 18 e 19. In general, the functional analyses suggested that the expression of STAY in the first calving is more influenced by reproductive factors, whereas, in the last calving, adaptive and metabolic factors, especially carbohydrates and lipids, as well as factors related to animal health, have become more important for STAY. The results presented here may contribute to the definition of efficient selection strategies for STAY in Nelore, since important information on the genetic control of this trait throughout the productive life of the animals has been generated.

Keywords: reproductive traits, single-step, Zebu breed

1. INTRODUÇÃO

Em bovinos de corte, a eficiência reprodutiva é essencial para o sucesso do empreendimento. É a partir do desempenho reprodutivo da população que se define a quantidade de animais disponíveis para seleção e abate. Isto explica o fato de as características reprodutivas de fêmeas apresentarem, geralmente, maior importância em índices econômicos de seleção (Brumatti et al., 2011; Lôbo et al., 2016). Brumatti et al. (2011), por exemplo, verificaram que características reprodutivas têm entre 4 e 13 vezes maior impacto econômico que as de desempenho ponderal ao desmame e ao sobreano, sendo a habilidade de permanência no rebanho (HPR) uma das características mais relacionadas com a lucratividade do sistema produtivo. De maneira similar, Lôbo et al. (2016) reportaram que a HPR foi uma das características com maior ponderação (22%) em um índice econômico desenvolvido para a raça Nelore.

A manutenção das matrizes e das novilhas para reposição é responsável pela maior parte dos custos de produção (Newman *et al.*, 1992). Estes custos são tanto mais elevados quanto menores forem as taxas reprodutivas do rebanho (Formigoni *et al.*, 2005). Isto evidencia a importância de aumentar a longevidade produtiva das fêmeas, uma vez que pode reduzir os custos relacionados à criação de novilhas para reposição (Rizzo *et al.*, 2015). Em outras palavras, a vaca deve permanecer produtiva no rebanho pelo menos até cobrir os seus custos com recria e manutenção. Dentre as características utilizadas para medir o período em que a fêmea se mantém produtiva no rebanho podemos citar longevidade e habilidade de permanência no rebanho. A primeira é normalmente definida como sendo a idade em que a fêmea foi descartada do rebanho ou em que teve seu último registro de produção (Riley *et al.*, 2001). A segunda é definida como a probabilidade de a vaca estar presente no rebanho sendo produtiva e apresentando regularidade reprodutiva até uma idade referência (Van Melis *et al.*, 2007). Em geral, essa idade referência tem seu valor definido como algo em torno de 6 anos. Assim, HPR acaba sendo uma medida mensurada mais cedo em relação a longevidade.

A seleção para HPR é difícil por ser uma característica de herdabilidade baixa, além de ser de obtenção tardia na vida da fêmea, sendo que, normalmente, a

idade de 76 meses é utilizada como critério. Além disto, como os machos não expressam esta característica, uma seleção acurada de touros depende de um teste de progênie. Com isso, utilizando esta característica como critério de seleção, o intervalo de gerações tende a aumentar, com consequente diminuição do ganho genético. A mensuração das fêmeas em uma idade mais precoce seria a forma de contornar este problema. Neste sentido, um melhor entendimento das regiões genômicas envolvidas na expressão desta característica em diferentes idades/partos é necessário.

Estudos de associação genômica ampla (GWAS - *Genome-wide association studies*) vêm sendo empregados, com sucesso, na identificação de variantes genéticas associadas às diversas características de importância econômica. Para a característica HPR, alguns estudos com a raça Nelore (Teixeira et al., 2017), Angus (Speidel et al., 2018) e vacas cruzadas Nelore e Angus (Engle et al., 2018) foram reportados na literatura. Utilizando a definição de HPR medida aos diferentes partos, são escassos os estudos de associação genômicas na literatura.

Assim, objetivou-se com a realização do presente trabalho: 1) estimar herdabilidades para HPR para os diferentes partos da raça Nelore; 2) identificar possíveis regiões do genoma de maior efeito influenciando a expressão da característica HPR nos diferentes partos; e 3) identificar os genes presentes nestas regiões bem como as principais vias metabólicas que possam estar envolvidas com a expressão da característica HPR ao longo da vida produtiva das fêmeas. Os resultados desta pesquisa deverão fornecer informações importantes sobre o controle genético da HPR em cada parto e, desta forma, contribuir para o desenvolvimento de estratégias eficientes de seleção visando o melhoramento desta característica na raça Nelore.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos ambientais e genéticos na avaliação da habilidade de permanência no rebanho

A característica HPR, definida como a probabilidade de a vaca estar presente no rebanho sendo produtiva e apresentando regularidade reprodutiva até uma idade referência (Van Melis *et al.*, 2007), vem ganhando cada vez mais importância no melhoramento de bovinos de corte (Brumatti *et al.*, 2011; Lôbo *et al.*, 2016). De um modo geral, aspectos como idade ao início da vida reprodutiva, duração do anestro pós-parto, falha na concepção ou reconcepção, manutenção da gestação e do desempenho da cria até a desmama, são levados em consideração na decisão de manter ou descartar uma fêmea do rebanho. Riley *et al.* (2001) observaram que, além da falha reprodutiva, o descarte de fêmeas por apresentarem problemas com mastites e úbere inadequado ou baixa produção de leite, tiveram grande relevância para a permanência da vaca no rebanho. Aranda-Avila *et al.* (2010), verificaram que fêmeas que tiveram seu primeiro parto antes dos 3 anos de idade tiveram maior probabilidade de permanência no rebanho que aquelas que pariram pela primeira vez após esta idade. Sobrevivência e desempenho da cria até a desmama também são aspectos relevantes para determinar a permanência da vaca no rebanho (Burns *et al.*, 2010).

A HPR é medida tardiamente na vida do animal (entre 60 e 80 meses de idade), e apresenta baixa ou moderada herdabilidade, com estimativas variando entre 0,11 e 0,28 (Queiroz *et al.*, 2007; Van Melis *et al.*, 2007; Santana Jr *et al.*, 2015). De um modo geral, estes valores são influenciados pela raça, tipo de metodologia utilizada na estimativa dos componentes de variância e forma de mensuração do fenótipo (por exemplo, idade ou número de partos em uma certa idade). Marcondes *et al.* (2005) verificaram que, considerando diferentes classes fenotípicas, 0, 1, 2 e 3, respectivamente, para vacas Nelore com menos de três, com três, quatro ou cinco partos até os 76 meses de idade, como medida alternativa de probabilidade de permanência no rebanho, foi mais eficiente na detecção da variabilidade genética em comparação à definição padrão de HPR aos 76 meses de idade. Isto indica que a avaliação da HPR ao longo da vida produtiva da fêmea pode ser uma alternativa mais eficiente para o melhoramento desta característica em bovinos de corte.

A possibilidade da característica HPR ser mensurada a cada parto da fêmea, permitindo, desta forma, que a mesma seja avaliada mais precocemente (entre 3 e 4

anos) tem sido objeto de estudo de alguns autores. Martinez et al. (2004) estudaram HPR do segundo ao sexto parto na raça Hereford e, de acordo com estes autores, os moderados valores de herdabilidade encontrados (0,29 a 0,39) e as altas correlações genéticas entre os partos (0,70 a 0,83) indicam que a seleção para a permanência até o segundo parto pode resultar em ganho genético satisfatório para permanência até o sexto parto. Jamrozik et al. (2013) analisaram a HPR do segundo ao oitavo parto e verificaram herdabilidades variando de 0,13 a 0,35 e altas correlações genéticas (0,62 a 0,99), corroborando com o estudo anterior.

As correlações genéticas entre HPR e características reprodutivas e de desenvolvimento ponderal, de forma geral, são de baixa a moderada magnitude. Santana Jr et al. (2015) encontraram correlação genética de 0,20, 0,17 e 0,59 entre HPR e ganho de peso pós desmama, perímetro escrotal e ocorrência de prenhez precoce, respectivamente. Mercadante et al. (2004), analisando subpopulações da raça Nelore selecionadas considerando diferentes intensidades de seleção para peso ao sobreano, observaram que a seleção para o máximo diferencial de seleção não trouxe impacto na permanência da fêmea no rebanho quando comparado com a população de diferencial de seleção nulo.

2.2 Associação genômica ampla para habilidade de permanência no rebanho

A inclusão de informações do genoma do animal em análises genéticas trouxe contribuições importantes para o melhoramento genético animal. Neste caso, as relações de parentesco entre indivíduos são melhores estimadas e assim, a predição do valor genético é mais acurada. Lourenço et al. (2015) observaram que famílias de irmão completos em aves apresentaram um parentesco variando de 0,20 a 0,70 quando o esperado, calculado pelo uso de pedigree, seria de 0,50.

A contribuição das informações genômicas é maior para a avaliação de características de difícil mensuração, medidas tardiamente na vida do animal e que se expressam somente em um sexo, como é o caso da HPR. Essa importância está relacionada à predição do valor genético do indivíduo com maior acurácia em uma idade mais jovem e para ambos os sexos (Saatchi et al., 2011). Wolc et al. (2001)

relataram um incremento na acurácia da estimativa dos valores genéticos quando incluíram informação genômica na análise de características reprodutivas em aves.

Os GWAS (*Genome-wide association studies*) tornaram-se uma abordagem frequente para descoberta e exploração de regiões genômicas associadas a variações existentes nas características de importância econômica (Wang et al., 2012). Mesmo a maior parte dessas características sendo influenciadas por um grande número de *loci* que, em sua maioria, individualmente, explicam pouco da variância genética total (Meuwissen et al., 2001), os GWAS permitem a identificação de regiões de maior efeito sobre a característica de interesse pois englobam uma grande quantidade de marcadores. A identificação e análise dos genes localizados em tais regiões fornecem informações importantes sobre os mecanismos genéticos envolvidos na expressão fenotípica da característica, o que pode contribuir para a obtenção de avaliações genéticas acuradas.

Segundo Goddard & Hayes (2009), dentre os fatores que podem influenciar a detecção de QTLs (Quantitative trait loci) nos GWAS, destacam-se: o desequilíbrio de ligação entre marcador e QTL; a estrutura da população, mais especificamente o número efetivo de fundadores, o qual pode influenciar na intensidade do desequilíbrio de ligação; e a possibilidade de o QTL detectado em uma determinada raça, ou população, não estar segregando em outra, dificultando, desta forma, a validação dos resultados.

Uma metodologia proposta para a inclusão das informações dos SNPs na avaliação genética de uma característica de interesse consiste no procedimento denominado *single-step Genomic Best Linear Unbiased Predictor* (ssGBLUP) que foi proposto por Misztal et al. (2009). Com este procedimento, é possível combinar nas análises, de forma simultânea, fenótipos, genótipos e informação de pedigree. A partir de um algoritmo, proposto por Wang et al. (2012), as soluções das equações de modelo misto obtidas por meio do ssGBLUP, são utilizadas, de forma iterativa, na obtenção dos efeitos de todos os SNPs considerados nas análises. Assim, é possível identificar SNPs ou regiões de maior efeito para determinada característica. Utilizando esta metodologia, Teixeira et al. (2017) encontraram 147 genes candidatos para HPR, medida aos 65 meses, nos cromossomos 1, 2, 5, 6, 9, 20 e X. Segundo os autores, além de funções reprodutivas, tais genes estão relacionados

com os sistemas imunológico e nervoso. Speidel et al. (2018), encontraram doze regiões genômicas localizadas nos cromossomos 6, 8, 9, 12, 15, 18, 22 e 23 associadas com a expressão da HPR aos 72 meses, em vacas da raça Red Angus. Engle et al. (2018), trabalhando com fêmeas cruzadas Nelore-Angus, identificaram regiões associados com HPR, medida aos 72 meses, nos cromossomos 1, 2, 5, 9, 11, 15, 18, 21 e 24.

Fortes et al. (2013) relataram, em um trabalho de revisão, que regiões localizadas nos cromossomos 1 (próximo a posição de 140 Mb), 5 (posição 44 a 46 Mb), 14 (posição entre 25 a 40 Mb) e 16 (próximo a posição 55 Mb) têm sido associadas com a expressão de diversas características reprodutivas. Apesar deste estudo abranger uma ampla variedade de características reprodutivas, tanto em machos como em fêmeas, não foi relatado nenhum estudo de associação com longevidade ou HPR. Apenas relatos recentes (Teixeira et al., 2017; Engle et al., 2018; Speidel et al., 2018) de estudos de associação genômica com a característica habilidade de permanência no rebanho foram encontrados na literatura. Importante ressaltar que nenhum destes estudos avaliou a característica HPR mensurada em diferentes partos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição do arquivo de dados

Os dados fenotípicos, genotípicos e informações de pedigree utilizados no presente estudo foram provenientes de 583 fazendas que integram os programas de melhoramento genético da DeltaGen, Paint (CRV Lagoa) e CIA. de Melhoramento. Os animais com informações disponíveis nasceram entre os anos de 1984 e 2017.

A característica estudada foi a habilidade de permanência no rebanho (HPR) medida até cada ordem de parto, considerando apenas as fêmeas que tiveram seu primeiro parto até os 40 meses de idade. Os fenótipos foram gerados observando se a fêmea teve oportunidade de permanecer no rebanho até determinado parto, isto é, se seu próximo parto ocorreu em um intervalo de 500 dias após o parto anterior. Cada vaca poderia ter até sete observações (permanência ou não até o parto 2, 3, ... até 8). Estabeleceu-se o valor fenotípico 2 (sucesso) para fêmeas que tiveram o

respectivo parto e 1 (fracasso) para aquelas que tiveram a oportunidade e, no entanto, não pariram. Se o intervalo entre o ultimo parto registrado da fêmea e o registro do último parto do banco de dados (11/04/2017) fosse menor que 500 dias, os fenótipos seguintes foram considerados como observações perdidas assumindo-se que a fêmea não teve tempo para poder expressar o seu fenótipo. Ao final, o banco de dados possuía 195.452, 161.261, 130.236, 103.043, 79.844, 62.663 e 47.045 fêmeas com fenótipos para o segundo, terceiro, quarto, quinto, sexto, sétimo e oitavo parto, respectivamente. A percentagem de fêmeas com fenótipo 2 (sucesso) foi de 50,7%, 33,0%, 23,2%, 17,2%, 13,4%, 10,5% e 8,6% para o segundo, terceiro, quarto, quinta, sexto, sétimo e oitavo parto, respectivamente.

As fêmeas foram distribuídas em grupos de contemporâneos (GCs) definidos como: fazenda, safra e estação de nascimento, grupo de manejo à desmama e ao sobreano e precocidade. As estações de nascimento foram: seca (março a agosto) e águas (setembro a fevereiro). A precocidade foi definida atribuindo-se o valor 2 (precoce) para as fêmeas com idade ao primeiro parto anterior aos 31 meses e o valor 1 para aquelas com informação de primeiro parto em idade maior ou igual a 31 meses (não precoce). GCs sem variabilidade fenotípica, bem como aqueles com menos de três animais foram excluídos das análises. A permanência de fêmeas precoces ao longo dos partos foi de 34,4%, 23,3%, 18,4%, 17,0%, 15,6%, 14,5% e 15,5 % para segundo, terceiro, quarto, quinta, sexto, sétimo e oitavo parto, respectivamente. Estes valores podem se apresentarem reduzidos pois são informações após a exclusão de GCs sem variabilidade e por isso alguns grupos de precoces podem estar sendo excluídas.

O arquivo de dados genotípicos continha informações de 2.740 fêmeas e 1.129 touros, sendo que os genótipos de 2.974 animais (2.025 fêmeas e 949 touros) foram obtidos utilizando um painel de 777.962 marcadores do tipo SNPs (Illumina BovineHD BeadChip), e o restante (895 animais, sendo 715 fêmeas e 180 touros) por meio do GeneSeek® Genomic Profiler Indicus HD - GGP75Ki (NEOGEN), contendo 74.677 marcadores. Os genótipos dos animais obtidos com o GGP75Ki foram imputados para o painel de alta densidade utilizando o software FImpute versão 2.2 (Sargolzaei *et al.*, 2014). As fêmeas genotipadas nasceram entre os anos de 2007 e 2013 e os touros nasceram entre os anos de 1993 e 2011.

No presente estudo, foram considerados apenas marcadores presentes nos cromossomos autossômicos. Além disto, foram excluídos os SNPs com MAF menor que 2%; SNPs com *Call Rate* inferior a 0,90; SNPs altamente correlacionados com outros SNPs ($r^2 > 0,995$) e/ou SNPs que apresentaram desvio de heterozigosidade superior a 0,15 em relação à heterozigosidade esperada de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os animais genotipados com *Call Rate* inferior a 0,90 foram excluídos da análise. Após o controle de qualidade, restaram 3.849 animais genotipados com 472.640 marcadores. A edição dos dados foi realizada com o auxílio do *software R* (R Development Core Team, 2017).

3.2 Análises estatísticas

Ao todo, foram realizadas sete análises uni características. Em cada análise, foi considerado um modelo linear generalizado misto com a função de ligação *probit*, ajustado utilizando o programa THRGIBBS1F90 (Misztal *et al.*, 2002). Esse modelo pode ser matricialmente descrito como (Sorensen & Gianola, 2002):

$$\eta = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{e},$$

onde η representa o preditor linear; $\mathbf{X}$ e $\mathbf{Z}$ correspondem às matrizes de incidência dos efeitos sistemáticos e aleatórios, respectivamente; $\boldsymbol{\beta}$ é o vetor de efeito fixo de grupo contemporâneo; $\mathbf{a}$ é o vetor do efeito aditivo do animal assumindo-se que $\mathbf{a} \sim N(0, \mathbf{H}\sigma_a^2)$, em que $\mathbf{H}$ é a matriz de parentesco que combina as informações de pedigree (matriz $\mathbf{A}$) e as informações dos SNPs (matriz $\mathbf{G}$), σ_a^2 corresponde à variância genética aditiva; $\mathbf{e}$ é o vetor de efeito residual, assumindo-se que $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_e^2)$, onde $\mathbf{I}$ é uma matriz identidade e σ_e^2 é a variância dos efeito residual.

A inversa da matriz $\mathbf{H}$ foi obtida de acordo com Legarra *et al.* (2009):

$$\mathbf{H}^{-1} = \mathbf{A}^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & \mathbf{G}^{-1} - \mathbf{A}_{22}^{-1} \end{bmatrix},$$

onde $\mathbf{G}^{-1}$ corresponde a inversa da matriz de parentesco genômica e $\mathbf{A}_{22}^{-1}$ é a inversa da matriz de parentesco baseada no pedigree dos animais genotipados. A matriz $\mathbf{G}$ foi obtida segundo a fórmula (VanRaden *et al.*, 2008):

$$\mathbf{G} = \mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}'\mathbf{q},$$

onde $\mathbf{Z}$ é a matriz de genótipos ajustada para as frequências alélicas; $\mathbf{D}$ corresponde à uma matriz diagonal contendo os pesos (*weights*) assumindo-se, inicialmente, $\mathbf{D} = \mathbf{I}$; e $\mathbf{q}$ é um fator de normalização. De acordo com Vitezica *et al.* (2011), os *weights* podem ser obtidos assegurando-se que a média da diagonal da matriz $\mathbf{G}$ esteja próxima da média apresentada na diagonal da matriz $\mathbf{A}_{22}^{-1}$.

Os componentes de variância foram estimados considerando um total de 300.000 iterações, adotando-se *burn-in* de 30.000 e intervalo de descarte amostral igual a 10. A verificação da convergência foi realizada por meio da inspeção gráfica das estimativas dos parâmetros e pelo teste de Geweke (1992) e Raftery e Lewis (1992), usando o pacote *boa* do R (Smith, 2007). Foi calculado a correlação de Pearson entre valores genéticos genômicos preditos entre as HPR medidas em diferentes partos.

Os efeitos dos SNPs foram calculados seguindo o procedimento descrito em Wang *et al.* (2012) com auxílio do software postGSf90 (Misztal *et al.*, 2002). A equação pode ser representada matricialmente como:

$$\hat{\mathbf{u}}_s = \mathbf{D}\mathbf{Z}'[\mathbf{Z}\mathbf{D}\mathbf{Z}']^{-1}\hat{\mathbf{a}}_g$$

onde, $\hat{\mathbf{u}}_s$ é o vetor com o efeito de cada SNP, $\mathbf{D}$ é a matriz diagonal contendo ponderadores para o efeito dos SNPs; $\mathbf{Z}$ é a matriz de genótipos; $\hat{\mathbf{a}}_g$ é o vetor com os valores genéticos preditos para os animais genotipados, que foram computados a cada iteração. Na primeira iteração a matriz $\mathbf{D}$ era igual a uma matriz identidade e, na segunda iteração, a matriz $\mathbf{D}$ passou a ser uma matriz diagonal contendo os ponderadores calculados na iteração anterior.

A identificação das regiões de maior efeito sobre a expressão da característica HPR em cada parto foi realizada por meio da proporção da variância explicada por janelas de 100 SNPs consecutivos. A percentagem da variância genética explicada por cada janela foi obtida como:

$$\frac{Var(a_i)}{\sigma_a^2} \times 100\% = \frac{Var(\sum_{j=1}^{100} Z_j \hat{u}_s)}{\sigma_a^2} \times 100\%$$

onde a_i é a soma dos efeitos dos 100 SNPs consecutivos; σ_a^2 é a variância genética aditiva; Z_j é o vetor com o genótipo do j-ésimo SNP para todos os animais; e $\hat{u}_j$ é o efeito estimado para cada SNP dentro de cada janela.

A identificação dos genes presentes nas dez janelas que explicaram o maior percentual da variância genética aditiva foi realizada por meio do programa ENSEMBL (<https://www.ensembl.org/index.html>; Zerbino et al., 2017), considerando o UMD3.1 (Zimin et al., 2009) como mapa de referência. O software DAVID v6.7 (Huang et al., 2009a; Huang et al., 2009b) foi utilizado na análise de enriquecimento funcional, utilizando a lista de genes identificados para HPR em todos os partos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estimativas de herdabilidade (Figura 1) variaram de 0,15 (terceiro parto) a 0,18 (oitavo parto), indicando que a variabilidade genética da HPR é relativamente constante ao longo da vida produtiva das fêmeas. As estimativas encontradas foram de baixa magnitude e estão de acordo com valores reportados na literatura, utilizando o *single-step* para fêmeas da raça Nelore (Teixeira et al. 2017; Kluska et al. 2018). Sem informação genômica, Silva et al. (2003) e Santana Jr et al. (2015), estimaram herdabilidades com magnitudes levemente inferiores (0,11) para HPR até os 72 meses de idade. A amplitude de valores obtida no presente trabalho, para as estimativas de herdabilidade da HPR em partos consecutivos, foi inferior à reportada por Silva et al. (2018) que variou entre 0,04 e 0,38. As estimativas obtidas neste trabalho são superiores à obtida por Speidel et al. (2018), para HPR medida aos 6 anos de idade em fêmeas da raça Angus (0,10), incluindo informações genômicas.

As correlações entre os valores genéticos genômicos preditos para HPR até os diferentes partos (Figura 1) variaram de 0,52 (entre o segundo e o oitavo parto) a 0,93 (entre o sétimo e o oitavo parto). Em geral, as estimativas de correlação foram de moderadas a altas, diminuindo com o aumento da distância entre os partos. Estes coeficientes indicam que parte dos genes que têm influência sobre a HPR até os diferentes partos são os mesmos. A tendência observada para as correlações da HPR em diferentes partos, é semelhante às descritas para as raças zebuínas (Silva et al., 2018), Simental (Jamrozik et al., 2013) e Hereford (Martinez et al., 2004). Entretanto, as magnitudes das correlações de Pearson entre os valores genéticos

preditos para HPR nos partos mais distantes foram inferiores às reportadas por Silva et al. (2018) de 0,57 e 0,77 para as raças Nelore e Tabapuã, respectivamente.

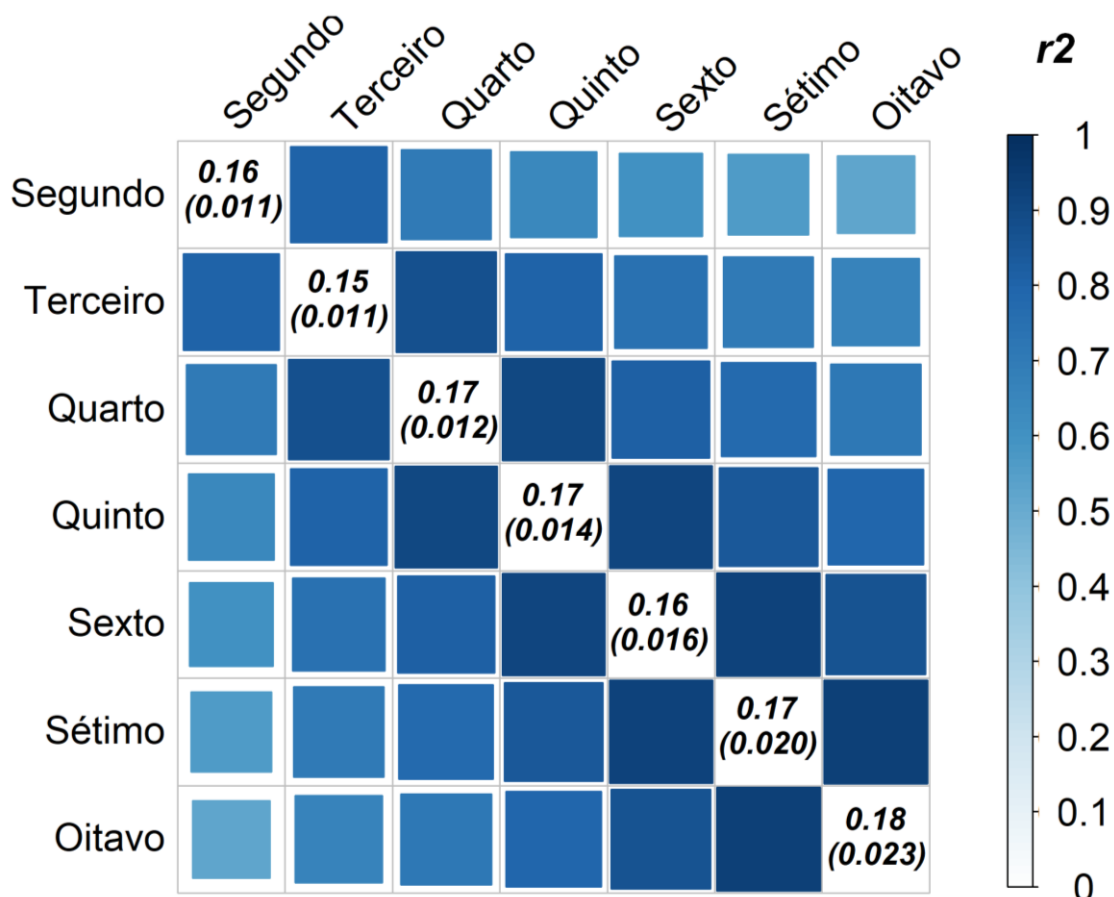


Figura 1. Gráfico de calor com as estimativas de herdabilidade (e desvio-padrão) na diagonal e, fora da diagonal, as correlações entre os valores genéticos preditos para HPR em diferentes partos.

Em relação aos resultados dos estudos de associação, em média, as dez janelas com maior importância somadas explicaram 15,41% da variância aditiva, com amplitude de 13,08% a 17,67% dependendo do parto considerado. Tais janelas estavam localizadas em 18 cromossomos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 20, 25 e 28) (Figura 2), sendo identificados um total de 271 genes associados com HPR do segundo ao oitavo parto.

Neste estudo, a região BTA6:42-49 Mb foi associada à HPR em seis (segundo, terceiro, quarto, quinto, sexto e sétimo parto) dos sete partos avaliados (Tabela 1). Trata-se de uma região de QTL (QTLdatabase, Hu et al., 2012) relacionada com ganho de peso diário, peso à maturidade, temperatura corporal

(adaptação), resistência a ectoparasitas e taxa de retorno ao cio. Taye et al. (2017) observaram que esta região está associada tanto com características de produção de leite como de reprodução, na raça N'Dama. Portanto, trata-se de uma região com efeitos pleiotrópicos sobre diversas características produtivas além de características adaptativas e reprodutivas, o que corrobora com o fato de a mesma afetar a característica HPR, independentemente da ordem do parto.

A região do BTA11:14-19Mb foi associada à HPR no quarto, quinto, sexto e sétimo parto (Tabela 1). Nesta região, encontram-se os genes *XDH* (xanthine dehydrogenase) e *MEMO1* (*mediator of cell motility 1*). O *XDH* participa do metabolismo de oxipurinas, hipoxantinas e xantinas. Uma mutação neste gene impede o metabolismo destas substâncias e, assim, o indivíduo pode ter problemas no sistema urinário (Xu et al., 1996). O *MEMO1*, por sua vez, foi associado com contagem de células somáticas na raça Holandesa (Wang et al., 2015). Além disto, nesta região, foram reportados QTLs associados com facilidade de parto e ganho de peso médio diário (QTLdatabase, Hu et al., 2012).

A janela BTA10:58-59Mb foi identificada para o segundo e sétimo parto (Tabela 1). Nesta região está localizado o gene *MYO5C* (*Myosin VC*), o qual, dentre outras funções, está relacionado ao transporte de melanina para dentro dos melanócitos (Rodriguez & Cheney, 2002). Uma maior ou menor pigmentação da pele, por exemplo, pode indicar uma possível melhor adaptação ao ambiente tropical. Espera-se que as fêmeas mais adaptadas ao ambiente também sejam aquelas com maiores chances de permanecerem no rebanho por maior período de tempo. Outro gene presente nesta mesma região, o *LYSMD2* (*LysM domain containing 2*), é um codificador de proteína, e está relacionado com crescimento, adesão celular e sinalização nervosa em organismos vivos. Esta região também foi previamente associada com resistência ao carrapato em animais cruzados Gir x Holandês (Otto et al., 2018).

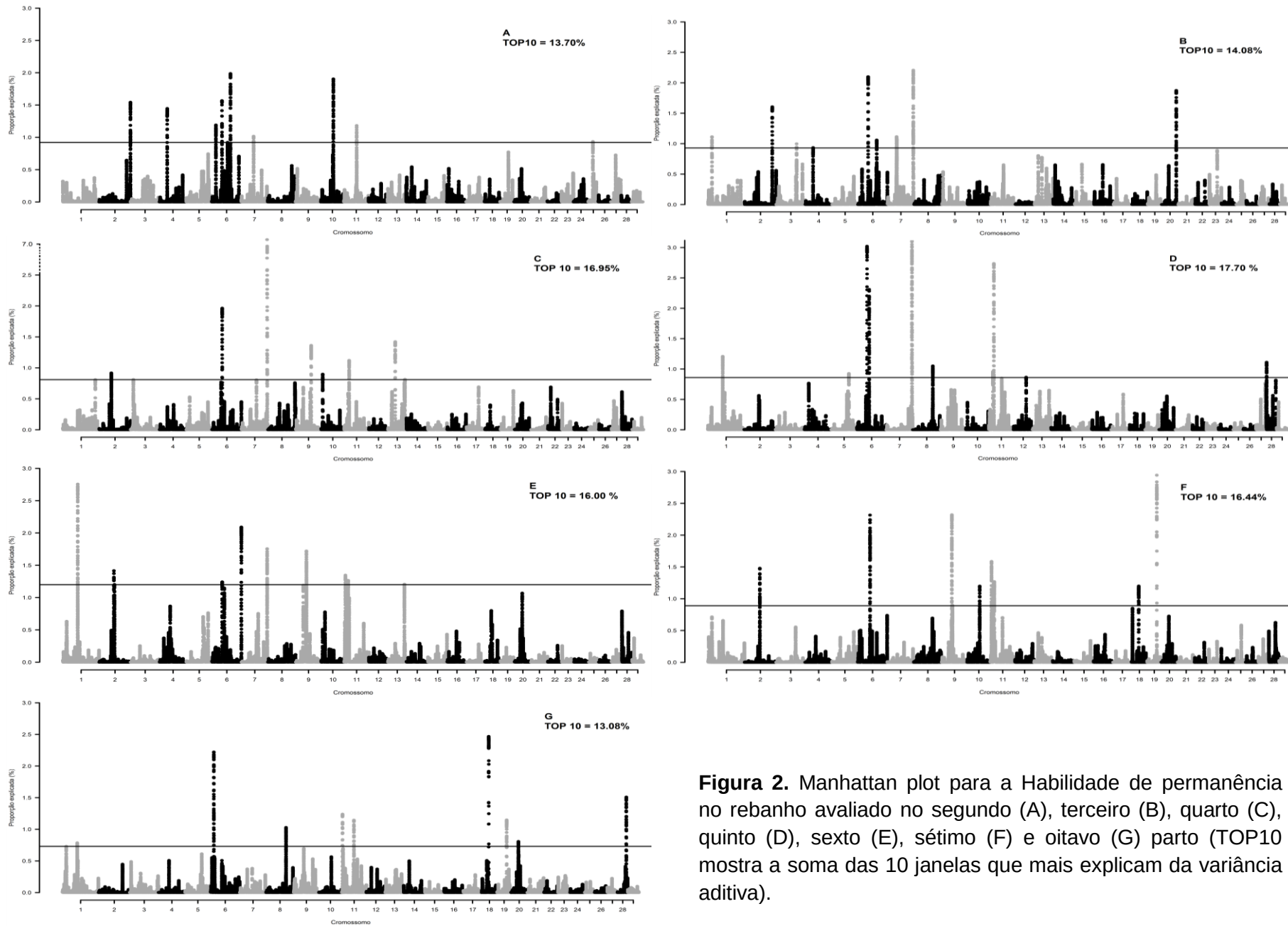


Figura 2. Manhattan plot para a Habilidade de permanência no rebanho avaliado no segundo (A), terceiro (B), quarto (C), quinto (D), sexto (E), sétimo (F) e oitavo (G) parto (TOP10 mostra a soma das 10 janelas que mais explicam da variância aditiva).

Tabela 1. Cromossomo (BTA), região e genes candidatos com função conhecida para habilidade de permanência no rebanho nos diferentes partos.

BTA	Região	Genes	Parto
1	17241902-17861613		3, 8
1	66344261-66653369	<i>STXBP5L, POLQ</i>	5, 6, 8
1	143869495-144327267	<i>UMODL1, ABCG1, TFF3, TFF2, TFF1, TMPRSS3, UBASH3A, RSPH1</i>	4
2	52701864-53060713	<i>GTDC1</i>	4
2	62220489-627991288	<i>ZRANB3, RAB3GAP1, MAP3K19, CCNT2, ACMSD</i>	6
2	64981875-65293860	<i>NCKAP5, LYPD1,</i>	6, 7
2	119871252-120203348	<i>ARMC9, B3GNT7, NCL, NMUR1, TEX44</i>	3
2	136126898-136709522	<i>SDHB, ATP13A2, MFAP2, CROCC, NECAP2, SZRD1, FBXO42, CPLANE2, ARHGEF19, EPHA2, FAM131C, HSPB7, SRARP</i>	2
3	8837781-9402973	<i>LY9, SLAMF7, CD48, SLAMF1, CD84, SLAMF6, VANGL2</i>	4
3	85475407-86072548		3
4	35071882-35768420	<i>SEMA3D,</i>	2, 3
5	83362982-83901690	<i>ITPR2</i>	5

6	14277331-14633122	<i>ALPK1, TIFA, AP1AR, FAM241A</i>	8
6	17311505-17900151	<i>COL25A1, ETNPPL, OSTC, RPL34</i>	2
6	42237314-42648451	<i>KCNIP4</i>	2, 3, 4, 5, 6
6	49846412-50380713		5, 7
6	65116106-65816063		2
6	77838908-78506068		2
6	118853282-119228928	<i>SORCS2, AFAP1, ABLIM2, bta-mir-95</i>	6
7	41289319-41658068	<i>OR2Y1, MGAT1, ZFP62, BTNL9</i>	3
7	41841049-42432901	<i>ZNF496, NLRP3</i>	3
7	57513978-58068562	<i>KCTD16</i>	2
7	109364266-109655535		3, 4, 5, 6
8	80639702-81372422	<i>NAA35, GOLM1, ISCA1, TUT7</i>	5, 8
9	41835023-42390552	<i>FOXO3, AFG1L, SNX3</i>	7
9	43893419-44231755	<i>CRYBG1, ATG5</i>	7

9	65280760-65709725	<i>TBX18</i>	4
10	5932216-6229952		4
10	58183922-58764399	<i>MYO5A, MYO5C, GNB5, MAPK6, LEO1, TMOD2, LYSMD2, SCG3</i>	2, 7
11	2350093-2730469	<i>SNRNP200, ITPRIPL1, NCAPH, NEURL3, ARID5A, KANSL3, FER1L5, LMAN2L, CNNM4</i>	8
11	4173616-4655636	<i>TSGA10, C2orf15, LIPT1, MITD1, MRPL30, LYG2, TXNDC9, EIF5B, REV1</i>	7
11	11677305-12367980	<i>EXOC6B</i>	7
11	14065104-14637479	<i>FAM136A, XDH, SRD5A2, MEMO1</i>	5, 6, 7
11	18281141-18801880		4, 5
11	50107171-50538978	<i>SUCLG1</i>	8
11	53863500-54467252		2
12	61112976-61784261	<i>HTATSF1</i>	5
13	30547659-31120598	<i>MINDY3</i>	4
13	73870656-74272472	<i>KCNK15, RIMS4, YWHAB, PABPC1L, TOMM34, STK4, WFDC5</i>	6
13	75928133-76421098	<i>OCSTAMP, SLC13A3, TP53RK, SLC2A10, EYA2</i>	4

18	27427223-27849976		7, 8
		<i>DHX8, ETV4, MEOX1, SOST, DUSP3, CFAP97D1, MPP3, PPY, PYY, PYY2, NAGS,</i>	
19	44021024-44967646	<i>TMEM101, LSM12, G6PC3, HDAC5, C19H17orf53, ASB16, TMUB2, ATXN7L3,</i> <i>UBTF, SLC4A1, RUNDC3A, SLC25A39, GRN, FAM171A2, ITGA2B, GPATCH8,</i> <i>FZD2, MEIOC, CCDC43, DBF4B</i>	7, 8
20	34160944-34833877		8
20	64094558-64406931	<i>SEMA5A</i>	3
25	18672747-19360938	<i>REXO5, DCUN1D3, LYRM1, DNAH3, TMEM159, ZP2, ANKS4B, CRYM</i>	2
28	827225-1233664	<i>GALNT2</i>	5
28	40720355-40951245		8

A região BTA8:80,6-81,3Mb, foi associada à HPR no quinto e oitavo parto (Tabela 1). Esta região codifica o gene *TUT7* (*terminal uridylyl transferase 7*) que está envolvido na regulação pós-transcricional de células de resposta imune (macrófagos). A perda de função deste gene provoca uma maior susceptibilidade a doenças (Kozlowski et al., 2017).

Em comum com o segundo e terceiro parto, a BTA4:35,0-35,7Mb (Tabela 1) é uma região codificadora do gene *SEMA3D* (*Semaphorin 3 D*). Este gene, relacionado com a sinalização do sistema nervoso, foi diferencialmente expresso nestas células durante o desenvolvimento embrionário de aves (Bao e Jin, 2006). Nesta região, foi também reportado QTL associado com rendimento de carcaça de bovinos (QTLdatabase, Hu et al., 2012).

A região BTA2:64,9-65,3Mb, em comum entre o sexto e sétimo parto (Tabela 1), apresenta o gene *NCKAP5* (*NCK associated protein 5*). Este gene foi associado com característica morfológica de pernas e pés (*foots and legs*) em uma meta-análise com 3 raças leiteiras (Wu et al., 2016). Tal característica mede a capacidade do animal se locomover e se manter em pé, sem apresentar nenhum desvio do comportamento normal e sem alteração na sua produção. Este gene também foi associado com a característica velocidade de fuga (temperamento) em animais da raça Nelore (Valente et al., 2016). A identificação desta região é um indicativo de que o temperamento é um importante fator para a permanência ou não da fêmea no rebanho.

Duas regiões foram comuns ao sétimo e oitavo parto (Tabela 1): a BTA18:27,4-27,9 Mb e a BTA19:44,0-44,9 Mb. Nesta última, estão localizados os genes *ETV4* (*ETS variant 4*) e o *ATXN7L3* (*Ataxin 7 like 3*), os quais apresentam função nos tecidos reprodutivos. Tanto o gene *ETV4* (Eo et al., 2008) quanto o gene *ATXN7L3* (Nivet et al., 2018) foram diferencialmente expressos em células da granulosa durante a foliculogênese e ovulação, o que sugere que ambos têm influência direta na capacidade reprodutiva da fêmea, principalmente quanto à formação e produção de óocitos.

Na região BTA7:109,3-109,6Mb, identificada para o terceiro, quarto, quinto e sexto partos (Tabela 1), não foram encontrados genes com função conhecida. Contudo, nesta região, foi reportado um QTL para composição lipídica do leite (QTLdatabase, Hu et al., 2012).

Em comum ao quinto, sexto e oitavo partos (Tabela 1), a região BTA1:66,3Mb-66,6Mb apresenta um QTL para idade à puberdade e ganho de peso (QTLdatabase, Hu et al., 2012). Já a região BTA1:17,2-17,8Mb, associada à HPR no terceiro e oitavo parto, parece não ter sido identificada previamente em estudos de associação em bovinos.

Uma das janelas identificadas para o segundo parto (Tabela 1), BTA2:136,1 - 136,7Mb, contém os genes *MFAP2* (*Microfibril associated protein 2*) e *ATP13A2* (*ATPase cation transporting 13A2*). O *MFAP2* foi previamente relacionado com reprodução em diferentes espécies. Este gene foi diferencialmente expresso durante o processo de masculinização em trutas (Baron, et al., 2007) bem como no endométrio de pacientes com infertilidade ou com falhas na implantação do embrião em humanos (Turkyilmaz et al., 2012). O *ATP13A2*, por sua vez, atua no transporte de zinco em células do sistema nervoso (Murphy, et al., 2013). Para a fêmea permanecer no rebanho é importante que seu bom desempenho reprodutivo seja mantido e para isso o correto funcionamento do sistema nervoso é fundamental. Este pode influenciar na regulação hormonal do indivíduo por meio de sua ação sobre o eixo hipófise - hipotálamo.

Para o terceiro parto, foram identificadas as regiões BTA7:41,2-41,6Mb e BTA7:41,8–42,4 Mb (Tabela 1). A primeira delas apresenta o gene *MGAT1* (mannosyl (alpha-1,3-) -glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase), o qual tem função na formação, desenvolvimento e implementação dos embriões (Shi et al., 2004). A segunda janela foi associada com ocorrência de prenhez precoce em animais da raça Nelore (Irano et al., 2016).

Dos genes identificados para o quarto parto (Tabela 1), pode-se destacar o *UMODL1* (*Uromodulin like 1*) e o *ABCG1* (*ATP binding cassette subfamily G member 1*), ambos localizados na região BTA1:143,8-144,3 Mb. O *UMODL1* foi expresso nos ovócitos em humanos, mais especificamente nas células da granulosa durante a foliculogênese (Wang et al., 2008). Segundo esses autores, este gene é importante para a implantação e manutenção do desenvolvimento embrionário, sendo que, fêmeas com baixos níveis de expressão do mesmo tiveram sua prolificidade reduzida. O gene *ABCG1*, por sua vez, está relacionado ao metabolismo de lipídeos, mais especificamente ao transporte do lipídeo para o interior da célula (Kennedy et al., 2005). Isto indica

que este gene atua diretamente na capacidade do indivíduo de mobilizar suas reservas energéticas. Além disso, o lipídeo é importante para o metabolismo dos hormônios reprodutivos.

Para os partos intermediários, o gene *ITPR2* (*Inositol 1,4,5-triphosphate receptor type 2*), localizado na região BTA5:83,3-83,9 Mb identificado no quinto parto (Tabela 1), foi previamente associado a características morfológicas (Kolbehdari et al., 2008) e de produção de leite (Chen et al., 2018) na raça Holandesa. O gene *ITPR2* participa de uma rota metabólica responsável pela entrada de íons de cálcio nas células. Este processo é importante para a manutenção da temperatura corporal, sendo, portanto, relacionado com adaptação (Taye et al., 2017). Dentre os genes identificados para o sexto parto (Tabela 1), pode-se destacar o *ZRANB3* (*Zinc finger RANBP2-Type Containing 3*), localizado na região BTA2:62,2-62,8 Mb. Este gene foi diferencialmente expresso em células da granulosa quando estimuladas pelo hormônio folículo estimulante (FSH) exógeno (Nivet et al., 2018).

Para o sétimo parto, foi identificado o gene *TSGA10* (*Testis specific 10*), localizado na região BTA11:4,1-4,6 Mb (Tabela 1), o qual está relacionado com a formação da cauda e com a codificação de proteínas na formação dos demais componentes do espermatozoide. Sha et al. (2018) observaram que uma mutação rara na sequência da proteína pode acarretar em espermatozoides acéfalos em humanos. Além disso, este gene foi encontrado como envolvido na migração, diferenciação e divisão celular em embriões no início do estágio de desenvolvimento (Behnam et al., 2006).

Vários genes foram identificados em regiões associadas à HPR no oitavo parto (Tabela 1). O gene *SUCLG1* (*Succinate-CoA ligase alpha subunit*), localizado na região BTA11:50,1-50,5 Mb, foi descrito em humanos, como sendo menos expresso em oócitos de indivíduos jovens e mais expresso em indivíduos mais velhos (Steuerwald et al., 2007). O gene *TIFA* (*TRAF interacting protein with forkhead associated domain*), localizado na região BTA6:14,2-14,6 Mb, foi diferencialmente expresso em fígados com incidência de câncer hepatocelular (Shen et al., 2015). O gene *SNRNP200* (*Small nuclear ribonucleoprotein U5 subunit 200*), localizado no BTA11:2,3-2,7 Mb, codifica uma proteína associada com retinite pigmentosa autossômica dominante, na qual o indivíduo portador tem uma distrofia ocular que causa a perda

progressiva de fotorreceptores. Mutações neste gene foram associadas com a incidência desta doença em humanos (Liu et al., 2012; Van Cauwenbergh, et al., 2017). A identificação de genes mais relacionados com a saúde física dos animais pode ser justificada pelo fato de tratar-se de um fenótipo medido tardiamente, ao final da vida produtiva das fêmeas.

Dentre as vias metabólicas dos genes identificados do segundo ao oitavo parto (Tabela 2), foram identificadas rotas relacionadas ao *feeding behavior* (GO:0007631), *digestion* (GO:0007586) e *regulation of appetite* (GO:0032098) e *Pancreatic hormone-like* (IPR001955). Os genes que participam destas rotas são os *PPY*, *PYY* e *PYY2* e estão envolvidos nos processos de metabolismo energético, consumo alimentar e saciedade através do metabolismo do hormônio grelina (Leiter et al., 1987; Batterham et al., 2006). A grelina está envolvida na regulação hormonal dos tecidos reprodutivos por meio de feedback positivo para a hipófise e hipotálamo (Fernandez-Fernandez et al., 2006). Foi relatado uma modulação do *PYY* sobre a secreção do hormônio LH em ratos machos (Raposinho et al., 1999). Assim, esta rota metabólica tem importância para o desempenho reprodutivo do indivíduo por meio da indução do eixo hipófise-hipotálamo na produção de hormônios reprodutivos. Sendo o desempenho reprodutivo um dos principais fatores para a permanência no rebanho, esta rota metabólica apresenta importância ao longo de toda a vida do animal.

As rotas metabólicas *wound healing* (GO:0042060) e *P-type trefoil* (IPR:000519) estão relacionadas com o sistema imune (Tabela 2). Estas rotas englobam genes (*ARHGEF19*, *VANGL2*, *TFF1*, *TFF2*, *TFF3*) que são capazes de induzir a produção de linfócito T que são responsáveis pela defesa de organismos externos (Cantrell, 2003; Billadeau et al., 2007). Além disso, os genes *TFF1*, *TFF2* e *TFF3* estão relacionados com a proteção da mucosa epitelial. O *TFF1* foi mais expresso no tecido epitelial da cérvix no pós-parto em humanos, e baseado em sua função, está relacionado com a manutenção e defesa do trato reprodutivo após o parto (Read et al., 2007; Masui et al., 2006). Portanto, a permanência ou não da fêmea no rebanho sofre influência desta via através da proteção e manutenção do sistema fisiológico reprodutivo de fêmeas através da indução do sistema imune.

Tabela 2. Gene Ontology para os genes identificados para HPR em diferentes partos na raça Nelore.

Categoria	Termo	Genes	p-value
GOTERM_BP_DIRECT	digestion	<i>PPY, PYY, PYY2, TFF1, TFF2, TFF3</i>	2.57E-6
INTERPRO	Pancreatic hormone-like	<i>PPY, PYY, PYY2</i>	4.57E-4
INTERPRO	P-type trefoil, chordata	<i>TFF1, TFF2, TFF3</i>	2.29e-4
GOTERM_BP_DIRECT	wound healing	<i>ARHGEF19, VANG2, TFF1, TFF2, TFF3</i>	2.56e-4
GOTERM_BP_DIRECT	regulation of appetite	<i>PPY, PYY, PYY2</i>	0.0015
SMART	SM00018: PD	<i>TFF1, TFF2, TFF3</i>	0.0020
INTERPRO	P-type trefoil	<i>TFF1, TFF2, TFF3</i>	0.0026
GOTERM_MF_DIRECT	Neuropeptide Hormone Activity	<i>PPY, PYY, PYY2</i>	0.0140
INTERPRO	RNA recognition motif domain, eukaryote	<i>HTATSF1, PABPC1L, NCL</i>	0.0172
GOTERM_BP_DIRECT	feeding behavior	<i>PYY, PPY, PYY2</i>	0.0180
GOTERM_MF_DIRECT	G-Protein Coupled Receptor Binding	<i>PPY, PYY, PYY2</i>	0.0270
INTERPRO	Immunoglobulin-like domain	<i>CD84, CD48, BTNL9, SLAMF6, CD300LG, SEMA3D, SLAMF7, LY9, SLAMF1</i>	0.0388

Outra rota identificada, relacionada com o sistema imune, é a *Immunoglobulin-like domain* (IPR:007110) (Tabela 2), a qual também está envolvida em vários processos biológicos como reconhecimento celular, receptores na superfície celular e estrutura muscular (Teichmann e Chothia,

2000). O gene *CD300LG* está envolvido com a migração dos linfócitos para a manutenção e maturação no corpo lúteo, além de atuar em conjunto com genes que sintetizam os hormônios esteroides (Kfir et al, 2018). Adicionalmente, este gene foi diferencialmente expresso em tecido do endométrio de vacas que falharam em relação a aquelas que confirmaram prenhez no primeiro serviço reprodutivo (Hayashi et al., 2017). O gene *LY9* também atua na manutenção do sistema imune do indivíduo (de Salort et al., 2013). Assim, esta rota metabólica apresenta importância para a permanência no rebanho pois mantêm o sistema imune das fêmeas e, conseqüentemente, favorece o aumento do período de vida da fêmea saudável no rebanho.

De um modo geral, a análise funcional das regiões e os genes identificados neste estudo indicaram que a expressão da característica HPR no início da vida reprodutiva da fêmea (segundo ao quarto partos) sofre maior influência de fatores genéticos diretamente relacionados com reprodução. Para o quinto e sexto parto, foram identificados genes associados com adaptação, metabolismo e temperamento, enquanto que, mais para o final da vida produtiva (sétimo e oitavo partos), fatores genéticos relacionados com a saúde do indivíduo foram mais relevantes.

4 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que:

- a variabilidade genética aditiva da característica habilidade de permanência no rebanho é relativamente constante ao longo da vida produtiva das fêmeas;
- as correlações entre os valores genéticos preditos para habilidade de permanência no rebanho medida em partos consecutivos (segundo ao oitavo parto) são de moderada a alta magnitude, indicando que parte dos mesmos genes afetam esta característica em diferentes partos;
- várias regiões genômicas de maior efeito foram associadas à expressão da habilidade de permanência no rebanho para cada parto avaliado, sendo que algumas destas regiões foram importantes para dois ou mais partos;
- a análise funcional das regiões identificadas indicou que a expressão da habilidade de permanência no rebanho no início da vida reprodutiva das

fêmeas sofre maior influência de fatores reprodutivos, enquanto que, mais para o final, fatores adaptativos e relacionados ao metabolismo, bem como fatores ligados à saúde do animal, passam a ter maior importância.

5 REFERÊNCIAS

Aranda-Avila I, Magaña-Monforte JG, Segura-Correa JC (2010) Effects of breed type and age at first calving on length of productive life in a cow-calf system in Southeastern Mexico. **Tropical Animal Health and Production**, 42:1737-1741.

Bao ZZ & Jin Z (2006) Sema3D and Sema7A have distinct expression patterns in chick embryonic development. **Developmental dynamics**, 235:2282-2289.

Baron D, Montfort J, Houlgatte R, Fostier A, Guiguen Y (2007) Androgen-induced masculinization in rainbow trout results in a marked dysregulation of early gonadal gene expression profiles. **BMC genomics**, 8:357.

Batterham RL, Heffron H, Kapoor S, Chivers JE, Chandarana K, Herzog H, Le Roux CW, Thomas EL, Bell JM, Withers DJ (2006) Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. **Cell metabolism**, 4:223-233.

Behnam B, Modarressi MH, Conti V, Taylor KE, Puliti A, Wolfe J (2006) Expression of Tsga10 sperm tail protein in embryogenesis and neural development: from cilium to cell division. **Biochemical and biophysical research communications**, 344:1102-1110.

Billadeau DD, Nolz JC, Gomez TS (2007) Regulation of T-cell activation by the cytoskeleton. **Nature Reviews Immunology**, 7:131–143.

Brumatti RC, Ferraz JBS, Eler JP, Formigoni IB (2011) Desenvolvimento de índice de seleção em gado de corte sob o enfoque de um modelo bioeconômico. **Archivos de Zootecnia**, 60:205-213.

Burns BM, Fordyce G, Holroyd RG (2010) A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf – Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, 122:1-22.

Cantrell DA (2003) GTPases and T cell activation. **Immunological reviews**, 192:122–130.

Chen Z, Yao Y, Ma P, Wang Q, Pan Y (2018) Haplotype-based genome-wide association study identifies loci and candidate genes for milk yield in Holsteins. **PloS one**, 13: e0192695.

de Salort J, Cuenca M, Terhorst C, Engel P, Romero X (2013) Ly9 (CD229) cell-surface receptor is crucial for the development of spontaneous autoantibody production to nuclear antigens. **Frontiers in immunology**, 4, 225.

Engle BN, Herring AD, Sawyer JE, Riley DG, Sanders JO, Gill CA (2018) Genome-wide association study for stayability measures in Nellore–Angus crossbred cows. **Journal of animal science**, 96:1205-1214.

Eo J, Han K, Murphy KM, Song H, Lim HJ (2008) Ets5, an ETS transcription factor, is expressed in granulosa and cumulus cells and serves as a transcriptional regulator of the cyclooxygenase-2. **Journal of Endocrinology**, 198:281-290.

Fernandez-Fernandez R, Martini AC, Navarro VM, Castellano JM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M (2006) Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. **Molecular and cellular endocrinology**, 254:127-132.

Formigoni IB, Ferraz JBS, Silva JAIIV, Eler JP, Brumatti RC (2005) Valores econômicos para habilidade de permanência e probabilidade de prenhez aos 14 meses em bovino de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 57:220-226.

Fortes MRS, Deatley K, Lehnert SA, Burns BM, Reverter A, Hawken RJ, Boehnert G, Moore SS, Thomas MG (2013) Genomic regions associated with fertility traits in male and female cattle: Advances from microsatellites to high-density chips and beyond. **Animal Reproduction Science** 141:1-19.

Geweke, J (1992) Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments. In.: Bayesian Statistics (ed. Bernardo JM, Berger JO, Dawid AP and Smith AFM), pp. 625-631. New York: Oxford University Press.

Goddard ME, Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. **Nature Reviews Genetics**, 10:381.

Hayashi KG, Hosoe M, Kizaki K, Fujii S, Kanahara H, Takahashi T, Sakumoto R (2017) Differential gene expression profiling of endometrium during the mid-luteal phase of the estrous cycle between a repeat breeder (RB) and non-RB cows. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 15:20.

Hu ZL, Park CA, Wu XL, Reecy JM (2012) Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. **Nucleic acids research**, 41:D871-D879.

Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA (2009a) Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. **Nucleic acids research**. 37:1-13.

Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA (2009b) Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. **Nature Protocols**, 4:44-57.

Irano, N et al (2016) Genome-wide association study for indicator traits of sexual precocity in nellore cattle. **PloS one**, 11:e0159502.

Jamrozik J, McGrath S, Kemp RA, Miller SP (2013) Estimates of genetic parameters for stayability to consecutive calvings of Canadian Simmentals by random regression models. **Journal of Animal Science**, 91:3634-3643.

Kennedy MA, Barrera GC, Nakamura K, Baldán Á, Tarr P, Fishbein MC, Frank J, Francone OL, Edwards PA (2005) ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. **Cell metabolism**, 1:121-131.

Kfir S, Basavaraja R, Wigoda N, Ben-Dor S, Orr I, Meidan R (2018) Genomic profiling of bovine corpus luteum maturation. **PloS one**, 13:e0194456.

Kluska, S et al (2018) Estimates of genetic parameters for growth, reproductive, and carcass traits in Nelore cattle using the single step genomic BLUP procedure. **Livestock Science**, 216:203-209.

Kolbehdari D, Wang Z, Grant JR, Murdoch B, Prasad A, Xiu Z, Marques, E, Stothard P, Moore SS (2008) A whole-genome scan to map quantitative trait loci for conformation and functional traits in Canadian Holstein bulls. **Journal of dairy science**, 91:2844-2856.

Kozłowski E, et al (2017) The RNA uridylyltransferase Zcchc6 is expressed in macrophages and impacts innate immune responses. **PloS one**, 12:e0179797.

Legarra A, Aguilar I, Misztal I (2009) A relationship matrix including full pedigree and genomic information. **Journal of dairy science**, 92:4656-4663.

Leiter AB, Toder A, Wolfe HJ, Taylor IL, Cooperman S, Mandel G, Goodman RH (1987) Peptide YY: Structure of the precursor and expression in exocrine pancreas. **Journal of Biological Chemistry**, 262:12984-12988.

Liu T et al (2012) A novel missense SNRNP200 mutation associated with autosomal dominant retinitis pigmentosa in a Chinese family. **PloS one**, 7:e45464.

Lôbo RB, Bezerra LAF, Figueiredo LGG, Baldi F, Faria CU, Vozzi PA, Magnabosco CU, Bergmann JAG, Oliveira HN (2016) Sumário de Touros das Raças Nelore, Guzará, Brahman e Tabapuã: Edição Agosto de 2016. ANCP 116 págs.

Lourenco DA, Fragomeni BO, Tsuruta S, Aguilar I, Zumbach B, Hawken RJ, Legarra A, Misztal I (2015) Accuracy of estimated breeding values with genomic

information on males, females, or both: an example on broiler chicken. **Genetics Selection Evolution**, 47:56.

Marcondes CR, Paneto JCC, Bezerra LAF, Lôbo RB (2005) Estudo de definição alternativa da probabilidade de permanência no rebanho para a raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34:1563-1567.

Martinez GE, Koch RM, Cundiff LV, Gregory KE, Van Vleck LD (2004) Genetic parameters for six measures of length of productive life and three measures of lifetime production by 6 yr after first calving for Hereford cows. **Journal of Animal Science**, 82:1912-1918.

Masui F, Kurosaki K, Mori T, Matsuda M (2006) Persistent trefoil factor 1 expression imprinted on mouse vaginal epithelium by neonatal estrogenization. **Cell and tissue research**, 323:167-175.

Mercadante MEZ, Razook AG, Cyrillo JNSG, Figueiredo LA (2004) Efeito da seleção para crescimento na permanência de vacas Nelore no rebanho até cinco anos de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33:344-349.

Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. **Genetics** 157:1819-1829.

Misztal I, Legarra A, Aguilar I (2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree and genomic information. **Journal of Dairy Science**, 92:4648-4655.

Misztal I, Tsuruta S, Strable T, Auvray B, Druet T, Lee D (2002) BLUPF90 and related programs (BGF90). In Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, pp. 19-23.

Murphy KE, Cottle L, Gysbers AM, Cooper AA, Halliday GM (2013) ATP13A2 (PARK9) protein levels are reduced in brain tissue of cases with Lewy bodies. **Acta neuropathologica communications**, 1:11.

Newman S, Morris CA, Baker RL, Nicoll GB (1992) Genetic improvement of beef cattle in New Zealand: breeding objectives. **Livestock Production Science**, 32:111-130.

Nivet AL, Dufort I, Gilbert I, Sirard MA (2018) Short-term effect of FSH on gene expression in bovine granulosa cells in vitro. **Reproduction, fertility, and development**.

Otto PI et al (2018) Genome-wide association studies for tick resistance in *Bos taurus* × *Bos indicus* crossbred cattle: A deeper look into this intricate mechanism. **Journal of Dairy Science**, 101:11020-11032.

Queiroz SA, Figueiredo G, Silva JAIIV, Espasandin AC, Meirelles SL, Oliveira JÁ (2007) Estimativa de parâmetros genéticos da habilidade de permanência

aos 48, 60 e 72 meses de idade em vacas da raça Caracu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36:1316–1323.

R Development Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Raftery AL, Lewis S (1992) Comment: One long run with diagnostics: Implementation strategies for Markov chain Monte Carlo. **Statistical Science** 7:493-497.

Raposo PD, Broqua P, Pierroz DD, Hayward A, Dumont Y, Quirion R, Junien JL, Aubert ML (1999) Evidence that the inhibition of luteinizing hormone secretion exerted by central administration of neuropeptide Y (NPY) in the rat is predominantly mediated by the NPY-Y5 receptor subtype. **Endocrinology** 140:4046–4055.

Read CP, Word RA, Ruscheinsky MA, Timmons BC, Mahendroo MS (2007) Cervical remodeling during pregnancy and parturition: molecular characterization of the softening phase in mice. **Reproduction**, 134:327-340.

Riley DG, Sanders JO, Knutsen RE, Lunt DK (2001) Comparison of F1 Bos indicus x Hereford cows in central Texas: II. Udder, mouth, longevity, and lifetime productivity. **Journal of Animal Science**, 79:1439-1449.

Rizzo ECA, Neto FRA, Diaz IDPS, Dias MM, Costa RB, Ventura RV, Oliveira HN, Falcão AJS (2015) Genetic association of productive and reproductive traits with stayability in Nelore cattle: analyses using Bayesian models. **Genetic Molecular Research**, 14:14956-14966.

Rodriguez OC, Cheney RE (2002) Human myosin-Vc is a novel class V myosin expressed in epithelial cells. **Journal of Cell Science**, 115:991-1004.

Saatchi, M et al (2011) Accuracies of genomic breeding values in American Angus beef cattle using K-means clustering for cross-validation. **Genetics Selection Evolution**, 43:40.

Santana Jr ML, Eler JP, Bignardi AB, Ferraz JBS (2015) Two-trait random regression model to estimate the genetic association of scrotal circumference with female reproductive performance in Nelore cattle. **Theriogenology**, 83:1534-1540.

Sargolzaei M, Chesnais JP, Schenkel FS (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **BMC Genomics**, 15:478.

Sha YW, Sha YK, Ji ZY, Mei LB, Ding L, Zhang Q, Qiu PP, Lin SB, Wang X, Li P, Xu X, Li I (2018) TSGA10 is a novel candidate gene associated with acephalic spermatozoa. **Clinical genetics**, 93:776-783.

Shen W et al (2015) TIFA, an inflammatory signaling adaptor, is tumor suppressive for liver cancer. **Oncogenesis**, 4:e173.

Shi S, Williams SA, Seppo A, Kurniawan H, Chen W, Ye Z, Marth JD, Stanley P (2004) Inactivation of the Mgat1 gene in oocytes impairs oogenesis, but embryos lacking complex and hybrid N-glycans develop and implant. **Molecular and cellular biology**, 24:9920-9929.

Silva DO, Santana ML, Ayres DR, Menezes GRO, Silva LOC, Nobre PRC, Pereira RJ (2018) Genetic parameters for stayability to consecutive calvings in Zebu cattle. **Animal**, 12:1807-1814.

Silva IJIV, Eler JP, Ferraz JBS, Golden BL, Oliveira HN (2003) Heritability estimate for stayability in Nelore cows. **Livestock Production Science**, 79:97-101.

Smith BJ (2007) Boa: An R Package for MCMC Output Convergence Assessment and Posterior Inference. **Journal of Statistical Software** 21:1-37.

Sorensen D, Gianola D (2002) Likelihood, Bayesian, MCMC methods in quantitative genetics. In: **3rd edition, New York: Springer**, 740p.

Speidel SE, Buckley BA, Boldt RJ, Enns RM, Lee J, Spangler ML, Thomas MG (2018) Genome-wide association study of Stayability and Heifer Pregnancy in Red Angus cattle. **Journal of animal Science**, 96:846-853.

Steuerwald NM, Bermúdez MG, Wells D, Munné S, Cohen J (2007) Maternal age-related differential global expression profiles observed in human oocytes. **Reproductive biomedicine online**, 14:700-708.

Taye M et al (2017) Whole genome detection of signature of positive selection in African cattle reveals selection for thermotolerance. **Animal Science Journal**, 88:1889-1901.

Teichmann SA, Chothia C (2000) Immunoglobulin superfamily proteins in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of molecular biology**, 296:1367-1383.

Teixeira DBA, Fernandes Junior GA, Silva DBS, Costa RB, Takada L, Gordo DGM, Bresolin T, Carneiro R, Baldi F, Albuquerque LG (2017) Genomic analysis of stayability in Nelore cattle. **Plos one**, 2:e0179076.

Turkyilmaz E, Guner H, Erdem M, Erdem A, Biri AA, Konac E, Alp E, Onen HI, Menevse S (2012) NLF2 gene expression in the endometrium of patients with implantation failure after IVF treatment. **Gene**, 508:140-143.

Valente TS, Baldi F, Sant'Anna AC, Albuquerque LG, da Costa MJRP (2016) Genome-Wide Association Study between single nucleotide polymorphisms and flight speed in Nelore cattle. **PloS one**, 11:e0156956.

Van Cauwenbergh, C et al (2017) Mutations in splicing factor genes are a major cause of autosomal dominant retinitis pigmentosa in Belgian families. **PloS one**, 12:e0170038

Van Melis MH, Eler JP, Oliveira HN, Rosa GJM, Silva JAV, Ferraz JBS, Pereira E (2007) Study of stayability in Nellore cows using a threshold model. **Journal of Animal Science**, 85:1780-1786.

VanRaden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of dairy science**, 91:4414-4423.

Vitezica ZG, Aguilar I, Misztal I, Legarra A (2011) Bias in genomic predict for populations under selection. **Genetic Research**, 93:1-10.

Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A, Muir W (2012) Genome-wide association mapping including phenotypes from relative without genotypes. **Genetic Research**, 94:73–83.

Wang W, Liu HC, Jung M, He Z, Rosenwaks Z (2008) Functional uromodulin-like 1 (Umodl1), a glycosylated surface protein is essential to oocyte quality. **Fertility and Sterility**, 90:S107-S108.

Wang X et al (2015) Genome-wide association study in Chinese Holstein cows reveal two candidate genes for somatic cell score as an indicator for mastitis susceptibility. **BMC genetics**, 16:111.

Wolc A, Stricker C, Arango J, Settar P, Fulton JE, O'Sullivan NP, Lamont SJ (2011) Breeding value prediction for production traits in layer chickens using pedigree or genomic relationships in a reduced animal model. **Genetics Selection Evolution**, 43:5.

Wu X, Guldbrandtsen B, Lund MS, Sahana G (2016) Association analysis for feet and legs disorders with whole-genome sequence variants in 3 dairy cattle breeds. **Journal of dairy science**, 99:7221-7231.

Xu P, Huecksteadt TP, Hoidal JR (1996) Molecular cloning and characterization of the human xanthine dehydrogenase gene (XDH). **Genomics**, 34:173-180.

Zerbino DN et al (2017) Ensembl 2018. **Nucleic acids research** 46:D754-D761.

Zimin AV et al. (2009) A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. **Genome biology**, 10:R42.