

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA DE
CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS EM
BUBALINOS**

**Efraín Enrique Acevedo Jiménez
Zootecnista**

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASSOCIAÇÃO E SELEÇÃO GENÔMICA DE
CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS EM
BUBALINOS**

Efraín Enrique Acevedo Jiménez

Orientador: **Prof. Dr. Humberto Tonhati**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal.

2016

Acevedo Jiménez, Efraín Enrique

A173a Associação e seleção genômica de características produtivas e reprodutivas em bubalinos / Efraín Enrique Acevedo Jiménez. -- Jaboticabal, 2016

xix, 42 p. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientadora: Humberto Tonhati

Banca examinadora: Raul Aspilcueta Borquis, Leonardo Oliveira Seno, Naudín Alejandro Hurtado Lugo, Salvador Boccaletti Ramos

Bibliografia

1. Seleção Genômica. 2. Bubalinos. 3. Características Reprodutivas. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.082:636.293.2

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EFRAIN ENRIQUE ACEVEDO JIMÉNEZ – nascido em 10 de Setembro de 1979, na cidade de Tunja, Colômbia, filho de Ana Leonor Jiménez Gordillo e Efraín Antonio Acevedo Ortíz. Iniciou em 2003 o curso de Zootecnia na Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, e em 2009 obteve o título de Zootecnista. Em março de 2010, ingressou no Programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – UNESP – Campus de Jaboticabal – SP, sob orientação do Prof. Dr. Humberto Tonhati. Em 2012 se formou como Mestre em Genética e Melhoramento na UNESP e iniciou o curso de Doutorado no mesmo programa dando continuação a sua formação profissional.

Dedico...

A minha mãe Leo, a pessoa mais importante da minha vida, a quem devo tudo, que com seu amor e exemplo me guiou pelo caminho da vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, pela oportunidade de realizar mais esta etapa da minha vida.

Ao Prof. Dr. Humberto Tonhati, pela orientação e amizade, obrigado.

Ao Dr. Raul Aspilcueta, pelos ensinamentos e amizade, obrigado.

Aos professores dos Departamentos de Zootecnia e Ciências Exatas pelos ensinamentos transmitidos.

A CAPES pela concessão da bolsa, obrigado.

SUMÁRIO

Página

CONSIDERAÇÕES GERAIS	8
Introdução	8
Associação Genômica Ampla (GWAS)	10
Seleção genômica (GS)	10
Predição dos valores genômicos	11
OBJETIVOS	12
Objetivo geral	12
Objetivos específicos	12
Referências Bibliográficas	12
ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS) DE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS EM BUBALINOS	14
Resumo	14
1. Introdução	15
2. Materiais e métodos	17
2.1 Animais e Fenótipos	17
2.2 Genotipagem e controle de qualidade.....	19
2.3 Estudo de associação do genoma	19
2.4 Identificação dos genes	20
3. Resultados e discussão	20
4. Conclusões	24
5. Referências bibliográficas	25
SELEÇÃO GENÔMICA (GS) DE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS EM BUBALINOS	28
Resumo	28
1. Introdução	29
2. Materiais e métodos	33

2.1 Genótipos	33
2.2 Fenótipos e Pseudo-fenótipos	33
2.3 Análises Estatísticos	35
2.4 Validação Cruzada	36
2.5 Critérios de comparação dos modelos	37
3. Resultados e discussão	37
4. Conclusões	39
5. Referências bibliográficas	39

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

A bubalinocultura no Brasil vem apresentando elevado crescimento nos últimos anos, o rebanho bubalino aumentou 5.6% de 2012 a 2013 ((de 1,26 para 1,33 milhão de cabeças, (IBGE,2013)), e no 2014 cresceu um 9.38 % até alcançar 1,47 milhão (MAPA, 2014), sendo estes búfalos destinados tanto para produção de leite e abate quanto para comercialização de matrizes e reprodutores.

Este crescimento se deve a que a bubalinocultura é uma excelente opção econômica, já que o leite de búfala se caracteriza pela elevada quantidade em termos de gordura, proteína e sólidos totais, o que permite maior rendimento na elaboração do queijo mozzarella. Este produto apresenta ótima aceitação pelo mercado, o qual pratica altos preços de comercialização gerados pela falta de oferta.

A pecuária bubalina leiteira vem ganhando espaço no mercado, e esse aumento na demanda tem exigido a escolha de animais geneticamente superiores para a produção de leite (PL) (Marcondes et al., 2008), virando o principal objetivo de seleção nos programas de melhoramento em animais leiteiros, no entanto, diversos estudos tem mostrado um declínio da eficiência reprodutiva decorrente da intensa seleção para o aumento da produção de leite (Silva et al., 1998).

A produção e a reprodução são eventos fisiológicos determinantes da rentabilidade econômica da pecuária leiteira. Cassiano et al. (2004) afirmam que a importância das características reprodutivas em programas de melhoramento genético está relacionada, principalmente, às taxas de ganho genético anual. Porém, devido às baixas herdabilidades e complexidades limitadas ao sexo, tem sido muito difícil melhorar as características reprodutivas usando os métodos tradicionais de seleção.

Búfalas precoces à puberdade produzem mais crias e leite em sua vida produtiva. Neste contexto, entre as características reprodutivas que mais afetam a produtividade de um rebanho, a idade ao primeiro parto (IPP) e o intervalo de partos (IEP) são as mais relevantes. A elevada IPP nos trópicos é um dos principais fatores

que afetam negativamente a exploração dos bovinos e bubalinos. Segundo Tonhati et al. (1997), a diminuição da IPP reduz o intervalo de gerações e aumenta a vida produtiva e a intensidade de seleção nas fêmeas.

De acordo com Pereira (2004), o IEP é um dos principais parâmetros para medir a eficiência reprodutiva de um rebanho, pois, quanto menor, maior será o número de crias produzidas por animal durante sua vida útil. Neste sentido, Téllez et al. (2005) reportam que IEP de 12 meses é fisiologicamente possível e economicamente vantajoso. Baruselli e Henriquez (2002) consideram aceitável que a búfala produza dois bezerros a cada três anos. Esses autores reportam que a diminuição do IEP induz ao aumento de produção na vida útil da búfala e reflete positivamente no progresso genético do rebanho. Considerando esses fatores, Pereira (2004) aponta o atraso genético quantificado pelos indicadores reprodutivos como o principal desafio a ser superado no melhoramento genético dos rebanhos.

A IPP e IEP são características constantemente registradas nos rebanhos participantes de controles leiteiros, mas mesmo sendo características de importância econômica, não são objetivos de seleção. Nas avaliações genéticas têm sido implementados os modelos mistos considerando a matriz de parentesco (Modelo animal). No entanto, as estimativas obtidas por esses modelos são baseadas nas informações fenotípicas colhidas à campo, resultando em estimativas dos parâmetros genéticos pouco acuradas. Visando contornar isso, as alternativas moleculares estão sendo amplamente estudadas.

Apesar dos ótimos resultados com as características qualitativas, com as características quantitativas os estudos moleculares obtiveram resultados insuficiente, principalmente no que se refere à seleção assistida por marcadores (MAS) moleculares. A MAS utiliza simultaneamente dados fenotípicos e dados de marcadores moleculares em ligação gênica próxima a alguns locos controladores de características quantitativas com o objetivo de aumentar o ganho genético anual para as características de importância econômica em várias espécies animais (Dekkers, 2004). Meuwissen e Goddard (1996) mostrara com dados simulados, que a MAS é especialmente útil para características de baixa herdabilidade, com alto custo de mensuração ou medidas tardiamente na vida do animal.

Até agora a problemática da implementação da MAS é que somente uma proporção pequena da variância genética total é capturada pelos marcadores moleculares, limitando o progresso genético (Solberg et al. 2008). Além disto, uma das maiores dificuldades tem sido a incorporação, nos programas de avaliação genética, dos dados proveniente dos marcadores moleculares em conjunto com a informação dos poligenes, visando a predição dos valores genéticos por meio do BLUP (Best Linear Unbiased Predictor ou Melhor preditor Linear não Viesado) para características de importância econômica.

Recentemente foi lançado no mercado o chip de alta densidade específico para búfalos desenvolvido pela empresa Affymetrix (2014), que possui aproximadamente 90.000 SNPs (Axiom® Buffalo Genotyping Array). Com os resultados obtidos será possível determinar o método mais adequado na obtenção dos valores genômicos para as características de produção e reprodução em búfalas.

Associação Genômica Ampla (GWAS)

Os SNP são a forma de variação mais abundante de polimorfismos de DNA em todo o genoma e têm se tornado preferencial sobre outros tipos de marcadores moleculares, já que apresentam menores taxas de mutação e são de fácil genotipagem (Romualdi et al. 2002). Os SNP são utilizados para a detecção e localização de QTL para características complexas (Hayes et al. 2006).

Os estudos de associação genômica ampla (GWAS) buscam combinar informações de genótipos, fenótipos e de pedigree dos animais para identificar regiões do genoma que influenciam características de interesse. Nestas análises utilizam-se painéis de SNPs de alta densidade para avaliar uma população onde as variações genéticas exercem função sobre a característica fenotípica de importância econômica, e têm como objetivo elucidar as associações entre SNP e fenótipo.

Seleção genômica (GS)

Identificar os genes responsáveis pela variação fenotípica das características de importância econômica permite o desenvolvimento de métodos de seleção de genótipos superiores. Assim, a seleção genômica confere benefícios ao

melhoramento genético animal devido à utilização direta das informações do DNA no processo de seleção, aumentando o ganho genético em comparação a seleção tradicional com base apenas no fenótipo.

A importância da genômica no melhoramento genético aplicado é a utilização direta das informações de DNA na seleção, de forma a permitir alta eficiência seletiva, rapidez na obtenção de ganhos genéticos e baixo custo, em comparação com a seleção tradicional baseada em dados fenotípicos. As informações e ferramentas moleculares disponíveis para búfalos ainda estão em uma fase de desenvolvimento.

Predição dos valores genômicos

Os dados genômicos são analisados considerando diferentes distribuições *a priori* para os efeitos genéticos e variâncias dos SNP. Pretende-se determinar qual a distribuição mais apropriada para se utilizar quando são consideradas informações genômicas nas análises de búfalos, visando à utilização de informações genômicas na predição de valores genéticos para maximizar a acurácia das estimativas.

As informações genômicas serão analisadas considerando três metodologias: GBLUP, Bayes C π e LASSO Bayesiano. Uma vez determinada a melhor distribuição para as variâncias e efeitos dos SNP, os valores genômicos para PL, IPP e IEP são preditos considerando os algoritmos desenvolvidos por VanRaden (2008). Em um determinado *locus* existem dois alelos possíveis para SNP (1, 2), e existem 3 possíveis genótipos: “11,” “12,” e “22”. Arbitrariamente será designado com o valor $+1/2 a_j$ para o alelo 1 e o valor de $-1/2 a_j$ para o alelo 2, de acordo com a parametrização clássica na qual a_j é a metade da diferença entre dois homozigotos. O modelo a ser utilizado pode ser representado na notação matricial da seguinte forma:

$$y = X\beta + Wa + e$$

onde \mathbf{y} é o vetor das observações; \mathbf{b} é o vetor dos efeitos ambientais (incluindo a média); \mathbf{a} é o vetor dos efeitos dos marcadores e, \mathbf{X} e \mathbf{W} são as correspondentes matrizes de incidência. É assumido que os resíduos são independentes e apresentam uma distribuição, $e|\sigma_e^2 \sim N(0, I\sigma_e^2)$. Para \mathbf{a} serão testadas diferentes distribuições *a priori* conforme apresentado.

Os GEBV são preditos a partir dos efeitos dos SNP estimados utilizando a seguinte fórmula:

$$GEBV = \sum_i^n X_i \hat{g}_i$$

onde n é o número de segmentos de cromossomos ao longo do genoma, X_i é uma matriz com os alelos de cada animal para cada segmento i , e \hat{g} é o vetor dos efeitos dos SNPs para cada segmento i .

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Identificar polimorfismos de DNA associados a características produtivas e reprodutivas, assim como estudar a viabilidade da seleção genômica para estas características, através da acurácia de predição genômica em bubalinos leiteiros.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar parâmetros genéticos para características indicadoras de precocidade sexual em búfalas.
- Estudar a associação de polimorfismos de DNA com características produtivas e reprodutivas.
- Estimar os efeitos dos SNPs sobre as características no estudo.
- Estudar o efeito de diferentes distribuições a priori sobre a estimação dos efeitos do QTL e sobre as avaliações genéticas dos animais a partir de dados genômicos.

Referências Bibliográficas

AFFYMETRIX. Axiom® Buffalo Genotyping Array. Disponível em: http://www.affymetrix.com/browse/products.jsp?productId=prod740001_1. 2014.

BARUSELLI, P.S.; HENRIQUEZ, C.E.P. Reprodução em búfalos. Disponível em: <http://www2.fmvz.usp.br/bufalos/index.html>. 2002.

CASSIANO, L.A.P.; MARIANTE, A.S.; McMANUS, C. et al. Parâmetros genéticos das características produtivas e reprodutivas de búfalos na Amazônia brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.5, p.451-457, 2004.

DEKKERS, J. C. M. Commercial application of marker and gene assisted selection in livestock: strategies and lessons. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.313-328, 2004.

HAYES, B.J., LIEN, S., NILSEN, H., OLSEN, H.G., BERG, P., MACEACHERN, S., POTTER, S., MEUWISWSEN, T.E. The origin of selection signatures on bovine chromosome 6. *Animal Genetics*, 39, 105-101, 2006.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Prod. Pec. munic., Rio de Janeiro, v. 41, p.45,

ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/ppm2013.pdf 2013.

MAPA, Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento.

http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Dados%20de%20rebanho%20bovino%20e%20bubalino%20do%20Brasil%202014.pdf. 2014

MARCONDES, C.R.; MARQUES, J.R.F.; CUNHA, B. R.N. Melhoramento Genético em Bubalinos. **AMAZONPEC**. Belém –PA, p.20. 2008

MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. **Genetics Selection Evolution**, v.28, p.161-176, 1996.

PEREIRA, J.C.C. Melhoramento genético aplicado à produção animal. 4.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 609p. 2004.

ROMUALDI, C., Balding, D., Nasidze, I.S., Risch, G., Robichaux, M., Sherry, S.T., Stoneking, M., Batzer, M.A., Barbujani, G. Patterns of Human Diversity, within and among Continents, Inferred from biallelic DNA Polymorphisms. *Genome Research*, 12, 602-612, 2002.

SILVA, M.V.G.B.; BERGMANN, J.A.G.; MARTINEZ, M.L.; PEREIRA, C.S.; FERRAZ, J.B.; SILVA, H.C.M. Associação genética, fenotípica e de ambiente entre medidas de eficiência reprodutiva e produção de leite na raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.6, p.1115-1122, 1998.

SOLBERG, T. R.; SONESSON, A. K.; WOOLLIAMS, J. A.; MEUWISSEN, T. H. E. Genomic selection using different marker types and densities. **Journal Animal Science**, v.86, p.2447-2454, 2008.

TÉLLEZ, M.B.; MELÉNDEZ, Y.A.; MARTINEZ, A.M. et al. [2005]. Influencia de la época y región en algunos indicadores reproductivos del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) en el territorio oriental de Cuba. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v.6, n.9. p.1-6. 2005.

TONHATI, H. Melhoramento. In: OLIVEIRA, G.J.C.; ALMEIDA, A.M.L.; SOUZA FILHO, U.A. (Eds.) O búfalo no Brasil. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia, p.101-113. 1997

VANRADEN, P.M. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. **Journal of Dairy Science**, 91, 4414–4423, 2008.

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS) DE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS EM BUBALINOS

RESUMO - Diversos estudos foram realizados no Brasil no intuito de se obter melhorias na produção e qualidade do leite bubalino, porém são quase inexistentes estudos relacionados a melhorar as características reprodutivas. A chegada do painel de SNPs possibilitou a análise simultânea de muitas informações do genoma e sua utilização nos programas de melhoramento visando acelerar o ganho genético. O objetivo do presente trabalho foi realizar o estudo da associação do genoma para características produtivas e reprodutivas nos bubalinos leiteiros. Os valores genéticos estimados para as características produções de leite (PL) idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP), foram calculados a partir de informações de 11530 lactações de 3431 búfalas controladas mensalmente desde 1995 até 2013. Foram genotipados 452 búfalos (57 machos e 395 fêmeas) utilizando painel de 90K *Axiom® Buffalo Genotyping Array*. Localizaram-se os genes mais próximos aos SNPs significativos: para PL encontraram-se quatro genes cujo metabolismo está relacionado com a expressão biológica da característica: TAC3, CWF19L2, PRR23B e o pseudogene LOC101904537. Para IPP foram encontrados três genes que atuam no metabolismo basal e celular: DLX3, SND1 e o pseudogene LOC101906220. Para IEP se encontraram o gene GPR1 e o pseudogene LOC100336939. Os genes identificados nesse estudo são candidatos para mapeamento fino com objetivo de encontrar mutações causais e incorporar essas informações em um chip de baixa densidade. Chip de SNPs de baixa densidade são informativos e auxiliam na avaliação genética, além de possuírem uma relação custo-benefício mais acessível para produtores rurais e avaliação de grandes populações.

Palavras-chave: bubalinos, GWAS, características reprodutivas, *Axiom® Buffalo Genotyping Array*.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY (GWAS) IN PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE TRAITS IN BUFFALOES

ABSTRACT - Several studies have been realized in Brazil in order to achieve improvements in production and quality of buffalo milk, but they are almost non-existent studies related to improving the reproductive characteristics. The arrival of SNPs panel allowed the simultaneous analysis of many genome information and its use in breeding programs to increase the genetic gain. The aim of this study was the genome-wide association study for productive and reproductive traits in dairy buffaloes. The estimated breeding values for the traits milk production (PL) age at first calving (AFC) and calving interval (CI) were calculated from information of 11,530 lactations of 3431 buffaloes controlled monthly since 1995 to 2013. Were genotyped 452 buffalo (57 males and 395 females) using 90K Axiom® Buffalo Genotyping Array panel. Were located nearby genes to significant SNPs: for PL four genes whose metabolism is related to the expression of the biological trait: TAC3, CWF19L2, PRR23B and LOC101904537 pseudogene. For IPP were found three genes that act in basal and cellular metabolism: DLX3, SND1 and pseudogene LOC101906220. For IEP were found the GPR1 gene and pseudogene LOC100336939. The genes identified in this study are candidates for fine mapping in order to find causal mutations and incorporate this information into a low-density chip. Chip low-density SNPs are informative and assist in genetic evaluation, in addition to having a more affordable cost-effective for farmers and evaluation of large populations.

Keywords: buffaloes, GWAS, reproductive traits, Axiom® Buffalo Genotyping Array.

1. INTRODUÇÃO

A bubalinocultura no Brasil vem apresentando elevado crescimento nos últimos anos, o rebanho bubalino aumentou 5.6% de 2012 a 2013 ((de 1,26 para 1,33 milhão de cabeças, (IBGE,2013)), e no 2014 cresceu um 9.38 % até alcançar 1,47 milhão (MAPA, 2014), sendo estes búfalos destinados tanto para produção de leite e abate quanto para comercialização de matrizes e reprodutores.

Desde o ponto de vista produtivo na pecuária, a produção de leite e qualidade do leite é a principal renda, entretanto, a eficiência reprodutiva é considerada um fator importante que afeta a produção de leite, já que está vinculada à parição, sendo que as características reprodutivas de maior importância são: a idade ao primeiro parto, intervalo entre parto, número de inseminações para a prenhez, etc (Tonhati et al., 2000).

Nos últimos anos, diversos estudos foram realizados no Brasil no intuito de se obter melhorias na produção e qualidade do leite bubalino (Aspilcueta et al., 2010 e Aspilcueta et al., 2013), entretanto são quase inexistentes estudos relacionados a melhorar as características reprodutivas nos bubalinos, embora existam diversos estudos em gado leiteiro (VanRaden 2004 e De Vries, 2010). Tal fato sinaliza que se deve levar em conta estudos das características reprodutivas e sua importância econômica na pecuária leiteira. Deve ser ressaltado que mais de 18 países consideram importantes as avaliações características reprodutivas em bovinos leiteiros (INTERBULL, 2014).

As avaliações genéticas das características de reprodução normalmente apresentam baixa herdabilidade, o que dificultava a introdução destas características no melhoramento bubalino, entretanto avanços recentes de tecnologias moleculares podem auxiliar no melhoramento destas características. Entre essas tecnologias estão o sequenciamento com montagem do genoma e utilização de marcadores moleculares para polimorfismo de nucleotídeo único (SNP).

Pelo baixo custo do processo de genotipagem, a tecnologia dos marcadores SNPs pode ser utilizada em larga escala para indivíduos de uma determinada população. Painéis, contendo milhares de marcadores SNPs, estão sendo empregados em genética humana bem como em outros animais para análise de associação de doenças, estudo de variabilidade genética e para seleção na pecuária (Biffi et al. 2010; Zenger et al. 2006; Barendse et al. 2007).

O advento do painel de SNPs possibilitou a análise simultânea de muitas informações moleculares do genoma animal. Sua utilização em um programa de melhoramento visa acelerar o ganho genético, principalmente em rebanhos leiteiros. Considerando a constituição dos painéis de SNPs quanto aos genótipos raciais

envolvidos, e a necessidade de empregar a seleção genômica ampla, a avaliação destes painéis torna-se essencial para os bubalinos.

Portanto o objetivo do presente trabalho foi realizar o estudo da associação global do genoma nas características produtivas e reprodutivas nos bubalinos leiteiros.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais e Fenótipos

Os valores genéticos estimados para as características de produções de leite (PL, idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP), foram obtidas a partir das avaliações genéticas de rotina (Aspilcueta et al., 2013). Foram compostas de 11530 lactações de 3431 búfalas controladas mensalmente desde 1995 até 2013, distribuídos em 12 fazendas, sendo o total de touros 186 com filhas registradas, resultando no total de arquivo de pedigree de 14346. A estrutura dos dados é apresentada na tabela 1.

Tabela 1. Resumo da estrutura de dados e estatísticas descritivas para as produções de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP).

C	N	Machos	Fêmeas	Média	DP	GC
PL (kg)	11530	186	3431	1864,14	448,67	298
IPP (dias)	3431	186	3431	897,13	128,16	134
IEP (dias)	4729	186	3431	407,54	32,33	106

C = características, N = Números, DP = desvio padrão, GC = grupo contemporâneo.

A avaliação genética foi baseada em modelos animal unicaracterística, para as características PL, e IEP, foram incluídos efeitos fixos de grupo contemporâneo, que foi definido como fazenda, ano e estação de parto (seca e chuvosa) e como covariável a idade da vaca ao parto com efeito linear e quadrático. Para a maior consistência dos dados foram considerados grupos de contemporâneos com mais de quatro animais e registros da característica compreendidos entre, mais ou menos, três desvios padrões da média do grupo. Como efeito aleatório, foi definido genético aditivo, ambiente permanente e residual. No caso da característica IPP o grupo contemporâneo foi considerado com fazenda, ano e estação de nascimento.

Os componentes de variância (Tabela 2) foram estimados com o método de Máxima Verossimilhança Restrita (REML) com o programa Wombat (Meyer et al., 2006). A notação matricial dos modelos utilizados pode ser assim apresentada:

$$y = X\beta + Za + Wp + e$$

ou

$$y = X\beta + Za + e$$

em que β , a , p e e são nesta ordem o vetor solução dos efeitos fixos, genético direto, de ambiente permanente e residual; X , Z e W , são respectivamente as matrizes de incidência referentes aos efeitos fixos, aleatório genético direto e de ambiente permanente.

Tabela 2. Variância genética aditiva (σ_a^2), de ambiente permanente (σ_{ap}^2), residual (σ_e^2), e herdabilidade (h^2) para as características em estudo.

Característica	σ_a^2	σ_{ap}^2	σ_e^2	$h^2 \pm DP$
PL	46672,49	36946,85	103861,99	0,25 \pm 0,03
IPP	423,45		1668,89	0,17 \pm 0,02
IEP	275,132	399,013	4061,479	0,06 \pm 0,01

Uma vez obtidos os valores genéticos das características em estudo (Tabela 3), estes foram desregredidos como proposto por Garrick et al., (2009), após serem desregredidos foram utilizados como pseudo-fenótipo para o estudo de associação com o genoma.

Tabela 3. Médias dos valores genéticos das características em estudo do total de animais do pedigree (Total) e dos animais genotipados.

Características	Total		Animais genotipados	
	MVG	DP	MVG	DP
PL (kg)	169,63	89,32	232,78	71,28
IPP (dias)	3,78	4,89	-28,64	2,84
IEP (dias)	1,28	2,18	-13,67	2,06

MVG = Média do valor genético, DP = Desvio padrão.

2.2 Genotipagem e controle de qualidade

Foram genotipados 452 búfalos (57 machos e 395 fêmeas). A genotipagem foi realizada utilizando painel de 90K *Axiom® Buffalo Genotyping Array*. Inicialmente, o chip utilizado continha 92.826 marcadores, a partir desses marcadores se tomaram os critérios para o controle de qualidade das amostras, foram adotados a call rate de 0.95 e heterozigosidade de ± 3 desvios-padrão da média. Na qualidade do marcador foi adotado call rate superior a 0,98, a frequência de alelos menores (MAF) foi adotada maior que 5%, o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) com até 10^{-6} , correlação entre marcadores até 0.998, além da eliminação de SNPs coincidentes e com possíveis erros de posicionamento físico em relação ao mapa de referência. Depois dos critérios adotados o total de SNP para o presente estudo foi de 49.124.

2.3 Estudo de associação do genoma

Para associar os SNPs com os valores genéticos desregredidos (drEBV) das características estudadas, um modelo linear misto foi implementado usando o software R e o pacote GenABEL (Aulchenko et al., 2007). O drEBV tem informação do registro do animal genotipado assim como dos seus parentes. A *reliability* ou acurácia (fonte de informação) varia entre os animais, assim o drEBV tem variâncias heterogêneas corrigidas pelos ponderadores residuais. O Modelo implementado foi:

$$y = X\beta + \mu + \varepsilon$$

Onde y é o vetor dos drEBV, X é o vetor dos genótipos no locus que está sendo testado, β é o valor genético aditivo fixo atribuído a esse locus, μ é o vetor do poligênico com distribuição normal $\mu \sim N(0, G\sigma_u^2)$ e ε é o vetor do erro residual com distribuição normal $\varepsilon \sim N(0, I\sigma_e^2)$.

A matriz de parentesco baseada no pedigree, G , descreve a relação do genoma completa entre os indivíduos, uma vez que é estimado com base nos alelos idênticos por estado (IBS) dos marcadores. Os parâmetros σ_u^2 e σ_e^2 foram estimados usando o método da verossimilhança máxima restrita (REML) para cada SNP. O método dos Quadrados Mínimos generalizados foi usado para estimar os efeitos β usando o test F para hipótese nula $H_0: \beta = 0$.

$$y = x\beta + z\mu + e$$

Onde y é o vetor dos drEBV, x é a matriz do delineamento, β é o vetor de coeficientes da regressão nos genótipos SNP recodificados; z é a matriz de incidência para efeitos do animal; $\mu \sim N(0, A\sigma_a^2)$ é o vetor dos efeitos poligênicos de animal e $e \sim (0, I\sigma_e^2)$ é o vetor de resíduos, no qual A é uma matriz de parentesco genético aditivo e I é uma matriz de identidade, e σ_a^2 e σ_e^2 são as variâncias poligênicas aditivas do animal e a variância de erro residual, respectivamente.

SNP do efeito fixo de substituição alélica (β) e o conhecimento aleatório os efeitos poligênicos foram avaliados neste modelo. Valores na matriz do delineamento, x , foram recodificados como 0, 1, 2 para os genótipos SNP, representando o número de cópias do alelo menor portado pelo indivíduo. Os parâmetros foram estimados usando o método de máxima verossimilhança restrita (REML) para todos os SNPs. O método dos quadrados mínimos generalizados (GLS) foi usado para estimar os efeitos β usando o teste F para a hipótese nula $H_0: \beta = 0$.

Examinamos QQ-plots para a inflação de pequenos pValues com possíveis associações de sinais falsos positivos. Após a correção para a estratificação da população, o fator de inflação genômica foi de 1,04. Considerando SNPs significativamente associados à escala do genoma, os seus valores p inferiores a 7% foram corrigidos para Bonferroni (pBONF, $1,960 \times 10^{-6}$).

2.4 Identificação dos genes

Para a identificação de quais eram os genes mais próximos dos SNPs foi utilizada a ferramenta MapViewer do genoma bovino disponível no NCBI. Embora a seleção de SNP incluídos no chip *Axiom® Buffalo Genotyping Array* é baseado na informação de sequenciamento de búfalos, a posição do SNP e anotação dos genes usaram no genoma bovino como referência (UMD3.1 assembly) porque ainda não está disponível o genoma completo de referência para búfalos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores de inflação lambda estimados, após as correções para estrutura populacional, foram considerados aceitáveis, sendo menor e iguais a 1,0078, o que se observa na figura 1 (quantile-quantile plot) e nas figuras de GWAS de manhattan (figura 2) para todas as características em estudo

Figura 1. Quantile-quantile plot dos testes estatísticos utilizados para as análises de associação das diferentes características em estudo.

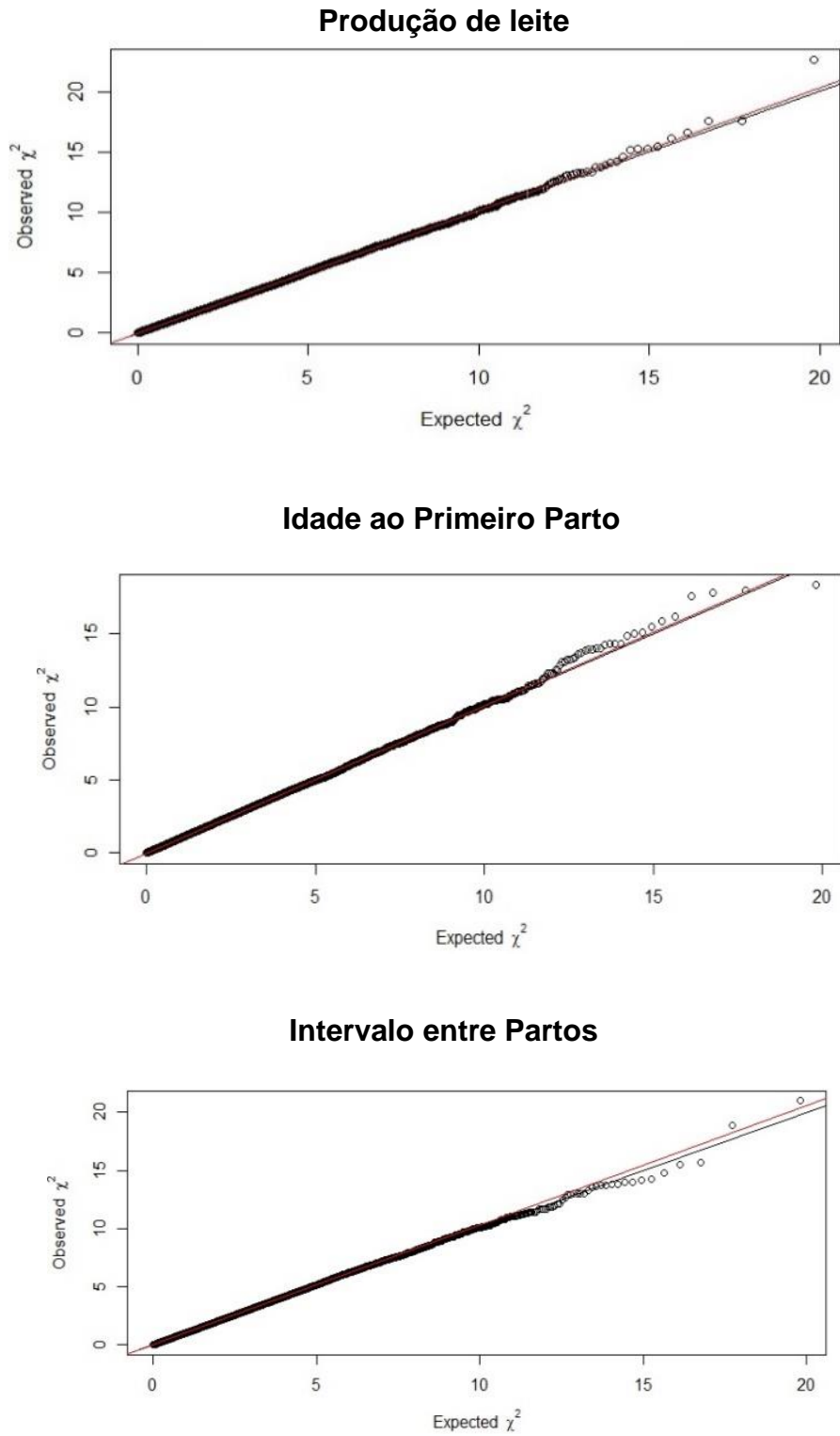
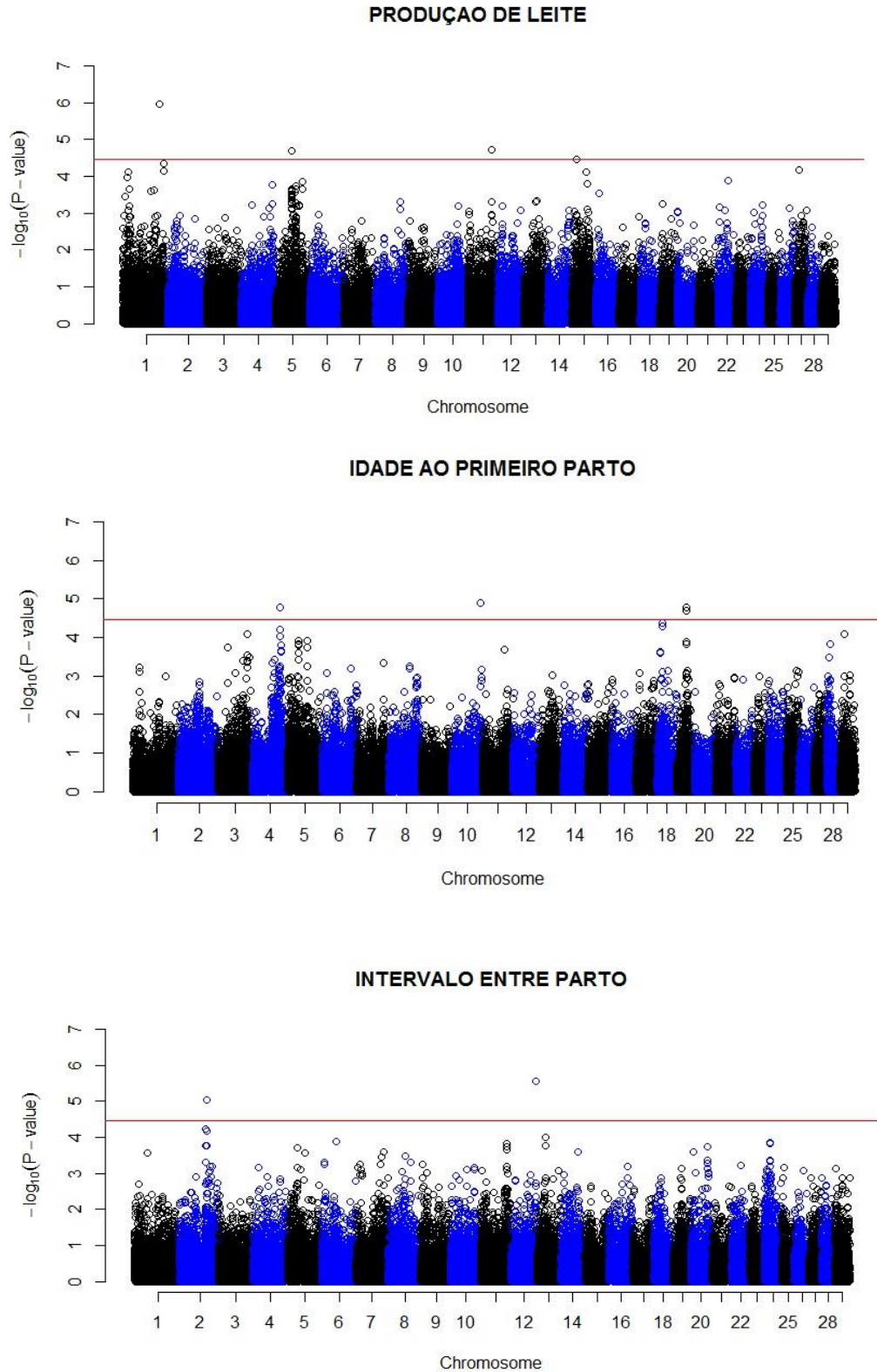


Figura 2 Varredura do genoma bovino para as produções de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP), e intervalo entre parto (IEP). Cromossomos são mostrados em cores alternadas (preto e azul).



Localizaram-se os genes mais próximos aos SNPs significativos (Tabela 4). Acredita-se que esses SNPs estejam sinalizando mutações causais nesses genes, pois estão em desequilíbrio de ligação com elas.

Tabela 4. Regiões do genoma apresentando fortes sinais de associação para cada característica estudada.

C	SNP	Valor de p	Posição do SNP no cromossomo	BTA	Gene	Distancia do SNP ao gene (pb)
PL	AX-85174310	1.441039e-06	131.017.420	1	<i>PRR23B</i>	71.645
	AX-85063969	2.351835e-05	85.287.993	11	<i>LOC101904537</i>	0
	AX-85113121	2.414692e-05	56.751.690	5	<i>TAC3</i>	1.028
	AX-85092264	4.162399e-05	16.483.646	15	<i>CWF19L2</i>	0
IPP	AX-85042061	1.483081e-05	98.711.188	10	<i>LOC101906220</i>	360.592
	AX-85104120	1.848186e-05	37.266.838	19	<i>DLX3</i>	28.132
	AX-85060943	1.952280e-05	92.940.574	4	<i>SND1</i>	0
IEP	AX-85068902	4.136704e-06	85.334.784	12	<i>LOC100336939</i>	295.635
	AX-85067519	1.308342e-05	94.996.736	2	<i>GPR1</i>	7.173

C = Característica, PL = Produção de leite, IPP = Idade ao primeiro parto, IEP = Intervalo entre parto.

Para PL, encontraram-se 4 genes cujo metabolismo está relacionado com a expressão biológica da característica. O TAC3 é um gene envolvido com a regulação da pressão sanguínea. O CWF19L2 é um gene que possui função biológica relacionada com o metabolismo basal e celular. O PRR23B é um gene sem função conhecida, e o pseudogene LOC101904537 com função não caracterizada.

Para IPP foram encontrados 3 genes que atuam no metabolismo basal e celular. O DLX3 é um gene tem função metabólica na formação da placenta e diferenciação dos trofoblastos (Ezashi et al 2008, Degrelle et al 2011). O gene SND1 que tem função incerta, mas está presente em tecidos alvos como ovário, corpo lúteo, placenta e pituitária; e o pseudogene LOC101906220 que não tem função conhecida.

Para IEP se encontraram os seguintes: o pseudogene LOC100336939, que está relacionado com a implantação de embriões bovinos em estágios iniciais (Hwang et al, 2004). Variantes desse gene podem causar alterações que melhoram ou pioram a

implantação dos embriões, aumentando ou diminuindo o IEP. Existe um SNP significativo para IEP cujo gene mais próximo é o GPR1. Na região intergênica (onde se encontra o SNP) foi relatado um sítio de expressão de um RNA longo e não-codificante em humanos. Esse RNA é expresso exclusivamente em placentas (Kobayashi et al 2013) além de estar sob influência epigenética, participando da embriogênese (Kobayashi et al 2012, Duffié et al 2014) e podendo ter ação no IEP em bubalinos.

Há vários estudos de associação ampla do genoma em bovinos leiteiros de diversas raças com características produtivas e reprodutivas (Raven et al 2014, Høglund et al 2014, Abdel-Shafy et al 2014, Bouwan et al 2012, Guo et al 2012, Høglund et al 2012, Strucken et al 2012, Jiang et al 2010 e Pryce et al 2010) que indicaram regiões/genes diferentes das apresentadas aqui para bubalinos. Pode-se concluir que apesar da magnitude dos parâmetros genéticos de bubalinos e bovinos serem similares, há uma sugestão que a contribuição e a participação dos genes nas características sejam diferentes.

4. CONCLUSÕES

Esses resultados reforçam que tecnologias espécie-específicas devem ser desenvolvidas. Particularmente a espécie bubalina carece de um genoma completo de consulta pública. Isso dificulta o avanço em novas abordagens e desenvolvimento de tecnologias para a avaliação genética da espécie. Os genes identificados nesse estudo são candidatos para mapeamento fino com objetivo de encontrar mutações causais e incorporar essas informações em um chip de baixa densidade. Chip de SNPs de baixa densidade são informativos e auxiliam na avaliação genética, além de possuírem uma relação custo-benefício mais acessível para produtores rurais e avaliação de grandes populações. A identificação de mutações causais estabelece ainda a não dependência do desequilíbrio de ligação entre SNPs e uma maior transferabilidade de informações entre espécies.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-SHAFY, Hamdy; Bortfeldt, Ralf H.; Tetens, Jens; Brockmann, Gudrun A. Single nucleotide polymorphism and haplotype effects associated with somatic cell score in German Holstein cattle. // *Genetics Selection Evolution*; Jun 2014, Vol. 46, p1

AFFYMETRIX. Axiom® Buffalo Genotyping Array. Disponível em: http://www.affymetrix.com/browse/products.jsp?productId=prod740001_1
Acesso em: 07 jan. 2014.

ASPILCUETA, B., Araujo Neto, R., Baldi, F., Bignardi, B., Albuquerque, G., Tonhati, H. Genetic parameters for buffalo milk yield and milk quality traits using Bayesian inference. *Journal of Dairy Science*, v. 93, p. 2195-2201, 2010.

ASPILCUETA, B., Araujo Neto, R., Baldi, F., Hurtado-Lugo, N., de Camargo, F., Muñoz-Berrocal, M., Tonhati, H. Multiple-trait random regression models for the estimation of genetic parameters for milk, fat, and protein yield in buffaloes. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 5923-5932, 2013.

AULCHENKO, Y.S.; Ripke, S.; Isaacs, A.; Van Duijn, C.M.: GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics*, 23:1294–1296, 2007.

BARENDSE, W.; Reverter, A.; Bunch, R. J.; Harrison, B. E.; Barris, W.; Thomas, M. B. A validated whole-genome association study of efficient food conversion in cattle. *Genetics*, v.176, p.1893-1905, 2007.

BIFFI, A., Anderson, C. D., Desikan, R. S., Sabuncu, M., Cortellini, L., Scmansky, N., Salat, D., e Rosand, J. Genetic Variation and Neuroimaging Measures in Alzheimer Disease. *Arch. Neurol.*, v.67, p.677-685, 2010.

BOUWMAN, A., Visker, M., Van Arendonk, A. and Bovenhuis, H. Genomic regions associated with bovine milk fatty acids in both summer and winter milk samples. *BMC Genetics* 2012, 13:93.

DEGRELLE, Severine, et al. "EXPRESSION AND LOCALIZATION OF DLX3 AND PPARG IN BOVINE EXTRA-EMBRYONIC TISSUES DURING BINUCLEATED CELL DIFFERENTIATION." *PLACENTA*. Vol. 32. No. 9. 32 JAMESTOWN RD, LONDON NW1 7BY, ENGLAND: WB SAUNDERS CO LTD, 2011.

DEVRIES A 2010. Economic improvements of genetic improvements in milk production, reproduction and productive life. Department of Animal Sciences, University of Florida. Retrieved data on 27 October 2012, from <http://edis.ifas.ufl.edu>.

DUFFIÉ, Rachel, et al. "The Gpr1/Zdbf2 locus provides new paradigms for transient and dynamic genomic imprinting in mammals." *Genes & development* 28.5 (2014): 463-478.

EZASHI, Toshihiko, et al. "The role of homeobox protein distal-less 3 and its interaction with ETS2 in regulating bovine interferon-tau gene expression-synergistic transcriptional activation with ETS2." *Biology of reproduction* 79.1 (2008): 115-124.

GARRICK, J. D.; Taylor, J.F.;Fernando, R. L. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. *Genetic Selection Evolution*, 41: 1-8, 2009

GUO, J., Jorjani, H., Carlborg, O. A genome-wide association study using international breeding-evaluation data identifies major loci affecting production traits and stature in the Brown Swiss cattle breed. *BMC Genetics* 2012, 13:82

HÖGLUND,, J., Guldbrandtsen, B., Lund, M., and Sahana G. Analyzes of genome-wide association follow-up study for calving traits in dairy cattle. *BMC Genetics* 2012, 13:71

HÖGLUND, J., Sahana¹, G., Guldbrandtsen, B., and Lund, M. Validation of associations for female fertility traits in Nordic Holstein, Nordic Red and Jersey dairy cattle. *BMC Genetics* 2014, 15:8

HWANG, Kyu-Chan, et al. "Identification of differentially regulated genes in bovine blastocysts using an annealing control primer system." *Molecular reproduction and development* 69.1 (2004): 43-51.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Prod. Pec. munic.*, Rio de Janeiro, v. 41, p.45, 2013.

ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/ppm2013.pdf

INTERBULL 2012. Interbull routine genetic evaluation for female fertility traits. Retrieved, data on 12 april 2014, from http://www.interbull.slu.se/Female_fert/fert-aug.html

JIANG, Li, et al. "Genome wide association studies for milk production traits in Chinese Holstein population." *PloS one* 5.10 (2010): e13661.

KOBAYASHI, H., Sakurai, T., Sato, S., Nakabayashi, K., Hata, K., Kono, T. Imprinted DNA methylation reprogramming during early mouse embryogenesis at the *Gpr1-Zdbf2* locus is linked to long cis-intergenic transcription. *FEBS Letters* 586 (2012) 827–833

KOBAYASHI, H., Yanagisawa E., Sakashita, A., Sugawara N., Kumakura S., Ogawa H., Akutsu, H., Hata, K., Nakabayashi, K., and KonoT. Epigenetic and transcriptional features of the novel human imprinted lncRNA GPR1AS suggest it is a functional ortholog to mouse *Zdbf2linc*. *Epigenetics* 8:6, 635–645. 2013

MAPA, Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. 2014

http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Dados%20de%20rebanho%20bovino%20e%20bubalino%20do%20Brasil%202014.pdf

MEYER K 2006 "WOMBAT" –Digging deep for quantitative genetic analyses by restricted maximum likelihood. CD-ROM Eighth World Congress on Genetic Applied to Livestock Production, Proceedings...Communication No. 27–14.

PRYCE, J., Bolormaa, S., Chamberlain, A., Bowman, P., Savin, K., Goddard, M., and Hayes B. A validated genome-wide association study in 2 dairy cattle breeds for milk production and fertility traits using variable length haplotypes. *Journal Dairy Science*. 93 :3331–3345. 2010.

RAVEN, L., Cocks, B., and Hayes, B. Multibreed genome wide association can improve precision of mapping causative variants underlying milk production in dairy cattle. *BMC Genomics* 2014, 15:62

STRUCKEN, E., Bortfeldt, R., de Koning, D. and G. Brockmann, G. Genome-wide associations for investigating time-dependent genetic effects for milk production traits in dairy cattle. *Animal Genetics*, 43, 375–382. 2012

TONHATI, H. ; Vasconcellos, B., Albuquerque, G. Genetic Aspects of Productive and Reproductive Traits in a Murrah Buffalo Herd in São Paulo, Brazil. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, Verlag-Berlin, v. 117, p. 331-336, 2000.

VANRADEN. 2004. Selection on net merit to improve life time profit. *Journal of Dairy Science* 87, 3125–3131.

ZENGER, K. R.; Khatkar, M. S.; Cavanagh, J. A. L.; Hawken, R. J.; Raadama, H. W. Genome-wide genetic diversity of Holstein Friesian cattle reveals new insights into Australian and global population variability, including impact of selection. *Animal Genetics*, v.38, p.7-14, 2006.

SELEÇÃO GENÔMICA (GS) DE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS EM BUBALINOS

RESUMO - Os critérios de seleção mais empregados para bubalinos no Brasil incidem em atributos associados a aspectos produtivos. Entretanto, o sucesso do sistema produtivo depende de diversos fatores ambientais e genéticos, sendo que a produção de leite depende diretamente da reprodução dos animais. Neste sentido, a reprodução pode ser usada na geração de novas características indicadoras de precocidade sexual no processo de seleção dos animais. O objetivo deste estudo foi obter a confiabilidade das avaliações genômicas para a predição dos valores genéticos genômicos de produção de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre partos (IEP) utilizando as metodologias de GBLUP, Bayes C π e LASSO Bayesiano. Foram genotipados 452 búfalos (57 machos e 395 fêmeas) utilizando o painel de 90K Axiom® Buffalo Genotyping Array da Affymetrix. Para a comparação dos modelos relacionadas ao delineamento de cross-validação, foram utilizadas a correlação de Pearson e a regressão entre a variável resposta (valor desregredido da característica) e o valor genético considerando apenas marcadores, e considerando marcadores mais o efeito poligenico (GEV B_M e GEV B_T). Concluiu-se que em estudos de seleção genômica recomenda-se a utilização das informações poligênicas e dos marcadores para obter uma melhor predição genômica nas características do estudo nos bubalinos. Entre os modelos estudados os resultados mostram que as predições bayesianas e GBLUP apresentaram estimativas equivalentes. Entretanto poderia ser recomendado a utilização do GBLUP nas avaliações genômicas das características em bubalinos, devido a que o GBLUP tem uma menor exigência computacional e facilidade em convergência.

Palavras-chave: Bubalinos, características reprodutivas, seleção genômica, Axiom® Buffalo Genotyping Array.

GENOMIC SELECTION (GS) OF PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE TRAITS IN BUFFALOES

ABSTRACT - Most used selection criteria for buffaloes in Brazil focus on attributes associated with productive aspects. However, the success of productive system depends of many environmental and genetic factors, and milk production depends directly of animal's reproduction. Accordingly, reproduction can be used for generation of new indicator characteristics of sexual precocity in the process of animal selection. The aim of this study was to obtain the reliability of genomic evaluations for the prediction of genomic breeding values of milk production (PL), age at first calving (AFC) and interval between calvings (IEP) using the methodologies GBLUP, Bayes C π and LASSO Bayesian. Were genotyped 452 buffaloes (57 males and 395 females) using the 90K panel Axiom® Buffalo Genotyping Affymetrix Array. To compare the models related to the cross-validation design, were used Pearson correlation and regression between dependent variable (desregressed value of trait) and genetic value considering just markers, and considering markers and polygenic effect (GEV B_M e GEV B_T). It was concluded that in genomic selection studies is recommended use of polygenic and markers information for better genomic prediction of the traits in buffaloes. Among the studied models the results show that the Bayesian and GBLUP predictions showed similar estimates. However, it could be recommended the use of GBLUP in genomic evaluations of traits in buffaloes, because the GBLUP has a lower computational requirement and ease of convergence.

Keywords: Buffaloes, reproductive characteristics, genomic selection, Axiom® Buffalo Genotyping Array.

1. INTRODUÇÃO

Na bubalinocultura como em outras espécies de interesse econômico existe a necessidade em definir características a serem utilizadas como critérios de seleção. Em geral, os critérios de seleção mais empregados para bubalinos no Brasil incidem em atributos associados a aspectos produtivos (Aspilcueta-Borquis et al.; 2010).

Entretanto, o sucesso do sistema de exploração é dependente de diversos fatores, entre eles fatores ambientais e genéticos, sendo que a produção de leite depende diretamente da reprodução dos animais. Neste sentido, a reprodução pode ser usada na geração de novas características indicadoras de precocidade sexual no processo de seleção dos animais.

A seleção dos indivíduos para precocidade sexual incorre na redução da idade ao primeiro parto, o que possibilitará aumento da receita econômica proporcionado pela diminuição dos custos de manutenção e recuperação mais rápida do capital investido. Do ponto de vista genético, descreve-se que será maior a possibilidade de haver um menor intervalo de gerações e, em decorrência, maior taxa de progresso genético por unidade de tempo obtida como resposta à seleção (Perotto et al., 2006a; Perotto et al., 2006b), justificando-se assim a busca por novos critérios de seleção para precocidade sexual.

A estimativa da herdabilidade permite prever o progresso a ser obtido por meio da seleção. As estimativas de herdabilidade da produção de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP), apresentam herdabilidade moderada a baixa (Malhado et al., 2007; Aspilcueta et al., 2010; Rodrigues et al., 2010; Seno et al., 2010). Alguns autores na literatura, trabalhando com búfalas leiteiras, obtiveram valores moderados da herdabilidade para a produção de leite e seus constituintes (Cassiano et al., 2004; Malhado et al., 2007; Aspilcueta et al., 2010; Rodrigues et al., 2010; Seno et al., 2010). As estimativas de herdabilidade sugerem que ganho genético seria lento, além disto características produtivas e reprodutivas em animais de leiteiros são medidas em animais do sexo feminino, onde os machos são avaliados, através

dos testes de progênies, que além de tornar a avaliação genética onerosa, também resulta em longos intervalos de gerações e conseqüentemente ganho genético mais lento.

Avanços tecnológicos recentes permitiram o desenvolvimento de metodologias de alto desempenho e acurácia a um baixo custo na caracterização e genotipagem de marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Recentemente, a Affymetrix iniciou a comercialização de um painel que identifica 90.000 SNPs espalhados pelo genoma bubalino. De acordo com a empresa, o Axiom® Buffalo Genotyping Array, atualmente a única ferramenta disponível no mercado para a genotipagem de alta densidade em búfalos, fornece a cobertura de todo o genoma de duas espécies (*Bubalus bubalis bubalis* e *Bubalus bubalis carabanensis*) e de algumas raças dos búfalos de rio (Mediterrâneo, Murrah, Jafarabadi e Nili-Ravi), possibilitando assim avanços nos estudos de localização e associação de genes que afetam características complexas, tais como a produção de leite e a porcentagem de gordura no leite.

A seleção genômica ampla (GWS), proposta por Meuwissen et al. (2001), enfatiza a seleção simultânea dos efeitos genéticos de milhares de marcadores do DNA dispersos em todo genoma de um organismo, de forma a capturar os efeitos de todos os locus e explicar toda a variação genética da característica quantitativa. A superioridade da GWS em relação à seleção baseada apenas no fenótipo pode ser atribuída a alguns fatores, como o uso da matriz de parentesco real e a própria de cada caráter e o uso de maior número de informações, combinando três tipos (fenotípica, genotípica e genealógica) para corrigir os dados e fazer a análise genômica, fatos que aumentam a acurácia. Contudo, apenas indivíduos genotipados

podem ter a predição de seus valores genéticos (Resende et al., 2010). Devido ao elevado custo, nem todos os indivíduos podem ser genotipados, apenas um subconjunto da população, geralmente os melhores animais e com maior valor de mercado são genotipados, restando uma grande parte da população que não é genotipada limitando a inclusão destes animais na avaliação genômica (Baldi et al., 2012).

Para o estudo de seleção genômica foram propostas uma série de diferentes metodologias para estimar os efeitos de cada marcador (QTL) associado às características de importância econômica. O método dos quadrados mínimos foi o primeiro a ser utilizado com tal propósito, entretanto, apresenta uma série de limitantes que inviabilizam sua utilização (Meuwissen et al., 2001). Para superar estes problemas, várias alternativas estão descritas na literatura tais como, técnicas de “ridge regression” (Whittaker et al., 2000), Best Linear Unbiased Predictor - BLUP (Meuwissen et al., 2001) e inferência bayesiana utilizando vários tipos de distribuições a priori para os efeitos e variâncias dos QTL (Meuwissen et al., 2001; Xu, 2003; Yi e Xu, 2008). Em termos gerais, os modelos hierárquicos ou bayesianos foram os que resultaram em maiores acurácias na estimação dos efeitos dos QTL.

Entretanto, Verbyla et al. (2010) avaliaram o efeito de diferentes distribuições a priori, (GBLUP, BayesA, BayesC, Bayes Cpi, LASSO Bayesiano e uma distribuição híbrida BayesA/B), sobre as estimativas dos valores genômicos e suas acurácias, não encontrando diferenças significativas entres os modelos avaliados.

O objetivo deste estudo foi obter a confiabilidade das avaliações genômicas para a predição dos valores genéticos genômicos das características de produções de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP), utilizando as metodologias de GBLUP, Bayes Cpi e LASSO Bayesiano.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Genótipos

Foram genotipados 452 búfalos (57 machos e 395 fêmeas). A genotipagem foi realizada utilizando painel de 90K *Axiom® Buffalo Genotyping Array* da Affymetrix.. Inicialmente, o chip utilizado continha 92.826 marcadores, a partir desses marcadores se tomaram os critérios para o controle de qualidade das amostras, foram adotados a call rate de 0.95 e heterozigosidade de ± 3 desvios-padrão da média. Na qualidade do marcador foram adotados call rate superior a 0,98, a frequência de alelos menores (MAF) foi adotada maior que 5%, o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) com até 10^{-6} , correlação entre marcadores até 0.998, além da eliminação de SNPs coincidentes e com possíveis erros de posicionamento físico em relação ao mapa de referência. Depois dos critérios adotados o total de SNP para o presente estudo foi de 58585.

2.2 Fenótipos e Pseudo-fenótipos

Foram analisadas informações referentes às características de produção de leite (PL) e características associados à reprodução como a idade ao primeiro parto (IPP), intervalo entre parto (IEP). foram compostas de 11530 lactações de 3431 búfalas controladas mensalmente desde 1995 até 2013, distribuídos em 12 fazendas, sendo o total de touros 186 com filhas registradas, resultando no total de arquivo de pedigree de 14346. A estrutura dos dados é apresentada na tabela 1.

Foram consideradas informações de controles obtidos a partir do quinto dia de produção, sendo mantidas apenas as lactações com duração superior à 90 dias. A partir das produções do dia do controle foi calculado as produções acumulada até 305 de leite (PL). A idade ao primeiro parto (IPP) foi definida como a diferença, em meses, entre o primeiro parto e do nascimento do búfalo. O intervalo de partos (IEP) foi

definida como a diferença, em meses, entre partos consecutivos. Para a formação de grupo contemporâneo (GC) utilizaram-se as seguintes variáveis: rebanho, ano e estação de parto (Outubro-Março e Abril-Setembro), com a restrição de cada GC, que deveria conter no mínimo quatro animais e registro das características compreendido entre mais ou menos 3,5 desvio padrões da média do grupo.

Os componentes de variância e valores genéticos foram estimados com o método de Máxima Verossimilhança Restrita (REML) com o programa Wombat (Meyer et al., 2006). Foram considerados efeito fixo do GC, além da idade da vaca ao parto (linear e quadrático) como co-variável, (exceto nas análises da IPP), e os efeitos aleatórios genéticos direto, de ambiente permanente (exceto no caso da IPP), além do residual. A notação matricial dos modelos utilizados pode ser assim apresentada:

$$y = X\beta + Za + Wp + e$$

ou

$$y = X\beta + Za + e$$

em que β , a , p e e são nesta ordem o vetor solução dos efeitos fixos, genético direto, de ambiente permanente e residual; X , Z e W , são respectivamente as matrizes de incidência referentes aos efeitos fixos, aleatório genético direto e de ambiente permanente.

Tabela 1. Resumo dos dados e estimativas dos valores genéticos da produção de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP).

	PL(kg)	IPP(Meses)	IEP(Meses)
N	11530	3431	4729
Media	1864,14±448,67	28,14±4,04	13,11±1,06
Herdabilidade	0,25±0,03	0.17 ± 0.02	0.06 ± 0.01
EVG1	169,63±89,32	3,78±4,89	1,28±2,18
Acc1	(0,64; 0,99)*	(0,61; 0,99)*	(0,59; 0,99)*
EVG2	232,78±71,28	-2,86±2,84	-1,36±2,06
Acc2	(0,86; 0,99)*	(0,86; 0,99)*	(0,86; 0,99)*

N = Número de animais por característica, EVG1 = Média da estimativa de valor genético do total de animais, *Refere ao mínimo e máximo; Acc1= Acurácia do valor genético do total de animais, EVG2 = Média da estimativa de valor genético dos animais genotipados, Acc1= Acurácia do valor genético dos animais genotipados.

Depois de obter estimativa dos parâmetros genéticos e estimativas de valores genéticos (Tabela 1), optou-se por utilizar como pseudo-fenótipos os valores genéticos desregredidos (drEBV) como fenótipos nas análises de seleção genômica, estes valores de drEBV dos 452 animais, foram realizados segundo a Garrick, et al., (2009).

2.3 Análises Estatísticas

Para as análises de seleção genômica foram empregados três modelos genômicos: GBLUP (SNP-BLUP), Bayes C π e LASSO Bayesiano estimado com o *software* GS3 (Legarra et al., 2013) o qual inclui o efeito dos marcadores, efeitos poligênicos, além do residual. Matricialmente o modelo pode ser representado da seguinte forma:

$$\mathbf{y} = \boldsymbol{\mu} + \mathbf{W}\mathbf{a} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e}$$

em que \mathbf{y} é o vetor das observações; $\boldsymbol{\mu}$ é a média populacional; \mathbf{a} é o vetor dos efeitos dos marcadores, \mathbf{u} é o vetor solução dos efeitos poligênicos e, \mathbf{W} e \mathbf{Z} são as correspondentes matrizes de incidência. Para os efeitos \mathbf{a} , \mathbf{u} e \mathbf{e} foi assumido para o GBLUP priores com distribuição normal com $N(0, G\sigma_a^2)$, $N(0, A\sigma_u^2)$ e $N(0, D\sigma_e^2)$, onde G é a matriz de parentesco genômico baseado em frequências alélicas obtidas com os marcadores, A é a matriz de parentesco baseado no pedigree e D é uma matriz diagonal com elementos $d_{ij}=(1/w_i)$. A ponderação w_i contabiliza a heterogeneidade de variância devido a diferença de acurácia na avaliação genética. A ponderação foi definida como $w_i= r_i^2/(1-r_i^2)$, onde r_i^2 é a *reability* da avaliação genética.

As predições dos valores genômicos (GEBV) foram obtidas a partir dos efeitos dos SNP utilizando a seguinte formula:

$$\mathbf{GEBV} = \sum_i^n X_i \hat{g}_i$$

em que n é o número de segmentos de marcadores ao longo do genoma, X_i é uma matriz com os genótipos de cada animal para cada marcador i , e \hat{g}_i é o vetor dos efeitos de cada marcador i .

O Bayes C π tem a seguinte distribuição $a_i|\pi, \sigma^2 \sim \pi N(0, \sigma^2 \cong 0) + (1 - \pi)N(0, \sigma^2)$, onde o último $\sigma^2 \sim \chi^{-2}(S^*, v)$, isto indica que é assumida a mesma variância para todos

os SNPs que não foram selecionados, mais a seleção de SNPs via mistura de distribuições com probabilidade aleatória.

Assume-se uma distribuição uniforme para $\pi \sim U(0,1)$. O S^* é fixado por $S^* = \tilde{\sigma}^2(v-2)/v$ onde $\tilde{\sigma}^2$ indica o valor esperado a priori para a variância do SNP.

A variância aditiva é calculado como : $\sigma_u^2 = 2(1-\pi)\sigma^2 \sum_{i=1}^m p_i(1-p_i)$

Na metodologia de LASSO Bayesiano assume-se a distribuição de $a_i | \tau_i, a_i, \sigma_e^2 \sim N(0, \tau_i^2 \sigma_e^2)$, mostrando que se assume uma variância para cada SNP (baseada na variância residual) além da seleção dos SNPs via regressão penalizada.

Assume-se uma distribuição para variância $\tau_i^2 | \lambda^2 \sim Exp(\lambda^2)$, onde $\lambda^2 \sim Gamma(\varphi_1, \varphi_2)$.

Sendo estimada a variância aditiva como: $\sigma_u^2 = \sum_{i=1}^m \frac{\tau_i^2 \sigma_e^2}{\sigma_i^2} 2p_i(1-p_i)$

Nas metodologias GBLUP, Bayes $C\pi$ e LASSO Bayesiano foram realizadas 500 mil iterações MCMC, com período de burn-in de 100.000 e os resultados salvos a cada 20 iterações para obter as soluções dos marcadores. Foram realizados testes de convergência para a variância genética aditiva, com base nas cadeias MCMC, com o pacote estatístico Bayesian Output Analysis Program (BOA) for MCMC (SMITH, 2005) do R (R Core Team, 2013). Além disso, foi realizada uma inspeção visual das cadeias para verificar a convergência das mesmas.

2.4 Validação Cruzada

As análises de seleção genômica foram conduzidas de forma repetida, seguindo um esquema de validação cruzada. Na validação cruzada foi considerada a técnica de k-folder, devido ao número reduzido de animais em estudo. Os animais genotipados que passaram pelo controle de qualidade foram divididos aleatoriamente em quatro grupos. Para cada método de seleção genômica empregados, quatro análises (repetições) foram conduzidas. A cada repetição, os animais de três dos quatro grupos (339 animais) fizeram parte da população de treinamento (referência) e os animais do grupo remanescente (113 animais) fizeram parte da população de validação, de forma que após as quatro repetições os animais dos quatro grupos fizeram parte da população de validação. Nas análises de seleção genômica, apenas os animais da população de referência foram utilizados para estimar os efeitos dos

marcadores e os animais da população de validação tiveram seus valores genômicos preditos com base nessas estimativas.

2.5 Critérios de comparação dos modelos

Para a comparação dos modelos relacionadas ao delineamento de cross-validação, foram utilizadas a correlação de Pearson e a regressão entre a variável resposta (valor desregredido das características de estudo) e o valor genético considerando apenas marcadores e considerando marcadores mais o efeito poligenico (GEV_{B_M} e GEV_{B_T}). O coeficiente de regressão foi obtido para estudar nível de inflação/deflação dos GEBVs em relação aos valores desregredidos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estimativas das correlações de Pearson e de regressão em cada característica de estudo foram próximas nas diferentes metodologias estudadas (Tabela 2), a falta de diferenças entre as metodologias pode ser devida a que as características em estudo são de efeito poligênico e seja pouco provável encontrar genes de efeito maior.

Segundo Daetwyler et al. (2013), relataram que os diferentes modelos tendem apresentar a mesma capacidade preditiva quando as características são afetadas por muitos loci de efeito pequeno. Em estudo com dados simulados demonstraram que existe diferença na acurácia predição com a utilização de diferentes metodologias, no entanto, com dados reais essas diferenças não têm sido relevantes, isto pode ser devido ao grande número de parâmetros a serem estimados a partir de um pequeno número de amostras (De Los Campos et al., 2013 e Gianola, 2013).

Quando comparamos os coeficientes de correlação das diferentes metodologias nas características do estudo, observou-se que quando utilizamos o efeito de marcador e o efeito poligênico ocorre uma menor variação de correlação quando comparado utilizando apenas o efeito do marcador. Essa menor variação estão de acordo com a literatura (Colombani et al., 2012 e Erber et al., 2012).

No coeficiente de regressão em forma geral nos diferentes modelos estudados, o viés da predição tendeu a diminuir quando se considerou o efeito de marcador mais o efeito poligênico, esta tendência de melhorar a estimativa do coeficiente da

regressão considerando o efeito poligênico foram reportadas por Liu et al., (2011) e Duchemin et al., (2012). As estimativas do coeficiente de regressão considerando o efeito poligênico foram superiores a 1, indicando as diferentes metodologias nas diferentes características estudadas foram deflacionadas, entretanto os melhores valores (próximo a 1) foram observados no modelo LASSO. O baixo viés observado para deflação pode indicar viabilidade das predições genômicas da população estudada já que a inflação pode favorecer erroneamente touros jovens (sem informação de filhas) em detrimento aos touros mais velhos em teste (Aguilar et al., 2010). Os viés observados tanto para inflação ou deflação pode ser devido ao efeito poligênico (Liu et al., 2012), como também as diferenças inerentes aos dados e metodologia empregada (Aguilar et al., 2010), ao pseudo-fenótipo utilizado na análises (Vitezica et al., 2011).

Tabela 2 – Coeficiente de correlação de Pearson (c), coeficiente de regressão (b) dos valores genéticos desregredidos da produção de leite (PL), idade ao primeiro parto (IPP) e intervalo entre parto (IEP) nas predições genômicas por diferentes métodos, considerando apenas o efeito de marcador (M) e o efeito de marcador mais o efeito poligênico (T).

	GBLUP		Bayes $C\pi$		LASSO		GBLUP		Bayes $C\pi$		LASSO	
	c_M	c_T	c_M	c_T	c_M	c_T	b_M	b_T	b_M	b_T	b_M	b_T
PL	0,45	0,48	0,44	0,49	0,45	0,49	0,92	1,06	1,09	1,07	1,12	1,04
IPP	0,42	0,46	0,42	0,46	0,43	0,46	1,12	1,07	0,89	1,06	1,19	1,02
IEP	0,41	0,45	0,42	0,46	0,42	0,47	0,91	1,06	1,09	1,06	0,91	1,06

c_M = Coeficiente de correlação de Pearson considerando apenas os marcadores; c_T = Coeficiente de correlação de Pearson considerando os marcadores mais o efeito poligênico; b_M = Coeficiente de regressão considerando apenas os marcadores; b_T = Coeficiente de regressão considerando os marcadores mais o efeito poligênico.

Os valores de *reliability* preditas considerando efeito de marcador e poligênico (Tabela 3), foram alta nas características de estudo e próximos nas diferentes metodologias estudadas. Quando foram realizadas as predições das *reliability* considerando apenas os efeitos dos marcadores os valores diminuem consideravelmente (Tabela 4). As estimativas de correlações e as predições das *reliability* indicam que deve ser considerado os efeitos dos marcadores e poligênicos na avaliação dos animais, buscando obter uma maior acurácia na seleção.

Tabela 3. Estatísticas da *reliability* das informações poligênicas e dos marcadores, nas diferentes metodologias.

C	GBLUP			Bayes C π			LASSO		
	Média	Mim	Máx	Média	Mim	Máx	Média	Mim	Máx
PL	0,86	0,72	0,94	0,89	0,75	0,97	0,91	0,77	0,99
IPP	0,85	0,72	0,94	0,87	0,73	0,92	0,89	0,76	0,95
IEP	0,86	0,72	0,93	0,87	0,74	0,93	0,89	0,76	0,96

C = característica, Min = mínimo, Max = máximo, PL = Produção de leite, IPP = Idade ao primeiro parto, IEP = Intervalo entre parto.

Tabela 4. Estatísticas da *reliability* as informações dos marcadores, nas diferentes metodologias.

C	GBLUP			Bayes C π			LASSO		
	Média	Mim	Máx	Média	Mim	Máx	Média	Mim	Máx
PL	0,16	0,06	0,39	0,19	0,08	0,41	0,19	0,09	0,42
IPP	0,15	0,06	0,39	0,20	0,08	0,42	0,19	0,09	0,42
IEP	0,14	0,06	0,39	0,20	0,09	0,41	0,19	0,08	0,41

C = característica, Min = mínimo, Max = máximo, PL = Produção de leite, IPP = Idade ao primeiro parto, IEP = Intervalo entre parto.

4. CONCLUSÕES

Em estudos de seleção genômica recomenda-se a utilização das informações poligênicas e dos marcadores para obter uma melhor predição genômica nas características do estudo nos bubalinos. Entre os modelos estudados os resultados mostram que as predições bayesianas e GBLUP apresentaram estimativas equivalentes nas características de estudo nos bubalinos. Entretanto poderia ser recomendado a utilização do GBLUP nas avaliações genômicas das características do estudo em bubalinos, devido a que o GBLUP tem uma menor exigência computacional e facilidade em convergência.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFYMETRIX. Axiom® Buffalo Genotyping Array. Disponível em: http://www.affymetrix.com/browse/products.jsp?productId=prod740001_1
Acesso em: 07 jan. 2014.

AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; JOHNSON, D. L.; LEGARRA, A.; TSURUTA, S.; LAWLOR, T. J. Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *Journal of Dairy Science*, v. 93, p. 743–752, 2010.

ASPILCUETA-BORQUIS, Rusbel R., et al. "Genetic parameters for milk yield analyzed by test-day models in Murrah buffaloes in Brazil." **Italian Journal of Animal Science** 9.2 (2010):

BALDI, F. et al. Possibilidades de Aplicação da Avaliação Genômica em Bubalinos. Pales-tra proferida no III Simpósio Paulista de Bubalinocultura. Jaboticabal – SP, em 04 de maio de 2012

CASSIANO, L.A.P.; Mariante, A.S.; McManus, C.; Marques, J.R.F.; Costa, N.A. Parâmetros genéticos das características produtivas e reprodutivas de búfalos na Amazônia brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.5, p.451-457.2004.

COLOMBANI, C.; LEGARRA, A.; FRITZ, S.; GUILLAUME, F.; CROISEAU, P.; DUCROCQ, V.; ROBERTGRANIÉ, C. Application of Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) and BayesC π methods for genomic selection in French Holstein and Montbéliarde breeds. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 575–591, 2013.

DAETWYLER, H.D.; CALUS, M.P.L.; PONG-WONG, R.; DE LOS CAMPOS, G.; HICKEY, J.M. Genomic Prediction in Animals and Plants: Simulation of Data, Validation, Reporting, and Benchmarking. **Genetics**, v.193, p.347–365, 2013.

DE LOS CAMPOS, G.; HICKEY, J.M.; PONG-WONG, R.; DAETWYLER, H.D.; CALUS, M.P.L. Whole-Genome Regression and Prediction Methods Applied to Plant and Animal Breeding. **Genetics**, v.193, p.327–345, 2013.

DUCHEMIN, S. I.; COLOMBANI, C.; LEGARRA, A.; BALOCHE, G.; LARROQUE, H.; ASTRUC, J. M.; BARILLET, F.; ROBERT-GRANIÉ, C.; MANFREDI, E. Genomic selection in the French Lacaune dairy sheep breed. **Journal Dairy Science**, 2012, v. 95, p. 2723–2733, 2012.

ERBE, M.; HAYES, B. J.; MATUKUMALLI, L. K.; GOSWAMI, S.; BOWMAN, P. J.; REICH, C. M.; MASON, B. A.; GODDARD, M. E. Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. **Journal of Dairy Science**, v. 95, v. 4114–4129, 2012.

GARRICK, D. J.; TAYLOR, J. F.; FERNANDO R. L. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. **Genetics Selection Evolution**, v. 41, 55, 2009.

GIANOLA, D. Priors in Whole-Genome Regression: The Bayesian Alphabet Returns. **Genetics**, v.194, p.573–596, 2013.

LEGARRA, A., A. Ricard, and O. Filangi. "GS3. INRA, Auzeville, France." (2013).

LIU, Z.; SEEFRIED, F. R.; REINHARDT, F.; RENSING, S.; THALLER, G.; REENTS, R. Impacts of both reference population size and inclusion of a residual polygenic effect on the accuracy of genomic prediction. **Genetics Selection Evolution**, v. 43, 19, 2011.

MALHADO, Carlos Henrique Mendes, et al. "Parâmetros e tendências da produção de leite em bubalinos da raça Murrah no Brasil." **Revista Brasileira de Zootecnia** 36.2 376-379, 2007.

MEUWISSEN, T.H.E., HAYES, B.J., GODDARD, M.E. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. **Genetics**, 157, 1819-1829, 2001.

MEYER, K. WOMBAT. Digging deep for quantitative genetic analyses by restricted maximum likelihood. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., 2006, Belo Horizonte.Proceedings... Belo Horizonte. 1 CD-ROM

PEROTTO, D.; MIYAGI, A. P.; SOUZA, J. C.; MOLETTA, J. L.; FREITAS, J. A. Estudos de características reprodutivas de animais da raça Canchim, criados a pasto, no Estado do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 1-6, 2006a.

PEROTTO, D.; ABRAHÃO, J.J.S.; KROETZ, I.A. Intervalo de partos de fêmeas bovinas Nelore, Guzerá x Nelore, Red Angus x Nelore, Marchigiana x Nelore e Simental x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.733-741, 2006b.

PRYCE, J. E., and H. D. Daetwyler. "Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research." *Animal Production Science* 52.3 (2012): 107-114.

R CORE TEAM. "R Foundation for Statistical Computing." Vienna, Austria 3.0 (2013).

RESENDE MDV, Resende Jr. MFRR, Aguiar AM, Abad JIM, Missiaggia AA, Sansaloni C, Petroli C & Grattapaglia D (2010) Computação da seleção genômica ampla (GWS). Colombo, Embrapa Florestas. 79p. (Série Documentos, 210)

RODRIGUES, A. E., et al. "Estimation of genetic parameters of dairy buffaloes productive characteristics Eastern Amazon." **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 62.3 (2010): 712-717.

SENO, L. et al. 2010. Genetic parameters for milk yield, age at first calving and interval between first and second calving in milk Murrah buffaloes. **Livestock Research for Rural Development**. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd22/2/seno22038.htm>> Acesso em 03/12/2012.

SMITH, Brian J. "Bayesian output analysis program (BOA) for MCMC." R package version 1.5 (2005).

VERBYLA K. L., Calus M. P. L., Mulder H. A., de Haas Y., Veerkamp R. F. Predicting energy balance for dairy cows using high-density single nucleotide polymorphism information. **J. Dairy Sci.** 93: 2757–2764, 2010.

VITEZICA, Z. G.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; LEGARRA, A. Bias in genomic predictions for populations under selection. **Genetics Research**, v. 93, p. 357–366, 2011

XU, S. Estimating polygenic effects using markers of the entire genome. **Genetics**, 163, 789–801, 2003.

YI, N., XU, S. Bayesian LASSO for Quantitative Trait Loci Mapping. **Genetics**, 179, 1045-1055, 2008.