

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DA
PELAGEM EM BOVINOS DA RAÇA GIR**

SILEL VINICIUS SIMÕES ANDRADE MACIEL

SALVADOR – BAHIA
JULHO – 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DA
PELAGEM EM BOVINOS DA RAÇA GIR

SILEL VINICIUS SIMÕES ANDRADE MACIEL

Zootecnista

SALVADOR – BAHIA
JULHO – 2023

SILEL VINICIUS SIMÕES ANDRADE MACIEL

**REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DA
PELAGEM EM BOVINOS DA RAÇA GIR**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Melhoramento Genético Animal

Orientador: Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo

Coorientador: Dra. Jackeline Santos Alves

**SALVADOR – BA
JULHO – 2023**

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

SILEL VINICIUS SIMÕES ANDRADE MACIEL – filho de Lelis Vinicius Andrade Maciel dos Santos e Fadia da Silva Simões, nasceu na cidade de Salvador, Bahia, em 13 de novembro de 1997. Em 2015, ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia, na Universidade Federal da Bahia – UFBA, campus Ondina. Em agosto de 2021 formou-se Zootecnista. Neste mesmo ano, ingressou no curso de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, campus Ondina, sob orientação do Prof. Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo, sendo bolsista CAPES e desenvolvendo trabalho na área de Biologia Molecular e Melhoramento Genético, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2023.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Maciel, Silel Vinicius Simões Andrade
REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO
DA PELAGEM EM BOVINOS DA RAÇA GIR / Silel Vinicius
Simões Andrade Maciel. -- SALVADOR, 2023.
72 f.

Orientador: Gregório Miguel Ferreira de Camargo.
Coorientadora: Jackeline Santos Alves.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Escola
de Medicina Veterinária e Zootecnia, Ondina, 2023.

1. Melhoramento Genético animal. 2. Pelagem. 3.
Raça Gir. 4. Associação Genômica Ampla. 5. MC1R. I.
Ferreira de Camargo, Gregório Miguel. II. Santos
Alves, Jackeline. III. Título.

**“REGIÕES GENÔMICAS ASSOCIADAS À VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DA
PELAGEM EM BOVINOS DA RAÇA GIR”**

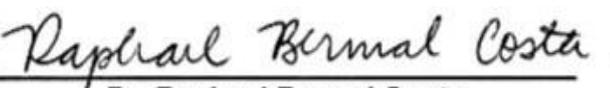
Silel Vinícius Simões Andrade Maciel

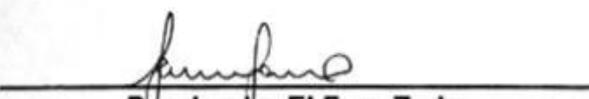
**Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia**

Salvador, 21 de julho de 2023

Comissão examinadora:


Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo
UFBA
Orientador / Presidente


Dr. Raphael Bernal Costa
UFBA


Dra. Lenira El Faro Zadra
APTA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meus pais, Fádía e Lelis, por todo carinho, cuidado, apoio e esforço que sempre fizeram para me proporcionar o melhor. Aos meus Avós maternos e paternos, Fátima, Luis, Vera e Leonicio, e aos demais familiares.

Agradeço ao meu orientador, Gregório Camargo, que sempre esteve disposto a ajudar, apoiar e incentivar, além de ser um exemplo de profissional a qual me inspiro. Agradeço também a Jackeline Alves, minha coorientadora, que me ensinou com maestria todos os passos para a realização do meu projeto, compartilhando todos os momentos de acertos e erros durante as análises laboratoriais. Agradeço também a Fabieli Feitosa por ter me ensinado as análises de genética quantitativa que foram utilizadas no presente estudo. Aos professores (a) que contribuíram para o meu crescimento tanto profissional quanto pessoal.

Agradeço também a Vinícius, amigo de infância, por sempre me apoiar e estar presente. Aos amigos (as) que fiz durante minha caminhada, em especial, Beatriz, Isadora, Manoel, Victor Hugo e a todos os outros que fizeram parte dessa jornada, por torná-la mais agradável e pelas boas lembranças. Aos membros do Grupo de Estudos em Melhoramento Genético Animal (GEMA) pelo apoio durante a realização do projeto.

A minha companheira, Ingrid Oliveira, por estar sempre ao meu lado me proporcionando momentos de felicidade, me compreendendo, apoiando e ajudando, te amo.

À Universidade Federal da Bahia, em especial ao Programa de Pós – Graduação em Zootecnia (PPGZ), pela estrutura e apoio. A CAPES pela concessão da bolsa de estudo e financiamento da pesquisa. A colaboração dos produtores, associações de criadores e técnicos da ABCZ, muito obrigado.

Além de um agradecimento a todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse projeto. Muito obrigado a todos!

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Animal de pelagem amarela com o haplótipo H1/H6 a esquerda e com o fenótipo dos haplótipos H1/H1 e H1/H2 a direita.....	42
Figura S1 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 1 (Todas as pelagens).....	51
Figura S2 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 2 (vermelha + amarela x vermelha gargantilha x vermelha chitada + amarela chitada x chitada de vermelha + chitada de amarela).....	51
Figura S3 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 3 (vermelha x vermelha gargantilha).....	52
Figura S4 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 4 (vermelha x vermelha chitada).....	52
Figura S5 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 5 (vermelha x chitada vermelha).....	53
Figura S6 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 6 (vermelha x chita clara).....	53
Figura S7 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 7 (vermelha chitada x chitada de vermelha).	54
Figura S8 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 8 (vermelha + vermelha gargantilha + vermelha chitada +chitada de vermelha x amarela + amarela chitada + chitada de amarela).....	54
Figura S9 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 9 (vermelha x moura clara + moura escura + moura de vermelha).....	55

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Exemplos de animais e descrições das pelagens registráveis na raça Gir.....	16
Tabela 2 – Exemplos de animais com pelagens e detalhes de pelo não-registráveis na raça Gir.....	22
Tabela 3 – Genes relacionados a pigmentação da pele e pelagem em bovinos.....	29
Tabela 4 – Polimorfismos já relatados para o gene <i>MC1R</i>	32
Tabela 5 – Cenários utilizados para a realização das análises de GWAS.....	36
Tabela 6 – Resultados da Análise de Associação Genômica Ampla para os diferentes cenários propostos no estudo.....	39
Tabela 7 – Identificação dos genes candidatos presentes nas janelas de maiores efeitos relacionados aos fenótipos de pelagem na raça Gir, organizados de forma crescente, tendo como base o cromossomo o qual o gene está localizado.....	40
Tabela 8 – Haplótipos encontrados para as determinadas pelagens da raça Gir.....	42

LISTA DE SIGLAS

α -MSH – Hormônio estimulante de alfa-melanócitos
ABCZ – Associação Brasileira dos Criadores de Zebu
BTA2 – Cromossomo 2
BTA3 – Cromossomo 3
BTA6 – Cromossomo 6
BTA8 – Cromossomo 8
BTA9 – Cromossomo 9
BTA10 – Cromossomo 10
BTA13 – Cromossomo 13
BTA16 – Cromossomo 16
BTA18 – Cromossomo 18
BTA21 – Cromossomo 21
BTA22 – Cromossomo 22
BTA26 – Cromossomo 26
C1 – Cenário 1
C2 – Cenário 2
C3 – Cenário 3
C4 – Cenário 4
C5 – Cenário 5
C6 – Cenário 6
C7 – Cenário 7
C8 – Cenário 8
C9 – Cenário 9
CEUA – Comitê de Ética no
CRISPR/Cas9 – Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas Regularmente Espaçadas
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GWAS – Estudo de Associação Genômica Ampla
HWE – Equilíbrio de Hardy-Weinberg
LncRNA – RNA longo não - codificante
MAF – Frequência do Alelo Menor
MAPK – Proteína-quinases ativadas por mitógenos
NCBI – National Center for Biotechnology Information
PAM – Motivo adjacente protoespaçador
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
PEG – Polietilenoglicol
PNMGL – Programa Nacional de Melhoramento do Gado Leiteiro
SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único
UV – Radiação Ultravioleta

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1. RAÇA GIR.....	14
2.2. PADRÃO RACIAL DE BOVINOS GIR RELACIONADOS A PIGMENTAÇÃO.....	15
2.3. RELAÇÕES DA PIGMENTAÇÃO DE BOVINOS E EFEITOS PLEIOTRÓPICOS.....	24
2.4. GENES RELACIONADOS A PELAGEM BOVINA.....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1. ANIMAIS UTILIZADOS.....	35
3.2. ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS).....	36
3.3. EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO GENE <i>MC1R</i>	38
4. RESULTADOS	
4.1. GWAS.....	38
4.2. MAPEAMENTO FINO DO GENE <i>MC1R</i>	41
5. DISCUSSÃO	43
6. CONCLUSÃO	50
7. AGRADECIMENTOS	50
8. DADOS SUPLEMENTARES	51
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

Regiões genômicas associadas à variação da coloração da pelagem em bovinos da raça Gir

RESUMO

No Brasil, as raças zebuínas representam mais de 80% do efetivo bovino, sendo a Gir uma das raças de grande importância, principalmente para a produção leiteira. A raça possui doze diferentes fenótipos de coloração de pelagem (vermelha, amarela, vermelha gargantilha, amarela gargantilha, vermelha chitada, amarela chitada, chitada de vermelho, chitada de amarelo, chita clara, moura clara, moura escura e moura de vermelho). A coloração da pelagem influencia na termorregulação, adesão de ectoparasitas, podendo estar associada a aspectos produtivos e reprodutivos. A pelagem faz parte da caracterização racial e há ainda predileção de criadores por determinadas colorações. Devido à falta de conhecimento sobre os mecanismos de herança que expliquem as variações de pelagem na raça, objetivou-se realizar um GWAS para identificar genes candidatos para o fenótipo de pelagem e realizar o mapeamento fino do gene *MC1R*, gene esse já relatado afetando a pelagem em outras raças bovinas. Um total de 574 animais da raça Gir, genotipados com chip comercial da Zoetis de baixa densidade (29.842 SNPs) foram utilizados em nove cenários de associação genômica ampla (GWAS) fazendo uso da metodologia single-step. Além disso, foi coletado material biológico de 46 bovinos da raça Gir de todas as pelagens registráveis e de 1 animal com o fenótipo barroso não registrável, para a realização de PCR e análise das sequências do gene *MC1R* para realização do mapeamento fino do gene. Nos diferentes cenários da análise de GWAS foram encontradas regiões presentes no BTA3, BTA6, BTA8, BTA9, BTA10, BTA16, BTA18, BTA21 e BTA26. Após análise das regiões obtidas no GWAS foram listados genes candidatos nos diferentes cenários, mostrando ser uma característica de ordem poligênica. Sugere-se também um possível efeito epistático na determinação da pelagem da raça Gir, como já é observado em outras raças bovinas. Além disso, observou-se alguns polimorfismos e trocas de aminoácidos no gene *MC1R*, nas posições c. 311 G>del, c.416 C>T (p.Ala139Val), c.460 A>C (p.Ser154Arg), c.583 T>C (p.Phe195Leu), c. 663 T>C (p.Ile221Ile) e c. 871 A>G (p.Ala291Thr) e foram formados 7 haplótipos. Há sugestão de alguns haplótipos do *MC1R* causarem despigmentação em bovinos da raça Gir. No presente estudo, avaliaram-se os efeitos genéticos sobre a coloração da pelagem e também foram propostos novos genes candidatos influenciando a característica na raça Gir. Possibilitando-se assim, direcionar estudos futuros que busquem decifrar a arquitetura genética da característica e o desenvolvimento de marcadores genéticos para seleção.

Palavras-Chave: *Bos taurus indicus*, Pelame, SNP, Marcação branca.

Genomic regions associated with variation in coat color in Gir cattle

ABSTRACT

In Brazil, the Zebu breeds represent more than 80% of the cattle herd, with the Gir being one of the breeds of great importance, mainly for dairy production. The breed has twelve different coat color phenotypes (red, yellow, choker red, choker yellow, calico red, calico yellow, red calico, yellow calico, calico clear, clear moorish, dark moorish and red moorish). The coat color of the influences thermoregulation, adhesion of ectoparasites, and may be associated with productive and reproductive aspects. The coat is part of the breed qualification and there is still a predilection of breeders for certain colors. Due to the lack of knowledge about the inheritance mechanisms that explain coat variations in Gyr cattle, the objective was to perform a GWAS to identify candidate genes for the coat phenotype and perform fine mapping of the *MC1R* gene, a gene that has already been reported to affect the coat in other cattle breeds. A total of 574 Gir animals were genotyped with a commercial Zoetis low-density chip of 29,842 SNPs were used in nine genomic wide association (GWAS) scenarios using the single-step methodology. In addition, biological material was collected from 46 Gir cattle of all registerable coats and from 1 animal with the depigmented phenotype for PCR and analysis of the *MC1R* gene sequences for fine gene mapping. In the different scenarios of the GWAS analysis, regions were found present in BTA3, BTA6, BTA8, BTA9, BTA10, BTA16, BTA18, BTA21 and BTA26. After analysis of the regions obtained in the GWAS, candidate genes were listed in the different scenarios, proving to be a characteristic of polygenic order. A possible epistatic effect is also suggested in determining the coat of the Gir breed, as already observed in other bovine breeds. Furthermore, some polymorphisms and amino acid exchanges were observed in the *MC1R* gene, at positions c. 311 G>del, c.416 C>T (p.Ala139Val), c.460 A>C (p.Ser154Arg), c.583 T>C (p.Phe195Leu), c. 663 T>C (p.Ile221Ile) and c. 871 A>G (p.Ala291Thr), thus forming 7 haplotypes. There is a suggestion that some *MC1R* haplotypes cause depigmentation in Gyr cattle. In the present study, the genetic effects on coat color were evaluated and new candidate genes influencing the trait in the Gir breed were also proposed. Thus, making it possible to direct future studies that seek to decipher the genetic architecture of the trait and the development of genetic markers for selection.

Keywords: *Bos taurus indicus*, Coat, SNP, White marking.

1. INTRODUÇÃO

A coloração da pelagem é fenótipo fundamental que compõe a caracterização racial em bovinos, tendo todas as raças os padrões de pelagem definidos e aceitos para registro. A pelagem influencia também parâmetros fisiológicos de termorregulação, na qual, Zebuínos (*Bos taurus indicus*), por exemplo, desenvolveram características importantes para adaptação a climas quentes, muitas relacionadas à pele e aos pelos (MAIBAM et al., 2018).

No Brasil, as raças zebuínas são a maioria do rebanho nacional, representando cerca de 80% do efetivo bovino (ABCZ, 2022). Dentre as raças zebuínas criadas no Brasil, a Gir destaca-se, entre outras características, por possuir grande diversidade de pelagens (Associação Brasileira de Criadores de Zebu - ABCZ) com notada predileção entre os criadores por determinadas colorações.

Diversos estudos apresentaram relação da pelagem dos bovinos com características de produção, saúde e bem-estar. Maia et al. (2005) e Araúz et al. (2017) encontraram relação da pelagem com a produção de leite e termorregulação, Wolfger et al. (2016) e Liu et al. (2019) associaram características de pelagem com o hábito alimentar e fenótipos de carcaça, Bertipaglia et al. (2005) e Lamari et al. (2021) relacionaram a pelagem com características reprodutivas e Oliveira et al. (2013) e Cardoso et al. (2014) observaram influência da coloração da pelagem na adesão de ectoparasitas.

Além disso, já foram relatados efeitos pleiotrópicos negativos envolvendo genes determinantes para características de pelagem, como a Síndrome da Novilha Branca na raça Belgian Blue envolvendo o gene *KITLG* (CHARLIER et al., 1996), a Síndrome Chediak - Higashi na raça Japonesa Negra envolvendo o gene *LYST* (KUNIEDA et al., 1999) e a surdez bilateral em bovinos da raça Simental envolvendo o gene *MITF* (PHILIPP et al., 2011). Estudos também relataram que animais da raça Hereford que tem despigmentação palpebral são propensos a apresentar carcinoma ocular de células escamosas e ceratoconjuntivite infecciosa (ANDERSON, 1991; SNOWDER et al., 2005).

Dessa forma, pode-se inferir que a genética das pelagens apresenta-se de forma complexa e, além disso, trata-se de uma característica poligênica (CHICHOREK et al., 2013). Alguns genes são bastante estudados, sendo um dos principais o gene *MC1R*, pois o mesmo apresenta forte associação com os diferentes padrões de pelagem em diversas raças bovinas puras e cruzadas, como a Guzerá (SANTANA et al., 2021), Nelore x Angus (HANNA et al., 2014), Sahiwal (GOUD et al., 2021) Tharparkar (GOUD et al., 2019), Zhoushan (JIANG et al., 2021), Angus (HE et al., 2022), Eringer, Evolèner e Valdostana (HAUSER et al., 2022).

Assim, objetivou-se identificar regiões do genoma dos bovinos da raça Gir que possivelmente estejam relacionadas com os diferentes padrões de pelagem e realizar um mapeamento fino no gene *MC1R* que explique os diferentes padrões de pelagens da raça Gir. Além disso, buscou-se entender os mecanismos de herança da pelagem na raça.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RAÇA GIR

A espécie bovina (*Bos taurus*) pertencente a classe *Mammalia*, da ordem *Artiodactyla*, família *Bovidae*. Apresentam duas subespécies, a *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, de origem europeia e indiana, respectivamente.

A raça Gir, *Bos taurus indicus*, tem sua origem na floresta Gir, no estado de Gujarat, Índia, sendo o nome da raça originário do nome da floresta. O local apresenta um ambiente muito diversificado ao longo do ano, com temperaturas variando de 7° C a 45° C e umidade variando de 20% a 80% (NDDDB, 2017).

A introdução de bovinos da raça Gir no Brasil ocorreu no início do século XX pelos produtores Teófilo Godoy e Wirmondos Borges, e posteriormente outras importações foram realizadas no decorrer do tempo. A raça Gir era utilizada para a produção de carne, contudo observaram-se nos diferentes lotes de importação alguns animais com potencial leiteiro, sendo esses selecionados e assim caracterizando-se como uma raça de dupla aptidão (PROCREARE, 2016).

Com o passar do tempo e a seleção para produção de leite, a raça Gir ganhou aptidão leiteira (ABCZ, 2022; PROCREARE, 2016). No ano de 2020, a raça Gir apresentava cerca de 807.790 animais registrados, com uma produção média por lactação de 3.745,50 Kg, 4,43% de gordura e 3,34% de proteína (ABCZ, 2022).

Devido a esse biótipo leiteiro e alta adaptabilidade ao clima tropical, a raça Gir serve como uma grande fornecedora de genética para a formação da raça composta Girolando (Gir x Holandesa), reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ressalta-se ainda, que cerca de 80% da produção de leite no Brasil é oriunda de animais cruzados (ABCZ, 2022; GIROLANDO, 2022).

A seleção genética traz ganhos cumulativos e permanentes, tendo influenciado beneficemente a produção de leite no Brasil. Dessa forma, deve-se buscar a seleção de animais da raça Gir para que ocorra um ganho genético contínuo. A raça está sob avaliação genética, sendo empregada avaliação genômica e teste de progênie no Programa Nacional de

Melhoramento do Gir Leiteiro – PNMGL, que foi implantado em 1985, com a colaboração da EMBRAPA, ABCZ e ABCGIL (PANETTO et al., 2022).

2.2 PADRÃO RACIAL DE BOVINOS GIR RELACIONADOS A PIGMENTAÇÃO

Para a Associação Brasileira de Criadores de Zebu e a Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro, os animais da raça Gir devem apresentar pelos finos, curtos e sedosos. A pele tem de ser preta ou escura, lhe proporcionando tolerância à incidência solar, solta, fina, flexível, macia e oleosa, a bolsa escrotal deve ser bem pigmentada e o úbere e a região inguinal apresentar cor rósea. Pode dispor de ligeira despigmentação nas partes sombreadas, entretanto, não pode ter despigmentação excessiva e em placas em qualquer parte do corpo (ABCZ, 2020; ABCGIL, 2022).

O focinho necessita ser preto, largo, úmido e com narinas dilatadas, não podendo apresentar espelho nasal de cor clara, rósea, marmorizada ou avermelhada. Os olhos apresentam formato elíptico, brilhantes e de pigmentação escura, protegidos por rugas da pálpebra superior e cílios pretos, podendo dispor, mas não sendo o ideal, de cílios mesclados nos animais de pelagens claras. Não devem ter olhos na cor branca ou amarelo-cobre e cílios brancos ou avermelhados (ABCZ, 2020; ABCGIL, 2022).

Os chifres têm que ser escuros, não podendo apresentar predominância de cor branca, simétricos, grossos na base, saindo para baixo e para trás, de seção elíptica se dirigindo para cima e curvando para dentro. Os cascos devem ser pretos, ou com rajadas ou manchas ligeiramente claras em animais de pelagem clara, não sendo permitido excesso de rajados ou predominância da cor branca ou avermelhada (ABCZ, 2020; ABCGIL, 2022).

A raça Gir apresenta uma grande variedade de coloração de pelagens. Há relatos que cada localidade da região de Gujarat na Índia tinha populações Gir com um tipo de pelagem e que se acasalaram originando a raça Gir moderna, apresentando essa ampla variação de cores (NDDDB, 2017).

As pelagens devem ser vermelha, vermelha gargantilha, vermelha chitada, chitada de vermelho, amarela, amarela gargantilha, amarela chitada, chitada de amarelo, chita clara, rosilha clara ou moura de vermelho, moura clara e moura escura (Tabela 1). Pode ter predominância de pelos brancos e/ou cinza, desde que existam pintas e manchas, por menores que sejam em cores típicas (vermelho e amarelo). Não podem dispor de pelagens uniformemente branca, cinza, preta, amarelo cobre, barrosa, araçá ou qualquer outra típica de outras raças (Tabela 2) (ABCZ, 2020).

Tabela 1 - Exemplos de animais e descrições das pelagens registráveis na raça Gir.

Amarela



Fonte: F. Cairo.

Vermelha



Fonte: E. Silva.

Pelagem sólida, podendo apresentar mancha isolada. A vassoura da cauda deve ser preta ou mesclada ou com feixes brancos em menor proporção e a pele do sabugo deve ser preta ou escura. Além disso, a parte interna das orelhas deve ser clara ou da cor da pelagem.

Amarela Gargantilha



Fonte: J. Paulino.

Vermelha Gargantilha



Fonte: E. Silva.

Presença de marcações brancas apenas na região da barbela. A vassoura da cauda deve ser preta ou mesclada ou com feixes brancos em menor proporção, e pele do sabugo deve ser preta ou escura. Além disso, a parte interna das orelhas deve ser clara ou da cor da pelagem.

Amarela Chitada



Fonte: F. Cairo.

Vermelha Chitada



Fonte: A. Vercesi.

Presença de marcações brancas em qualquer parte do corpo, mas em menor proporção do que a pelagem de fundo. A vassoura da cauda deve ser preta ou mesclada ou com feixes brancos em menor proporção, e a pele do sabugo deve ser preta ou escura. Além disso, a parte interna das orelhas deve ser clara ou da cor da pelagem.

Chitada de Amarela



Fonte: Moacir.

Chitada de Vermelho



Fonte: F. Cairo.

Presença de marcações brancas em qualquer parte do corpo, sendo em maior proporção do que a pelagem de fundo. A vassoura da cauda pode ser branca ou mesclada, e a pele do sabugo deve ser preta ou escura, admite-se apenas pequenas manchas despigmentadas no sabugo, desde que não apresente despigmentação de pele em outras partes do corpo.

Chita Clara



Fonte: F. Cairo

Predominância de cor branca, contudo apresenta poucas marcações pigmentadas pelo corpo. Além disso, a orelha dos animais não pode ser preta ou escura. A vassoura da cauda pode ser branca ou mesclada, e a pele do sabugo deve ser preta ou escura, admitem-se pequenas manchas despigmentadas no sabugo, desde que não apresente despigmentação de pele em outras partes do corpo.

Rosilha ou Moura de Vermelho



Fonte: M. Silva.

Predominância de cor branca ou cinza, com orelhas e cabeça total ou parcialmente avermelhadas.

Moura Clara



Fonte: M. Silva

Predominância de cor branca ou cinza, com orelhas e cabeça total ou parcialmente preta.

Moura Escura



Fonte: J. Jacinto.

Pelagem de fundo branca, com predominância de cor escura e com cabeça e as orelhas pretas.

Tabela 2 - Exemplos de animais com pelagens e detalhes de pelo não-registráveis na raça Gir.

Uniformemente branca



Fonte: Lilian Jacinto.

Uniformemente preta



Fonte: Lilian Jacinto.

Cobre e mucosas alaranjadas



Fonte: Lilian Jacinto.

Barrosa



Fonte: José Costa.

Araçá



Fonte: Lilian Jacinto.

Vermelha gargantilha com vassoura da cauda completamente branca



Fonte: Lilian Jacinto.

A vassoura da cauda deve ser de preferência preta, não sendo permitida a coloração avermelhada. Em animais que apresentem a pelagem chita clara, chitada de vermelho, chitada de amarelo, moura de vermelho, moura clara e moura escura, é permitida que seja branca ou mesclada, desde que a pele do sabugo seja preta ou escura ou com pequenas manchas de despigmentação e que não apresentem reflexos em outras partes do corpo em animais de pelagem clara. Já em animais de pelagem vermelha, vermelha chitada, vermelha gargantilha, amarela, amarela chitada e amarela gargantilha, tolera-se que a vassoura da cauda possa ser mesclada ou com feixes de fios brancos, desde que estejam em menor porcentagem e que não sejam completamente brancas (Tabela 2), e que a pele do sabugo seja preta ou escura (ABCZ, 2020).

2.3 RELAÇÕES DA PIGMENTAÇÃO DE BOVINOS E EFEITOS PLEIOTRÓPICOS

A pigmentação dos animais apresenta grande importância em suas interações, podendo estar relacionadas a diversos fatores, como a escolha de um parceiro para a reprodução (LATTANZIO, 2022) ou predação (DENIS, 2007). Linderholm et al. (2013) propuseram que devido à grande quantidade de genes envolvidos na coloração da pelagem e a baixa ação de efeitos pleiotrópicos negativos, o processo de domesticação acarretou numa grande variedade de colorações, sendo que essas colorações não seriam possíveis em um contexto selvagem. Essa grande variedade de pelagens, relacionadas a coloração e estrutura do pelo, pode ser observada em cães (DENIS, 2007), suínos (FRANTZ et al., 2019), aves (ERIKSSON et al., 2008), equinos (LUDWING et al., 2009; LUDWING et al., 2015), bovinos (BERTOLINI et al., 2020), ovinos (KIJAS et al., 2012; ALBERTO et al., 2018) e caprinos (DALY et al., 2018).

Devido a isso, diversas associações de criadores, como a Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ) apresentam padrões de pelagem definidos para caracterização racial. Em raças com diversas pelagens, produtores têm preferência por determinadas colorações, como a predileção por animais de pelagem vermelha, em detrimento da amarela, em bovinos da raça Gir no Brasil. Daly et al. (2018) relataram que em caprinos ocorreu uma intensa seleção para determinadas pelagens, pois rebanhos de diversos criadores eram mantidos num mesmo local e uma das formas de separar os rebanhos era através da seleção de pelagens específicas para cada criador. Esse pode ser o motivo de que em cada região de Gujarat na Índia ter, inicialmente, animais da raça Gir de pelagens diferentes (NDDDB, 2017).

Bertolini et al. (2020), estudaram bovinos da raça Reggiana e identificaram assinaturas de seleção em genes relacionados à pelagem, como o *KIT* e o *MC1R*. Duarte et al. (2022) relataram que criadores de bovinos da raça Canchim tem predileção pelas pelagens mais claras

e, devido a isso, são encontradas assinaturas de seleção relacionadas a coloração dos animais, estando envolvidos os genes *PDPK1* e *DCTN2*. Para a raça Barrenda en Negro, nativa da Espanha e ameaçada de extinção, podem ser utilizados marcadores genéticos para os genes *MC1R*, *KIT* e *MITF* como ferramentas de rastreamento para o controle de diversidade genética e utilizados como mecanismos de conservação da raça (GONZÁLEZ-CANO et al., 2022). Dessa forma, pode-se observar que características de pelagem são selecionadas por criadores desde os primórdios da domesticação até atualmente.

Entretanto, deve-se tomar cuidado ao selecionar animais para determinadas colorações de pelagem, pois essa característica apresenta aspectos importantes como a influência na termorregulação, principalmente para os animais nos trópicos. Segundo Silva et al. (2001), o fenótipo ideal de bovinos para os trópicos é a coloração de sua pele negra, pois o coeficiente de transmissão de radiação UV é baixo, e os pelos brancos para que ocorra a reflexão das luzes. Dessa forma, com o advento da edição gênica, Laible et al. (2021) consideraram que é possível realizar edição gênica em genes relacionados à coloração da pelagem e criar animais mais resistentes a mudanças climáticas. Entretanto, caso não seja possível essa combinação de epiderme e pelagem, deve-se optar por animais que tenham a epiderme preta, independentemente da cor da pelagem (SILVA et al., 2001).

Maibam et al. (2018), quando estudaram os efeitos do estresse térmico devido à incidência solar sobre a coloração da pele dos animais, indicaram que animais de pele mais clara apresentaram maior acúmulo de marcadores de estresse oxidativo do que animais de pele mais escura e, que os animais zebuínos apresentaram uma maior expressão dos genes *MC1R* e *PMEL*, relacionados com a pigmentação da pele, do que o gado cruzado (Zebuíno x Taurino).

Além da termorregulação, pelagens mais claras apresentam menor infestação e adesão de ectoparasitas como a mosca-dos-chifres (*H. irritans*), larvas de berne (*D. hominis*) e carrapato (*R. (Boophilus) microplus*), que são responsáveis por grandes prejuízos à pecuária (HORNBERGER et al., 1990; SAUERESSING, 1992; OLIVEIRA et al., 2013; CARDOSO et al., 2014). López – Herrera et al. (2014), estudaram dois grupos raciais (Brahman e 5/8 Simental x 3/8 Brahman) e apresentaram uma correlação de 0,85 entre coloração da pelagem e infestação de carrapatos da família *Ixodidae*, e uma correlação de 0,93 entre coloração da pelagem e incidência de larvas de mosca da família *Oestridae*.

Leite et al. (2020), avaliaram as diferentes pelagens presentes na raça ovina Morada Nova relacionando-as com a termorregulação, e obtiveram resultados em relação à modificação da estrutura e à quantidade de pelos, e dos mecanismos de termorregulação, demonstrando a plasticidade fenotípica da raça. Animais de pelagem branca tinham a pele despigmentada,

devido a isso os animais apresentaram uma pelagem de alta densidade de pelos por cm², pelos mais longos e mais espessos, enquanto os animais de pelagem vermelha tinham a pele pigmentada, pelagem menos densa, pelos mais curtos e menos espessos. Em relação aos mecanismos de termorregulação, os animais de pelagem branca apresentaram maior troca térmica através da evaporação cutânea, ao mesmo tempo os animais de pelagem vermelha apresentaram maior troca térmica pela respiração.

Araúz et al. (2017), estudaram a influência da pelagem em características produtivas e fisiológicas de bovinos cruzados (6/8 Pardo Suíço e 2/8 *Bos taurus indicus*) criados em sistema semi-intensivo, sem sombreamento, na época seca e chuvosa, na província de Chiriqui – Panamá, notaram maior temperatura retal e corporal, e maior frequência respiratória e cardíaca em vacas de pelame mais escuro. Além disso, vacas com a pelagem mais clara possuíam maior produção de leite quando submetidas a estresse térmico. Resultados similares foram encontrados por Maia et al. (2005), que relataram que bovinos da raça Holandesa, predominantemente brancos, criados em sistema *Free Stall* intensivo (sombreado, com ventiladores e aspersores), no estado de São Paulo – Brasil, tiveram uma maior produção de leite.

Liu et al. (2019), avaliaram o gene *ASIP*, e encontraram uma retrotransposição do Line – 1 em novilhos da raça Simental. Animais com inserção heterozigótica da retrotransposição tiveram o fígado mais pesado, enquanto os animais com inserção homozigótica apresentaram menor valor na relação do peso dos rins e gordura perirrenal com a área de olho de lombo e espessura de toucinho, e percentual de gordura na cobertura da carcaça. Atrelado a isso, a variação na coloração da pelagem, preta e branca, em búfalos da água também foi relacionada a uma retrotransposição do Line – 1 inserida na sequência do gene *ASIP* (LIANG et al., 2020).

Ainda no trabalho de Liu et al. (2019) ao estudarem o gene *ASIP*, eles destacaram que animais que apresentaram o genótipo AA no g. -568 nt tiveram maior peso vivo e maior pH da carcaça do que animais com o genótipo GG. E também trouxeram que, animais com os genótipos AA e AT na g. -568 nt possuíam uma pontuação de marmoreio maior do que animais com o genótipo GG. Já no g. 4805 nt os animais com o genótipo AT detiveram maior peso de fígado, maior peso de carcaça e melhor rendimento de carcaça quando comparados com indivíduos TT. Os indivíduos AT ainda apresentaram espessura de toucinho mais densa e maior taxa de cobertura de carcaça. Além disso, foram identificados 3 haplótipos (H1: AT; H2: AA; H3: GT) e que indivíduos que apresentaram o genótipo H1H2 tiveram maior peso vivo, peso de carcaça e gordura perirrenal do que aqueles com a combinação de haplótipo H3H3. Animais com o genótipo H1H2 possuíam maior espessura de toucinho e maior taxa de cobertura da

carcaça do que animais os que apresentavam o genótipo H1H1 e H2H2. O valor de pH da carcaça foi maior em indivíduos H1H2 do que em indivíduos H1H3 e H3H3, além disso indivíduos H3H3 apresentaram uma menor pontuação de marmoreio do que H1H1, H1H2 e H1H3. Também foi encontrado que animais H1H2 tiveram menor teor de ácido linoleico no *longissimus dorsi* do que animais H1H3. Um menor teor de α -ácido linolênico foi observado em novilhos H1H2 do que em novilhos H2H2.

Xie et al. (2022), observaram que ao nocautear o gene *ASIP* presente em células epiteliais mamárias com a tecnologia CRISPR/Cas9 causando uma deleção de 47 pb próxima ao sítio PAM acarretou num aumento significativo de triglicerídeos intracelular e o teor de colesterol não apresentou diferença significativa. Além disso, notou-se que ocorreu uma modificação no perfil de ácidos graxos. Dessa forma, investigaram possíveis interações do gene *ASIP* com genes relacionados ao metabolismo de ácidos graxos e obtiveram que os genes *PPAR γ* , *FASN* e *SCD* tiveram uma redução significativa de expressão gênica enquanto que os genes *FABP4*, *ELOVL6*, *ACSL1*, *HACD4* tiveram um aumento na expressão gênica, podendo esse fato explicar o aumento da síntese de ácidos graxos de cadeia média a longa.

Wolfger et al. (2016), avaliaram o hábito alimentar e a produtividade em bovinos da raça Angus com as pelagens preta e vermelha, e obtiveram que animais de pelagem vermelha tem um menor consumo de matéria seca, melhor taxa de alimentação, menor tempo de cocho, menor tempo de cocho/dia e menor número de refeições por dia, sendo esses parâmetros refletidos numa melhor conversão alimentar. Animais Angus de pelagem preta tiveram apenas maior espessura de gordura. Além disso, notou-se que a carne dos animais de pelagem vermelha era mais magra ($\geq 59\%$ de carne magra), se enquadrando na categoria 1 do padrão de qualidade de carne canadense.

Bertipaglia et al. (2005), utilizaram os mesmos animais do estudo de Maia et al. (2005), relataram que os bovinos com maior proporção de pelos pretos tinham melhor desempenho para número de serviços por concepção. Contudo, esses resultados podem ter sido obtidos por que os animais eram criados em um local sombreado, com ventiladores e aspersores. Essa relação entre animais com maior proporção de pelagem escura e melhor desempenho reprodutivo também foi encontrado nos bovinos das raças Montbéliarde e Normande que apresentaram menor intervalo de partos e menor número de serviços por concepção, respectivamente (LAMARI et al., 2021).

Para fêmeas da raça Belgian Blue, Charlier et al. (1996), obtiveram como resultado que o gene *KITLG* é responsável pela diluição da coloração da pelagem e, quando é expresso em

homozigose recessiva, tem o efeito pleiotrópico conhecido como a doença da novilha branca, interferindo na formação dos ductos de Müller e afetando as características reprodutivas.

Na raça Simental, Philipp et al. (2011), relataram que o gene *MITF* é o responsável por causar o fenótipo de pelagem completamente branca, com áreas do corpo despigmentadas (focinho, pálpebras e região perineal), com olhos azuis e reflexão albinótica típica quando expostos a luz, além disso, os animais apresentaram surdez bilateral, podendo afetar práticas de manejo adotadas. A causa desse efeito pleiotrópico negativo em órgãos do sentido pode ser devido à origem de formação, pois as células pigmentares e o sistema nervoso central são oriundos da ectoderme durante o desenvolvimento embrionário (GILBERT, 2010).

Os bovinos da raça Hereford que apresentam a pálpebra despigmentada tendem a manifestar em alguma fase da sua vida carcinoma ocular de células escamosas (“câncer ocular”) e ceratoconjuntivite infecciosa (“olho rosa”), devido à ausência de proteção contra radiação UV nessas áreas, trazendo grandes prejuízos a pecuária. Para contornar esse problema, deve-se realizar cruzamentos direcionados para animais apresentem pigmentação palpebral (ANDERSON, 1991; SNOWDER et al., 2005). Além disso, as pelagens claras acompanhadas de despigmentação, podem apresentar problemas dermatológicos causados pelo acúmulo de reagentes fotodinâmicos na pele e ação solar intensa sobre a área (THOMSETT, 2004).

2.4 GENES RELACIONADOS A PELAGEM BOVINA

O desenvolvimento de células e proteínas relacionadas a pigmentos é de fundamental importância para determinação da cor dos animais. São reconhecidos 688 genes relacionados ao desenvolvimento de pigmentos em diversas espécies (BAXTER et al., 2023), apresentando-se assim, como uma característica poligênica.

Apesar da grande quantidade de genes envolvidos nas diferentes colorações das espécies, pode-se observar que alguns genes apresentam grande importância para algumas espécies e para outras não. Assim, pode-se observar na Tabela 3 alguns genes representativos para a determinação da pelagem e pigmentação de bovinos.

Tabela 3 - Genes relacionados a pigmentação da pele e pelagem em bovinos.

Gene (Cromossomo)	Fenótipo	Referências
<i>OCA2</i> (2), <i>COPA</i> (3), <i>MLPH</i> (3), <i>HGF</i> (4), <i>CACNA2D1</i> (4), <i>LEMD3</i> (5), <i>WIF1</i> (5), <i>TBC1D30</i> (5), <i>PMEL</i> (5), <i>ADAMTS3</i> (6), <i>KIT</i> (6), <i>PDGFRA</i> (6), <i>KDR</i> (6), <i>FRAS1</i> (6), <i>ADGRV1</i> (7), <i>TYRP1</i> (8), <i>EDN3</i> (13), <i>TRPA1</i> (14), <i>BDNF</i> (15), <i>FANCA</i> (18), <i>MC1R</i> (18), <i>RANBP17</i> (20), <i>FGF18</i> (20), <i>MITF</i> (22), <i>GRM7</i> (22), <i>ETS1</i> (29) e <i>TYR</i> (29).	Cor da pelagem e marcações brancas	Klungland et al., 1995; Charlier et al., 1996; Gutierrez-Gil et al., 2007; Philipp et al., 2011; Hanna et al., 2014; Dorshort et al., 2015; Li et al., 2016; Dikmen et al., 2017; Bovo et al., 2021; Jiang et al., 2021; Santana et al. 2021; Illa et al., 2021
<i>FCRL1</i> (3), <i>FCRL3</i> (3), <i>CD5L</i> (3), <i>MC1R</i> (18) e <i>ADAMTS16</i> (20).	Cor do focinho	Bovo et al., 2021
<i>MCM6</i> (2), <i>PAX3</i> (2), <i>KITLG</i> (5), <i>ERBB3</i> (5), <i>PMEL</i> (5), <i>LEF1</i> (6), <i>DKK2</i> (6), <i>KIT</i> (6), <i>TYRP1</i> (8), <i>MLANA</i> (8) <i>SLC24A5</i> (10), <i>CRIMI</i> (11), <i>DCT</i> (12), <i>ATRN</i> (13), <i>GSDMC</i> (14), <i>MC1R</i> (18), <i>MITF</i> (22), <i>NBEAL2</i> (22), <i>TYR</i> (29), <i>GPR143</i> (X) e <i>UGT1A1</i> (X).	Cor da área dos olhos	Pausch et al., 2012; Illa et al., 2021; Jara et al., 2022

Portanto, devido à grande quantidade de genes envolvidos na cor da pelagem dos animais, Hanna et al. (2014) realizaram um GWAS para a característica de pelagem e análise de polimorfismos no gene *MC1R* para avaliarem a intensidade da cor vermelha em bovinos cruzados Nelore x Angus. Nesse estudo eles obtiveram dois SNPs de codificação *Bos taurus indicus* no gene *MC1R* (c.583 C>T e c. 663 T>C) com ligação completa com o alelo E⁺ (c.296 C>T) de *Bos taurus indicus*, sendo assim detectados os haplótipos (CCT/TTC). A partir disso, foi identificado que o alelo E⁺ do gene *MC1R*, derivado de *Bos taurus indicus*, não contribui com a variação do grau de preto em animais que apresentavam o genótipo heterozigoto E^DE⁺, tornando assim improvável que uma variante no gene *MC1R* ocasione os graus de vermelhidão nos animais utilizados no estudo. Além disso, também foi identificada uma forte associação no cromossomo 6, sendo o gene *PDGFRA*, o principal candidato por ocasionar os diferentes graus de vermelhidão em bovinos cruzados Nelore x Angus.

O gene *MC1R* é um dos principais genes estudados para a característica de coloração nos animais. Esse gene é responsável pela produção de uma proteína transmembrana que fica localizada nos melanócitos. Quando em homozigose dominante (EE) é ativada pelo Hormônio Melanotrófico (α -MSH) produzindo eumelanina (pigmentos preto e marrom). Entretanto, quando o gene *MC1R* sofre mutação, tornando-se heterozigoto (Ee), ocorre ligação com a molécula de sinalização produzida pelo gene *ASIP*, apresentando a produção de feomelanina (pigmentos vermelho e amarelo) (HEARING et al., 1991; CHEN et al., 2017; NEVES, 2017). Lu et al. (1994), relataram que a proteína agouti (*ASIP*) age de forma antagonista ao α -MSH, no qual a ação gênica do *ASIP*, responsável pela produção da proteína agouti, regula a produção da síntese de eumelanina competindo pelo mesmo sítio ligação.

Dessa forma, Klunland et al. (1995) ao estudarem raças bovinas de origem norueguesa e islandesa obtiveram que os animais apresentavam os genótipos E^D/E^D, E^D/E⁺, E^D/e, E⁺/E⁺, E⁺/e e e/e. Atrelado a isso, os autores sugeriram que os animais que tiveram a presença de ao menos um alelo E^D, cause a inibição na expressão do locus A (*ASIP*), apresentando fenótipo de pelagem preta. Por outro lado, os animais que não apresentavam o alelo E^D, expressavam o locus A e poderiam ter a pelagem variando entre preta, marrom e vermelha, sendo conhecida como a pelagem selvagem. Já em outros estudos realizados por Rouzaud et al. (2000), Kriegesmann et al. (2001), Graphodatskaya et al. (2002) e Guastella et al. (2011) com raças de origem europeia, eles encontraram SNPs nas posições c.296 C>T (E⁺), c.296 T>C (E^D), c.310 G>del (e), c.410 C>T, uma duplicação de 12 pb começando na c.651pb (E^{d2}), c.667 C>T (E^{d1}/E²), c.667 T>C (E^{d3}), uma duplicação de 12 pb começando na c.669 pb (E¹) e c.890 T>C

(e^f), sendo que esses SNPs acarretam em algumas modificações no quadro de leitura dos aminoácidos (tabela 4).

Mohanty et al. (2008) e Matsumoto et al. (2020) estudando polimorfismos no gene *MC1R* em bovinos de origem asiática, obtiveram c.296 C>T (E⁺), c.296 T>C (E^D), c.310 G>del (e) e c. 871 G>A como os principais polimorfismos responsáveis pela variação na coloração da pelagem das raças estudadas.

Goud et al. (2021), ao compararem as raças Sahiwal, que apresenta a pelagem vermelha, e Karan Fries, que apresenta a pelagem malhada preta e branca, obtiveram que a possível razão para a diferença entre as duas pelagens seja um SNPs no gene *MC1R* (c.884 C>A), que ocasiona uma alteração de aminoácido (p.281 T>N). Já para a raça Tharparkar, que apresenta a pelagem branca, Goud et al. (2019), ao analisarem o gene *MC1R* e comparar com a raça Karan Fries, foram encontrados oito SNPs, c. 296 T>C (E^D), c. 583 T>C, c. 663 C>T, c. 830 T>C, c. 853 G>A, c. 880 G>A, c. 906 C>G e c. 927 C>T, e seis alterações de aminoácidos p.L99P, p.F195L, p.F277S, p.A285T, p.D293N e p.R302T.

Jiang et al. (2021), ao estudarem a origem de raças bovinas chinesas, relataram que o *MC1R* é o gene responsável por causar a coloração preta nos bovinos da raça Zhoushan, e que o haplótipo *MC1R* presente na raça é derivado de *Bos taurus taurus* apesar do genoma do Zhoushan ser de *Bos taurus indicus*. Além disso, identificaram uma mutação missense c.583 T>C causando uma alteração de aminoácidos p.F195L, e uma mutação sinônima c.663 C>T no gene *MC1R* quando comparando indivíduos pretos das raças Zhoushan e Angus. Para Santana et al. (2021), ao analisarem o gene *MC1R* em animais da raça Guzerá com a pelagem cinza e um de pelagem vermelha, filho de animais cinza, obtiveram como resultado que uma exclusão c. 311 T>del do gene ocasionou um stop códon, sendo esse fator o responsável por causar a pelagem vermelha na raça Guzerá.

Hauser et al. (2022), estudando a variação das pelagens nas raças bovinas Eringer, Evolèner e Valdostana encontraram dois novos polimorfismos no gene *MC1R* como prováveis responsáveis por ocasionar a variação da pelagem selvagem para a pelagem vermelha, sendo o primeiro uma mutação *nonsense* no c.424 C>T (e^{v1}) e o segundo uma mutação *missense* no c.263 G>A (e^{v2}), apresentando duas alterações de aminoácidos p. Arg142Cis e p. Ser88Asn, respectivamente. Na raça Angus, uma mutação *missense* c.296 T>C (E^D) e uma mutação *frameshift* c.310 G>- (e) no gene *MC1R* são responsáveis por ocasionar a pelagem vermelha na raça. Além disso, identificou-se também possível influência do gene *FANCA* na pelagem dos animais (HE et al., 2022).

Tabela 4 - Polimorfismos já relatados para o gene *MC1R*.

ALELO	FENÓTIPO	SNP	AMINOÁCIDO	REFERÊNCIA
e^{v2}	Vermelha recessiva	c.263 G>A	p.S88N	Hauser et al., 2022
E^D	Preta dominante	c.296 T>C	p.L99P	Klungland et al., 1995; Rouzaud et al., 2000;
E⁺	Preta a vermelha	c.296 C>T	p.P99L	Graphodatskaya et al., 2002; Mohanty et al., 2008;
				Guastella et al., 2011; Hanna et al., 2014; Goud et al., 2019; Matsumoto et al., 2020; He et al., 2022
e	Vermelha recessiva	c.310 G>del	p.G104Vfs*53	Klungland et al., 1995; Rouzaud et al., 2000;
				Kriegesmann et al., 2001; Graphodatskaya et al., 2002;
				Mohanty et al., 2008; Guastella et al., 2011; Matsumoto et al., 2020; Santana et al., 2021; He et al., 2022
		c. 410 C>T	-	Kriegesmann et al., 2001
e^{v1}	Vermelha recessiva	c.424 C>T	p.R142C	Hauser et al., 2022
		c.583 T>C	p.F195L	Hanna et al., 2014; Goud et al., 2019; Jiang et al., 2021
E^{d2}		Duplicação de 12 pb começando na 651pb	Duplicação de aminoácidos 220 a 223	Graphodatskaya et al., 2002; Hauser et al., 2022
		c.663 C>T	-	Hanna et al., 2014; Goud et al., 2019; Jiang et al., 2021
E^{d1/E2}		c.667 C>T	p.R223W	Graphodatskaya et al., 2002; Guastella et al., 2011;
E^{d3}		c. 667 T>C	p.W223R	Hauser et al., 2022
E¹		Duplicação de 12 pb começando na 670pb	Duplicação de aminoácidos 224 a 227	Rouzaud et al., 2000; Kriegesmann et al., 2001;
				Guastella et al., 2011

	c.830 T>C	p.F277S	Goud et al., 2019
	c. 844 C>A	p.T281N	Goud et al., 2021
	c.853 G>A	p.A285T	Goud et al., 2019
	c. 871 G>A	p.A291T	Matsumoto et al., 2020
	c.880 G>A	p.D293N	Goud et al., 2019
e^f	c.890 T>C	p.I297T	Graphodatskaya et al., 2002
	c.906 C>G	p.R302S	Goud et al., 2019
	c.927 C>T	-	Goud et al., 2019

Interações gênicas com o gene *MC1R* também são conhecidas. Schmutz et al. (2012) relataram uma deleção de 3pb localizado na c. 50_52delTTC (p.Leu88del) do gene *PMEL* e que as seis pelagens apresentadas na raça Highland são ocasionadas por uma interação não epistática entre os genes *MC1R* e *PMEL*. Laible et al. (2021) realizaram edição gênica no gene *PMEL* utilizando como base a deleção relatada por Schmutz et al. (2012) e obtiveram animais da raça Holandesa com a pelagem de coloração cinza claro. Gutierrez-Gil et al. (2007), estudando uma população composta por um retrocruzamento F2 (Charolês X Holandês), obtiveram que uma mutação não sinônima no gene *PMEL*, c.64 A>G, é um dos responsáveis por ocasionar a diluição na pelagem desses animais. Além disso, foram observados efeitos significativos no cromossomo 28, podendo estar relacionados ao gene *LYST*.

Os animais da raça Holandesa são notavelmente reconhecidos por suas malhas pretas ou vermelhas na pelagem, sendo a pelagem preta dominante e a vermelha recessiva. Contudo, em alguns animais ocorre um fenótipo denominado “vermelho dominante”, sendo este fenótipo causado por uma mutação no gene *COPA* c.478 C>T (p.Arg160Cis). Essa mutação acarreta numa mudança da eumelanina para feomelanina, semelhante ao que é visto em animais “vermelho recessivo” devido a uma perda de função no gene *MC1R*. Além disso, o gene *KIT* é superexpresso em animais que apresentam a pelagem vermelha dominante, enquanto que os genes *TYRP1*, *TYR* e *OCA2* são superexpressos em animais de pelagem preta (DORSHORT et al., 2015).

Chhotaray et al. (2021) relatam que na raça sintética Vrindavani, os genes *BDNF*, *FGF18*, *CACNA2D1* e *HGF*, juntamente com o gene *KIT*, estão envolvidos nas vias de sinalização MAPK e PI3K-Akt, e por fim afetando a coloração da pelagem dos animais dessa raça.

Dikmen et al. (2017), ao estudarem prováveis genes responsáveis por causar o fenótipo da pelagem “azul” em bovinos da raça Holandesa, obtiveram que possivelmente o gene responsável por essa coloração de pelagem dos animais é o melanofilina (*MLPH*). Caso que também ocorreu no estudo de Li et al. (2016), o qual apresentaram que mutações no gene *MLPH* estão associados a pelagem de bovinos Belgian Blue.

Bovo et al. (2021), identificaram SNPs e haplótipos para características pigmentares em bovinos da raça Reggiana. Os genes associados a intensidade de vermelho foram *EDN3*, *LEMD3*, *WIF1*, *TBC1D30*, *PMEL*, *ADGRV1* e *TRPA1*. Já os associados ao surgimento de marcações brancas eram o *KIT*, *ADAMTS3*, *FRAS1*, *RANBP17*, *GRM7* e *ETS1*. Além disso, eles também identificaram os SNP's e haplótipos relacionados às diferentes pigmentações do focinho dos animais (rosa, cinza e preto), sendo eles o *MC1R*, *ADAMTS16*, *FCRL1*, *FCRL3* e *CD5L*.

Já para Pausch et al. (2012), ao realizar uma análise de Associação Genômica Ampla (GWAS) para identificar possíveis genes responsáveis pela pigmentação da área dos olhos de bovinos da raça Simmental obtiveram SNP's significativos nos genes *MCM6*, *PAX3*, *KITLG*, *ERBB3*, *DKK2*, *LEF1*, *KIT*, *CRIM1*, *ATRN*, *GSDMC*, *MITF* e *NBEAL2*. Illa et al. (2021), também identificaram que no gado Sahiwal o gene *LEF1* é responsável pela pigmentação na área dos olhos e que os genes *PDGRA*, *KIT* e *KDR* são os candidatos para o padrão de coloração da pelagem da raça.

Jara et al. (2022), encontraram 4.937 LncRNAs que possivelmente possam interferir na expressão de genes relacionados com a pigmentação palpebral de bovinos da raça Hereford. Os possíveis genes relacionados à pigmentação que podem estar sofrendo regulação de LncRNAs são o *GPR143*, *UGT1A1*, *MC1R*, *PMEL*, *MLANA* e *PAX3*. Além dessas prováveis interações entre os genes e os LncRNAs, também encontraram os genes *TYR*, *TYRP1*, *KIT*, *DCT* e *SLC24A5*, como possíveis candidatos a pigmentação palpebral na raça Hereford.

Dentre os genes citados acima, o gene *PAX3* possui durante a organogênese um papel importantíssimo, sendo um grande codificador de proteínas de transcrição. Quando ocorre mutação desse gene há deficiências na crista neural, associando-se a ele problemas pigmentares, auditivos e cardíacos, como a Síndrome de Waardenburg em humanos e doenças cardíacas congênitas em camundongos (NELMS et al., 2011; MANDERFIELD et al., 2014). Também, participa diretamente ao fator de transcrição associada à expressão do gene da microfthalmia (*MITF*), que é responsável por muitos produtos que participam da biossíntese de melanina durante a melanogênese (THOMAS et al., 2008). Já o gene *KIT* é responsável por codificar proteínas tirosina quinase do receptor tipo III, sendo de fundamental importância para melanogênese, gametogênese, hematopoese e desenvolvimento e função de mastócitos (ROSBOSKI, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS, FENÓTIPOS E GENÓTIPOS

No experimento foram utilizados dois diferentes grupos de animais: um contendo 574 animais da raça Gir, e outro contendo 47 bovinos da raça Gir. No grupo com 574 animais, foi realizada uma associação genômica ampla (GWAS). O pedigree era composto por 1651 animais, contabilizando três gerações. Os animais possuíam fenótipos de pelagem com a seguinte distribuição: amarela (1), amarela chitada (2), chitada de amarela (1), vermelha (55), vermelha gargantilha (43), vermelha chitada (228), chitada de vermelha (153), chita clara (59), moura clara (28), moura de vermelha (1) e moura escura (3). Os fenótipos de pelagem dos

animais genotipados e demais animais do pedigree são conferidos no momento do registro pelos técnicos da ABCZ, podendo ser consultados posteriormente no site (<https://www.abcz.org.br/produtos-e-servicos/consulta-publica-de-animais>) através do número de registro de cada animal.

Os animais foram genotipados com chip comercial da Zoetis de baixa densidade, contendo 29.842 SNPs. O controle de qualidade e limpeza dos genótipos foi realizado considerando os SNPs localizados apenas em cromossomos autossômicos, do 1 ao 29, com *call rate* menor que 0,90 para SNPs e animais, com frequência do alelo menor (MAF) menor que 0,05, retirada de SNPs monomórficos e para conflitos mendelianos e equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE), totalizando um número efetivo de SNPs de 15.447 e 574 animais. Os genótipos dos animais são provenientes de parceria com a Unesp-Botucatu/SP.

No grupo contendo 47 bovinos da raça Gir, as amostras foram obtidas através de contato direto com produtores de diversas regiões do Brasil. Para esse grupo, havia representantes em todas as pelagens aceitas para o registro na raça, sendo: 6 vermelha, 1 vermelha gargantilha, 7 vermelha chitada, 8 chitada de vermelho, 4 amarela, 1 amarela gargantilha, 2 amarela chitada, 4 chitada de amarelo, 2 chita clara, 5 moura clara, 2 moura escura e 4 moura de vermelho. Havia, além disso, 1 animal com pelagem barrosa (despigmentada) que não recebe registro. A utilização dos animais no projeto foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, registrada com o número 29/2021.

3.2 ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS)

As análises de associação genômica ampla (GWAS) foram feitas seguindo os cenários descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Cenários utilizados para a realização das análises de GWAS.

Cenários	Fenótipos
Cenário 1	1* (vermelha), 2* (amarela), 3* (vermelha gargantilha), 4* (vermelha chitada), 5* (amarela chitada), 6* (chitada de vermelha), 7* (chitada de amarelo), 8* (moura clara), 9* (moura escura), 10* (chita clara), 11* (moura de vermelho)
Cenário 2	1* (Vermelha + Amarela), 2* (Vermelha Gargantilha), 3* (Vermelha Chitada + Amarela Chitada) e 4* (Chitada de Vermelha + Chitada de Amarela)
Cenário 3	1* (Vermelha) e 2* (Vermelha Gargantilha)
Cenário 4	1* (Vermelha) e 2* (Vermelha Chitada)

Cenário 5	1* (Vermelha) e 2* (Chitada de Vermelha)
Cenário 6	1* (Vermelha) e 2* (Chita Clara)
Cenário 7	1* (Vermelha Chitada) e 2* (Chitada de Vermelha)
Cenário 8	1* (Vermelha + Vermelha Gargantilha + Vermelha Chitada + Chitada de Vermelha) e 2* (Amarela + Amarela Chitada + Chitada de Amarela)
Cenário 9	1* (Vermelha) + 2* (Moura Clara + Moura de Vermelha + Moura Escura)

*Numeração utilizada na abreviação dos fenótipos para utilização nas análises de GWAS.

O programa *GIBBSF90+* (MISZTAL et al., 2022) foi utilizado para a obtenção dos componentes de variância e valores genômicos, aplicando-se um modelo de limiar unicaracterística e considerando o efeito aleatório aditivo direto e residual. As análises GWAS foram realizadas aplicando um procedimento de single-step, descrito por Wang et al. (2012).

O modelo geral pode ser descrito na forma matricial como:

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

onde y é o vetor das observações da característica cor da pelagem; a é o vetor com o efeito genético aditivo de animal, assumindo-se $a \sim N(0, H\sigma_a^2)$, onde H é a matriz que combina as matrizes de relacionamento baseada no pedigree e a matriz de relacionamento genômico e σ_a^2 a variância genética aditiva; e é o vetor dos efeitos residuais, assumindo-se $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$, onde I é uma matriz identidade e σ_e^2 é a variância dos efeitos residuais; X é a matriz de incidência que associa cada observação à média; β é uma alocação parâmetro de uma distribuição condicional $y | \beta$. Como informação prévia para β , foi considerada uma distribuição uniforme. Z é a matriz de incidência que associa cada observação ao respectivo efeito aleatório.

Gráficos do tipo Manhattan contendo a variância explicada pelas janelas formadas por 5 mbp adjacentes foram utilizados na identificação das regiões cromossômicas de maior efeito sobre as características. Foram utilizadas as regiões que explicavam mais que 10% da variância genética aditiva para identificação dos genes presentes nas janelas de maior efeito. A busca pelos genes candidatos foi realizada por intermédio do banco de dados do NCBI (National Center for Biotechnology Information), sendo feita a filtragem por espécie, cromossomo e posição da janela.

3.3 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO GENE MC1R

No Laboratório Multifuncional da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, foram realizadas as extrações do DNA genômico total dos animais a partir de folículos pilosos das amostras de pelos, utilizando o kit de extração de DNA Núcleo Spin® Tissal, obedecendo aos protocolos dispostos no manual de extração do kit. Posteriormente, foram feitas as quantificações dos DNA's extraídos utilizando o NanoDrop™ para observar a qualidade dos materiais, sendo obtidas a concentração e a proporção DNA/proteína, devendo essa ser entre 1,8 a 2. Prontamente, foram realizadas as diluições das amostras para uma concentração a 100µg em volume de 50µl. Após a diluição, foram realizadas PCR's utilizando os *primers* do gene *MC1R* com 1085pb como descritos por Goud et al. (2019), sendo eles, o *Primer Forward* 5'-GGACCCTGAGAGAGCAAGCAC-3', e *Primer Reverse*: 5'-CTCACCTTCAGGGATGGTCTA-3'. Para a amplificação, utilizou-se um termociclador sob as seguintes condições: 94°C por 5 minutos para a desnaturação inicial, seguido de 35 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 57,8°C a temperatura de anelamento durante 30 segundos, 72°C para a extensão durante 1 minuto e 30 segundos e a extensão final durante 1 ciclo de 10 minutos à 72°C. Em seguida, os produtos das PCR's foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, para verificar a amplificação da região escolhida. Posteriormente, os *amplicons* foram purificados com PEG a 20%, quantificados e sequenciados para ambos os *primers*. As sequências obtidas foram editadas utilizando o *software* BioEdit v.7.0.9.0 (HALL, 1999) e alinhadas utilizando o algoritmo *ClustalW Multiple alignment* implementado no BioEdit (HALL, 1999; THOMPSON et al., 2002).

4. RESULTADOS

4.1 GWAS

Através de análises de Associação Genômica Ampla foram obtidos gráficos Manhattan Plot (Figura Suplementar 1 a 9) com poucos picos em cada cenário estudado. Isso indica que a característica tende a ser controlada por poucas regiões genômicas. Posteriormente, as janelas cromossômicas associadas aos diferentes cenários foram identificadas (Tabela 6). Além das regiões genômicas, foram listados possíveis genes candidatos (Tabela 7) presentes nas regiões associadas.

Tabela 6 – Resultados da Análise de Associação Genômica Ampla para os diferentes cenários propostos no estudo.

Cenários	Janelas cromossômicas		Variância (%)
	(Cromossomo: posição inicial - posição final em pb)		
Cenário 1	26: 12.936.855 – 17.915.874		84,76
Cenário 2	6: 49.094.600 – 54.062.980		42,77
	9: 67.996.881 – 72.973.276		26,65
Cenário 3	6: 65.992.280 – 70.978.405		24,35
	9: 67.996.881 – 72.973.276		12,04
	16: 23.927.113 – 28.848.328		11,83
Cenário 4	9: 83.623.242 – 88.540.232		20,26
	10: 89.817.652 – 94.772.442		18,15
Cenário 5	21: 31.293.656 – 36.223.639		26,39
Cenário 6	6: 84.847.352 – 89.736.709		32,17
	6: 65.992.280 – 70.978.405		29,72
	10: 2.549.276 – 7.546.126		15,70
Cenário 7	2: 76.753.025 – 81.526.017		16,45
	18: 27.873.728 – 32.815.939		11,25
Cenário 8	3: 109.252.433 – 114.137.251		22,06
	8: 23.491.565 – 28.454.786		18,79
Cenário 9	6: 96.162.959 – 101.156.203		20,53
	10: 971.203 – 5.890.965		19,73
	18: 16.348.664 – 21.337.120		17,97
	6: 65.992.280 – 70.978.405		15,29

No cenário 1 (todas as pelagens), foi encontrada uma região genômica associada ao BTA26 que explica 84,76% da variância genética aditiva da característica (Tabela 6). Outros cenários (Cenários 2 a 9) foram realizados a fim de tentar captar o efeito de regiões que estivessem associadas a pelagens de fundo, aparecimento e distribuição de manchas.

Ao detalhar mais alguns cenários, percebeu-se uma forte influência do BTA6 sobre o fenótipo da pelagem em quatro regiões presentes nos cenários 2, 3, 6 e 9 (Tabela 6). Essas regiões podem estar intimamente ligadas aos diferentes fenótipos de marcações branca e pelagem de fundo nos animais. O BTA10 também apresentou grande relevância em diferentes

cenários, tendo diversas janelas com alta variância aditiva. Foram obtidas duas diferentes regiões do BTA10 em diferentes três cenários também afetando pelagem de fundo e marcações brancas.

Nos diferentes cenários foram encontrados ainda regiões presentes nos BTA9 (duas regiões) e uma região nos BTA3, BTA8, BTA18, BTA21 e BTA2 (Tabela 6). Após análise das janelas obtidas no GWAS foram listados possíveis genes candidatos. Para os cenários idealizados no estudo, o C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 e C9 foram listados 3, 10, 14, 7, 3, 10, 4, 8 e 7 genes candidatos, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7 – Identificação dos genes candidatos presentes nas janelas de maiores efeitos relacionados aos fenótipos de pelagem na raça Gir, organizados de forma crescente, tendo como base o cromossomo o qual o gene está localizado.

Gene	Posição no cromossomo	Janela genômica	Cenário
<i>MYO1B</i>	BTA2: 79795530 - 79994786	2: 76.753.025 – 81.526.017	C7
<i>STAT1</i>	BTA2: 79516312 - 79560240	2: 76.753.025 – 81.526.017	C7
<i>AGO1</i>	BTA3: 109875883 - 109914109	3: 109.252.433 – 114.137.251	C8
<i>GJB3</i>	BTA3: 110900180 - 110905849	3: 109.252.433 – 114.137.251	C8
<i>GJB4</i>	BTA3: 110927018 - 110930974	3: 109.252.433 – 114.137.251	C8
<i>KCNJ13</i>	BTA3: 112513605 - 112526968	3: 109.252.433 – 114.137.251	C8
<i>TFAP2E</i>	BTA3: 110179027 - 110194884	3: 109.252.433 – 114.137.251	C8
<i>CORIN</i>	BTA6: 66273885 - 66582732	6: 65.992.280 – 70.978.405	C3, C6 e C9
<i>KIT</i>	BTA6: 70166681 - 70254049	6: 65.992.280 – 70.978.405	C3, C6 e C9
<i>KDR</i>	BTA6: 70567551 - 70612680	6: 65.992.280 – 70.978.405	C3, C6 e C9
<i>PDGFRA</i>	BTA6: 69723778 - 69771549	6: 65.992.280 – 70.978.405	C3, C6 e C9
<i>ADAMTS3</i>	BTA6: 87425830 - 87706149	6: 84.847.352 – 89.736.709	C6
<i>ALB</i>	BTA6: 88484961 - 88503330	6: 84.847.352 – 89.736.709	C6
<i>AREG</i>	BTA6: 89379645 - 89391802	6: 84.847.352 – 89.736.709	C6
<i>GC</i>	BTA6: 86955729 - 87007189	6: 84.847.352 – 89.736.709	C6
<i>RASSF6</i>	BTA6: 88620412 - 88695809	6: 84.847.352 – 89.736.709	C6
<i>CDS1</i>	BTA6: 99411761 - 99491693	6: 96.162.959 – 101.156.203	C9
<i>MAPK10</i>	BTA6: 100904659 - 101530092	6: 96.162.959 – 101.156.203	C9
<i>BNC2</i>	BTA8: 27468445 - 27953748	8: 23.491.565 – 28.454.786	C8
<i>CNTLN</i>	BTA8: 26893661 - 27246531	8: 23.491.565 – 28.454.786	C8
<i>RPS6</i>	BTA8: 24916124 - 24920700	8: 23.491.565 – 28.454.786	C8
<i>CCN2</i>	BTA9: 69887199 - 69890434	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>ENPP1</i>	BTA9: 69748258 - 69821537	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>MED23</i>	BTA9: 69540273 - 69583947	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>TAAR1</i>	BTA9: 70806765 - 70827654	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>TAAR2</i>	BTA9: 70784406 - 70785326	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>TAAR5</i>	BTA9: 70753522 - 70754535	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>TAAR6</i>	BTA9: 70511266 - 70512303	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>TAAR8</i>	BTA9: 70490906 - 70491946	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>TAAR9</i>	BTA9: 70475309 - 70476355	9: 67.996.881 – 72.973.276	C2 e C3
<i>AKAP12</i>	BTA9: 88290632 - 88403433	9: 83.623.242 – 88.540.232	C4
<i>GRM1</i>	BTA9: 83287324 - 83715752	9: 83.623.242 – 88.540.232	C4
<i>LATS1</i>	BTA9: 86860562 - 86897588	9: 83.623.242 – 88.540.232	C4

RAB32	BTA9: 83832336 - 83864091	9: 83.623.242 – 88.540.232	C4
SASH1	BTA9: 85670279 - 85859700	9: 83.623.242 – 88.540.232	C4
APC	BTA10: 1162433 - 1299394	10: 971.203 – 5.890.965	C9
DCP2	BTA10: 1030712 - 1043567	10: 971.203 – 5.890.965	C9
LVRN	BTA10: 4850650 - 4929715	10: 971.203 – 5.890.965 10: 2.549.276 – 7.546.126	C6 e C9
DIO2	BTA10: 91490126 - 91504569	10: 89.817.652 – 94.772.442	C4
NRXN3	BTA10: 89788138 - 91102410	10: 89.817.652 – 94.772.442	C4
LBR	BTA16: 28444545 - 28473736	16: 23.927.113 – 28.848.328	C3
CYLD	BTA18: 19131308 - 19204355	18: 16.348.664 – 21.337.120	C9
SALL1	BTA18: 19545659 - 19561476	18: 16.348.664 – 21.337.120	C9
CDH11	BTA18: 32682884 - 32837045	18: 27.873.728 – 32.815.939	C7
CSPG4	BTA21: 33182725 - 33218500	21: 31.293.656 – 36.223.639	C5
CYP11A1	BTA21: 34328585 - 34342887	21: 31.293.656 – 36.223.639	C5
GZMB	BTA21: 34741243 - 34743324	21: 31.293.656 – 36.223.639	C5
HELLS	BTA26: 16001944 - 16043962	26: 12.936.855 – 17.915.874	C1

4.2 MAPEAMENTO FINO DO GENE *MC1R*

Devido a diversos estudos realizados associando polimorfismos do gene *MC1R* para variação na cor da pelagem de bovinos, optou-se por realizar o mapeamento fino do gene candidato para observar os possíveis SNPs responsáveis por ocasionar as pelagens na raça Gir.

Dessa forma, pode-se observar que os padrões de pelagens da raça Gir utilizados nesse trabalho apresentaram algumas mutações no gene *MC1R* e trocas de aminoácidos, nas posições c. 311 G>del, c.416 C>T (p.Ala139Val), c.460 A>C (p.Ser154Arg), c.583 T>C (p.Phe195Leu), c. 663 T>C (p.Ile221Ile), e c. 871 A>G (p.Ala291Thr), observando-se os polimorfismos presentes em cada pelagem na Tabela 8. Os SNPs, c.416 e c.460 foram pela primeira vez reportados para a espécie bovina.

Através desses SNPs foram formados sete haplótipos, H1: CATCG, H2: TCCCG, H3: CACTA, H4: CACCG, H5: TCCTA, H6: delCA e H7: delTC (Tabela 8). Os primeiros dois SNPs, na posição 416 e 460, estão na mesma fase de ligação, assim como os SNPs nas posições 583 e 663. A deleção de um nucleotídeo na posição 311 gera uma mudança no quadro de leitura, um stop códon prematuro (trinca 466-468), posição do aminoácido 156 (presentes nos haplótipos H6 e H7).

Tabela 8 – Haplótipos encontrados para as determinadas pelagens da raça Gir.

Pelagem/Genótipo	H1/H1	H1/H2	H1/H3	H1/H6	H1/H7	H4/H5
Vermelha	X			X		
Vermelha gargantilha	X					
Vermelha chitada	X		X	X		
Chitada de vermelha	X			X		
Amarela	X	X		X		
Amarela gargantilha	X					
Amarela chitada	X					
Chitada de amarela	X					
Chita clara	X					
Moura clara	X		X			
Moura de vermelha	X		X			
Moura escura			X			X
Barrosa					X	

Os animais de pelagem vermelha e chitada de vermelho apresentavam os genótipos H1/H1 e H1/H6. Já o animal de pelagem vermelha gargantilha apresentou o genótipo H1/H1. No caso dos animais de pelagem vermelha chitada, os animais apresentaram o genótipo H1/H1, H1/H6 e H1/H3. Os animais de pelagem amarela tiveram o genótipo H1/H1, H1/H2 e H1/H6, entretanto, o animal com o genótipo H1/H6 apresentou-se com uma pelagem mais diluída em comparação os outros da mesma pelagem (Figura 1). Já os animais de pelagem amarela gargantilha, amarela chitada e chitada de amarela apresentaram o genótipo H1/H1.



Figura 1 – Animal de pelagem amarela com o haplótipo H1/H6 à esquerda e com o fenótipo dos haplótipos H1/H1 e H1/H2 à direita.

Os animais moura clara e moura de vermelha apresentaram o genótipo H1/H1 e H1/H3. Já os animais de pelagem moura escura apresentam os seguintes genótipos H4/H5 e H1/H3. Para os animais chita clara, obteve-se o genótipo H1/H1. Um animal de fenótipo barroso (tabela 2) apresentou o genótipo H1/H7, sendo o único animal portador do H7.

Dada a distribuição dos haplótipos entre as pelagens, parece que os polimorfismos do gene *MC1R* não influenciam a coloração da pelagem em bovinos da raça Gir e nem o padrão de manchas brancas, “chitas”, da raça, mas podem estar relacionados à fenótipos de pelagens despigmentadas. Tais resultados concordam com os resultados encontrados no GWAS, em que não foi observada a região genômica na qual o gene *MC1R* está presente.

5. DISCUSSÃO

Foram observadas diversas regiões entre os cenários do presente estudo, sendo encontrados os cromossomos BTA2, BTA3, BTA6, BTA8, BTA9, BTA10, BTA16, BTA18, BTA21 e BTA26. Riffert (2015), realizando um estudo similar para a raça Gir, observou regiões presentes nos seguintes cromossomos: BTA6, BTA9, BTA13, BTA16, BTA18, BTA21 e BTA22. Houve semelhanças apenas nas regiões encontradas no BTA6 e BTA21.

Para a região em comum no BTA6, a janela obtida no atual estudo foi a 6: 65.992.280pb – 70.978.405pb. Riffert (2015) obteve janelas semelhantes no BTA6, abrangendo a região 6: 63.000.000pb – 82.000.000pb, ao comparar algumas pelagens com manchas contra pelagens sólidas, tendo as pelagens chitada de vermelha, chitada de amarela e chita clara presentes nessas análises. Já, na presente pesquisa, a janela 6: 65.992.280pb – 70.978.405pb foi observada nos cenários 3, 6 e 9, os quais foram realizadas as análises comparando animais de pelagem vermelha contra animais de pelagem vermelha gargantilha, chita clara e mouras, respectivamente.

Nessa janela encontrada no BTA6, 6: 65.992.280pb – 70.978.405pb, foram encontrados os genes candidatos *CORIN*, *KIT*, *KDR* e *PDGFRA*, que já são bastante relatados afetando a pelagem de bovinos. Hanna et al. (2014), encontraram também uma janela semelhante ao avaliar a diluição da pelagem em bovinos cruzados F₂ Angus x Nelore e apresentaram como os principais genes candidatos, os mesmos genes propostos no presente estudo. Illa et al. (2021), também confirmam esses resultados em bovinos da raça zebuína Sahiwal, como genes que afetam a pelagem da raça. Além disso, Riffert (2015) também relatou que o gene *KIT* é o principal candidato a afetar a pelagem de bovinos da raça Gir.

Já a semelhança encontrada no BTA21, 21: 31.293.656pb – 36.223.639pb, entre o presente estudo que encontrou essa janela apenas para o cenário 5 (vermelha x chitada de

vermelha) e o estudo de Riffert (2015), que encontrou regiões no BTA21 variando de 21:33.000.000pb - 50.000.000pb ao comparar os seguintes cenários de pelagens: amarela + vermelha com amarela gargantilha + vermelha gargantilha; amarela + vermelha com amarela chitada + vermelha chitada; amarela + vermelha com chitada de amarela + chitada de vermelha; e amarela + vermelha com chita clara, apresentaram semelhanças nas regiões e possivelmente essa janela representa grande importância para a determinação da pelagem na raça Gir, principalmente para o fenótipo de marcações brancas.

Riffert (2015) não conseguiu identificar nenhum gene candidato para a característica de pelagem no BTA21, ao contrário do presente estudo, que ao analisar o cenário 5 encontrou, 3 genes candidatos, *CSPG4*, *CYP11A1* e *GZMB*, localizados na janela 21: 31.293.656pb – 36.223.639pb. Medic et al. (2011) relatam que o gene *CSPG4* é mediador do gene *PAX3*, envolvido no mecanismo de migração de melanócitos, tendo o *PAX3* já sido associado, em bovinos da raça Holandesa, ao padrão de marcações brancas da pelagem.

Na mesma região do BTA21 também foi encontrado o gene *CYP11A1*, que está relacionado a pigmentação da pele e vitamina D. Jones et al. (2020), avaliando loci referentes a vitamina D em populações de humanos da África Subsaariana, Europa e Leste Asiático obtiveram que o gene *CYP11A1* está altamente expresso na pele da população europeia enquanto que na população africana e asiática ele não é expresso da mesma forma. Além disso, relatam que ele possivelmente apresenta alta relação com a exposição à radiação UV. Já o gene *GZMB* foi associado ao fenótipo de vitiligo, fenótipo esse que o indivíduo apresenta uma despigmentação gradual do corpo (JIN et al., 2010).

Riffert (2015) também propõe que o gene *MC1R* seja responsável por ocasionar as pelagens chitada de vermelha e chitada de amarela, ao realizar a comparação dessas pelagens com as pelagens amarela + vermelha. Contudo, a região do gene *MC1R* não foi sinalizada no presente estudo (cenário 5). Esse fato também pode ser observado no mapeamento fino do gene *MC1R*, pois ao comparar as pelagens chitada de vermelha e chitada de amarela com as pelagens amarela e vermelha, eles apresentaram haplótipos em comum.

Ao analisar animais de pelagem moura clara, moura escura e moura de vermelha, Riffert (2015) obteve que a diferenciação entre as pelagens moura clara e moura de vermelha e entre as pelagens moura e amarela + vermelha estavam relacionadas ao gene *MC1R*. Além disso, não encontrou nenhuma região ao tentar analisar a pelagem moura escura. Já na atual pesquisa, não foram encontradas as mesmas regiões ao comparar animais de pelagem vermelha a animais de pelagem moura (cenário 9). O mapeamento fino do gene *MC1R* realizado no presente estudo,

mostrou que os animais que tinham as pelagens moura clara, moura escura e moura de vermelha apresentavam haplótipos em comum com animais das outras pelagens da raça.

Ainda na presente pesquisa, para o cenário 9 (vermelha x mouras), foram obtidas janelas no BTA6, 6: 65.992.280pb – 70.978.405pb e 6: 96.162.959pb – 101.156.203pb, BTA10, 10: 971.203pb – 5.890.965pb e BTA18, 18: 16.348.664pb – 21.337.120pb. Foram encontrados 2 genes no BTA6, 6: 96.162.959pb – 101.156.203pb, o *CDS1* e *MAPK10*. O gene *CDS1* foi relacionado a melanismo em peixes Oscar (WANG et al., 2023) e o gene *MAPK10* está relacionado a síntese de melanina em bovinos (KUNENE et al., 2022). Para o BTA10, 10: 971.203pb – 5.890.965pb, foi encontrado o gene *APC* que está relacionado com a proteção da pele e, em caso de redução da sua expressão, os indivíduos estão mais susceptíveis a melanoma (WORM et al., 2004). Também foi encontrado no BTA10, 10: 971.203pb – 5.890.965pb, o gene *DCP2*, que está relacionado ao fenótipo de plumagem preta em galinhas (MAO et al., 2019) fenótipo similar ao denominado “moura”, que é a presença de pigmentação preta em partes do corpo ou predominância de cor escura.

O gene *LVRN* apresentou-se como uma interseção entre o cenário 6 e 9, 10: 2.549.276pb – 7.546.126pb e 10: 971.203pb – 5.890.965pb, respectivamente, estando localizado na posição 10: 4.850.650pb – 4.929.715pb. Lyons et al. (2021), avaliaram o padrão de pelagens existentes em gatos domésticos e encontraram que o gene *LVRN* é responsável pelos diferentes padrões de manchas e pigmentos nas diferentes pelagens. Esse gene pode ter sido encontrado nas duas análises, pois o fenótipo chita clara e moura clara podem ser confundidos durante a análise das pelagens para registro, podendo este, ser um importante gene candidato para diferenciação entre essas duas pelagens. Entretanto, Riffert (2015) não encontrou nenhuma região em comum entre cenários comparando as pelagens mouras com amarela + vermelha e chita clara com amarela + vermelha.

Apesar da janela, 18: 16.348.664pb – 21.337.120pb, encontrada no BTA18 para o cenário 9 estar próxima a posição do gene *MC1R*, foram encontrados também dois genes candidatos, o *CYLD* e o *SALL1*. O gene *CYLD* está relacionado a mecanismos de transporte e estabilização de melanossomas (SPELLERBERG et al., 1999; WANG et al., 2022; NIU et al., 2022) e o gene *SALL1* foi relacionado à variação da intensidade da pelagem castanha em equinos (HAMMONS et al., 2021). Estes dois genes, *CYLD* e o *SALL1*, podem estar relacionados a diferenciação da intensidade de cor da pelagem de bovinos da raça Gir.

Riffert (2015) também analisou um cenário composto por chita clara contra chitado de amarela + chitada de vermelha e não encontrou nenhuma região significativa. A autora realizou também o cenário chitada de amarela + chitada de vermelha + chita clara contra amarela chitada

+ vermelha chitada, tendo como resultado regiões no BTA6, encontrando o gene *KIT*, o qual foi discutido anteriormente, BTA13, BTA16 e o BTA18 apresentando o *MC1R* como candidato. Esse cenário é similar ao cenário 7 do atual estudo, em que foram utilizados animais de pelagem vermelha chitada contra animais chitada de vermelha e encontradas regiões no BTA2, 2: 76.753.025pb – 81.526.017pb, e BTA18, 18: 27.873.728pb – 32.815.939pb.

Para o BTA2, 2: 76.753.025pb – 81.526.017pb, foram observados os genes candidatos *STAT1* e *MYO1B*. O gene *STAT1* interage com os o gene *TYR* e *KIT* durante a melanogênese (BOUDNY et al., 2005; CHAIX et al., 2011; MO et al., 2022). Esses dois genes já foram relatados anteriormente afetando a pelagem de bovinos no qual o *TYR* está relacionado com a pelagem preta e o *KIT*, com a ocorrência de diferentes padrões de marcações pelo corpo (DORSHORT et al., 2015; WANG et al., 2019), como é o caso do presente cenário avaliado. Já o gene *MYO1B* está intimamente relacionado ao gene *PMEL* durante a sua expressão (SALAS-CORTES et al., 2005). Como observado nos estudos de Gutierrez-Gil et al. (2007) e Schmutz et al. (2012), o gene *PMEL* apresenta-se como um dos genes responsáveis por causar a diluição na cor da pelagem de bovinos.

O gene candidato *CDH11* encontrado no BTA18, 18: 27.873.728pb – 32.815.939pb, cenário 7 (vermelha chitada x chitada de vermelha), está relacionado a hiperpigmentação em humanos, causando melasma. Além disso, notou-se que o gene *CDH11*, quando super-expresso, aumenta a expressão de *MITF* e *TYR*, podendo essa ser a causa de melasma em humanos (KIM et al., 2014; ESPÓSITO et al., 2022) e esse fato podendo estar relacionado a ocorrência de marcações na cabeça dos animais do cenário 7.

Para o cenário 3 (vermelha x vermelha gargantilha), foi encontrada uma região no BTA16, 16:23.927.113pb – 28.848.328pb e Riffert (2015) encontrou um SNP significativo na posição 12.000.000pb. Nessa região, encontrou-se o gene *LBR* relacionado à formação da coloração da pelagem e estrutura do pelo em camundongos (GIEHL et al., 2008).

Riffert (2015), ao comparar animais de pelagem amarela chitada + vermelha chitada com animais de pelagem amarela + vermelha na raça Gir, obteve um SNP significativo na posição 40.000.000pb no cromossomo 9 encontrando o gene *FIG4* como candidato, entretanto a literatura não informava relação desse gene com a pelagem. Já em nosso estudo realizando um cenário similar, cenário 4 (vermelha x vermelha chitada), foram obtidas regiões no BTA9, 9: 83.623.242pb – 88.540.232pb, e BTA10, 10: 89.817.652pb – 94.772.442pb. No BTA9, foi observado que os genes *GRM1* e *LAST1* estão envolvidos em processos relacionados a ocorrência e susceptibilidade de melanoma em humanos e camundongos, apresentando efeitos melanísticos (NAMKOONG et al., 2007; ORTIZ et al., 2007; SCHIFFNER et al., 2012;

KAZIMIERCZAK et al., 2021). Já o gene *AKAP12* foi relatado influenciado a pigmentação de lagartos que variavam de preto a amarelo claro e de peixes ciclídeos (SANTOS et al., 2016; JIN et al., 2022).

Ainda nessa região do BTA9, está o gene *RAB32* que tem importância na melanogênese e que também tem relação com o gene *TYRP1* e *PMEL*, genes já relatados anteriormente afetando a coloração da pelagem (WASMEIER et al., 2006). Schmutz et al. (2012) trazem que o gene *PMEL* é responsável por ocasionar diluição na pelagem de bovinos enquanto Dorshort et al. (2015) apresentam que o gene *TYRP1* é um dos responsáveis pela pelagem escura. Outro gene candidato encontrado no BTA9 do cenário 4 é o *SASH1*, que apresenta relação com a ocorrência de marcações hipopigmentadas ou hiperpigmentadas pelo corpo de humanos (SHELLMAN et al., 2015; COURCET et al., 2015).

Para o BTA10, 10: 89.817.652pb – 94.772.442pb, encontrado no cenário 4, foram observados 2 genes candidatos, sendo eles o *DIO2* e *NRXN3*. *DIO2* foi relacionado a pigmentação em embriões de Peixe Zebra (WALPITA et al., 2009). Além disso, a expressão de *DIO2* e *NRXN3* foram associadas a ocorrência de rosáceas em humanos (APONTE et al., 2018).

Para o cenário 6 do atual estudo, foi realizada a análise utilizando animais de pelagem vermelha contra chita clara. Foram localizadas regiões no BTA6, 6: 65.992.280pb – 70.978.405pb e BTA10, 10: 2.549.276pb – 7.546.126pb, já discutidas anteriormente, e outra no BTA6, 6: 84.847.352pb – 89.736.709pb que abriga diversos genes candidatos como *ADAMTS3*, *ALB*, *AREG*, *GC* e *RASSF6*. O gene *ADAMTS3* foi relatado anteriormente por Bovo et al. (2021) causando marcações brancas na pelagem de bovinos. Os genes *ALB*, *GC* e *RASSF6* foram relatados anteriormente causando marcações brancas em caprinos, suínos, equinos e codornas (JOHANSSON et al., 1992; BROOKS et al., 2002; MIWA et al., 2006; HENKEL et al., 2019). A presença desses genes está em consenso com o presente fenótipo analisado no cenário 6, pois nele é analisado a presença de marcações brancas. Além desses, também foi encontrado o gene *AREG* que foi relacionado a pigmentação da pele em camundongos (LU et al., 2021).

Já para o cenário 2, em que se buscou-se verificar regiões associadas a gradação de manchas brancas, foram encontrados os genes *CCN2*, *EPPI*, *MED23* e genes da família *trace amine receptors*, no BTA9, 9: 67.996.881pb – 72.973.276pb. Os genes *CCN2*, *EPPI* e a família de genes *trace amine receptors* atuam na pele e na pigmentação através de vias de sinalização e regulação (EYTAN et al., 2013; SHON et al., 2016; HENROT et al., 2018; VAGANOVA et al., 2022).

Já o gene *MED23* (BTA9), encontrado nos cenários 2 e 3, é responsável por ocasionar marcações pigmentadas no pescoço de galinhas (WANG et al., 2019). Fato esse interessante, pois em nossa pesquisa a mesma janela cromossômica, 9: 67.996.881pb – 72.973.276pb, encontrada no para o cenário 2 também foi encontrada para o cenário 3, que apresenta o confronto entre animais de pelagem vermelha x vermelha gargantilha, fenótipo semelhante ao encontrado por Wang et al. (2019) em galinhas. Além disso, *MED23* regula a expressão do gene *MITF* (XIA et al., 2017) já reportado por afetar marcações brancas em bovinos (HAYES et al., 2010; FONTANESI et al., 2011).

No cenário 1 (todas as pelagens), o gene candidato *HELLS*, localizado no BTA26, 26: 12.936.855pb – 17.915.874pb, foi encontrado em camundongo com uma relação a uma maior velocidade em desenvolver pelos brancos (SUN et al., 2004). Além disso, esse gene pertence a uma família de genes SWI/SNF, que regula o gene *MITF* durante a síntese de melanina e já foi associado a proporção de manchas brancas em taurinos (FONTANESI et al., 2011). Atrelado a isso, Hayes et al. (2010), realizando uma pesquisa similar ao presente estudo, em que avaliaram a proporção de pelagem preta em bovinos da raça Holandesa e obtiveram que os genes *MITF* e *KIT* eram os principais responsáveis pela variação da proporção de preto na pelagem da raça. Esses resultados também estão de acordo com Fontanesi et al. (2011), o qual relatou que os genes *MITF* e *KIT* também estão interferindo na proporção de manchas no corpo nas raças Holandesa e Simmental.

Ao analisar o cenário 8 observa-se que os genes encontrados, descritos a seguir, no BTA3, 3: 109.252.433pb – 114.137.251pb, estão relacionados alguns genes como o *KCNJ13* já relacionado a diversos padrões de pigmentação em peixes do gênero *Danio* (PODOBNIK, 2021) e o gene *AGO1* foi relacionado a diferentes intensidades e padrões de pigmentação em insetos da espécie *O. furnacalis* na região da cutícula (YOU et al., 2018). Os genes candidatos da família da conexina *GJB4* e *GJB3* estão associados a ocorrência de diferentes padrões de marcações vermelhas/marrons no corpo de humanos (RICHARD et al., 1998; RICHARD et al., 2003). Além deles foi encontrado o gene candidato *TFAP2E* relacionado a diferenciação dos melanócitos, interagindo diretamente com os genes *MC1R*, *MITF*, *KIT*, *DCT*, *TYR* e *TYRP1* (OTTERLOO et al., 2010). Entretanto, esses novos genes candidatos ainda não foram relatados como afetando a cor da pelagem em bovinos.

Já no BTA8, para o cenário 8, observou-se o gene *BNC2* como possível candidato. Esse gene está relacionado a diferenciação da pelagem de ovelhas e possível associação com o gene *TYRP1* (SEROUSSI et al., 2017) e também está associado ao padrão de manchas pigmentadas em peixes zebra (LANG et al., 2009). Lu et al. (2016) relataram que o gene *CNTLN* afeta a

pelagem em suínos nativos da China causando marcações brancas em sua pelagem. O último gene candidato dessa região é o *RPS6*, em camundongos ele apresenta-se regulando a melanogênese juntamente com os genes *KIT* e *MITF* interferindo diretamente na pigmentação dos animais (MCGOWAN et al., 2008).

Ao analisar os gráficos Manhattan Plot (Figuras suplementares 1 a 9) e as regiões genômicas associadas nos diversos cenários (Tabela 6), pode-se sugerir que a ação não é apenas aditiva, podendo haver efeito epistático pelo fato de as regiões serem distintas dependendo da comparação que é feita, sendo interessante o tratamento de efeito epistático para explicar a variação. Outros estudos analisando a pelagem de diferentes espécies de animais, cães (SLAVNEY et al., 2021), cabras (NAZARI – GHADIKOLAEI et al., 2018) e bovinos (DORSHORST et al., 2015), também já identificaram efeito epistático para a determinação da pelagem.

Atrelando os resultados do GWAS aos resultados obtidos ao realizar o mapeamento fino do gene *MC1R*, pode-se sugerir que o gene *MC1R* não é um dos principais genes responsáveis por determinar a cor da pelagem em bovinos da raça Gir. Isso também foi observado por Bovo et al. (2021) ao realizarem um GWAS para avaliar a variação da pelagem na raça Reggiana. Todavia, um fato interessante é que Dorshort et al. (2015) relataram que o gene *MC1R* pode exercer efeito epistático em outros genes como *KIT* por exemplo, que aparenta exercer grande influência nas diferentes graduações de marcações brancas na pelagem de bovinos (HAYES et al., 2010). E devido a isso, o gene *MC1R* pode não ter sido encontrado durante as análises.

A deleção c.311 G>del encontrada nos haplótipos H6 e H7 parece exercer efeito na despigmentação em bovinos da raça Gir. O animal barroso é portador em heterozigose do H7 e um animal amarelo é portador em heterozigose do H6 e parece ser mais claro que os demais (Figura 1; Tabela 2). Animais vermelhos são portadores do H6, mas parecem não exercer efeito fenotípico. Santana et al. (2021) relataram a mesma deleção em bovinos da raça Guzerá, presente com o genótipo H6/H6, ocasionando alteração de coloração da pelagem e despigmentação em homozigose. Diversos SNPs do *MC1R* (Tabela 4) já foram associados a alteração da coloração da pelagem em bovinos. Pretende-se ainda genotipar mais animais das pelagens de bovinos da raça Gir e realizar associações estatísticas para tentar observar possível influência dos haplótipos na variação da coloração.

Dessa forma, avaliaram-se os efeitos genéticos sobre a pelagem da raça Gir e, além disso, foram propostos novos genes afetando a pelagem de bovinos, possibilitando futuros estudos que busquem decifrar as pelagens da raça Gir. Estudos sobre a descrição genética da coloração

da pelagem em zebuínos ainda são escassos e fazem-se necessários validar marcadores para seleção.

6. CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos no presente estudo, estabeleceu-se novos caminhos para pesquisas relacionadas à cor pelagem na raça Gir, sugerindo que esta seja uma característica de ordem poligênica. Propõe-se também, que variantes genéticas do gene *MC1R* estejam associadas a fenótipos de despigmentação. Estudos com maior número de animais, painéis de SNPs mais densos e mapeamento fino de regiões candidatas são essenciais para desvendar a arquitetura genética da expressão da coloração da pelagem em bovinos da raça Gir.

7. AGRADECIMENTOS

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida para que fosse possível se dedicar a pesquisa. Aos produtores e colaboradores por terem cedido material biológico para realização do estudo. A Associação Brasileira de Criadores de Zebuino (ABCZ) pelos dados e orientações prestadas.

8. DADOS SUPLEMENTARES

Figura S1 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 1 (Todas as pelagens).

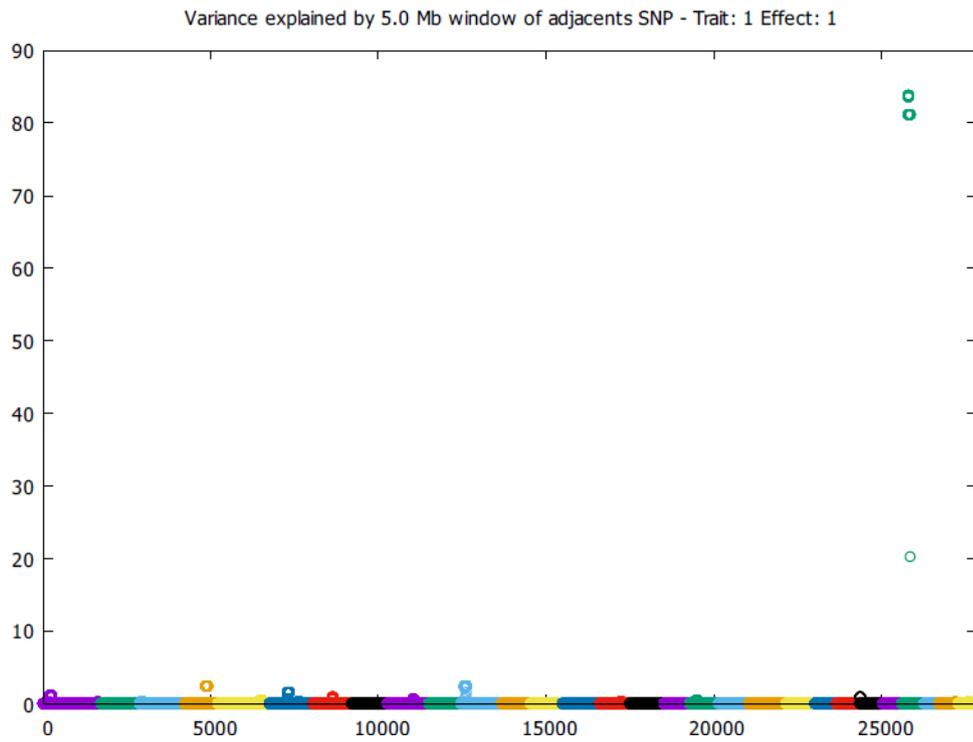


Figura S2 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 2 (vermelha + amarela x vermelha gargantilha x vermelha chitada + amarela chitada x chitada de vermelha + chitada de amarela)

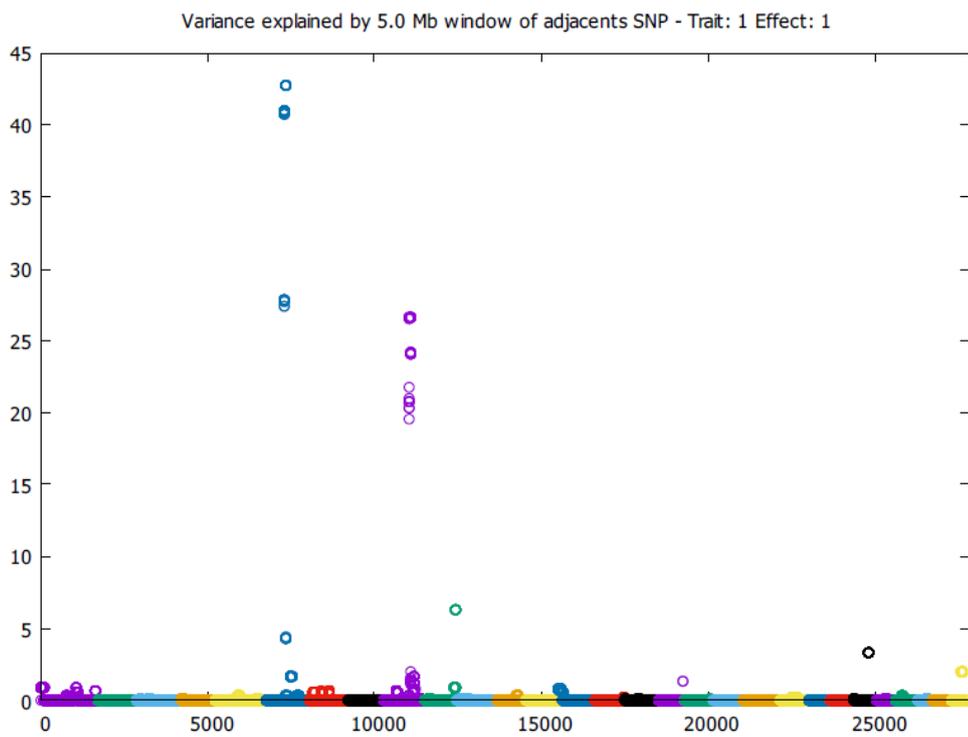


Figura S3 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 3 (vermelha x vermelha gargantilha).

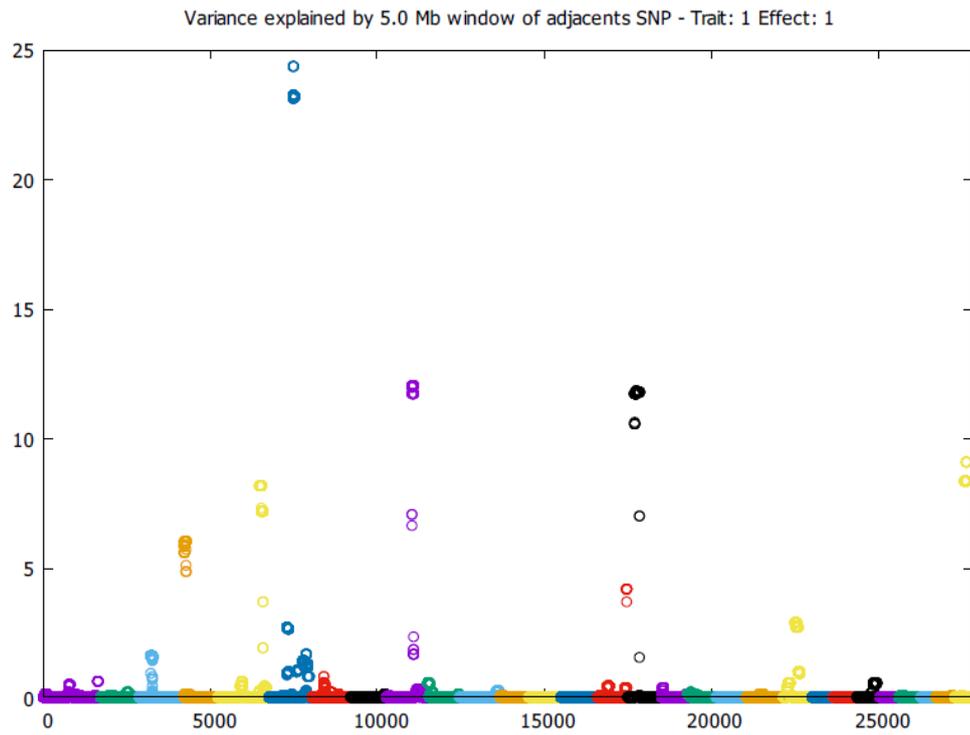


Figura S4 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 4 (vermelha x vermelha chitada).

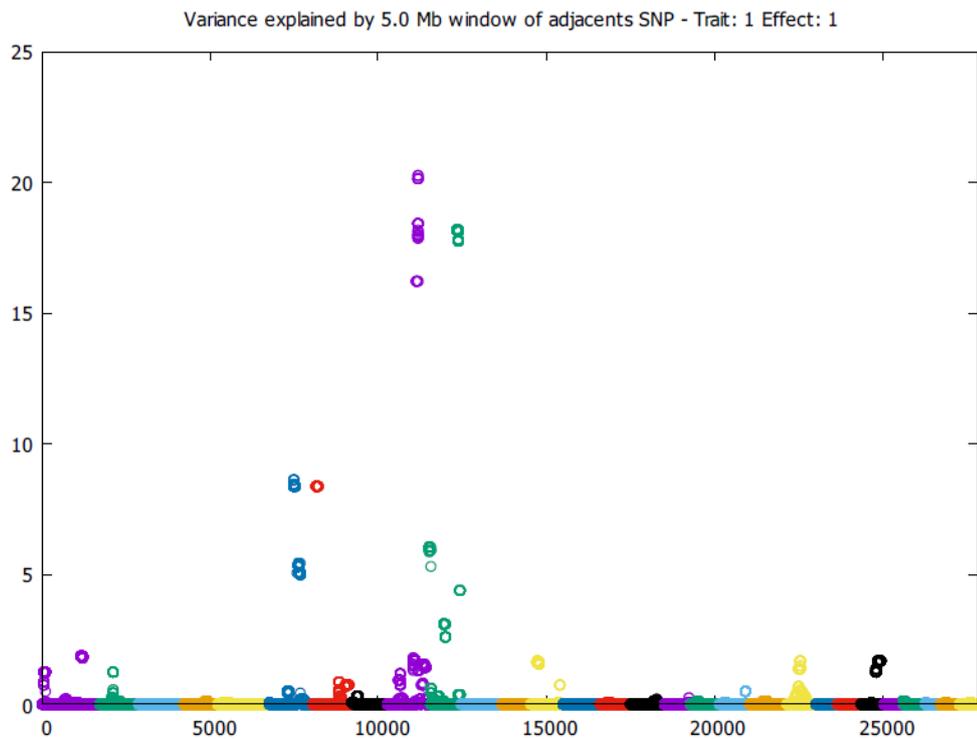


Figura S5 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 5 (vermelha x chitada vermelha).

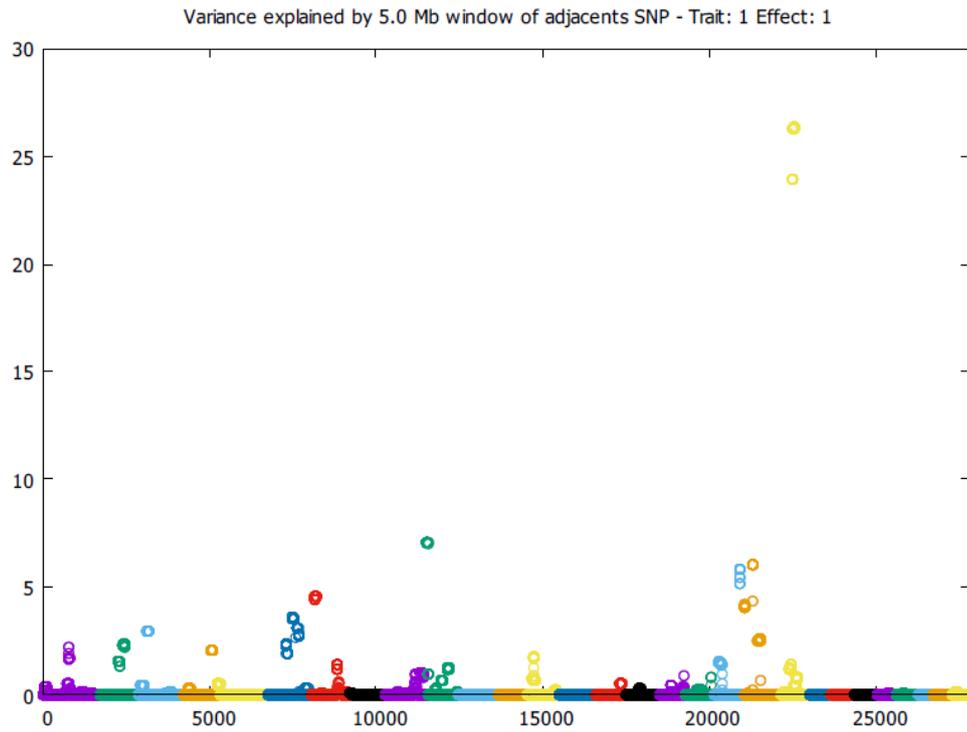


Figura S6 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 6 (vermelha x chita clara).

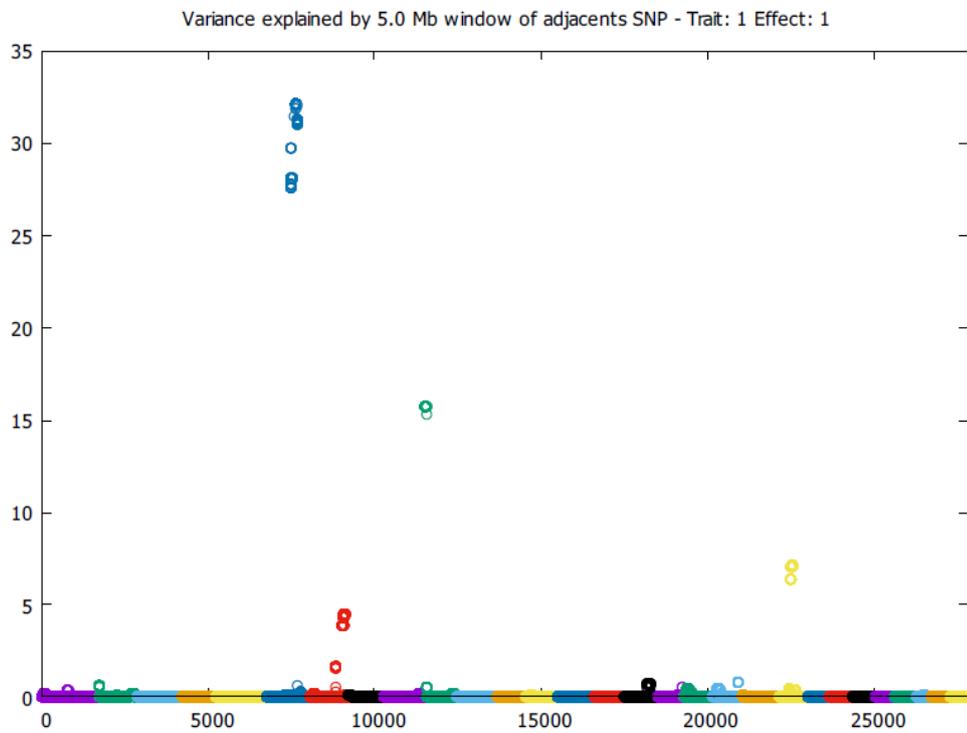


Figura S7 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 7 (vermelha chitada x chitada de vermelha).

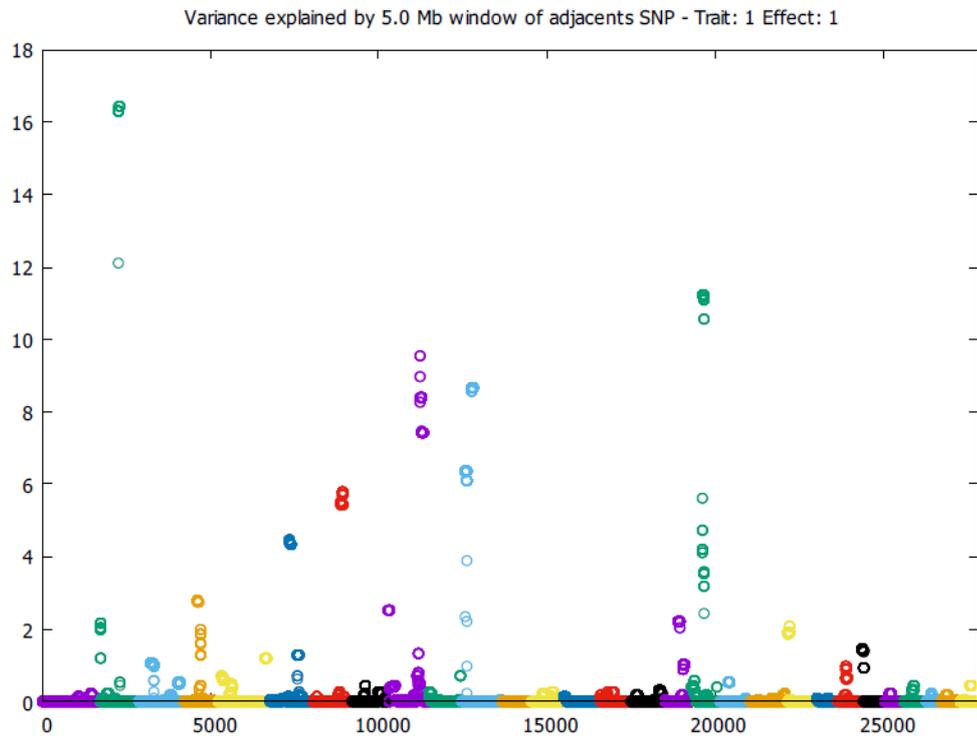


Figura S8 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 8 (vermelha + vermelha gargantilha + vermelha chitada + chitada de vermelha x amarela + amarela chitada + chitada de amarela).

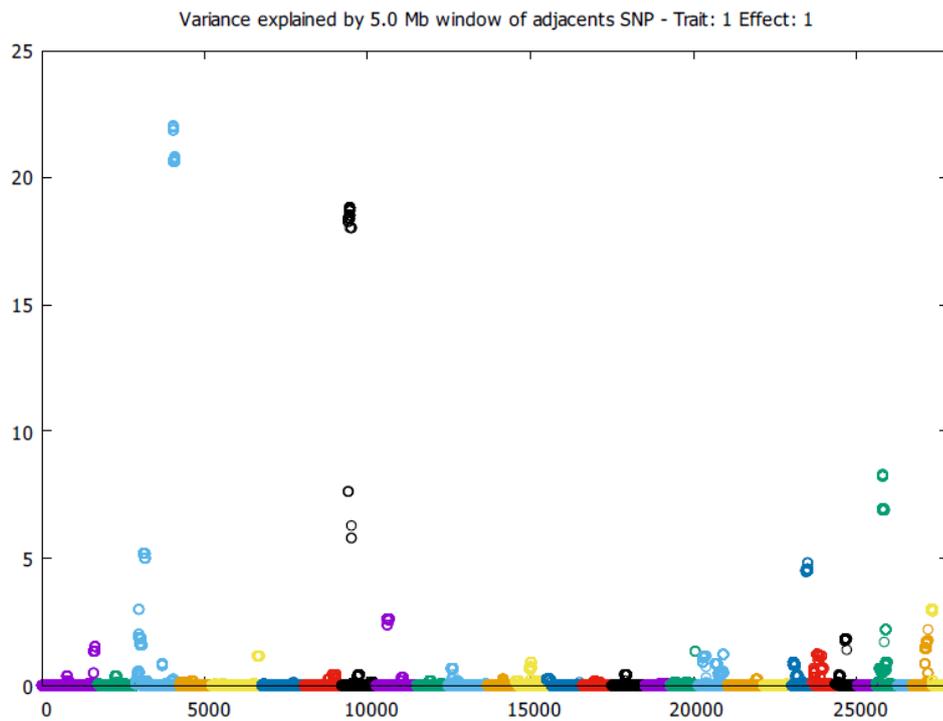
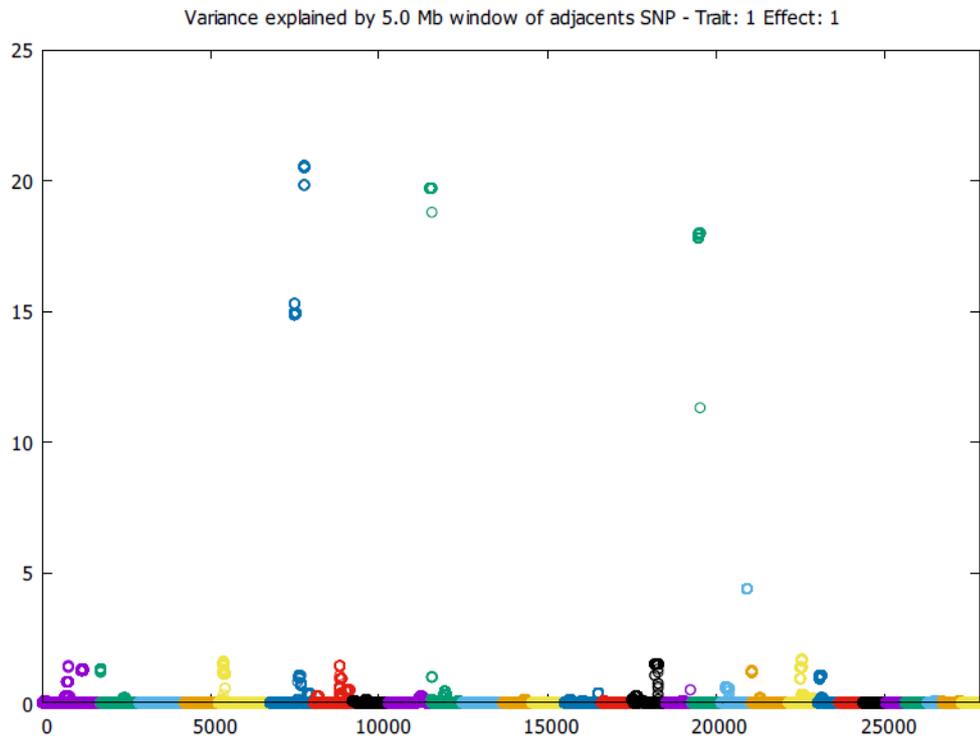


Figura S9 – Gráfico Manhattan Plot obtido para o cenário 9 (vermelha x moura clara + moura escura + moura de vermelha)



9. REFERÊNCIAS

- ALBERTO, F. J.; BOYER, F.; WENGEL, P. O.; STREETER, I.; SERVIN, B.; VILLEMEREUIL, P.; BENJELLOUN, B.; LIBRADO, P.; BISCARINI, F.; COLLI, L.; BARBATO, M.; ZAMANI, W.; ALBERTI, A.; ENGELN, S.; STELLA, A.; JOOST, S.; AJMONE-MARSON, P.; NEGRINI, R.; ORLANDO, L.; REZAEI, H. R.; NADERI, S.; CLARKE, L.; FLICEK, P.; WINCKER, P.; COISSAC, E.; KIJAS, J.; TOSSER-KLOPP, G.; CHIKHI, A.; BRUFORD, M. W.; TABERLET, P.; POMPANON, F. Convergent genomic signatures of domestication in sheep and goats. **Nature Communications**, v. 9, p. 1-9, 2018.
- ANDERSON, D. E. Genetic Study of Eye Cancer in Cattle. **The journal of Heredity**, v. 82, p. 21-26, 1991.
- APONTE, J. L.; CHIANO, M. N.; YERGES-ARMSTRONG, L. M.; HINDS, D. A.; TIAN, C.; GUPTA, A.; GUO, C.; FRASER, D. J.; FREUDENBERG, J. M.; RAJPAL, D. K.; EHM, M. G.; WATERWORTH, D. M. Assessment of rosacea symptom severity by genome-wide association study and expression analysis highlights immuno-inflammatory and skin pigmentation genes. **Human Molecular Genetics**, v. 27, p. 2762-2772, 2018.
- Associação Brasileira dos Criadores de Gir Leiteiro (ABCGIL). Disponível: <<http://girleiteiro.org.br/>>. Acesso em: 19 out. 2022.
- Associação Brasileira dos Criadores de Girolando (GIROLANDO). Disponível em: <<https://www.girolando.com.br/>>. Acesso em: 19 out. 2022
- Associação Brasileira dos Criadores de Zebu (ABCZ). Disponível em: <<https://www.abcz.org.br/>>. Acesso em: 19 out. 2022.
- Associação Brasileira dos Criadores de Zebu (ABCZ). **Regulamento do Serviço de Registro Genealógico das Raças Zebuínas**, 2020.
- Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ). **Consulta pública de animais**. Disponível em: <<https://www.abcz.org.br/produtos-e-servicos/consulta-publica-de-animais>>. Acesso em: 30 out. 2022.
- ARAÚZ, E. E. Influence of hair color on body thermal performance, kinetic of caloric overheat load and heart-respiratory circadian alteration in lactating crossbred dairy cows (6/8 *Bos taurus* x 2/8 *Bos indicus*) under heat stress in the humid tropic. **Revista eletrônica de Veterinária**, v. 18, p. 1-45, 2017.
- BAXTER, L. L.; MONTOLIU, L.; PAVA, W. J.; LOFTUS, S. K. International Federation of Pigment Cell Societies. Disponível em: <<http://www.ifpcs.org/colorgenes/>>. Acesso em: 30 de fev de 2023.

- BERTIPAGLIA, E. C. A.; SILVA, R. G.; MAIA, A. S. C. Fertility and hair coat characteristics of Holstein cows in a tropical environment. **Animal reproduction**, v. 2, p. 187-194, 2005.
- BERTOLINI, F.; SCHIAVO, G.; BOVO, S.; SARDINA, M. T.; MASTRANGELO, S.; DALL'OLIO, S.; PORTOLANO, B.; FONTANESI, L. Comparative selection signature analyses identify genomic footprints in Reggiana cattle, the traditional breed of the Parmigiano-Reggiano cheese production system. **Animal**, v. 14, p. 921 – 932, 2020.
- BOUDNY, V., DUSEK, L., ADAMKOVA, L., CHUMCHALOVÁ, J., KOCÁK, I., FAIT, V.; LAUEROVÁ, L.; KREJCI, E.; KOVARIK, J. Lack of STAT 1 phosphorylation at TYR 701 by IFN γ correlates with disease outcome in melanoma patients. **Neoplasma**, v. 52, p. 330-337, 2005.
- BOVO, S.; SCHIAVO, G.; KAZEMI, H.; MOSCATELLI, G.; RIBANI, A.; BALLAN, M.; BONACINI, M.; PRANDI, M.; DALL'OLIO, S.; FONTANESI, L. Exploiting within-breed variability in the autochthonous Reggiana breed identified several candidate genes affecting pigmentation- related traits, stature and udder defects in cattle. **Animal Genetics**, v. 52, p. 579-597, 2021.
- BROOKS, S. A.; TERRY, R. B.; BAILEY, E. A PCR-RFLP for KIT associated with tobiano spotting pattern in horses. **Animal Genetics**, v. 33, p. 301-303, 2002.
- CARDOSO, C. P.; SILVA, B. F.; GONÇALVES, D. S.; TAGLIARI, N. J.; SAITO, M. E.; AMARANTE, A. F. T. Resistência contra ectoparasitas em bovinos da raça Crioula Lageana e meio-sangue Angus avaliada em condições naturais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 34, p. 141-146, 2014.
- CHAIX, A.; LOPEZ, S.; VOISSET, E.; GROS, L.; DUBREUIL, P.; DE SEPULVEDA, P. Mechanisms of STAT protein activation by oncogenic KIT mutants in neoplastic mast cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, p. 5956-5966, 2011.
- CHARLIER, C.; DENYS, B.; BELANCHE, J. I.; COPPIETERS, W.; GROBET, L.; MNI, M.; WOMACK, J.; HANSET, R.; GEORGES, M. Microsatellite mapping of the bovine roan locus: a major determinant of White Heifer Disease. **Mammalian Genome**, v.7, p. 138-142, 1996.
- CHEN, S.; ZHU, B.; YIN, C.; LIU, W.; HAN, C.; CHEN, B.; LIU, T.; LI, X.; CHEN, X.; LI, C.; HU, L.; ZHOU, J.; XU, Z.; GAO, X.; WU, X.; GODING, C. R.; CUI, R. Palmitoylation-dependent activation of MC1R prevents melanomagenesis. **Nature**, v. 549, p. 399-403, 2017.

- CHHOTARAY, S.; PANIGRAHI, M.; BHUSHAN, B.; GAUR, G. K.; DUTT, T.; MISHRA, B. P.; SINGH, R. K. Genome-wide association study reveals genes crucial for coat color production in Vrindavani cattle. **Livestock Science**, v. 247, p. 1-8, 2021.
- CICHOREK, M.; WACHULSKA, M.; STASIEWICZ, A.; TYMINSKA, A. Skin melanocytes: biology and development. **Postepy Dermatol Alergol**, v. 30, p. 30-41, 2013.
- COURCET, J. B.; ELALAOUI, S. C.; DUPLOMB, L.; TAJIR, M.; RIVIÈRE, J. B.; THEVENON, J.; GIGOT, N.; MARLE, N.; ARAL, B.; DUFFOURD, Y.; SARASIN, A.; NAIM, V.; COURCET-DEGROLARD, E.; AUBRIOT-LORTON, M. H.; MARTIN, L.; ABRID, J. E.; THAUVIN, C.; SEFIANI, A.; VABRES, P.; FAIVRE, L. Autosomal-recessive SASH1 variants associated with a new genodermatosis with pigmentation defects, palmoplantar keratoderma and skin carcinoma. **European Journal of Human Genetics**, v. 23, p. 957-9652, 2015.
- DALY, K. G.; DELSER, P. M.; MULLIN, V. E.; SCHEU, A.; MATTIANGELI, V.; TEASDALE, M. D.; HARE, A. J.; BURGER, J.; VERDUGO, M. P.; COLLINS, M. J. Ancient goat genomes reveal mosaic domestication in the Fertile Crescent. **Science**, v. 361, p. 85-88, 2018.
- DENIS, B. Do lobo ao cão: Diversidade fenotípica observável nas raças caninas. **Veterinary focus**, v. 17, n. 2, p. 45 – 48, 2007.
- DIKMEN, S.; DAHL, G. E.; COLE, J. B.; NULL, D. J.; HANSEN, P. J. The Larson Blue coat color phenotype in Holsteins: Characteristics and effects on body temperature regulation and production in lactating cows in a hot climate. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 1164-1169, 2017.
- DORSHORST, B.; HENEGAR, C.; LIAO, X.; ALMÉN, M. S.; RUBIN, C. J.; ITO, S.; WAKAMATSU, K.; STOTHARD, P.; DOORMAAL, B.; PLASTOW, G.; BARSH, G. S.; ANDERSSON, L. Dominant Red Coat Color in Holstein Cattle Is Associated with a Missense Mutation in the Coatomer Protein Complex, Subunit Alpha (COPA) Gene. **Plos One**, p. 1-18, 2015.
- DUARTE, I. N. H.; BESSA, A. F. O.; ROLA, L. D.; GENUÍNO, M. V. H.; ROCHA, I. M.; MARCONDES, C. R.; REGITANO, L. C. A.; MUNARI, D. P.; BERRY, D. P.; BUZANSKAS, M. E. Cross-population selection signatures in Canchim composite beef cattle. **Plos one**, v. 17, p. 1-15, 2022.
- ERIKSSON, J.; LARSON, G.; GUNNARSSON, U.; BED'HOM, B.; TIXIER-BOICHARD, M.; STRÖMSTEDT, L.; WRIGHT, D.; JUNGERIUS, A.; VEREIJKEN, A.; RANDI, E.;

- JENSEN, P.; ANDERSSON, L. Identification of the Yellow Skin Gene Reveals a Hybrid Origin of the Domestic Chicken. **Plos Genetics**, v. 4, p. 1-8, 2008.
- ESPÓSITO, A. C. C.; BRIANEZI, G.; MIOT, L. D. B.; MIOT, H. A. Fibroblast morphology, growth rate and gene expression in facial melasma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, p. 575-582, 2022.
- EYTAN, O.; MORICE-PICARD, F.; SARIG, O.; EZZEDINA, K.; ISAKOV, O.; LI, Q.; ISHIDA-YAMAMOTO, A.; SHOMRON, N.; GOLDSMITH, T.; FUCHS-TELEM, D.; ADIR, N.; UITTO, J.; ORLOW, S. J.; TAIEB, A.; SPRECHER, E. Cole Disease Results from Mutations in ENPP1. **The American Journal of Human Genetics**, v. 93, p. 752-757, 2013.
- FONTANESI, L.; SCOTTI, E.; RUSSO, V. Haplotype variability in the bovine MITF gene and association with piebaldism in Holstein and Simmental cattle breeds. **Animal Genetics**, 43, p. 250-256, 2011.
- FRANTZ, L. A. F.; HAILE, J.; LIN, A. T.; SCHEU, A.; GEÖRG, C.; BENECKE, N.; ALEXANDER, M.; LINDERHOLM, A.; MULLIN, V. E.; DALY, K. G.; BATTISTA, V. M.; PRICE, M.; GRON, K. J.; ALEXANDRI, P.; ARBOGAST, R. M.; ARBUCKLE, B.; BALASESCU, A.; BARNETT, R.; BARTOSIEWICZ, L.; BARYSHNIKOV, G.; BONSALE, C.; BORIC, D.; BORONEANT, A.; BULATOVIC, J.; ÇAKIRLAR, C.; CARRETERO, J. M.; CHAPMAN, J.; CHURCH, M.; CROOIJMANS, R.; CUPERE, B.; DETRY, C.; DIMITRIJEVIC, V.; DUMITRASCU, V.; PLESSIS, L.; EDWARDS, C.; EREK, C. M.; ERIM-ÖZDOĞAN, A.; ERVYNCK, A.; FULGIONE, D.; GLIGOR, M.; GÖTHERSTRÖM, A.; GOURICHON, L.; GROENEN, M. A. M.; HELMER, D.; HONGO, H.; HORWITZ, L. K.; IRVING-PEASE, E.K.; LEBRASSEUR, O.; LESUR, J.; MALONE, C.; MANASERYAN, N.; MARCINIAK, A.; MARTLEW, H.; MASHKOUR, M.; MATTHEWS, R.; MATUZEVICIUTE, G. M.; MAZIAR, S.; MEIJAARD, E.; MCGOVERN, T.; MEGENS, H. J.; MILLER, R.; MOHASEB, A. F.; ORSCHIEDT, J.; ORTON, D.; PAPATHANASIOU, A.; PEARSON, M. P.; PINHASI, R.; RADMANOVIC, D.; RICAUT, F. X.; RICHARDS, M.; SABIN, R.; SARTI, L.; SCHIER, W.; SJEIKHI, S.; STEPHAN, E.; STEWART, J. R.; STODDART, S.; TAGLIACOZZO, A.; TASIC, N.; TRANTALIDOU, K.; TRESSET, A.; VALDIOSERA, C.; HURK, Y.; POUCKE, S.; VIGNE, J. D.; YANEVICH, A.; ZEEB-LANZ, A.; TRIANTAFYLLIDIS, A.; GILBERT, M. T. P.; SCHIBLER, J.; ROWLEY-CONWY, P.; ZEDER, M.; PETERS, J.; CUCCHI, T.; BRANDLEY, D. G.; DOBNEY, K.; BURGUER, J.; EVIN, A.; GIRDLAND-FLINK, L.; LARSON, G. Ancient pigs reveal a near-complete genomic turnover following their introduction to Europe. **Anthropology**, v.116, p. 17231-17238, 2019.

- GIEHL, K. A.; POTTER, C. S.; WU, B. SILVA, K. A.; ROWE, L. B.; AWGULEWITSCH, A.; SINDBERG, J. P. Hair interior defect in AKR/J mice. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 34, p. 509-517, 2009.
- GILBERT, S. F. Neural Crest Cells and Axonal Specificity. **Developmental Biology**, 9a edição, Capítulo 10, Página 373 –411, 2010.
- GONZÁLEZ-CANO, R.; GONZALEZ-MARTINEZ, A.; MUÑOZ-MEJIAS, M. E.; VALERA, P.; RODERO, E. Removal of undesirable MC1R gene alleles from ‘Berrenda en Negro’, an endangered Spanish cattle breed, to enhance breed conservation programs. **Livestock Science**, v. 257, p. 1-9, 2022.
- GOUD, T. S.; UPADHYAY, R. C.; ONTERU, S. K.; PICHILI, V. B. R.; CHADIPIRALLA, K. Identification and sequence characterization of melanocortin 1 receptor gene (MC1R) in *Bos indicus* versus (*Bos taurus* X *Bos indicus*). **Animal Biotechnology**, v. 31, p. 283-294, 2019.
- GOUD, T. S.; UPADHYAY, R. C.; PICHILI, V. B. R.; ONTERU, S. K.; CHADIPIRALLA, K. Molecular characterization of coat color gene in Sahiwal versus Karan Fries bovine. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, p. 1-14, 2021.
- GRAPHODATSKAYAY, D. Development of an in vitro cell culture gene expression technique to examine coat colour genes in cattle. **ETH Zürich**, Doctoral Thesis, 2002.
- GUASTELLA, A.; SORBOLINI, S.; ZUCCARO, A.; PINTUS, E.; BORDONARO, S.; MARLETTA, D.; MACCIOTTA, N. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene polymorphisms in three Italian cattle breeds. **Animal Production Science**. V. 51, p. 1039-1043, 2011.
- GUTIÉRREZ-GIL, B.; WIENER, P.; WILLIAMS, J. L. Genetic effects on coat colour in cattle: dilution of eumelanin and pheomelanin pigments in an F2-Backcross Charolais × Holstein population. **BMC Genetics**, v. 8, p. 1-12, 2007.
- HAMMONS, V.; RIBEIRO, L.; MUNYARD, K.; SADEGHI, R.; MILLER, D.; ANTCZAK, D.; BROOKS, S. A. GWAS Identifies a Region Containing the SALL1 Gene in Variation of Pigmentation Intensity Within the Chestnut Coat Color of Horses. **Journal of Heredity**, v. 112, p. 443-446, 2021.
- HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic acids symposium series** 41, 95–98, 1999.
- HANNA, L. L. H.; SANDERS, J. O.; RILEY, D. G., ABBEY, C. A.; GILL, C. A. Identification of a major locus interacting with MC1R and modifying black coat color in an F2 Nellore-Angus population. **Genetics Selection Evolution**, v. 46, p. 1-8, 2014.

- HAUSER, M.; SIGNER-HASLER, H.; KÜTTEL, L.; CAPITAN, A.; GULDBRANDTSEN, B.; HINRICHS, D.; FLURY, C.; SEEFRIED, F. R.; DRÖGEMÜLLER, C. Identification of two new recessive MC1R alleles in red-coloured Evolèner cattle and other breeds. **Animal Genetics**, v. 53, p. 427-435, 2022.
- HAYES, B. J.; PRYCE, J.; CHAMBERLAIN, A. J.; BROWMAN, P. J.; GODDARD, M. E. Genetic Architecture of Complex Traits and Accuracy of Genomic Prediction: Coat Colour, Milk-Fat Percentage, and Type in Holstein Cattle as Contrasting Model Traits. **Plos Genetics**, v. 6, p. 1-11, 2010.
- HE, Y.; HUANG, Y.; WANG, S.; ZHANG, L.; GAO, H.; ZHAO, Y.; E, G. Hereditary Basis of Coat Color and Excellent Feed Conversion Rate of Red Angus Cattle by Next-Generation Sequencing Data. **Animals**, v. 12, p. 1-9, 2022.
- HEARING, V. J.; TSUKAMOTO, K. Enzymatic control of pigmentation in mammals. **FASEB J**, v. 5, p. 2902-2909, 1991.
- HENKEL, J.; SAIF, R.; JAGANNATHAN, V.; SCHMOCKER, C.; ZEINDLER, F.; BANGERTER, E.; HERREN, U.; POSANTZIS, D.; BULUT, Z.; AMMANN, P.; DRÖGEMÜLLER, C.; FLURY, C.; LEEB, T. Selection signatures in goats reveal copy number variants underlying breed-defining coat color phenotypes. **Plos Genetics**, v. 15, p. 1-18, 2019.
- HENROT, P.; TRUCHETET, M. E.; FISHER, G.; TAIEB, A.; CARIO, M. CCN proteins as potential actionable targets in scleroderma. **Experimental Dermatology**, v. 28, p. 11-18, 2018.
- HORNER, M. R.; GOMES, A. O manejo integrado de mosca dos chifres, berne e carrapato em gado de corte. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA**, circular técnica número 22, 1990.
- ILLA, S. K.; MUKHERJEE, S.; NATH, S.; MUKHERJEE, A. Genome-Wide Scanning for Signatures of Selection Revealed the Putative Genomic Regions and Candidate Genes Controlling Milk Composition and Coat Color Traits in Sahiwal Cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 1-14, 2021.
- JARA, E.; PEÑAGARICANO, F.; ARMSTRONG, E.; MENEZES, C.; TARDIZ, L.; RODONS, G.; IRIARTE, A. Identification of Long Noncoding RNAs Involved in Eyelid Pigmentation of Hereford Cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 1-12, 2022.
- JIANG, L.; KON, T.; CHEN, C.; ICHIKAWA, R.; ZHENG, Q.; PEI, L.; TAKEMURA, I.; NSOBI, L. H.; TABATA, H.; PAN, H.; OMORI, Y.; OGURA, A. Whole-genome sequencing

of endangered Zhoushan cattle suggests its origin and the association of MC1R with black coat colour. **Nature**, v. 11, p. 1-11, 2021.

JIN, Y.; BIRLEA, S. A.; FAIN, P. R.; GOWAN, K.; RICCARDI, S. L.; HOLLAND, P. J.; MAILLOUX, C. M.; SUFIT, A. J. D.; HUTTON, S. M.; AMADI-MYERS, A.; BENNETT, D. C.; WALLACE, M. R.; MCCORNACK, W. T.; KEMP, E. H.; GAWKRODGER, D. J.; WEETMAN, A. P.; PICARDO, M.; LEONE, G.; TAIEB, A.; JOUARY, T.; EZZEDINE, K.; GEEL, N.; LAMBERT, J.; OVERBECK, A.; SPRITZ, R. A. Variant of TYR and Autoimmunity Susceptibility Loci in Generalized Vitiligo. **The New England Journal of Medicine**, v. 362, p. 1686-1697, 2010.

JIN, Y.; AGUILAR-GÓMEZ, D.; BRANDT, D. Y. C.; SQUARE, T. A.; LI, J.; LIU, Z.; WANG, T.; SUNDMANT, P. H.; MILLER, C. T.; NIELSEN, R. Population Genomics of Variegated Toad-Headed Lizard *Phrynocephalus versicolor* and Its Adaptation to the Colorful Sand of the Gobi Desert. **Genome Biology Evolution**, v. 14, p. 1-14, 2022.

JOHANSSON, M.; ELLEGREN, H.; MARKLUND, L.; GUSTAVSSON, U.; RINGMAR-CEDERBERG, E.; ANDERSSON, K.; EDFORS-LILJA, I.; ANDERSSON, L. The Gene for Dominant White Color in the Pig Is Closely Linked to ALB and PDGFRA on Chromosome 8. **Genomics**, v. 14, p. 965-969, 1992.

JONES, P.; LUCOCK, M.; CHAPLIN, G.; JABLONSKI, N. G.; VEYSEY, M.; SCARLETT, C.; BECKETT, E. Distribution of variants in multiple vitamin D-related loci (DHCR7/NADSYN1, GC, CYP2R1, CYP11A1, CYP24A1, VDR, RXR α and RXR γ) vary between European, East-Asian and Sub-Saharan African-ancestry populations. **Genes & Nutrition**, v. 15, p. 1-11, 2020.

KAZIMIERCZAK, U.; DONDAJEWSKA, E.; ZAJACZKOWSKA, M.; KARWACKA, M.; KOLENDA, T.; MACKIEWICZ, A. LATS1 is a mediator of melanogenesis in response to oxidative stress and regulator of melanoma growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 1-14, 2021.

KIJAS, J. W.; LENSTRA, J. A.; HAYES, B.; BOITARD, S.; NETO, L. R. P.; CRISTOBAL, M.; SERVIN, B.; MCCULLOCH, R.; WHAN, V.; GIETZEN, K.; PAIVA, S.; BARENDSE, W.; CIANI, E.; RAADSMA, H.; MCEWAN, J.; DALRYMPLE, B. Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. **Plos Biology**, v. 10, p. 1-14, 2012.

KIM, N. H.; CHOI, S. H.; LEE, T. R.; LEE, C. H.; LEE, A. Y. Cadherin 11, a miR-675 target, induces N-cadherin expression and epithelial–mesenchymal transition in melasma. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 134, p. 2967-2976, 2014.

- KLUNGLAND, H.; VAGE, D. I.; GOMEZ-RAYA, L.; ADALSTEINSSON, S.; LIEN, S. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. **Mammalian Genome**, v. 6, p. 636-639, 1995.
- KRIEGESMANN, B.; DIERKES, B.; LEEB, T.; JANSEN, S. Two breed-specific Bovine MC1-R alleles in brown swiss and saler breeds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1768-1771, 2001.
- KUNENE, L. M.; MUCHADEYI, F. C.; HADEBE, K.; MÉSZÁROS, G.; SÖLKNER, J.; DUGMORE, T.; DZOMBA, E. F. Genetics of Base Coat Colour Variations and Coat Colour-Patterns of the South African Nguni Cattle Investigated Using High-Density SNP Genotypes. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 1-12, 2022.
- KUNIEDA, T.; NAKAGIRI, M.; TAKAMI, M.; IDE, H.; OGAWA, H. Cloning of bovine LYST gene and identification of a missense mutation associated with Chediak-Higashi syndrome of cattle. **Mammalian Genome**, v.10, p. 1146-1149, 1999.
- LAIBLE, G.; COLE, S. A.; BROPHY, B.; WEI, J.; LEATH, S.; JIVANJI, S.; LITTLEJOHN, M. D.; WELLS, D. N. Holstein Friesian dairy cattle edited for diluted coat color as a potential adaptation to climate change. **BMC Genomics**, v. 22, p. 1-12, 2021.
- LAMARI, S.; SABER, Y. The relationship between coat color and reproductive performance of dairy cows in Algeria. **World veterinary journal**, v. 11, p. 713-717, 2021.
- LANG, M. R.; PATTERSON, L. B.; GORDON, T. N.; JOHNSON, S. L.; PARICHY, D. M. Basonuclin-2 requirements for zebrafish adult pigment pattern development and female fertility. **PLoS genetics**, v. 5, p. 1-13, 2009.
- LATTANZIO, M. S. Climate mediates color morph turnover in a species exhibiting alternative reproductive strategies. **Nature**, v. 12, p. 1-13, 2022.
- LEITE, J. H. G. M.; SILVA, R. G.; ASENSIO, L. A. B.; SOUSA, J. E. R.; SILVA, W. S. T.; SILVA, W. E.; FAÇANHA, D. A. E. Coat color and morphological hair traits influence on the mechanisms related to the heat tolerance in hair sheep. **International Journal of Biometeorology**, v. 64, p. 2185-2194, 2020.
- LI, W.; SARTELET, A.; TAMMA, N.; COPPIETERS, W.; GEORGES, M.; CHARLIER, C. Reverse genetic screen for loss-of-function mutations uncovers a frameshifting deletion in the melanophilin gene accountable for a distinctive coat color in Belgian Blue cattle. **Animal Genetics**, v. 47, p. 110-113, 2016.
- LIANG, D.; ZHAO, P.; SI, J.; FANG, L.; PAIRO-CASTINEIRA, E.; HU, X.; XU, Q.; HOU, Y.; GONG, Y.; LIANG, Z.; TIAN, B.; MAO, H.; YINDEE, M.; FARUQUE, M. O.; KONGVONGXAY, S.; KHAMPHOUMEE, S.; LIU, G. E.; WU, D.; BARKER, J. S. F.;

- HAN, J.; CHANG, Y. Genomic Analysis Revealed a Convergent Evolution of LINE-1 in Coat Color: A Case Study in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, p. 1122-1136, 2020.
- LINDERHOLM, A.; LARSON, G. The role of humans in facilitating and sustaining coat colour variation in domestic animals. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 24, p. 587 – 593, 2013.
- LIU, Y.; FANG, X.; ZHAO, Z.; LI, J.; ALBRECHT, E.; SCHERING, L.; MAAK, S.; YANG, R. Polymorphisms of the *ASIP* gene and the haplotype are associated with fat deposition traits and fatty acid composition in Chinese Simmental steers. **Archives animal breeding**, v. 62, p. 135-142, 2019.
- LÓPEZ-HERRERA, M.; BRICEÑO-ARGUEDAS, E. Comparacion de dos grupos raciales de bovinos en cuanto a incidencia de Garrapatas (*Acari:ixodidae*) y Tórsalos (*Diptera:oestridae*). **Nutrición Animal Tropical**, v. 8, p. 1-9, 2014.
- LU, D.; PATEL, I. R.; KADWELL, S.; OVERTON, L.; KOST, T.; LUTHER, M.; CHEN, W.; WOYCHIK, R. P.; WILKISON, W. O. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. **Nature**, v. 371, p. 799–802, 1994.
- LÜ, M. D.; HAN, X. M.; MA, Y. F.; IRWIN, D. M.; GAO, Y.; DENG, J. K.; ADEOLA, A. C.; XIE, H. B.; ZHANG, Y. P. Genetic variations associated with six-white-point coat pigmentation in Diannan small-ear pigs. **Scientific reports**, v. 6(1), p. 1-9, 2016.
- LU, Q.; GAO, Y.; FAN, Z.; XIAO, X.; CHEN, Y.; SI, Y.; KONG, D.; WANG, S.; LIAO, M. CHEN, X.; WANG, X.; CHU, W. Amphiregulin promotes hair regeneration of skin-derived precursors via the PI3K and MAPK pathways. **Cell Proliferation**, v. 54, p. 1-15, 2021
- LUDWIG, A.; PRUVOST, M.; REISSMANN, M.; BENECKE, N.; BROCKMANN, G. A.; CASTAÑOS, P.; CIESLAK, M.; LIPPOLD, S.; LLORENTE, L.; MALASPINAS, A. S.; SLATKIN, M.; HOFREITER, M. Coat Color Variation at the Beginning of Horse Domestication. **Science**, v. 324, p. 485, 2009.
- LUDWING, A; REISSMANN, M.; BENECKE, N.; BELLONE, R.; SANDOVAL-CASTELLANOS, E.; CIESLAK, M.; FORTES, G. G.; MORELES-MUÑIZ, A.; HOFREITER, M.; PRUVOST, M. Twenty-five thousand years of fluctuating selection on leopard complex spotting and congenital night blindness in horses. **Philosophical Transactions Royal Society B**, v. 370, 2015.
- LYONS, L. A.; BUCKLEY, R. M.; HARVEY, R. J.; 99 LIVES CAT GENOME CONSORTIUM; ABITBOL, M.; ABERDEIN, D.; ANDERSSON, A. O.; BERGSTRÖM, T. F.; BOYKO, A. R.; CASAL, M. L.; DAVIS, B. W.; DISTL, O.; ELLINWOOD, N. M.;

- FORMAN, O. P.; GINNS, E. I.; HASEGAWA, D.; JAGANNATHAN, V.; HERNANDEZ, I.; KAUKONEN, M.; LECLERC, E.; LEEB, T.; LOHI, H.; MAGNUSON, M. A.; MANE, S. P.; MUNDAY, J. S.; MYERS, A. N.; PETERSON-JONES, S. M.; RUSBRIDGE, C.; SHAPIRO, B.; SWANSON, W. F.; TODHUNTER, R. J.; WILCOX, E. A.; YU, Y. Mining the 99 Lives Cat Genome Sequencing Consortium database implicates genes and variants for the Ticked locus in domestic cats (*Felis catus*). **Animal genetics**, v. 52, p. 321-332, 2021
- MAIA, A. S. C.; SILVA, R. G.; BERTIPAGLIA, E. C. A.; MUÑOZ, M. C. Genetic variation of the hair coat properties and the milk yield of Holstein cows managed under shade in a tropical environment. **Brazilian journal of veterinary research and animal science**, v. 42, p. 180-187, 2005.
- MAIBAM, U.; HOODA, O. K.; SHARMA, P. S.; UPADHYAY, R. C.; MAHONTY, A. K. Differential level of oxidative stress markers in skin tissue of zebu and crossbreed cattle during thermal stress. **Livestock Science**, v. 207, p. 45-50, 2018.
- MANDERFIELD, L.; ENGLEKA, K. U.; AGHAJANIAN, H.; GUPTA, M.; YANG, S.; LI, L.; BAGGS, J. E.; HOGENESCH, J. B., OLSON, E. N.; EPSTEIN, J. A. Pax3 and Hippo Signaling Coordinate Melanocyte Gene Expression in Neural Crest. **Cell reports**, v. 9, p. 1885-1895, 2014.
- MAO, H.; WANG, X.; FAN, Y.; CHENG, D.; CHEN, K.; LIU, S.; XI, S.; WAN, L.; LI, X.; REN, J. Whole-genome SNP data unravel population structure and signatures of selection for black plumage of indigenous chicken breeds from Jiangxi province, China. **Animal Genetics**, v. 50, p. 475-483, 2019.
- MATSUMOTO, H.; KOJYA, M.; TAKAMUKU, H.; KIMURA, S.; KASHIMURA, A.; IMAI, S.; YAMAUCHI, K.; ITO, S. MC1R c.310G>- and c.871G > A determine the coat color of Kumamoto sub-breed of Japanese Brown cattle. **Animal Science Journal**, v. 91, p. 1-6, 2020.
- MCGOWAN, K. A.; LI, J. Z.; PARK, C. Y.; BEAUDRY, V.; TABOR, H. K.; SABNIS, A. J.; ZHANG, W.; FUCHS, H.; ANGELIS, M. H.; MYERS, R. M.; ATTARDI, L. D.; BARSH, G. S. Ribosomal mutations cause p53-mediated dark skin and pleiotropic effects. **Nature genetics**, v. 40, p. 963-970, 2008.
- MEDIC, S.; RIZOS, H.; ZIMAN, M. Differential PAX3 functions in normal skin melanocytes and melanoma cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 411, p. 832-837, 2011.

- MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; LOURENCO, D.; MASUDA, Y.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; VITEZICA, Z. Manual for BLUPF90 family of programs. **University of Georgia**, Athens, USA. 2022.
- MIWA, M.; INOUE-MURAYAMA, M.; KOBAYASHI, N.; KAYANG, B. B.; MIZUTANI, M.; TAKAHASHI, H.; ITO, S. I. Mapping of panda plumage color locus on the microsatellite linkage map of the Japanese quail. **BMC genetics**, v. 7, p. 1-5, 2006.
- MO, X.; KAZMI, H. R.; PRESTON-ALP, S.; ZHOU, B.; ZAIDI, M. R. Interferon-gamma induces melanogenesis via post-translational regulation of tyrosinase. **Pigment cell & melanoma research**, v. 35, p. 342-355, 2022.
- MOHANTY, T. R.; SEO, K. S.; PARK, K. M.; CHOI, T. J.; CHOE, H. S.; BAIK, D. H.; HWANG, I. H. Molecular variation in pigmentation genes contributing to coat colour in native Korean Hanwoo cattle. **Animal Genetics**, v. 39, p. 550-553, 2008.
- NAMKOONG, J.; SHIN, S. S.; LEE, H. J.; MARIN, Y. E.; WALL, B. A.; GOYDOS, J. S.; CHEN, S. Metabotropic glutamate receptor 1 and glutamate signaling in human melanoma. **Cancer research**, v. 67, p. 2298-2305, 2007.
- National Dairy Development Board (NDDDB). Approaches and Experiences of NDDB in Development of Gir – a promising Indigenous milch breed, 2017.
- NAZARI-GHADIKOLAEI, A.; MEHRABANI-YEGANEH, H.; MIAREI-AASHTIANI, S. R.; STAIGER, E. A.; RASHIDI, A.; HUSON, H. J. Genome-wide association studies identify candidate genes for coat color and mohair traits in the Iranian Markhoz goat. **Frontiers in genetics**, v. 9, p. 1-15, 2018.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 30 de fev de 2023.
- NELMS, B. L.; PFALTZGRAFF, E. R.; LABOSKY, P. A. Functional Interaction Between Foxd3 and Fox3 in Cardiac Neural Crest Development. **Genesis**, v. 49, p. 10-23, 2011.
- NEVES, A. P.; SCHWENGBER, E. B.; ALBRECHT, F. F.; ISOLA, J. V.; LINDEN, L. S. Beyond Fifty Shades: The Genetics of Horse Colors. **Trends and Advances in Veterinary Genetics**, capítulo 5, 2017.
- NIU, Z.; WANG, X.; XU, Y.; LI, Y.; GONG, X.; ZENG, Q.; ZHANG, B.; XI, J.; PEI, X.; YUE, W.; HAN, Y. Development and validation of a novel survival model for cutaneous melanoma based on necroptosis-related genes. **Frontiers in oncology**, v. 12, p. 1-14, 2022.
- OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; GIGLIOTI, R.; BERALDO, M. C. D.; ANÍBAL, F. F.; CORREIA, R. O.; BOSCHINI, L.; CHAGAS, A. C. S.; BILHASSI, T. B.; OLIVEIRA, H. N. Resistência de bovinos de corte de dois grupos genéticos a ectoparasitas e nematoides

gastrointestinais no estado de São Paulo, Brasil. **Parasitologia veterinária**, v. 197, p. 168-175, 2013.

OTTERLOO, E.; LI, W.; BONDE, G.; DAY, K. M.; HSU, M. Y.; CORNELL, R. A. Differentiation of zebrafish melanophores depends on transcription factors AP2 alpha and AP2 epsilon. **PLoS genetics**, v. 6, p. 1-16, 2010.

ORTIZ, P.; VANACLOCHA, F.; LOPEZ-BRAN, E.; ESQUIVIAS, J. I.; LOPEZ-ESTEBARANZ, J. L.; MARTÍN-GONZÁLEZ, M.; ARRUE, I.; GARCÍA-ROMERO, D.; OCHOA, C.; GONZÁLEZ-PEREZ, A.; RUIZ, A.; REAL, L. M. Genetic analysis of the GRM1 gene in human melanoma susceptibility. **European journal of human genetics**, v. 15, p. 1176-1182, 2007.

PANETTO, J. C. C.; SILVA, M. V. G. B.; VERNEQUE, R. S.; MACHADO, M. A.; FERNANDES, A. R.; MACHADO, C. H. C.; MARTINS, M. F.; REIS, D. R. L.; BORGES, C. A. V.; OLIVEIRA, J. C.; VENTURA, H. T.; PEREIRA, M. A.; GARCIA, A. O.; LEANDRO, F. D. 5ª Avaliação genômica de touros – Resultado do Teste de Progênie. **Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro – Sumário Brasileiro de Touros**, 2022.

PAUSCH, H.; WANG, X.; JUNG, S.; KROGMEIER, D.; EDEL, C.; EMMERLING, R.; GÖTZ, K.; FRIES, R. Identification of QTL for UV-Protective Eye Area Pigmentation in Cattle by Progeny Phenotyping and Genome-Wide Association Analysis. **Plos one**, v. 7, p. 1-10, 2012.

PHILIPP, U.; LUPP, B.; MÖMKE, S.; STEIN, V.; TIPOLD, A.; EULE, J. C.; REHAGE, J.; DISTL, O. A MITF Mutation Associated with a Dominant White Phenotype and Bilateral Deafness in German Fleckvieh Cattle. **Plos one**, v.6, p. 1-6, 2011.

PODOBNIK, M.; FROHNHÖFER, H. G.; DOOLEY, C. M.; ESKOVA, A.; NÜSSLEIN-VOLHARD, C.; IRION, U. Evolution of the potassium channel gene Kcnj13 underlies colour pattern diversification in Danio fish. **Nature communications**, v. 11, p. 1-13, 2020.

PROCREARE. **A raça gir leiteiro**. 2016. Disponível em: <https://procreare.com.br/a-racagirleiteiro/#:~:text=Hist%C3%B3ria%3A,considerada%20de%20cria%C3%A7%C3%A3o%20mais%20antiga>. Acesso em: 19 mar. 2023.

RICHARD, G.; SMITH, L. E.; BAILEY, R. A.; ITIN, P.; HOHL, D.; EPSTEIN JR, E. H.; DIGIOVANNA, J. J.; COMPTON, J. G.; BALE, S. J. Mutations in the human connexin gene GJB3 cause erythrokeratoderma variabilis. **Nature Genetics**, v. 20, p. 366-369, 1998.

RICHARD, G.; BROWN, N.; ROUAN, F.; SCHROEFF, J. G.; BIJLSMA, E.; EICHENFIELD, L. F.; SYBERT, V. P.; GREER, K. E.; HOGAN, P.; CAMPANELLI, C.;

- COMPTON, J. G.; BALE, S. J.; DIGIOVANNA, J. J.; UITTO, J. Genetic Heterogeneity in Erythrokeratoderma Variabilis: Novel Mutations in the Connexin Gene GJB4 (Cx30.3) and Genotype-Phenotype Correlations. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 120, p. 601-609, 2003.
- RIFFERT, V. E. Mapping genes responsible for coat colour patterns of the Gir cattle breed in Brazil. **University of Natural Resources and Life Sciences**, Vienna, Master Thesis, 2015.
- ROBOSKI, R. Jr. Signaling by kit protein-tyrosine kinase – The stem cell factor receptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 337, p. 1-13, 2005.
- ROUZAUD, F.; MARTIN, J.; GALLET, P. F.; DELOURME, D.; GOULEMOT-LEGER, V.; AMIGUES, Y.; MÉNISSIER, F.; LEVÉZIEL, H.; JULIEN, R.; OULMOUDEN, A. A first genotyping assay of French cattle breeds based on a new allele of the extension gene encoding the melanocortin-1 receptor (Mc1r). **Genetic Selection Evolution**, v. 32, p. 511-520, 2000.
- SALAS-CORTES, L.; YE, F.; TENZA, D.; WILHELM, C.; THEOS, A.; LOUVARD, D.; RAPOSO, G.; COUDRIER, E. Myosin Ib modulates the morphology and the protein transport within multi-vesicular sorting endosomes. **Journal of cell science**, v. 118, p. 4823-4832, 2005.
- SANTANA, C. J. S.; ALVES, J. S.; PINTO, L. F. B.; COSTA, R. B.; CAMARGO, G. M. F. A deletion in the MC1R gene alters coat color in Guzerat cattle. **Animal Genetics**, v. 52, p. 896-902, 2021.
- SANTOS, M. E.; BALDO, L.; GU, L.; BOILEAU, N.; MUSILOVA, Z.; SALZBURGER, W. Comparative transcriptomics of anal fin pigmentation patterns in cichlid fishes. **BMC genomics**, v. 17, p. 1-16, 2016.
- SAUERESSIG, T. M. “Mosca-dos-chifres”, *Haematobia irritans*: Diagnóstico e controle. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA**, 1992.
- SCHIFFNER, S.; CHEN, S.; BECKER, J. C.; BOSSERHOFF, A. K. Highly pigmented Tg (Grm1) mouse melanoma develops non-pigmented melanoma cells in distant metastases. **Experimental dermatology**, v. 21, p. 786-788, 2012.
- SCHMUTZ, S. M.; DREGER, D. L. Interaction of MC1R and PMEL alleles on solid coat colors in Highland cattle. **Animal Genetics**, v. 44, p. 9-13, 2012.
- SEROUSSI, E.; ROSOV, A.; SHIRAK, A.; LAM, A.; GOOTWINE, E. Unveiling genomic regions that underlie differences between Afec-Assaf sheep and its parental Awassi breed. **Genetics Selection Evolution**, v. 49, p. 1-10, 2017.
- SHELLMAN, Y. G.; LAMBERT, K. A.; BRAUWEILER, A.; FAIN, P.; SPRITZ, R. A.; MARTINI, M.; JANSSEN, K. P.; BOX, N. F.; TERZIAN, T.; REWERS, M.; HORVATH,

- A.; STRATAKIS, C. A.; ROBINSON, W. A.; ROBINSON, S. E.; NORRIS, D. A.; ARTINGER, K. B.; PACHECO, T. R. SASH1 is involved in an autosomal dominant lentiginous phenotype. **The Journal of investigative dermatology**, v. 135, p. 1-6, 2015.
- SHON, M. S.; KIM, R. H.; KWON, O. J.; ROH, S. S.; KIM, G. N. Beneficial role and function of fisetin in skin health via regulation of the CCN2/TGF- β signaling pathway. **Food science and biotechnology**, v. 25, p. 133-141, 2016
- SILVA, R. G.; JUNIOR, N. S.; POCAI, P. L. B. Transmissão de Radiação Ultravioleta Através do Pelame e da Epiderme de Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1939-1947, 2001.
- SLAVNEY, A. J.; KAWAKAMI, T.; JENSEN, M. K.; NELSON, T. C.; SAMS, A. J.; BOYKO, A. R. Five genetic variants explain over 70% of hair coat pheomelanin intensity variation in purebred and mixed breed domestic dogs. **PLoS One**, v. 16, p. 1-23, 2021.
- SNOWDER, G. D.; VAN VLECK, L. D.; CUNDIFF, L. V.; BENNETT, G. L. Genetic and environmental factors associated with incidence of infectious bovine keratoconjunctivitis in preweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 507-518, 2005.
- SPELLERBERG, B.; POHL, B.; HAASE, G.; MARTIN, S.; WEBER-HEYNEMANN, J.; LÜTTICKEN, R. Identification of genetic determinants for the hemolytic activity of *Streptococcus agalactiae* by IS S1 transposition. **Journal of bacteriology**, v. 181, p. 3212-3219, 1999.
- SUN, L. Q.; LEE, D. W.; ZHANG, Q.; XIAO, W.; RAABE, E. H.; MEEKER, A.; MIAO, D.; HUSO, D. L.; ARCECI, R. J. Growth retardation and premature aging phenotypes in mice with disruption of the SNF2-like gene, PASG. **Genes & development**, v. 18, p. 1035-1046, 2004.
- THOMAS, A. J.; ERICKSON, C. A. The making of a melanocyte: the specification of melanoblasts from the neural crest. **Pigment Cell Melanoma Research**, v. 21, p. 598- 610, 2008.
- THOMSETT, L. R. Skin conditions. **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**, 2a edição, p. 875-889, 2004.
- THOMPSON, J. D., GIBSON, T. J., HIGGINS, D. G. Multiple Sequence Alignment Using ClustalW and ClustalX. **Current Protocols Bioinf.** 2.3.1-2.3.22, 2002.
- VAGANOVA, A. N.; KUVARZIN, S. R.; SYCHEVA, A. M.; GAINETDINOV, R. R. Deregulation of Trace Amine-Associated Receptors (TAAR) Expression and Signaling Mode in Melanoma. **Biomolecules**, v. 12, p. 1-13, 2022.

- WALPITA, C. N.; CRAWFORD, A. D.; JANSSENS, E. D.; VAN DER GEYTEN, S.; DARRAS, V. M. Type 2 iodothyronine deiodinase is essential for thyroid hormone-dependent embryonic development and pigmentation in zebrafish. **Endocrinology**, v. 150, p. 530-539, 2009.
- WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; MUIR, W. M. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research**, v. 94, p. 73–83, 2012.
- WANG, X.; LI, D.; SONG, S.; ZHANG, Y.; LI, Y.; WANG, X.; LIU, D.; ZHANG, C.; CAO, Y.; FU, Y.; HAN, R.; LI, W.; LIU, X.; SUN, G.; LI, G.; TIAN, Y.; LI, Z.; KANG, X. Combined transcriptomics and proteomics forecast analysis for potential genes regulating the Columbian plumage color in chickens. **PloS one**, v. 14, p. 1-20, 2019.
- WANG, Y.; LI, Z.; WU, W.; LIU, Y.; XIAO, Y.; QI, D.; ZHAO, G.; ZHOU, M.; WANG, H.; LIU, J.; SONG, Z. TRPA1 promotes melanosome phagocytosis in keratinocytes via PAR-2/CYLD axis. **Journal of Dermatological Science**, v. 106, p. 181-188, 2022.
- WANG, Q.; WEN, B.; MICAH, A. D.; GAO, J. Z.; CHEN, Z. Z. Integration of transcriptomics and metabolomics reveals amelanism mechanism of Oscar *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831). **Hydrobiologia**, v. 850, p. 1-24, 2023.
- WASMEIER, C.; ROMAO, M.; PLOWRIGHT, L.; BENNETT, D. C.; RAPOSO, G.; SEABRA, M. C. Rab38 and Rab32 control post-Golgi trafficking of melanogenic enzymes. **The Journal of cell biology**, v. 175, p. 271-281, 2006.
- WOLFGER, B.; QUINN, C.; TORRES, G. W.; TAYLOR, M.; ORSEL, K. Comparison of feeding behavior between black and red Angus feeder heifers. **Canadian journal of animal science**, v. 96, p. 404-409, 2016.
- WORM, J.; CHRISTENSEN, C.; GRØNBÆK, K.; TULCHINSKY, E.; GULDBERG, P. Genetic and epigenetic alterations of the APC gene in malignant melanoma. **Oncogene**, v. 23, p. 5215-5226, 2004.
- XIA, M.; CHEN, K.; YAO, X.; XU, Y.; YAO, J.; YAN, J.; SHAO, Z.; WANG, G. Mediator MED23 links pigmentation and DNA repair through the transcription factor MITF. **Cell reports**, v. 20, p. 1794-1804, 2017.
- XIE, T.; LIU, Y.; LU, H.; IQBAL, A.; RUAN, M.; JIANG, P.; YU, H.; MENG, J.; ZHAO, Z. The Knockout of the ASIP Gene Altered the Lipid Composition in Bovine Mammary Epithelial Cells via the Expression of Genes in the Lipid Metabolism Pathway. **Animals**, v. 12, p. 1-17, 2022.

YOU, L.; BI, H. L.; WANG, Y. H.; LI, X. W.; CHEN, X.; LI, Z. Q. CRISPR/Cas9 based mutation reveals Argonaute 1 is essential for pigmentation in *Ostrinia furnacali*. **Insect Science**, v. 26, p. 1020-1028, 2018.