



## **R.3.2.2. Raport privind determinantii infecției – indicatori genetici - studiu de asociere la nivelul genomului (GWAS) pentru rezistența vacilor la mamită**

Raport efectuat în cadrul proiectului *Abordarea bioeconomică a  
agenților antimicrobieni – utilizare și rezistență*  
(cod –PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0361).

Colectiv de redacție:

Coordonatori: Conf. Dr. Ioan Huțu și Conf. Dr. Calin Mircu

Membri: Dr. ing. Daniela Ilie, Drd. Ovidiu Georgescu, Drd. Torda Iulian

### **Acknowledgements**

Activities under this work were carried out in the *Research Laboratory Complex "Horia Cernescu"* - financed by project *"A bio-economical approach of the antimicrobial agents - use and resistance"*, in the frame of contract PCCDI 7/19.03.2018, code: PN-III P1-1.2-FPRD- 2017.



### ***Colectarea probelor***

În vederea analizei GWAS s-au prelevat probe de la vacile de rasă Bălțată Românească și Brună, aflate în lactațiile 1-3. Toate animalele luate în studiu au fost incluse în Controlul Oficial al Producției de Lapte (COP).

Prelevarea s-a efectuat evitându-se pe cât posibil recoltarea de probe de la animale înrudite, conform informațiilor din pedigriu. După colectare, toate probele au fost transferate în laborator și păstrate la 4 ° C până la procesare. Materialul biologic a constat din probe de foliculi piloșicare s-au folosit ulterior pentru extracția ADN și genotiparea SNP 50K.

### ***Procesarea datelor fenotipice***

Datele fenotipice (numărul de celule somatice) au fost procesate pentru asigurarea controlului calității datelor și formatarea acestora în vederea efectuării următoarelor analize. Astfel, s-au eliminat valori aberante și au fost reținute numai datele corespunzătoare lactațiilor cu rangul 1, 2 sau 3 pentru fiecare animal în parte.

Pentru calculul valorii SCS (*somatic cell score*) s-a folosit formula:

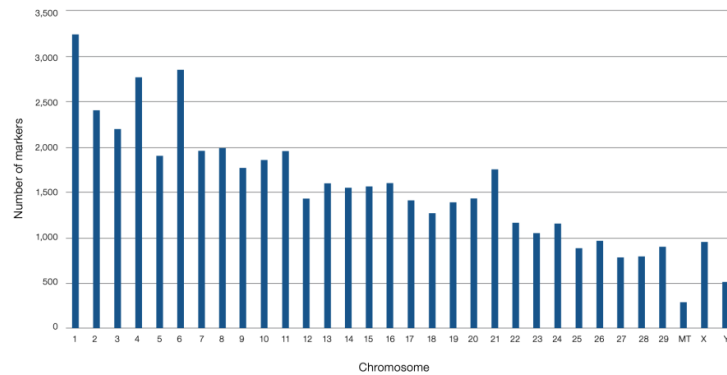
$$SCS = \log_2 (SCC / 100) + 3$$

unde numărul de celule somatice (SCC) este în unități de 1.000 de celule / ml. Această formulă este utilizată în alte câteva țări, inclusiv Canada, Noua Zeelandă, Franța și Germania.

### ***Genotiparea SNP***

Pentru genotiparea SNP s-a utilizat un cip microarray SNP 50K (Axiom BovMDv3) care include un număr total de 63.988 SNP-uri. Cipul SNP 50K include un procent mare de markeri SNP (*single nucleotide polymorphisms*) care se regăsesc distribuiți pe toți cromozomii (fig. 1).

SNP-urile selectate pentru cipul utilizat provin din două surse: dbSNP și 1000 Genomes Project. Rata medie de apel care se referă la numărul de markeri SNP utilizabili este peste 99%. Deoarece locațiile SNP-urilor pentru cipul 50K folosit se bazează pe ansamblul genomului UMD3.1 (Zimin și colab., 2009), s-au descărcat din Ensembl informațiile cu privire la gene, inclusiv ID-ul genei, simbolul, poziția start, poziția stop, orientarea pe cromozom și descrierea genei.



**Fig. 1.** Distribuția SNP-urilor pe cromozomi. ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com); product bulletin Axiom Bovine Genotyping v3 Array)

### ***Analiza markerilor SNP***

Pentru efectuarea analizei GWAS s-a concatenat baza de date din prezentul proiect (50K SNP pentru 96 animale) cu baza de date preexistentă. Astfel, s-a efectuat un studiu preliminar pe un număr total de 412 vaci de rasă Bălțată Românească (BR, n=335) și Brună (BM, n=77), din cadrul fermei zootehnice aparținând SCDCB Arad.

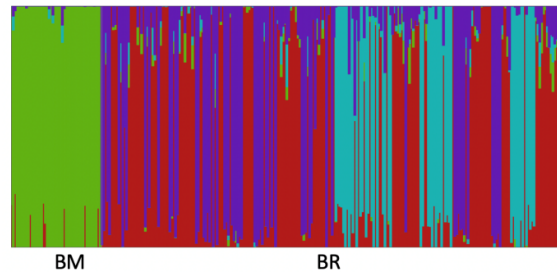
Rezultatele obținute în urma genotipării cu Axiom BovMDv3 au fost analizate cu mai multe pachete software specializate după cum urmează: VCFtools v0.1.16, BCFtools v1.9, PLINK v1.90b6.16 și fastSTRUCTURE v1.0.

Prima etapă a analizei a constat în efectuarea controlului calității datelor de genotip SNP pentru a genera un raport pe individ și pe fiecare marker SNP cu scopul de a elimina indivizii și SNP-urile cu o calitate insuficientă a genotipării.

Ca urmare a controlului de calitate s-au eliminat indivizii cu un call-rate mai mic de 90% și markerii SNP cu un call-rate mai mic decât 95% sau MAF (frecvența alelei minore) mai mică decât 95% (MAF <0.05). Markerii care nu au trecut de controlul de calitate, au fost eliminați pentru a genera un nou set de date, rămânând astfel, un număr de 41737 de markeri.

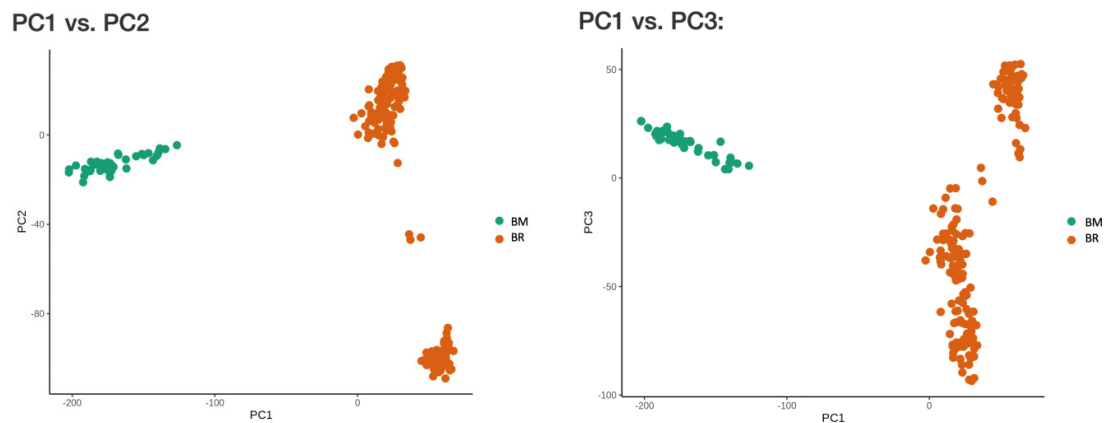
În continuare s-a trecut la detectarea structurii populației reprezentate de indivizi genotipați din ambele rase. În acest sens s-a utilizat pachetul software fastSTRUCTURE care necesită alegerea unui număr de subpopulații în care să se încadreze indivizii analizați. Astfel, a fost testată o plajă de valori a numărului de subpopulații (notat cu K) între 1 și 20, rezultatul fiind că cel mai probabil numărul real de subpopulații în cadrul indivizilor analizați se află între 2 și 8. Au fost reprezentate grafic subpopulațiile corespunzând valorilor K = 4, cu indivizii grupați în funcție de rasă, în Figura 2.

K=4



**Fig. 2.** Structura populației grupată în populații nou deduse. Grafice obținute cu programul fastSTRUCTURE

Structura populației a fost luată în considerare și prin analize de tip PCA (Principal Component Analysis) pe datele de genotipare. Rezultatele obținute folosind PCA pentru a detecta stratificarea au arătat o structură clară pentru animalele analizate din cele două rase de bovine care au compus populația de studiu. În diagramele de dispersie a PC1/PC2 și PC1/PC3 animalele sunt separate funcție de rasă (Fig. 3).



**Fig. 3** Structura populației din analiza PCA. Structura populației este prezentată sub formă de grafice perechi a primelor trei componente principale (PC) cu punctecolorate care definesc grupurile de animale (BM = rasa Brună, BR = rasa Bălțată Românească)

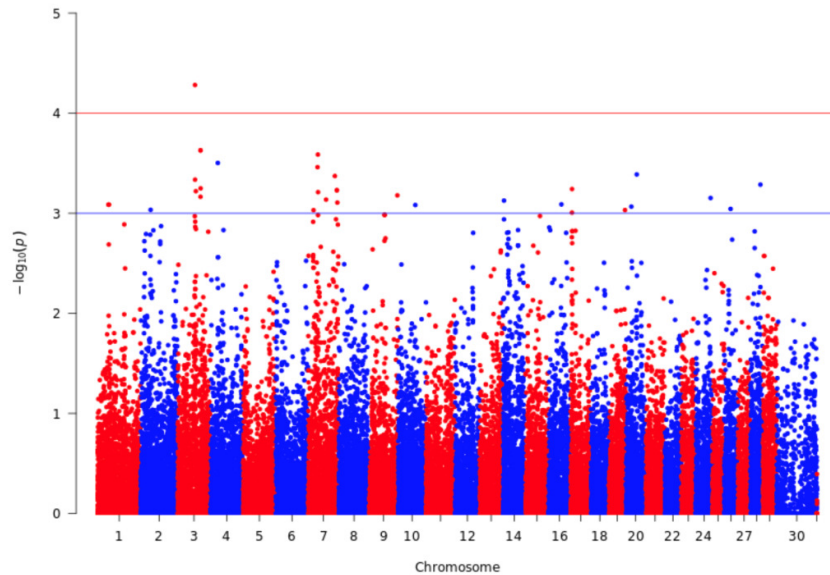


## Analiza polimorfismelor SNP asociate cu SCS

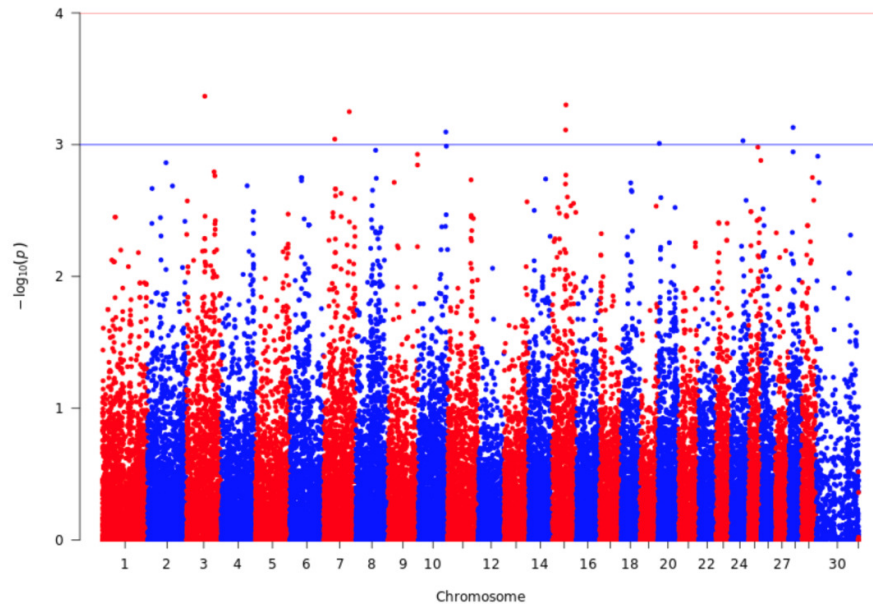
Studiile efectuate până în prezent au demonstrat existența mai multor gene/ variante genetice care sunt asociate cu rezistența la mamită la bovine. Numeroase gene funcționale candidate ar putea fi implicate în ambele direcții ale bolii, atât la susceptibilitate cât și la rezistența la mamită. În 2012, Meredith și colab. au raportat SNP-uri localizate pe cromozomii BTA 6, 10, 15 și 20 ca fiind semnificativ asociate cu SCS la vacile de rasă Holstein [Meredith și colab., 2012]. Asociații ale SNP-urilor cu mamita clinică și SCS au fost raportate la bovine pe BTA 6, 13, 14 și 20 de către Sahana și colab. [2013]. Recent, studiile de GWAS efectuate de Welderufaelșicolab. (2018) au identificat SNP-uri semnificative pe BTA 3, 7 și 15 iar studiile efectuate pe vacile de rasă Holstein au arătat că variantele genetice ale SNP-urilor localizate pe BTA 2, 14, 20 au impact asupra mamitei clinice (Tiezzi și colab., 2015).

În prezentul studiu, pentru a investiga contribuția genetică la variabilitatea rezistenței la mamită s-a utilizat analiza GWAS (*genome-wide association study*). Studiul de asociere la nivel de genom (GWAS) se concentrează pe asocierile dintre SNP-uri și diferite caractere.

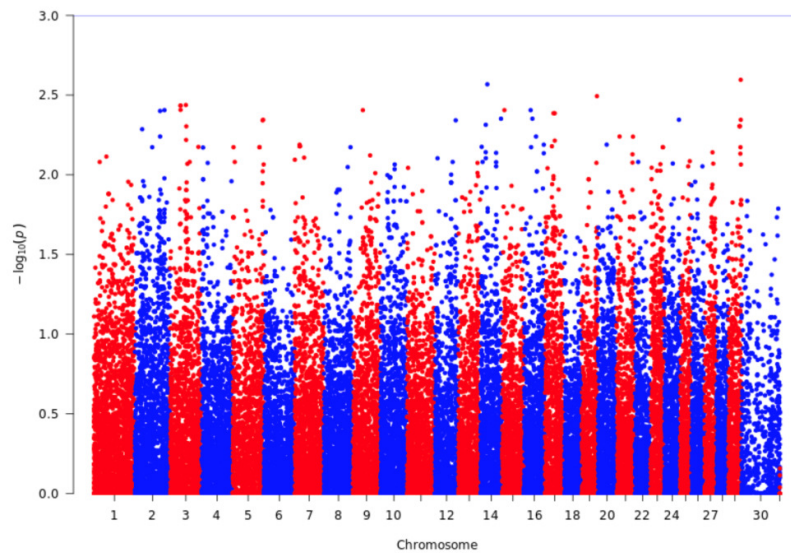
În prezenta analiză studiul de asociere la nivel de genom a fost implementat folosind metoda GWAS din pachetul software rrBLUP v4.6.1 pentru limbajul R. Graficele de tip „Manhattan plot” au fost generate utilizând pachetul qqman v0.1.4. S-au efectuat un total de 7 studii GWAS: câte unul pentru toate lactațiile/rasă și separat pentru fiecare rang al lactației (lactațiile 1 și 2 la rasa BM, lactațiile 1-3 la rasa BR). Pentru rasa Brună, fiind analizate un număr mic de animale, au fost disponibile doar lactațiile 1 și 2, lactația 3 având prea puține date pentru a fi luată în calcul. În modelul statistic au mai fost incluse, de asemenea, următoarele efecte fixe: anul de naștere al vacii, combinația dintre anul și sezonul fătării (vară / iarnă, corespunzătoare lunilor aprilie-septembrie și, respectiv, octombrie-martie), rangul lactației (1-3) și numărul de zile în lactație cu următoarele praguri: 1-100; 101-200; 201-300; >300. Studiul de asociere la nivelul genomului a fost efectuat pentru un prag de semnificație stabilit la  $P < 10^{-3}$  și s-au identificat cele mai apropiate gene de fiecare SNP semnificativ. Graficele Manhattan pentru SCS sunt prezentate în figurile 4 - 10 unde axa X arată cromozomii și ordinea SNP-urilor în interiorul cromozomului, iar axa Y arată  $-\log_{10}(\text{valoarea } P)$  pentru fiecare SNP.



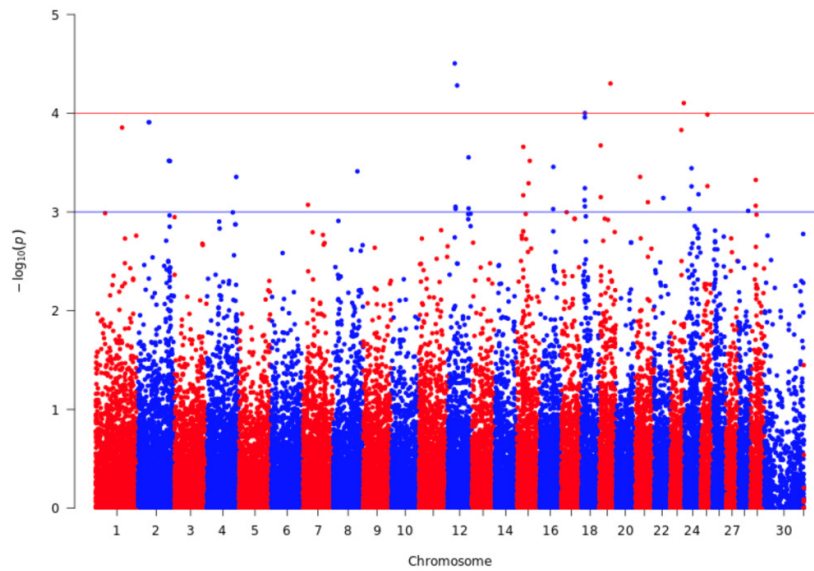
**Fig. 4.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Brună/toate lactațiile.



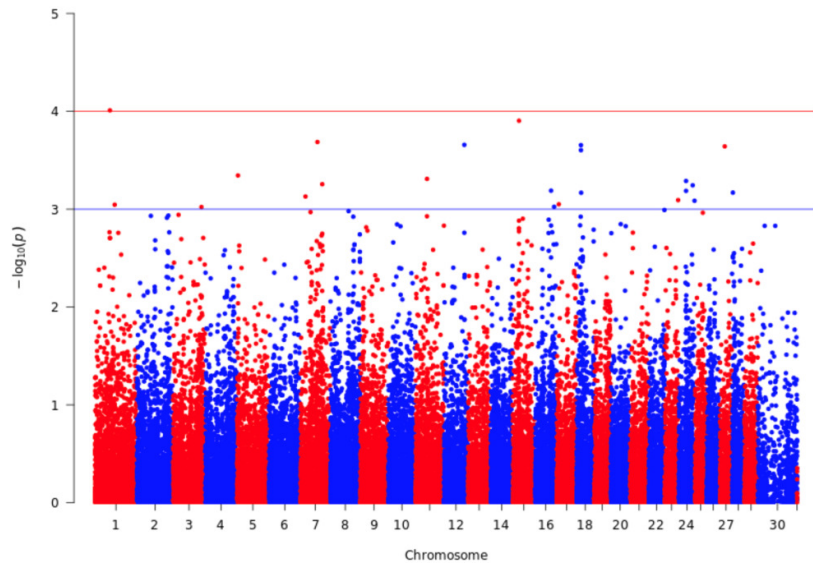
**Fig. 5.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Brună/lactația 1.



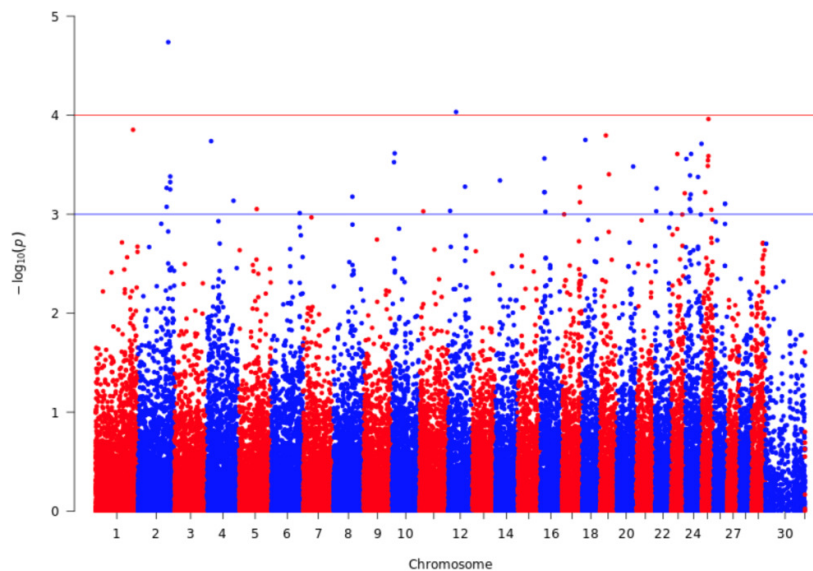
**Fig. 6.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Brună/ lactația 2.



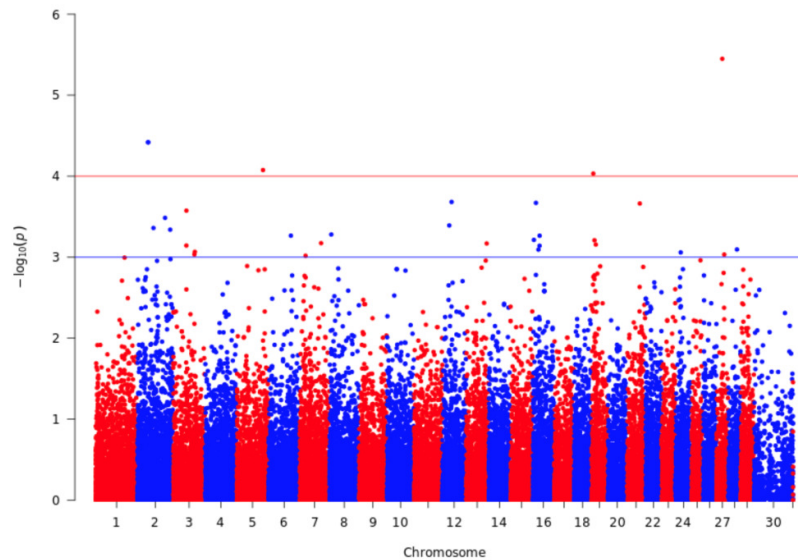
**Fig. 7.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Bălțată Românească/ toate lactațiile.



**Fig. 8.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Bălțată Românească/ lactația 1.



**Fig. 7.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Bălțată Românească/ lactația 2.



**Fig. 10.** Graficul Manhattan al studiului de asociere la nivel de genom (GWAS) pentru SCS folosind Axiom BovMD v3 la vacile de rasă Bălțată Românească/ lactația 3.

În urma analizei GWAS au fost identificate SNP-urile semnificative asociate cu mamita la rasele Brună de Maramureș (Tabelul 1) și Bălțată Românească (Tabelul 2). Genele candidate au fost identificate prin verificarea poziției SNP-urilor asociate în mod semnificativ. S-a urmărit dacă SNP-urile sunt localizate în cadrul unei gene sau la 1Mb în sus sau în jos de o altă genă utilizând baza de date Ensembl. Pozițiile markerilor SNP s-au bazat pe ansamblul genomului *Bos taurus* UMD3.1.

**Tabelul 1.** SNP-uri semnificative identificate prin GWAS și cele mai apropiate gene candidate în cadrul animalelor de rasă Brună

	SNP	Chr.	Poziție (bp)	P val. x.log10	Gena suprapusă	Gena anterioară	Genă posterioară	ID SNP
Lactatia 1+2	AX-115102491	3	64559579	4,28				---
	AX-106759939	3	84910227	3,63				rs43356825
	AX-115099474	3	84938304	3,63				rs43348336
	AX-185121908	7	35889204	3,59			LOC540403	rs208291839
	AX-117085353	4	27509584	3,5		TWIST1	HDAC9	rs41590313



Raport: Analiza genomică preliminară a vacilor prin genotipare SNP

AX-106728922	7	34633456	3,46			---
AX-171452576	20	39946433	3,39			rs110148091
AX-106736985	7	98680293	3,37	ERAP2	CAST	rs109212458
AX-106732566	3	64772318	3,34			---
AX-171455147	28	37551351	3,29			rs42146133
AX-124381854	3	85429665	3,25	LOC530929	NFIA	---
AX-115115419	17	5627803	3,24		FBXW7	rs110166763
AX-106739492	7	105987605	3,23		LOC101906022	---
AX-124381066	7	105963598	3,23		LOC101906022	---
AX-106729835	3	67632435	3,22	PIGK	NEXN	rs109629603
AX-124380836	7	36526130	3,21		DTWD2	---
AX-124387590	9	103671451	3,18	LOC788572	SFT2D1	rs110139854
AX-106760319	3	84764797	3,16			---
AX-106747925	24	55980406	3,15	TXNL1	TCF4	---
AX-106746563	7	66254499	3,14		NMUR2	rs41628126
AX-115110667	14	5299449	3,13			---
AX-106740347	7	107837688	3,11			---
AX-106744159	16	47741821	3,09			rs109663098
AX-115113619	1	40495849	3,09			rs41567591
AX-124381852	1	40589118	3,09	EPHA6		rs42587534
AX-124382417	1	40656841	3,09			rs41664126
AX-106748236	10	64419396	3,08	MIR147		---
AX-106733653	20	20090288	3,07			rs41638374
AX-106725976	26	24446490	3,04			---
AX-106725689	2	37156818	3,03		RBMS1	rs109187445
AX-115116460	19	60407194	3,03			---
AX-115119181	7	19827852	3,03	LONP1		rs41656925

## Raport: Analiza genomică preliminară a vacilor prin genotipare SNP

	AX-106748433	17	5394041	3,01		FBXW7	rs41828267
<b>Lactatia 1</b>	AX-115102491	3	64559579	3,37			---
	AX-124380236	15	48628725	3,3		LOC613909	---
	AX-106755339	7	90080630	3,25		RASA1	---
	AX-185117864	28	16234816	3,13		CCDC6	rs132833794
	AX-106754284	15	47494237	3,11		LOC511570 TAF10	rs41632734
	AX-171438781	10	97842171	3,1		FLRT2	rs383071656
	AX-106728313	7	39110034	3,04			rs42485846
	AX-106748672	24	42762598	3,03		TWSG1	rs110567707
	AX-106744117	20	5392124	3,01		STC2	---

**Tabelul 2. SNP-uri semnificative identificate prin GWAS și cele mai apropiate gene candidate în cadrul animalelor de rasă Bălțată Românească**

	SNP	Chr.	Poziție (bp)	P val. X.log10	Gena suprapusă	Gena anterioară	Genă posterioară	ID SNP
<b>Lactatiile 1-3</b>	AX-106740386	12	26883203	4,5		STARD13		rs41575969
	AX-124378376	19	43998116	4,3		PYY	SAO	---
	AX-106733966	12	35638450	4,28				rs109436996
	AX-106745640	23	50971212	4,1			NQO2	---
	AX-168291892	18	13882444	4				rs135459791
	AX-117082687	25	24545460	3,99		C25H16orf8		rs110729266
	AX-106748906	18	13857900	3,96		IL17C	FBXO31	---
	AX-115102495	2	41332471	3,91		KCNJ3		---
	AX-115111284	2	41304807	3,91		KCNJ3		---
	AX-115102747	1	98602410	3,85			PRKCI	---
	AX-106749115	23	41700829	3,83		RNF182	MYLIP	---
	AX-171469526	19	7299198	3,67			PCTP	rs133623891
	AX-106747924	15	24328172	3,66			NCAM1	rs41581320
	AX-124376092	12	78694446	3,55			MBNL2	rs110643661
	AX-106722320	2	115973199	3,52				---
	AX-124375825	15	48534829	3,52				rs41576192
	AX-115099107	2	120148776	3,52			CHRNA	rs110833987
	AX-106733419	16	51769893	3,46				---
	AX-106760672	24	27475390	3,44				rs41614164
	AX-106728793	8	91852447	3,41				---
	AX-106720979	21	19658065	3,36				---
	AX-106735885	4	110884207	3,36				---
	AX-115120561	29	19837339	3,32				LOC524642
	AX-185112615	15	44080354	3,29				rs208615914
	AX-106736966	25	24565008	3,26			C25H16orf8	---
	AX-106724230	24	27601646	3,26				rs41577023
	AX-168296562	18	13907495	3,24				rs110006092
	AX-117115717	24	53636536	3,18				rs135987193
	AX-117081511	15	24157816	3,17				rs41747334
	AX-117081959	19	7682826	3,15				LOC527335
	AX-106738968	22	35385782	3,14				LRIG1
	AX-106730168	18	12988265	3,12				---
	AX-124349339	21	48778636	3,1				rs42721237

Report: Analiza genomică preliminară a vacilor prin genotipare SNP

	AX-106758772	7	19084659	3,07			rs41629274
	AX-185118172	29	19778453	3,06		PAK1	rs137431441
	AX-106739668	18	13839646	3,06	IL17C	FBXO31	rs110754697
	AX-106741325	12	29562851	3,05	MIR2299	BRCA2	---
	AX-124375484	12	78728978	3,04		MBNL2	rs109644978
	AX-169466099	12	29867499	3,03			rs211353486
	AX-185116691	24	19405836	3,03			rs109479000
	AX-117087532	16	51118732	3,03		LRRC47	rs43720246
	AX-115107516	28	37624697	3,01			---
	AX-124377143	17	20455179	3	PCDH18	SLC7A11	rs109580107
	AX-106727437	4	98016975	3			rs110275975
Lactația 1	AX-106764695	1	56294040	4,01			---
	AX-106747924	15	24328172	3,9		NCAM1	rs41581320
	AX-106734889	7	64199993	3,69	FAT2	SLC6A7	---
	AX-106745770	12	77315938	3,66		CLDN10	---
	AX-169413304	18	17383886	3,65	ZNF423	ABCC11	rs41867692
	AX-106754126	27	17759823	3,64	MIR2398		rs41645677
	AX-117079484	18	17380989	3,6	ZNF423	ABCC11	rs41867687
	AX-185120727	5	4062377	3,34	GLIPR1L2	ATXN7L3B	rs383824503
	AX-115102031	11	43385446	3,31			rs29014004
	AX-106755462	24	28425789	3,29			rs42045775
	AX-106728872	7	82510435	3,25			rs43527554
	AX-117115717	24	53636536	3,24			rs135987193
	AX-106736706	16	60527452	3,19	LOC1002992	ASTN1	---
	AX-115104641	24	28400451	3,19			---
	AX-185117972	28	3128793	3,17			rs385917782
	AX-115103843	18	18145718	3,17			---
	AX-106758772	7	19084659	3,13			rs41629274
	AX-106745640	23	50971212	3,09		NQO2	---
	AX-106738164	24	60432726	3,09		LOC529488	rs110445166
	AX-171448256	17	8653303	3,05		DCLK2	rs382126664
	AX-115119795	1	74253662	3,05		HES1	rs110228411
	AX-185113232	16	72136367	3,02		PROX1	rs110030731
	AX-185119177	3	107755043	3,02	MANEAL	NT5C1A	rs43364600
Lactația 2	AX-106736966	25	24565008	3,96	C25H16orf8		---
	AX-124385680	1	140236036	3,85			rs110933106
	AX-28520527	19	23798617	3,8			---
	AX-106730168	18	12988265	3,75			---
	AX-106734126	4	16514414	3,74		RPA3	rs43709382
	AX-168296638	24	61209926	3,71	PHLPP1	CDH20	rs133599605
	AX-169481483	10	11311372	3,61	STYX	SERINC5	rs43613168
	AX-106728583	24	22300490	3,61			---
	AX-185116426	23	23074591	3,61	TFAP2B	CRISP2	rs109103533
	AX-117082687	25	24545460	3,59	C25H16orf8		rs110729266
	AX-124379149	16	15710360	3,56			rs41635384
	AX-106729948	24	4608171	3,56	NETO1	DIPK1C	---
	AX-185117093	25	22737527	3,54			rs207780975
	AX-106735346	10	8842386	3,53		IQGAP2	---
	AX-106761923	25	22320002	3,49		CACNG3	---
	AX-106744035	20	62150836	3,48			rs110091118
	AX-115099030	19	35253851	3,4			rs109182853
	AX-106764053	24	18248989	3,39			---
	AX-124382396	2	121229824	3,38		PTMA	rs29022958
	AX-106742448	24	48284745	3,38			rs110603682
	AX-106771463	14	19089297	3,34		ATAD2	---
	AX-124347702	2	121197096	3,32			rs110564292
	AX-115104062	12	63529009	3,28			---
	AX-106728149	17	67271374	3,27	KIAA1671	CORO1C	rs109615755
	AX-106728653	2	107657675	3,27			rs43317360
	AX-106729526	22	7077833	3,26			rs29023397
	AX-106721240	2	121125169	3,25		PTMA	---
	AX-117085143	16	15972455	3,22			rs137704888
	AX-185112904	16	15969587	3,22			rs109239782
	AX-124380060	25	12359174	3,22	MIR193B	CPPED1	rs110542322
	AX-106745640	23	50971212	3,21		NQO2	---
	AX-168428627	24	20846459	3,2			---

Raport: Analiza genomică preliminară a vacilor prin genotipare SNP

AX-106725205	8	71825576	3,18		NKX3-1	---
AX-185116676	24	17199709	3,16			rs132716200
AX-106757713	4	100183472	3,14			---
AX-106737119	17	67345189	3,12			rs109873530
AX-106758043	26	43981400	3,11	ABRAXAS2	HMX3	rs109412361
AX-185117471	26	43974817	3,11	ABRAXAS2	HMX3	rs110489517
AX-115112102	2	107681700	3,07			rs41644229
AX-106724630	5	66577741	3,05			rs109297640
AX-117081597	24	17179801	3,05			rs41644360
AX-115119836	25	35713510	3,05		DTX2	---
AX-106731882	12	7660934	3,03			rs41617236
AX-106749563	22	5579646	3,03		GADL1	rs41993977
AX-117079800	11	14250458	3,03			rs110529172
AX-106738326	24	20823403	3,03			rs109488489
AX-124382677	16	19376488	3,02			rs41627669
AX-106739517	6	106517122	3,01			---
AX-124381381	22	61069286	3,01		SEC61A1	rs43505889
AX-106751558	17	8439080	3		DCLK2	---
AX-106763173	24	58983505	3	MC4R	GRP	rs109160974
AX-106749115	23	41700829	3	RNF182	MYLIP	---
AX-117115842	27	21902309	5,45	C27H8orf48	MIR383	rs109309268
AX-115102495	2	41332471	4,42	KCNJ3		---
<b>Lactația 3</b>						
AX-115111284	2	41304807	4,42	KCNJ3		---
AX-106764923	5	100452647	4,08	KLRF2	LOC618565	rs110140725
AX-115109852	19	8363016	4,03		DGKE	---
AX-106733966	12	35638450	3,68			rs109436996
AX-117079536	16	12130589	3,67			rs41623175
AX-124344212	21	49849644	3,66		SEC23A	rs109951137
AX-171452866	3	50536532	3,57			rs208008626
AX-106745124	2	105900619	3,49		SMARCAL1	rs109564752
AX-106740386	12	26883203	3,39	STARD13		rs41575969
AX-106745154	2	61527377	3,36		LOC785761	---
AX-106757849	2	125426036	3,34	SNHG12	GMEB1	rs109771802
AX-106734288	8	7383352	3,28		FBXO8	rs43539417
AX-106734346	6	85527109	3,27	LOC1001380	GNRHR	---
AX-117087363	16	26054300	3,27		DUSP10	rs110714775
AX-106740191	16	4305200	3,21	LOC515150	SLC26A9	rs41789137
AX-185114043	19	12833445	3,21			rs379390561
AX-106722243	7	81254927	3,17	LOC1019059		---
AX-106738824	13	78238893	3,17			---
AX-124381568	19	18054584	3,16			rs41909219
AX-171471886	3	50420787	3,14			rs379814155
AX-117085621	16	25689363	3,14		C16H1orf115	rs111029343
AX-115116922	28	32629221	3,1			---
AX-106748611	16	21613370	3,09		ESRRG	---
AX-185119690	3	82659017	3,07		EFCAB7	rs42643349
AX-168428627	24	20846459	3,06			---
AX-185119679	3	81079545	3,03		JAK1	rs109401320
AX-106764334	27	29650426	3,03		DUSP26	rs41596564
AX-106751756	7	22114622	3,02			---
AX-106740386	12	26883203	4,5	STARD13		rs41575969
AX-124378376	19	43998116	4,3	PYY	SAO	---

Nivelul de semnificație al valorii  $P < 10^{-3}$  a fost considerat pentru a determina asocierea semnificativă la nivelul genomului a markerilor SNP cu mamita.

Pentru rasa Brună, fiind analizate un număr mic de animale, în cadrul lactației 2 nu au fost detectate SNP-uri semnificative la nivelul de  $P < 10^{-3}$ . La această rasă au fost detectate asocierisemnificative ale mai multor markeri SNP cu mamitape BTA3 (7 SNP-uri) și BTA7 (9 SNP-uri) pentru toate lactațiile. Asocierea semnificativă a markerilor SNP

pe BTA3 (un SNP) și 7 (2 SNP-uri) a fost, de asemenea, detectată și pentru lactația 1 separat, unde s-au observat un total de 9 SNP-uri asociate semnificativ.

Rezultatele obținute la rasa Bălțată Românească arată că o parte dintre SNP-urile asociate semnificativ cu mamitase găsesc în cromozomii care sunt raportați frecvent în literatura de specialitate pentru asocierea lor cu mamitala diversele rase de vaci.

La ambele rase studiate, cele mai multe semnale de asociere semnificative obținute pe toate lactațiile și separat pe fiecare lactație, detectate pe același cromozom nu se suprapun, sugerând că determinarea genetică a mamitei ar putea fi, de asemenea, dependentă de rangul lactației.

Acest studiu este primul în ceea ce privește raportarea markerilor SNP pentru asociere cu mamita la vacile de rasă Bălțată Românească și Brună de Maramureș. Astfel, s-au identificat SNP-uri semnificativ determinate la un nivel de semnificație  $P < 10^{-3}$ . Locațiile SNP-urilor de asociere au fost diferite pentru lactații 1-3 sugerând că efectul markerilor depinde de rangul lactației.

## Bibliografie

1. Meredith BK, Kearney FJ, Finlay EK, Bradley DG, Fahey AG, Berry DP, et al. Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland. *BMC Genet.* 2012;13:21
2. Oliphant A, Barker DL, Stuelpnagel JR, Chee MS (2002) BeadArray Technology: Enabling an Accurate, Cost-Effective Approach to High-Throughput Genotyping. *Biotechniques*, 32:56-61
3. Sahana G, Guldbbrandtsen B, Thomsen B, Lund MS. Confirmation and fine-mapping of clinical mastitis and somatic cell score QTL in Nordic Holstein cattle. *Anim Genet.* 2013;44(6):620-6
4. Tiezzi F, Parker-Gaddis KL, Cole JB, Clay JS, Maltecca C. A genome-wide association study for clinical mastitis in first parity US Holstein cows using single-step approach and genomic matrix re-weighting procedure. *PLoS One.* 2015;10(2):e0114919
5. Welderufael BG, Løvendahl P, de Koning DJ, Janss LLG, Fikse WF. Genome-Wide Association Study for Susceptibility to and Recoverability From Mastitis in Danish Holstein Cows. *Front Genet.* 2018; 9:141
6. Zimin AV, Delcher AL, Florea L, Kelley DR, Schatz MC, Puiu D, Hanrahan F, Pertea G, Van Tassell CP, Sonstegard TS, Marçais G, Roberts M, Subramanian P, Yorke JA, Salzberg SL. A whole-genome assembly of domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biol.* 2009; 10(4):R42
7. VCFtools v0.1.16 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3137218/>)
8. BCFtools v1.9 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3198575/>)
9. PLINK v1.90b6.16 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17701901/>)
10. fastSTRUCTURE v1.0 (<https://www.genetics.org/content/197/2/573>)
11. rrBLUP v4.6.1 (<https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3835/plantgenome2011.08.0024>)
12. qqman v0.1.4 (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/005165v1>)
13. <http://www.1000genomes.org/>
14. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>
15. <https://www.ensembl.org>