

VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 10 e 11 de junho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

Diferentes modelos matemáticos para o estudo da associação de marcadores moleculares do tipo SNP ao perímetro escrotal na raça Nelore¹

Diego de Córdova Cucco^{2,4}, Luis Varona³, José Bento Sterman Ferraz⁴, Fernanda Marcondes de Rezende⁴, Elisângela Chicaroni de Mattos⁴, Joanir Pereira Eler⁴

¹ Parte da tese de doutorado do primeiro autor.

² Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia– USP/FZEA. Bolsista CAPES. e-mail: diegocucco@yahoo.com.br

³ Departamento de Anatomía, Embriología e Genética Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España

⁴ Grupo de Melhoramento Animal e Biotecnologia, Departamento de Ciências Básicas da FZEA/USP, Pirassununga-SP

Resumo: A seleção assistida por marcadores moleculares para características reprodutivas em programas de melhoramento de bovinos de corte foi até agora muito pouco explorada, essa situação pode mudar a partir da identificação de marcadores moleculares com efeitos sobre essas características. Esse estudo teve como objetivo comparar três modelos de análises de associação para a identificação de marcadores do tipo SNP associados ao perímetro escrotal. Foram realizadas análises individuais (modelo 1 e 2) e em conjunto dos marcadores (modelo 3), e ainda utilizando apenas os animais genotipados (modelo1) ou todos os animais com fenótipos e probabilidades para os seus genótipos (modelo 2 e 3). O modelo 3 que analisou conjuntamente o *pool* marcadores e utilizou toda a informação fenotípica disponível possibilitou a interação entre os marcadores e a inclusão de um grande número de informações nas análises. Desse modo, considerou-se o terceiro modelo como o mais eficiente.

Palavras-chave: amostrador de gibbs, inferência bayesiana, seleção assistida por marcadores, SAM, validação

Mathematical models for the study of the association of molecular markers (SNP) with scrotal circumference in Nelore cattle

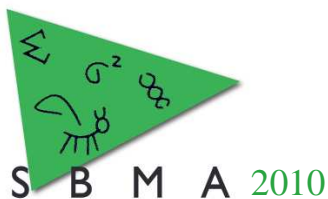
Abstract: Marker assisted selection for reproductive traits in beef cattle breeding programs is not too usual, but it can be modified by identification of molecular markers that affecting these traits. The aim of this study was compare three association analysis models for identify SNP markers with effect on scrotal circumference. Were realized single marker analysis (models 1 and 2) and joint analysis for all markers (model 3), and considering only genotyped animals (model 1) or using a probable genotype for phenotype animals that were not genotyped (models 2 and 3). Model 3, which considered all makers on a jointed analysis and all phenotypic information available make possible the interaction among markers and the inclusion of a huge amount of information on analysis. So, model 3 was considered as the most efficient one.

Keywords: bayesian inference, gibbs sampling, marker assisted selection, MAS, validation

Introdução

A tendência atual de seleção de animais geneticamente superiores concilia a utilização de informações de marcadores moleculares do tipo SNP (single nucleotide polymorphism) com os dados fenotípicos visando aumentar a acurácia do processo de seleção. Muitos modelos estatísticos e abordagens já foram propostos para a manipulação e incorporação das informações geradas pelos SNP em programas de melhoramento animal (Gianola et al., 2009). A grande maioria dessas novas metodologias baseia-se no trabalho de Meuwissen et al. (2001), que propôs o estudo dos efeitos dos marcadores moleculares como covariáveis em modelos de regressão linear para prever o valor genético para características quantitativas.

Uma excelente alternativa para melhorar a performance reprodutiva de bovinos é a prospecção de marcadores moleculares relacionados com genes direta e indiretamente relacionados com reprodução (Almeida et al., 2003). Os SNP desempenham papel fundamental na seleção para características reprodutivas, que em geral sofrem grandes influências ambientais. Poucos estudos na raça nelore foram realizados associando marcadores moleculares com características reprodutivas.



VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 10 e 11 de junho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

Os objetivos deste trabalho foram: avaliar a viabilidade da utilização do amostrador de Gibbs para a geração de genótipos de animais com alguma relação de parentesco e estimar o efeito associativo dos SNP a partir de três modelos matemáticos com o perímetro escrotal em bovinos da raça Nelore.

Material e Métodos

Para a realização deste estudo foram utilizados 6.275 registros de perímetro escrotal de animais da raça Nelore pertencentes à Agro-pecuária CFM Ltda, os quais apresentavam alguma relação de parentesco com 21.983 animais, que compuseram a matriz de parentesco. Um *pool* de 13 marcadores do tipo *SNP* todos apresentando os três genótipos possíveis e, ao menos, 1% de animais no genótipo de menor frequência, equivalente ao mínimo de 44 animais, foi utilizado. O número de animais genotipados variou de 1.366 a 3.753 conforme o marcador.

As análises de associação foram realizadas com o programa TM (Legarra et al., 2008) por inferência bayesiana via amostragem de Gibbs (Wang et al., 1994). Três modelos distintos foram avaliados nesse estudo. O primeiro modelo analisou individualmente cada marcador considerando apenas os animais genotipados. No segundo, todos os animais com registros fenotípicos para perímetro escrotal foram considerados nas análises e mais uma vez cada marcador foi analisado individualmente. Nesse caso, uma probabilidade para o possível genótipo dos animais não genotipados foi gerada, com base nos genótipos dos animais genotipados e no parentesco entre eles, utilizando o amostrador de Gibbs conforme descrito por Thomas & Gauderman (1996). O terceiro modelo seguiu a mesma metodologia do segundo para a geração dos genótipos faltantes, porém, nesse caso, todos os marcadores foram analisados simultaneamente. A seguir estão descritos, em notação matricial, todos os modelos avaliados.

$$\text{Modelo 1: } \mathbf{y} = \mathbf{Xb} + a(I(GG) - I(gg)) + d(I(Gg)) + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}$$

$$\text{Modelo 2: } \mathbf{y} = \mathbf{Xb} + a(p(GG) - p(gg)) + d(p(Gg)) + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}$$

$$\text{Modelo 3: } \mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \sum_I^N a_I(p_I(GG) - p_I(gg)) + \sum_I^N d_I(p_I(Gg)) + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}$$

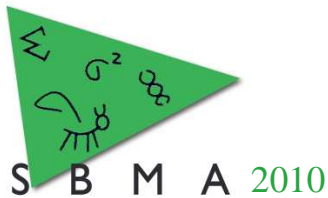
Onde: \mathbf{y} = Vetor da variável dependente (perímetro escrotal); \mathbf{b} = Vetor dos efeitos fixos; a = efeito de aditividade; d = efeito de dominância; $I(GG)$, $I(Gg)$ e $I(gg)$ = são os vetores que assumem o valor 1 ou 0 quando o genótipo é GG, Gg ou gg (Método 1); $p(GG)$, $p(Gg)$ e $p(gg)$ = são as probabilidades a posteriori para os genótipos GG, Gg e gg. (Método 2 e 3); N = número de SNP's; \mathbf{u} = Vetor dos efeitos aleatórios de valor genético aditivo do animal; \mathbf{e} = Vetor dos efeitos aleatórios residuais. \mathbf{X} e \mathbf{Z} = Matrizes de incidência relacionando as observações (\mathbf{y}) aos seus respectivos efeitos fixos (\mathbf{b}), e genético aditivo do animal (\mathbf{u}).

Resultados e Discussão

Apenas os marcadores que foram significativos ao menos em um dos três métodos de análise estudados estão apresentados na Tabela 1. No primeiro modelo de análise foram observados dois marcadores com efeito aditivo significativo ($P < 0,05$), os identificados pelos números 10 e 13. Probabilidades de associação de 94,51 e 94,73% foram observadas para o efeito de sobredominância no marcador 6 ($P < 0,0549$), e efeito aditivo do marcador 8 ($P < 0,0527$). Foi observada probabilidade de associação 92,87% para o efeito de dominância do marcador 10. Todos os efeitos anteriormente comentados foram favoráveis ao alelo de menor frequência (alelo q).

Alta probabilidade de associação foi observada no segundo modelo de análise para efeito aditivo do marcador 8 ($P = 0,0062$); Para este marcador também foi encontrado efeito de dominância porém de menor magnitude ($P = 0,0500$). Para efeito aditivo no marcador 10 foi observada associação de $P = 0,0878$. Novamente todos os efeitos retro-citados foram favoráveis ao alelo q. Na análise conjunta de todos os animais com fenótipos disponíveis (modelo 3) foi observado efeito aditivo para o marcador 8 ($P = 0,0254$), e efeito de dominância de menor magnitude ($P = 0,0701$), ambos favoráveis ao alelo q. Foi constatado efeito aditivo do marcador 7 ($P = 0,0832$), para o alelo de maior frequência (alelo p).

Dois marcadores (10 e 13) apresentaram probabilidade de associação superior a 95% no primeiro método, considerando apenas os animais genotipados, no entanto, não continuaram apresentando alta significância quando a análise foi conduzida com o parentesco completo nos métodos 2



VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Maringá, PR – 10 e 11 de junho de 2010

Melhoramento Animal no Brasil: UMA VISÃO CRÍTICA

e 3. Em contrapartida, o marcador número 8 que no método 1 apresentou probabilidade de associação com efeito aditivo de 94,73%, nos demais métodos considerando todo o parentesco apresentou probabilidades de associação de 97,46% e 99,38% para o efeito aditivo, nos modelos 2 e 3 respectivamente. Para este mesmo marcador foram encontradas probabilidades de associação nos modelos 2 e 3 de 95,00 e 92,99% para efeito de dominância, todos os efeitos sempre em favor do alelo q.

Tabela 1. Probabilidade de associação entre os marcadores estudados e o perímetro escrotal nos três modelos propostos.

Método		1	2	3
Marcador		P-value	P-value	P-value
6	(A)	0,1076	0,1205	0,2686
	(D)	0,0549 †	0,4490	0,4347
7	(A)	0,3885	0,2195	0,0832 †
	(D)	0,2841	0,2973	0,2558
8	(A)	0,0527 †	0,0062 **	0,0254 *
	(D)	0,1193	0,0500 *	0,0701 †
9	(A)	0,2213	0,0632 †	0,2558
	(D)	0,2618	0,1367	0,2841
10	(A)	0,0315 *	0,0878 †	0,2406
	(D)	0,0713 †	0,1325	0,2733
13	(A)	0,0475 *	0,2593	0,3222
	(D)	0,2755	0,1471	0,1407

† 0,05 < P ≤ 0,10; * 0,01 < P ≤ 0,05; ** 0,001 < P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; (A) efeito de aditividade; (D) efeito de dominância.

No caso de marcadores que apresentaram efeitos favoráveis ao alelo de menor frequência (q), pode ocorrer certa dificuldade de seleção a favor deste alelo, devido ao menor número de animais disponíveis em alguns casos. Porém a introgressão deste alelo poderá ocasionar um forte impacto, pois o aumento da sua frequência pode proporcionar incremento na média da característica produtiva.

Conclusões

O amostrador de Gibbs pode ser utilizado para estimar os genótipos a partir do parentesco. Concluímos que o terceiro modelo de análise é o mais eficiente, pois analisa simultaneamente o *pool* de *SNP*, permitindo a interação entre os marcadores e utiliza todos os dados produtivos disponíveis. Foi possível identificar ao menos um marcador molecular *SNP* associado ao perímetro escrotal a partir de todos os modelos estudados.

Literatura citada

- ALMEIDA, E.M.; ALMEIDA, E.A.; MORAES, J.C.F. et al. Molecular markers in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlim, v.120, p.106-113, 2003.
- GIANOLA, D.; DE LOS CAMPOS, G.; HILL, W.G. et al. Additive Genetic Variability and the Bayesian Alphabet. **Genetics**, Austin, v.183, p.347-363, 2009.
- LEGARRA, A.; VARONA, L.; LÓPEZ DE MATURANA, E.. **TM : Threshold Model**. [S.l.:s.n.], 2008.
- MEUWISSEN, T.H.E.; HAYES, B.J.; GODDARD M.E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, Austin, v.157, p.1819-1829, 2001.
- THOMAS, D.C. e GAUDERMAN, W.J. Gibbs sampling methods in genetics. In: GILKS, W.R.; RICHARDSON, S.; SPIEGELHALTER, D.J. **Markov Chain Monte Carlo in Practice**. 1ed. London: Chapman & Hall, 1996. p.420-440.
- WANG, C.S.; RUTLEDGE, J.J.; GIANOLA, D. Bayesian analysis of mixed model using Gibbs sampling with an application to litter size in Iberian pigs. **Genetic Selection Evolution**, Londres, v.26, p.91-115, 1994.