

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

### Identificação de regiões genômicas selecionadas na linhagem de trabalho de equinos da raça Quarto de Milha<sup>1</sup>

Rogério A. Curi<sup>2</sup>, Natalia Andrea R. Beltran<sup>3</sup>, Camila T. Meira<sup>3</sup>, Henrique N. de Oliveira<sup>4</sup>, Guilherme Luis Pereira<sup>3</sup>, Marcílio Dias S. da Mota<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trabalho financiado pela FAPESP e Capes

<sup>2</sup>Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ – Unesp, Botucatu. e-mail: [rogcuri@fmvz.unesp.br](mailto:rogcuri@fmvz.unesp.br)

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal, FCAV – Unesp, Jaboticabal.

<sup>4</sup>Departamento de Zootecnia, FCAV – Unesp, Jaboticabal.

**Resumo:** O objetivo desta pesquisa foi identificar, por meio da utilização de painéis de genotipagem de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de alta densidade e da aplicação das estatísticas homozigose relativa do haplótipo estendido (REHH), uma extensão da análise homozigose do haplótipo estendido (EHH), regiões do genoma selecionadas na linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha. Foram utilizados 68 cavalos de ambos os sexos, nascidos entre 1985 e 2009, registrados na Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Quarto de Milha (ABQM). De 14.308 testes nos haplótipos da região núcleo com frequência maior ou igual a 0,25, 100 regiões apresentaram picos *outliers* tomando-se a significância de 0,01, indicando regiões do genoma que estariam sob seleção. Essas regiões foram observadas em maior número nos cromossomos 1 e 21 (7), e 4, 7, 10 e 15 (6) e poderão ser utilizadas para a anotação de genes a fim de identificar aqueles que possam ter sido importantes ao longo do processo de formação da linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha.

**Palavras-chave:** arranjo de SNPs, assinaturas de seleção, equinos, homozigose relativa do haplótipo estendido

### Identification of genomic regions selected in cutting Quarter Horses

**Abstract:** The objective of this research was to identify genomic regions selected in cutting Quarter Horses using high-density SNP genotyping arrays and relative extended haplotype homozygosity (REHH) analysis, an extension of extended haplotype homozygosity (EHH) analysis. A total of 68 horses of both sexes, born between 1985 and 2009 and registered at the Brazilian Association of Quarter Horse Breeders (ABQM), were used. Among the 14,308 tests applied to core haplotypes with a frequency  $\geq 0.25$ , 100 regions presented peak outliers at a threshold of 0.01, indicating that these regions might be under selection. These regions were present in larger numbers on chromosomes 1 and 21 (7), and 4, 7, 10, and 15 (6) and may be used for the annotation of genes to identify those that could have been important during the process of formation of the cutting line of Quarter Horses.

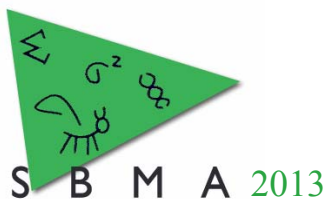
**Keywords:** equine, relative extended haplotype homozygosity, selection signature, SNP array

### Introdução

O cavalo Quarto de Milha é considerado o mais versátil do mundo. No Brasil existem aproximadamente 358.000 equinos da raça registrados junto à associação brasileira de criadores (ABQM), tendo impacto relevante no agronegócio nacional (ABQM, 2012). Dentro da raça Quarto de Milha há subdivisão em diferentes segmentos de aptidão, provenientes de distintos objetivos de seleção (Evans, 1996), consideradas linhagens, entre as quais a de trabalho.

A identificação de alterações provocadas pela seleção positiva ao longo do genoma pode ser realizada por meio da aplicação de algumas metodologias principais, entre as quais a estatística homozigosidade do haplótipo estendido - EHH (Sabeti et al., 2002), utilizada para a identificação dessas regiões dentro de populações.

O objetivo desta pesquisa foi identificar, por meio da utilização de painéis de genotipagem de SNPs de alta densidade e da aplicação das estatísticas homozigose relativa do haplótipo estendido (REHH), uma extensão da análise EHH, regiões do genoma selecionadas na linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha.



## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

### Material e Métodos

Foram utilizados 68 equinos de trabalho da raça Quarto de Milha criados no Estado de São Paulo, de ambos os sexos, nascidos entre os anos de 1985 e 2009, registrados na Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Quarto de Milha (ABQM). Os animais, 26 machos e 42 fêmeas, eram filhos de 44 garanhões e 64 éguas, resultando em média de 1,5 progênie/garanhão e 1,06 progênie/égua.

A genotipagem dos SNPs foi realizada com o *Equine SNP50 BeadChip* (Illumina, EUA) utilizando-se o equipamento HiScan (Illumina, EUA). Os controles de qualidade das informações de genotipagem, para indivíduos e SNPs, foram realizados por meio do programa *Genome Studio* versão 2011.1 (Illumina, EUA).

O software *FastPHASE*, configurado com parâmetros padrão, foi utilizado para reconstrução dos haplótipos e para inferir as fases de ligação dos SNPs em cada cromossomo. Para a detecção de prováveis assinaturas de seleção no genoma da linhagem de trabalho utilizou-se o programa *Sweep 1.1* (Sabeti et al., 2002), o qual aplica a estatística REHH. Inicialmente foram identificadas regiões núcleo de acordo com o algoritmo sugerido por Gabriel et al. (2002). Especificou-se que regiões núcleo tivessem no mínimo 3 e no máximo 20 SNPs. O teste EHH foi aplicado a uma distância de 1 cM para ambos os lados da região núcleo. Para determinar a significância dos valores de REHH, ou seja, dos valores de EHH corrigidos para cada cromossomo, o programa *Sweep 1.1* atribuiu os haplótipos em 20 classes de frequência e comparou o REHH para cada haplótipo com os outros igualmente frequentes. Os valores de REHH passaram por transformação logarítmica ( $-\text{Log}_{10}$ ) para que apresentassem frequência de distribuição próxima da normal. Em seguida foram obtidos as distribuições de probabilidade, as médias, os desvios-padrão e os P-valores, que também foram transformados para  $-\text{Log}_{10}$  (P). Haplótipos da região núcleo (*core haplotypes*) com P-valores extremos na distribuição, ou seja, com  $-\text{Log}_{10}$  (P) superiores a 2 ( $P < 0,01$ ) foram considerados significativos. Entretanto, segundo Glick et al. (2012), o REHH pode servir como evidência de seleção recente apenas para haplótipos presentes em frequência relativamente alta na população. Neste sentido, considerou-se relevante somente os haplótipos da região núcleo com frequência maior ou igual a 0,25.

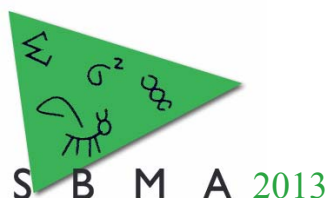
### Resultados e Discussão

Quatro animais foram excluídos do conjunto amostral total por apresentarem *call rate* inferior a 0,95 (95%). Em relação aos 64 indivíduos que passaram pelo crivo de qualidade, 13.370 SNPs foram excluídos ao longo da filtragem, permanecendo 41.232 para a aplicação das análises genéticas.

Com os resultados obtidos pelo estudo de mapas de haplótipos realizou-se a estatística REHH para verificar regiões do genoma que apresentam extenso desequilíbrio de ligação e alta frequência e, dessa forma, possam se relacionar à características de importância. Considerando-se o total de 5.453 regiões núcleo formadas foram realizados 38.562 testes EHH, com média de 7,07 testes por região núcleo. Na Tabela 1 estão apresentados resultados da aplicação do teste da homozigosidade do haplótipo estendido, informando, para cada cromossomo, o número de testes e os haplótipos *outliers* da região núcleo. De 14.308 testes nos haplótipos da região núcleo com frequência maior ou igual a 0,25, 100 regiões apresentaram picos *outliers* tomando-se a significância de 0,01, indicando regiões do genoma que poderiam estar sob seleção. Essas regiões foram observadas em maior número nos cromossomos 1 e 21 (7), e 4, 7, 10 e 15 (6). O cromossomo 12 não apresentou regiões de importância quando  $P < 0,01$ .

### Conclusões

A utilização de painéis de genotipagem de SNPs de alta densidade e da estatística REHH permitiu a identificação de regiões do genoma equino selecionadas na linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha. Estas regiões poderão ser utilizadas para a anotação de genes a fim de identificar aqueles que possam ter sido importantes ao longo do processo de formação da linhagem, como, por exemplo, os relacionados ao *cow sense* ou habilidade de aptação.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal  
Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Tabela 1. Estatística da aplicação do teste do haplótipo de longo alcance no genoma de equinos da linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha.

Cr. <sup>a</sup>	Testes nos haplótipos da região núcleo <sup>b</sup>	P-valor < 0,05 (n)	P-valor < 0,01 (n)
1	1070	53	7
2	736	35	4
3	773	35	4
4	672	33	6
5	604	27	3
6	503	25	4
7	603	28	6
8	566	28	3
9	532	27	4
10	513	27	6
11	353	14	4
12	144	7	0
13	282	15	4
14	617	26	2
15	612	29	6
16	612	34	4
17	516	24	4
18	434	20	1
19	418	19	1
20	421	20	1
21	396	21	7
22	348	15	2
23	319	12	2
24	339	12	4
25	283	14	1
26	310	13	1
27	263	16	1
28	334	19	2
29	255	12	2
30	243	11	2
31	237	13	2
Total	14.308	684	100

<sup>a</sup> Cromossomo, <sup>b</sup> Número de testes nos haplótipos da região núcleo com frequência maior ou igual a 0,25

**Literatura citada**

- ABQM - Associação brasileira dos criadores de cavalos Quarto de Milha, Web site. <http://www.abqm.com.br>. Acessado em 21 de dezembro de 2012.
- EVANS, J.W. Horses: a guide to selection, care and enjoyment. 2.ed. New York: Freeman and Company, 1996. 797p.
- GABRIEL, S.B.; SCHAFFNER, S.F.; NGUYEN, H. et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science*, v. 296, p. 2225-2229, 2002.
- GLICK, G.; SHIRAK, A.; ULIEL, S. et al. Signatures of contemporary selection in the Israeli Holstein dairy cattle. *Animal Genetics*, v. 43, p. 45-55, 2012.
- SABETI, P.C.; REICH, D.E.; HIGGINS, J.M. et al. Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*, v. 419, p. 832-837, 2002.