

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Identificação de regiões genômicas e genes selecionados na linhagem de trabalho de equinos da raça Quarto de Milha de forma divergente em relação à de corrida¹

Rogério A. Curi², Natalia Andrea R. Beltran³, Henrique N. de Oliveira⁴, Guilherme Luis Pereira³, Josineudson Augusto II de V. Silva², Marcílio Dias S. da Mota²

¹Trabalho financiado pela FAPESP

²Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ – Unesp, Botucatu. e-mail: rogcuri@fmvz.unesp.br

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

⁴Departamento 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 EHH, e índice de fixação (F_{ST}), regiões do genoma selecionadas na linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha de forma divergente em relação à de corrida. Foram utilizados 188 cavalos de ambos os sexos, nascidos entre 1985 e 2009, registrados na associação brasileira de criadores, sendo 68 da linhagem de trabalho e 120 da de corrida. A partir de 36 regiões do genoma, consideradas assinaturas de seleção por ambas as estatísticas utilizadas, foi feita a anotação funcional de genes. Quarenta e cinco genes apresentaram-se envolvidos em processos biológicos relacionados aos sistemas muscular, esquelético, cardiovascular, respiratório e nervoso, neurotransmissão, metabolismo energético muscular, atividade motora, visão, audição, e função cognitiva. Os genes relacionados aos últimos quatro processos, merecem destaque pelo fato de que podem estar relacionados ao *cow sense*, característica de importância para o manejo de bovinos de corte.

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

Identification of genomic regions and genes selected in cutting line of Quarter Horses divergently in relation to racing line

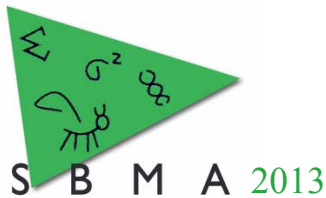
Abstract: The objective of this study was to identify genomic regions selected in cutting Quarter Horses divergently in relation to racing line using high-density SNP genotyping arrays and relative extended haplotype homozygosity (REHH) analysis, an extension of EHH analysis, and the fixation index (F_{ST}) as statistical methods. A total of 188 horses of both sexes, born between 1985 and 2009 and registered at the Brazilian Association of Quarter Horse Breeders (ABQM), including 68 of the cutting line and 120 of the racing line, were used. On the basis of 36 genomic regions identified as selection signatures by both statistics, functional annotations of genes were made. Forty-five genes were involved in biological processes related to the muscular, skeletal, cardiovascular, respiratory and nervous system, neurotransmission, muscle energy metabolism, motor activity, vision, hearing, and cognitive function. Genes related to the last four processes should be highlighted by the fact that may be related to cow sense, characteristic of importance to management of beef cattle.

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

Introdução

A seleção na raça Quarto de Milha, para diferentes objetivos, levou à formação de linhagens, entre as quais, a de trabalho e a de corrida. A linhagem de trabalho se destina às provas de caráter funcional, explorando habilidades como agilidade e obediência, características consideradas de grande importância no manejo do gado a campo, ao passo que a linhagem de corrida explora a aptidão dos animais quanto à velocidade em pistas retas e de curta distância (ABQM, 2012).

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, e o índice de fixação - F_{ST} , (Weir & Hill, 2002), utilizado para a



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

identificação de regiões submetidas à seleção, considerando-se múltiplas populações (Simianer et al., 2010).

O objetivo deste trabalho 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 homozigose do haplótipo estendido (EHH), e índice de fixação (F_{ST}), regiões do genoma selecionadas na linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha de forma divergente em relação à de corrida. Com base nessas regiões foi feita a anotação de genes a fim de identificar aqueles que possam ter sido importantes ao longo do processo de formação da linhagem de trabalho.

Material e Métodos

Foram utilizados 188 equinos 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), sendo 68 da linhagem de trabalho e 120 da de corrida. A presença de irmãos completos foi evitada em ambas as linhagens.

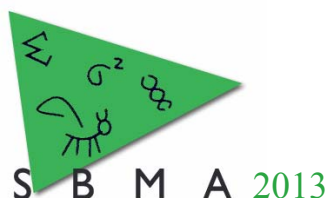
A genotipagem dos SNPs foi realizada utilizando-se o *Equine SNP50 BeadChip* (Illumina, EUA). Os controles de qualidade das informações de genotipagem, para indivíduos e SNPs, foram realizados por meio do programa *Genome Studio* versão 2011.1 (Illumina, EUA). Após o processo de filtragem dos SNPs, considerou-se para aplicação do teste EHH, somente o conjunto de dados referente à linhagem de trabalho. 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. Para o conjunto final de SNPs que passaram pelo controle de qualidade (considerando-se o total de indivíduos) foi estimado o parâmetro $\theta = F_{ST}$ utilizando-se o método Bayesiano proposto por Gianola et al. (2010). Para a anotação de genes em regiões genômicas selecionadas na linhagem de trabalho de forma divergente em relação à de corrida foram consideradas as regiões núcleo com haplótipos relevantes (ou seja, regiões com valores de REHH significativos a $P < 0,01$ e com frequência de haplótipos maior ou igual a 0,25) estendidas 1 Mb para ambos os lados, que coincidiram com *loci* (SNPs) pertencentes ao *cluster* com os maiores valores de $\theta = F_{ST}$ e probabilidade condicional de pertencer a este *cluster* maior ou igual a 95%.

Resultados e Discussão

Para identificar regiões do genoma selecionadas na linhagem de trabalho da raça Quarto de Milha de forma divergente em relação à de corrida, foram consideradas 100 regiões núcleo com haplótipos relevantes provenientes da análise REHH (estendidas 1 Mb para ambos os lados) que coincidiram com 1333 *loci* (SNPs) da análise F_{ST} . Dessa sobreposição, resultaram 36 regiões distribuídas nos cromossomos 1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 31 (Tabela 1). Considerando-se as regiões coincidentes por ambas a metodologias aplicadas, anotações foram realizadas e, a partir destas, 519 genes identificados, dos quais 205 apresentaram função conhecida. Quarenta e cinco genes apresentaram-se envolvidos em processos biológicos relacionados a metabolismo energético muscular, neurotransmissão, atividade motora, visão, audição, função cognitiva e sistemas muscular, esquelético, cardiovascular, respiratório e nervoso. Os genes relacionados com atividade motora e resposta à atividade (*SLC18A2*, *BBS4*, *HEXA*, *MYO94*, *SGCE*, *BSX*, *APLP2*, *FIG4*, *MYH1*, *MYH2* e *FEZF2*), visão e percepção visual (*ALDH1A3*, *MYO94*, *TEAD1*, *EYA4*, *MYH13*, *HMG1* e *SALLA*), audição e percepção auditiva (*HEXA*, *EYA4* e *OTO4*) e função cognitiva e aprendizado (*SGCE*, *BSX* e *APLP2*), merecem atenção pelo fato de que, em confluência, podem estar relacionados ao *cow sense* ou habilidade de aptação.

Conclusões

Ao realizar-se a anotação de genes das regiões de assinatura detectadas pelas estatísticas REHH e F_{ST} , identificou-se, pela primeira, vez aqueles que possam ter sido importantes ao longo do processo de formação da linhagem de trabalho de equinos Quarto de Milha, incluindo os possivelmente relacionados ao *cow sense*. Estes genes poderão ser utilizados em estudos de associação em equinos da linhagem de trabalho visando o desenvolvimento de ferramentas auxiliares para a elaboração de programas de melhoramento genético.



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

Tabela 1. Regiões do genoma de animais de trabalho da raça Quarto de Milha identificadas como de coincidência pelas análises REHH e F_{ST} , e genes identificados nessas regiões.

Cr. ^a	Regiões de coincidência entre as análises REHH e F_{ST} (pb)	Total de genes identificados na região (n)	Genes com função conhecida (n)	Genes destacados (n)
1	13982662..16287744	18	8	3
1	105852942..108410726	18	11	4
1	119403352..121554351	28	15	5
4	1646153..3730586	11	6	0
4	86546956..88961701	12	4	1
4	89020999..91022464	17	2	0
4	37421550..39422935	18	8	5
6	75390403..77559160	4	2	0
7	11032566..13323013	25	11	0
7	29488035..31540711	30	7	1
7	38560106..40676848	8	5	2
7	81128673..83162788	14	9	2
7	82918229..84994456	7	5	1
8	89823053..91916645	4	1	0
10	58555790..60651974	24	9	1
10	78182445..80214536	29	6	1
10	81698103..83824983	18	8	0
11	52186121..54420235	21	12	5
13	23101510..25257087	28	12	1
13	23759779..25771201	10	5	1
14	18566294..20644479	17	3	0
14	66970297..68999643	8	4	2
16	22357570..24397019	4	3	0
16	25857799..27923109	6	2	1
17	9529730..11551399	18	8	1
17	20662862..23155099	23	7	1
21	34619933..36629116	6	0	0
22	37783802..39866466	21	12	3
22	40052708..42093213	7	1	0
24	1169652..3174810	16	4	1
25	7372124..9681268	12	5	2
26	14938915..17115722	10	0	0
27	17241350..19574484	4	2	0
28	43187632..45306702	2	1	0
30	3679502..5825839	7	3	0
31	6212711..8351288	14	4	1
Total		519	205	45

^a Cromossomo

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.
- GIANOLA, D.; SIMIANER, H.; QANBARI, S. A two-step method for detecting selection signatures using genetic markers. *Genetic Research*, v. 92, p. 141-155, 2010.
- 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.
- SIMIANER, H.; QANBARI, S.; GIANOLA, D. Detection of selection signatures within and between cattle populations. In: 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 2010. Leipzig. Proceedings... Leipzig: WCGALP, 2010.
- WEIR, B.S.; HILL, W.G. Estimating F-statistics. *Annual Review of Genetics*, v. 36, p. 721-750, 2002.