

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Análise de associação genômica para produção de leite em bubalinos¹

Mariana Piatto Berton²; Guilherme Costa Venturni³; Diércles Francisco Cardoso²; Fernando Baldi³; Rusbel Raul Aspilcueta-Borquis³; Humberto Tonhati³

¹ Estudo financiado pela FAPESP

² Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal – FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP.

³ Departamento de Zootecnia – FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP. e-mail: tonhati@fcav.unesp.br.

Resumo: Recursos genômicos podem viabilizar a realização de trabalhos em búfalos com a finalidade de encontrar marcadores moleculares do tipo SNP associados à produção de leite. O objetivo do trabalho foi identificar polimorfismos de base única (SNP) associados a características de produção de leite de búfalas. Foram utilizados dados fenotípicos de produção de leite de 384 búfalas primíparas (PL), mantido pelo Departamento de Zootecnia FCAV-UNESP/ Jaboticabal, SP. As amostras de DNA foram extraídas e a genotipagem foi realizada por meio do Illumina BovineHD BeadChip, pelo kit de ensaio o Infinium® HD. A consistência dos dados foi realizada por meio do programa estatístico SAS. As análises de associação foram realizadas utilizando um modelo linear que considerou como efeito fixo no modelo o marcador SNP, GC, número da ordenha (2 níveis), além da covariável idade da búfala ao parto (efeito linear e quadrático). A característica PL apresentou 454 SNP, associados com significância de 1%. Porém, a um nível de 5% de significância, a quantidade de marcadores aumentou para 1.431 SNP. Os cromossomos 20 e 22 do genoma bovino foram os que apresentaram os maiores números de marcadores (30 SNP cada) significativos ($p < 0,01$) para a característica PL. Porém, nos cromossomos 15 e 20 observa-se 2 SNP significativos ao teste de Bonferroni. O presente estudo de associação genômica constatou que os marcadores encontrados nos cromossomos 15 e 20 do genoma bovino que afetam a produção de leite de búfalas.

Palavras-chave: cromossomos, genômica, polimorfismo.

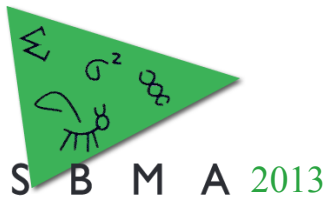
Análise de associação genômica para produção de leite em bubalinos¹

Abstract: Genomic resources can enable the realization of works in buffaloes in order to find molecular markers associated with the SNP milk components. The aim of this study was to identify single nucleotide polymorphisms (SNP) associated with the production characteristics of buffalo milk. The phenotypic data of the milk yield (MILK) were from 384 buffaloes belonging to the database of the Department of science animal FCAV-UNESP / Jaboticabal, SP. DNA samples were extracted and genotyping was performed using the Illumina BeadChip BovineHD, the test kit the Infinium® HD. The consistency of the data was performed using the SAS statistical program. Association analyzes were performed using a linear model that included as fixed effects the SNP marker, GC, number of milking (2 levels), and the covariable the age of dam at calving (linear and quadratic effects). The PL characteristic, presented 454 SNP, associated with a 1% significance. However, at a 5% level of significance, the number of SNP markers increased to 1,431. Chromosomes 20 and 22 bovine genome were those with the largest numbers of markers (30 SNPs each) significant ($p < 0.01$) for the MILK characteristic. However, the chromosomes 15 and 20 observed 2 SNP significant at the Bonferroni test. The present study in buffalo genome association found possible QTL found on chromosomes 15 and 20 bovine genome that affect the production of buffalo milk.

Keywords: chromosomes, genomics, polymorphism.

Introdução

No Brasil alguns rebanhos de búfalos direcionam-se à produção de carne, entretanto, grande parte dos criadores visa à pecuária leiteira em função do atrativo retorno comercial que esta atividade proporciona. Assim, a Associação Brasileira dos Criadores e o Ministério da Agricultura e Abastecimento têm apoiado as provas zootécnicas como forma de identificar e disponibilizar aos produtores, material genético de qualidade comprovada (Tonhati et al., 2007).



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Alguns estudos realizados sobre estimativas de parâmetros genéticos para a produção de leite e seus constituintes em búfalas leiteiras têm reportado estimativas de herdabilidade moderadas, indicando que a seleção seria efetiva para o melhoramento genético destas características. No entanto, a produção de leite e seus constituintes são características expressas em um só sexo, ou seja, para a avaliação de reprodutores, candidatos à seleção, é necessário a adoção de teste de progênie, o que implicaria em alto custo operacional e longo intervalo de gerações. Com o advento dos marcadores moleculares na década de 80 surgiu a possibilidade da utilização desses como ferramentas auxiliares. Algumas das vantagens da utilização dos marcadores no processo de seleção é o fato de não sofrerem influência ambiental, ter herança mendeliana e apresentarem herdabilidade igual a um, o que pode aumentar a eficiência do processo de avaliação.

Dessa forma, pôde-se viabilizar a realização de trabalhos em búfalos com a finalidade de encontrar marcadores moleculares do tipo SNP associados aos componentes do leite, o que deve facilitar a avaliação de características expressas em um só sexo, como a produção de leite. Com isso o presente estudo tem como objetivo identificar polimorfismos em marcadores (SNPs) associados à característica produção de leite de búfalas.

Material e Métodos

Os dados fenotípicos da produção de leite (PL) foram oriundos de 384 búfalas, pertencentes a duas fazendas leiteiras localizadas nos estados do Rio Grande do Norte e São Paulo, Brasil, nascidas entre os anos de 2007 e 2008. Este banco de dados é mantido pelo Departamento de Zootecnia FCAV-UNESP/Jaboticabal, SP, Brasil. O manejo nutricional das búfalas foi constituído exclusivamente a pasto, porém durante o período seco que compreendem os meses de abril a setembro as mesmas receberam suplementação. A produção média de leite do rebanho foi de $1.578,90 \pm 508,55$ kg.

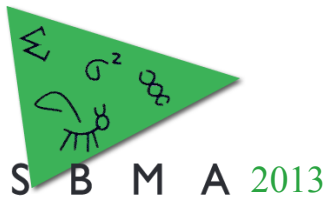
A PL não foi ajustada para dias de lactação. As lactações acima de 305 dias foram truncadas e as menores de 90 dias foram excluídas. O primeiro controle de leite foi considerado entre o 5º e 75º dias após o parto. As búfalas primíparas tinham em média $2,78 \pm 0,28$ anos de idade.

Os folículos capilares foram coletados e armazenados individualmente em envelopes identificados para cada animal e mantidos a 4°C até a extração do DNA pela técnica de Fenol-clorofórmio-álcool isoamílico. No Laboratório de Genética Molecular da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal, foram realizadas as análises de extração de DNA e PCR. A genotipagem foi realizada por meio do Illumina BovineHD BeadChip, utilizando o kit de ensaio Infinium® HD e o sistema Illumina HiScan™ (Illumina Inc., San Diego, CA).

Os GC foram formados por fazenda por rebanho, ano e estação de parto, sendo época seca (abril-setembro) e chuvosa (outubro-março). Com isso foi gerado um total de 33 GC. Para realização das análises de associação, foi considerando apenas um marcador por vez utilizando do comando MACRO e do procedimento MIXED do programa SAS (9.2, SAS Institute Inc., NC, USA). Foi considerado como efeito fixo no modelo o marcador SNP, GC, número da ordenha (2 níveis), além da covariável idade da búfala ao parto (efeito linear e quadrático). Foram construídos gráficos do tipo Manhattan por meio do pacote de instruções GAP do software R (R Development Core Team, 2012), considerando 1% e 5% de significância para os marcadores. Também foi utilizado o teste múltiplo de Bonferroni ($p < 1,12 \times 10^{-7}$) ao nível de 5% para a característica.

Resultados e Discussão

Com nível de significância de 1% e 5%, a característica PL apresentou um total de 454 e 1.431 SNPs associados, respectivamente. Nos cromossomos 20 e 22 do genoma bovino foram os que apresentaram os maiores números de marcadores SNP significativos ($p < 0,01$), sendo ambos os cromossomos com um total de 30 SNPs, relacionados à LEITE (Figura 1). Os cromossomos com menor quantidade de SNP significativos ($p < 0,01$) foram os 19 e 27, contendo cada um 6 SNPs. Estes estudos genômicos em bubalinos utilizando de plataformas de alta densidade para bovinos podem ser empregados com sucesso devido a grande homologia na ordem dos genes entre as espécies (AMARAL et al., 2008). Em bovinos leiteiros da raça Pardo Suíço, Guo; Jorjani e Carlborg (2012) relataram a existência no cromossomo 25, de 2 SNP que estão associados significativamente ($p < 3,8 \times 10^{-7}$) com a produção de leite.



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

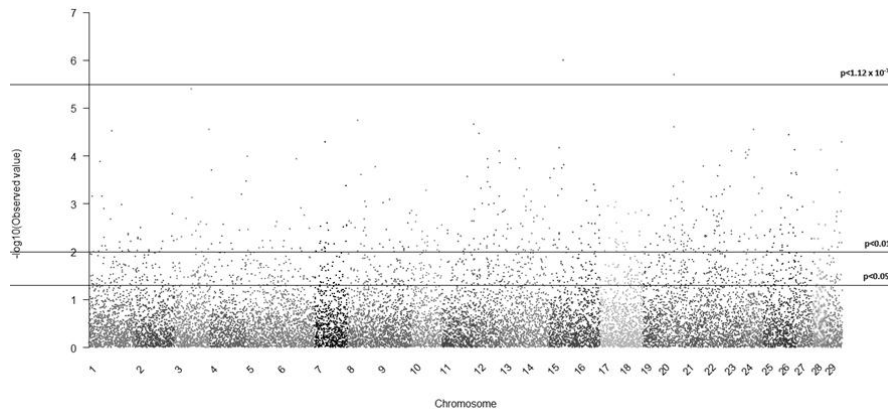


Figura 1. Gráficos de Manhattan dos resultados da associação genômica para produção de leite em bubalinos. Valores acima de $-\log P > 2$ são equivalentes a $p < 0,01$.

Resultado bastante interessante pode ser observado nos cromossomos 15 e 20 (Figura 1) do presente trabalho. Estes dois cromossomos apresentam 2SNPs significativos ao teste de Bonferroni ($p < 1,12 \times 10^{-7}$). Isto indica que, os SNP que passaram pela correção de Bonferroni, tem maiores chances de ser considerados marcadores que afetam as características produtivas, pois este teste procura diminuir os problemas dos testes múltiplos e falsos positivos.

Conclusões

O presente estudo de associação genômica em bubalinos constatou que existem 454 marcadores do tipo polimorfismo de base única significativos ($p < 0,01$) que afetam a produção de leite de búfalas.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processo nº 2010/20887-1).

Literatura citada

AMARAL, M.E.; GRANT, J.R.; RIGGS, P.K.; STAFUZZA, N.B.; et al. A first generation whole genome RH map of the river buffalo with comparison to domestic cattle. **BMC Genomics**, 9:631, 2008.

GUO, J.; JORJANI, H.; CARLBORG, Ö. A genome-wide association study using international breeding-evaluation data identifies major loci affecting production traits and stature in the Brown Swiss cattle breed. **BMC Genomics**, 13:82, 2012.

MAI, M.D.; SAHANA, G.; CHRISTIANSEN, F.B.; GULDBRANDTSEN, B. A genome-wide association study for milk production traits in Danish Jersey cattle using a 50K single nucleotide polymorphism chip. **J. Anim. Sci.**, v.88, p.3522-3528, 2010.

TONHATI, H; SESANA, R. C. ; ALBUQUERQUE, L. G. Avaliação Genética de Búfalos Leiteiros. Jaboticabal: Funep, v.1, 101p., 2007.

MEREDITH, B.K.; KEARNEY, F.J.; FINLAY, E.K.; BRADLEY, D.G.; et al. Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland. **BMC Genet.**, 13(1):21, 2012.