

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

**Análise de associação global para identificar locos relacionados às produções de leite, de gordura e de proteína na raça Guzerá<sup>1</sup>**

Daniel Jordan de Abreu Santos<sup>2</sup>, Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto<sup>3</sup>, Adam H. Utsunomiya<sup>4</sup>  
Humberto Tonhati<sup>4</sup>, Maria Raquel Santos Carvalho<sup>5</sup>, Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup>Pós-graduação em Melhoramento Animal. UNESP/Jaboticabal. Bolsista FAPESP. e-mail: [daniel\\_jordan2008@hotmail.com](mailto:daniel_jordan2008@hotmail.com)

<sup>3</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. Pesquisador.

<sup>4</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Jaboticabal.

<sup>5</sup>Instituto de Ciências Biológicas – UFMG, Belo Horizonte.

<sup>6</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. Pesquisador. E-mail: [marcos.vb.silva@embrapa.br](mailto:marcos.vb.silva@embrapa.br)

**Resumo:** Os estudos de associação global são de grande importância no âmbito do melhoramento animal pela possibilidade de inclusão do QTL detectado nas avaliações genéticas, possibilitando maior acurácia na seleção e portanto, maior progresso genético. Além disso, esse tipo de estudo permite mapear genes relacionados às características de importância econômica, permitindo sua identificação e estudos posteriores para determinar sua função biológica. Assim, objetivou-se, com este trabalho, identificar locos relacionados às produções de leite, de gordura e de proteína na raça Guzerá. Foram encontradas associações no cromossomo 10, o qual teve grande efeito sobre todas as características estudadas, além de outro no cromossomo 21, relacionado à produção de leite. Os resultados sugerem que as soluções para os efeitos dos marcadores do tipo SNP nas avaliações genômicas podem identificar regiões cromossômicas onde estejam situados genes relacionados às produções de leite, de gordura e de proteína..

**Palavras-chave:** QTL, SNP, Zebu, estudos de associação global

**Genome-wide association studie to identify loci for milk, fat and protein yield in Guzerá breed**

**Abstract:** The importance of genome-wide association studies (GWAS) in the context of livestock is the inclusion of the QTL detected in genetic evaluation, enabling greater accuracy in the selection process and therefore greater genetic progress. The objective of this study was to identify loci related to milk, fat and protein yield in Guzerá. Associations were found for a region on chromosome 10, which had great effect for the studied traits and on chromosome 21 for milk yield. Results suggest that the solutions to the effects of SNP markers in genomic evaluation can identify chromosomal regions related to milk, fat and protein yield.

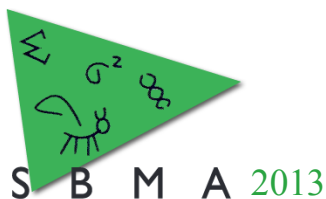
**Keywords:** QTL, SNP, Zebu, GWAS

**Introdução**

Diferentes abordagens podem ser empregadas para identificação de loco controlador de característica quantitativa (QTL), desde a varredura por mapas de ligação até análises de desequilíbrio de ligação. Até a última década, eram utilizados painéis de baixa à moderada densidade de marcadores para tal varredura. Recentemente, painéis de genotipagem contendo milhares de marcadores estão sendo empregado nas análises de associação para identificação de QTL. Esta técnica, chamada de associação genômica ampla, não necessita de delineamento experimental e explora o desequilíbrio de ligação dos milhares de marcadores que cobrem o genoma animal. Em bovinos leiteiros existem vários trabalhos relacionado regiões genômicas às produções de leite (PL), de gordura (PG) e de proteína (PP), como o de Jiang et al. (2010). A importância destes estudos dessa natureza no âmbito da pecuária está na incorporação do QTL detectado nas avaliações genéticas, possibilitando maior acurácia na seleção e, portanto, maior progresso genético. Desse modo, objetivou-se, com este trabalho, identificar locos relacionados às produções de leite, de gordura e de proteína na raça Guzerá.

**Material e Métodos**

Para este estudo, foram genotipadas 1023 animais da raça Guzerá utilizando os painéis de 50 K e HD (*High-density Bovine SNP BeadChip*) da Illumina<sup>®</sup>. Entretanto, para padronização da análise foram utilizadas apenas informações moleculares referentes ao conjunto de marcadores presentes no painel de



## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

50 K. Para o controle de qualidade das amostras foram adotados a *call rate* acima de 0,90 e heteroziguidade de  $\pm 3$  desvios-padrão da média. Como critérios para qualidade do marcador, foram adotados *call rate* superior à 0,98, MAF maior que 2%, HWE com até  $10^{-6}$ , correlação entre marcadores até 0,998, além da eliminação de SNPs coincidentes e com possíveis erros de posicionamento físico em relação ao mapa de referência. O número de animais genotipados utilizados após a aplicação do controle de qualidade foi de 901, sendo 45 touros e 856 vacas. Já o número de SNPs foi 25024. Em seguida, foram imputados os genótipos perdidos utilizando o software fastPHASE (Scheet & Stephens, 2006).

As análises estatísticas foram realizadas por meio de scripts em R statistics e pelo pacote GenABEL (AULCHENKO et al., 2007). As informações utilizadas referentes às características estudadas, foram os valores genéticos derregredidos, de acordo com o proposto por Garrick et al., (2009). Essas informações foram corrigidas para subestrutura da população por meio dos componentes principais obtidos pelo escalonamento multidimensional da matriz de similaridade genômica, com resíduos ponderados por  $c+(1-r^2)/r^2$ . O nível de significância adotado (0,05), foi corrigido por Bonferroni ( $1,998082e-06$ ). O modelo genético aditivo foi empregado. Foram selecionados os cinco SNPs com maior P-value (SNPs candidatos) para cada característica e, por meio das respectivas coordenadas genômicas (*assembly* BTAU\_4.0), foi feita a anotação dos genes mais próximos utilizando-se o do banco de informações do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

### Resultados e Discussão

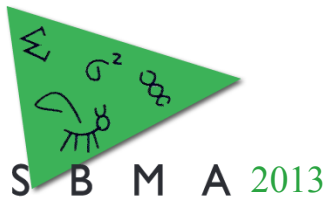
Os fatores de inflação lambda estimados após as correções para estrutura populacional foram considerados aceitáveis, sendo iguais à 1,0099; 1,0014 e 1,0078 para PL, PG e PP, respectivamente. Após a correção do nível de significância por Bonferroni, apenas três SNPs foram significativos, sendo dois para PL e um para PP. Diferentemente dos trabalhos envolvendo produção de leite com taurinos (Jiang et al., 2010), a região mais significativa não foi o extremo do cromossomo 14, onde está presente o DGTA1. Porém, o cromossomo 14 apresentou uma tendência de proeminência (Figura 1), possuindo um SNP entre os cinco mais significativo para PG e PP. Verificou-se, no conjunto de dados estudado, baixo número de SNPs cobrindo a região em questão, devido a eliminação no controle de qualidade de SNPs, possivelmente eliminados pela baixa MAF, em razão da homozigose dos marcadores. O SNP mais significativo para todas as características estava presente no cromossomo 10, muito embora para PG seu P-value tenha se aproximado do limiar de significância (Tabela 1). O gene mais próximo deste marcador (~150 Kb) foi o da deiodinase tipo 2 (DIO2). Esta é a principal enzima que converte a tetraiodotiroxina (T4) em triiodotiroxina (T3) (forma ativa) (Maia et al., 2005). Lisboa et al. (2003), trabalhando com fêmeas lactantes de rato, mostraram que o aumento da deiodinase é um mecanismo adaptativo materno à restrição proteica na alimentação durante o período de lactação, aumentando os níveis séricos de T3 e diminuindo os de T4. A partir do conhecimento prévio de que os hormônios tireoidianos influenciam diretamente a lactação, este gene pode explicar a maior rusticidade da raça durante a lactação, em função de sua adaptação às dietas de baixo nível proteico. Vale destacar que a grande maioria dos SNPs se encontraram dentro dos genes ou bem próximos a eles, com a exceção LOC782102 para PP. O SNP localizado próximo ao CRT3 (gene ligado ao ganho de peso) também foi significativo para PL.

### Conclusões

Foram encontradas associações para os marcadores Hapmap32392-BTA-162780 no BTA10, o qual tiveram grande efeito sobre as características estudadas. Resultados sugerem que as soluções para os efeitos dos marcadores nas avaliações genômicas podem identificar regiões cromossômicas que estejam relacionadas às produções de leite, de gordura e de proteína.

### Literatura citada

- AULCHENKO, Y.S.; RIPKE, S.; ISAACS, A.; Van DUIJN, C.M. GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. **Bioinformatics**, v.23, p.1294–1296, 2007.
- GARRICK, J. D.; TAYLOR, J. F.; FERNANDO, R. L. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. **Genetic Selection Evolution**, 41: 1-8, 2009.
- JIANG, L.; LIU, J.; SUN, D.; MA, P.; DING, X.; YU, Y.; ZHANG, Q. Genome Wide Association Studies for Milk Production Traits in Chinese Holstein Population. **Plos one**, v.5, p. 1-12, 2010.



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

LISBOA, P. C.; PASSOS, M.C.F.; DUTRA, S.C.P.; SANTOS, R.S.; BONOMO, I. T.; CABANELAS, A. P.; PAZOS-MOURA, C. C.; MOURA, E. G. Increased 5-iodothyronine deiodinase activity is a maternal adaptive mechanism in response to protein restriction during lactation **Journal of Endocrinology**, v.177, p. 261–267, 2003.

MAIA, A. L.; KIM, B. W.; HUANG, S. A.; HARNEY, J. W.; LARSEN, P. R. Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T3 in euthyroid humans. **J Clin Invest.**, v.115, p.2524–2533, 2005.

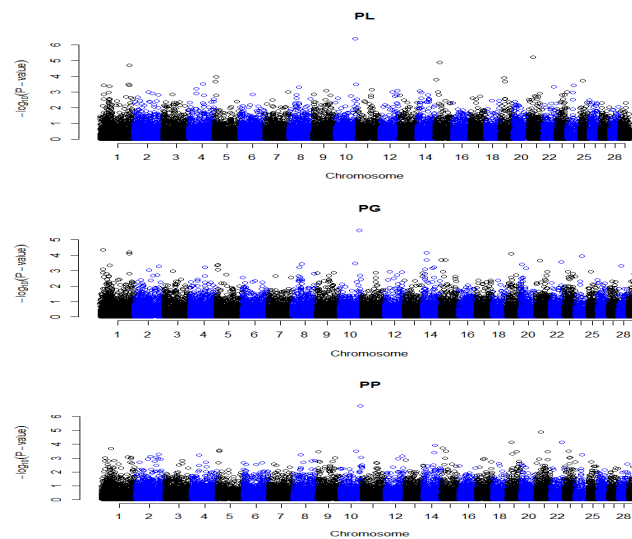


Figura 1 Varredura do genoma bovino para produção de leite (PL), produção de gordura (PG) e produção de proteína (PP). Cromossomos são mostrados em cores alternadas (preto e azul).

Tabela 1 Regiões do genoma apresentando fortes sinais de associação para cada característica estudada

Característica	BTA	Genes	SNP	Posição	P-value
Produção de Leite	10	DIO2	Hapmap32392-BTA-162780	92440993	4,40e-07
	21	CRTC3	Hapmap48373-BTA-51706	22520337	6,77e-06
	15	NCAM1	ARS-BFGL-NGS-23028	23970148	1,39e-05
	1	EPHB1	ARS-BFGL-NGS-2595	135444745	2,13e-05
	5	SYT1	BTB-00219231	8978484	2,13e-05
Produção de Gordura	10	DIO2	Hapmap32392-BTA-162780	92440993	2,57e-06
	1	NCAM2	ARS-BFGL-NGS-102441	15071831	4,61e-05
	1	EPHB1	ARS-BFGL-NGS-2595	135444745	6,56e-05
	14	LOC100139328	ARS-BFGL-NGS-116233	19316702	6,78e-05
	1	TOPBP1	BTB-00040439	136868487	8,01e-05
Produção de Proteína	10	DIO2	Hapmap32392-BTA-162780	92440993	1,84e-07
	21	CRTC3	Hapmap48373-BTA-51706	22520337	1,47e-05
	19	GLOD4	ARS-BFGL-NGS-84530	22650660	7,58e-05
	22	ITIH4	Hapmap26665-BTA-136771	48628872	7,61e-05
	14	LOC782102	UA-IFASA-5275	55954337	1,30e-04