

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

Caracterização de blocos haplotípicos em bovinos de quatro raças zebuínas e uma população F2¹

Fernanda Nascimento Almeida², Daniel Jordan de Abreu dos Santos³, Adam Taiti Harth Utsunomiya⁴,
Marco Antonio Machado⁵, Rui da Silva Verneque⁶, Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva⁷

¹Trabalho Financiado pela Embrapa e CNPq

²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. Bolsista FAPEMIG. e-mail: almeida.fn@gmail.com

³Pós-graduação em Melhoramento Animal. UNESP/Jaboticabal. Bolsista FAPESP. e-mail: daniel_jordan2008@hotmail.com

⁴Pós-graduação em Melhoramento Animal. UNESP/Jaboticabal. Bolsista FAPESP. e-mail: adamtaiti@gmail.com

⁵Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. Pesquisador. e-mail: marco.machado@embrapa.br

⁶Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. Pesquisador. e-mail: rui.verneque@embrapa.br

⁷Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. Pesquisador. e-mail: marcos.vb.silva@embrapa.br

Resumo: A compreensão dos padrões de desequilíbrio de ligação como, por exemplo, a associação não aleatória de alelos em dois ou mais locos, é a base para o mapeamento de genes e para o planejamento de estudos de associação. Com isso, neste trabalho, foi feita uma abordagem preliminar a cerca da caracterização de blocos haplotípicos, a fim de investigar possíveis regiões que controlam características de interesse econômico em quatro raças zebuínas e uma população F2, que estejam sob seleção pela análise de marcadores em escala genômica. Dos SNPs das raças Nelore, Guzera, Gir e Sindí e uma população F2 (cruzamento das raças Gir e Holandês) analisados, foram identificados 1.254 blocos haplotípicos, com tamanho médio entre 70 a 117kb, etiquetados por 2, 4 e 5 SNPs. No entanto, na população F2 foram identificados uma quantidade maior de blocos haplotípicos, etiquetados por até 7 SNPs, possivelmente devido a maior informatividade do chip para esta população.

Palavras-chave: raças zebuínas, marcadores SNP, blocos haplotípicos.

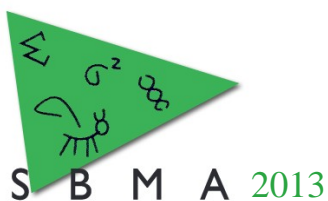
Characterization of haplotypes blocks in four Zebu cattle and one F2 population

Abstract: The understanding of the patterns of linkage disequilibrium is the basis for gene mapping and the genome-wide association studies. The objective, in this work, were to obtain a preliminary approach about the characterization of haplotype blocks in order to investigate possible regions that control traits of economic interest in four Zebu breeds that are under selection and an F2 population originated by the crossing between Gyr and Holstein breeds. In the SNP data set from Nelore, Guzera, Gyr and Sindí and an F2 population around 1,254 haplotypes were identified, with an average size between 70-117kb consisting of 2, 4 and 5 SNPs. However, in the F2 population, were identified a larger amount of haplotype blocks formed up to seven SNPs, probably due to greater informativeness of the snpchip for this population.

Keywords: zebu cattle, SNP markers, haplotypes blocks.

Introdução

Os programas de melhoramento genético em bovinos, normalmente, concentram seus esforços na seleção de características produtivas, reprodutivas e/ou de crescimento dos animais. Isso se dá pelo fato de tais características serem de grande importância econômica, bem como por apresentarem fatores herdáveis, o que possibilita a classificação e a seleção de animais com maior valor genético para uma determinada característica. Quando, no entanto, se intenciona avaliar os indivíduos do ponto de vista genômico, a caracterização e o estudo dos blocos haplotípicos é de grande importância, pois permite avaliar partes do DNA pouco alteradas e que tendem a serem herdadas quase que integralmente através das gerações. Com isso, é possível explicar se há relação entre populações através do estudo da divergência de seus blocos haplotípicos. Atualmente, vários métodos para definir blocos de haplótipos têm sido propostos. Os detalhes dos algoritmos propostos diferem de estudo para estudo, e isso tem tornado a comparação dos resultados apresentados em diferentes estudos uma proposta desafiadora. Dentre as muitas formas possíveis de se dividir os dados em blocos (Wall & Pritchard, 2003), a



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

implementada por Purcell et al. (2007) parece ser a mais adequada. Com isso, o objetivo desta análise se baseou na identificação e comparação de blocos haplotípicos que apresentassem associação entre si em uma abordagem investigativa para posteriores análises em estudo de associação.

Material e Métodos

O conjunto de dados analisado neste trabalho contém a descrição de 122.197 SNPs do genoma de 4.292 indivíduos distribuídos em quatro raças zebuínas (Nelore, Guzerá, Gir e Sindi) e uma população F2, proveniente do cruzamento das raças Gir e Holandês. O processo de genotipagem foi feito utilizando um painel de 50K e HD (High-density Bovine SNP BeadChip) da Illumina®. Entretanto, para a padronização dos marcadores, foram utilizadas somente as informações referentes ao conjunto de SNPs presentes no painel de 50K. Para o controle de qualidade das amostras, foram adotados call rate superior a 0,90 e heterozigosidade de ± 3 desvios-padrão da média. Já como os critérios para qualidade do marcador foram adotados a call rate acima de 0,98, MAF de 2% e HWE de 10-6, SNPs com correlação acima de 0,99 e SNPs coincidentes. Além de SNPs com possíveis erros de posicionamento físico em relação ao mapa de referência.

Inicialmente foi realizada a construção dos haplótipos pelo software fastPHASE (Scheet & Stephens, 2006), e na sequência, os blocos haplotípicos foram montados utilizando-se recursos do aplicativo PLINK (Purcell et al. 2007). A diversidade haplotípica foi medida pelo total de blocos haplotípicos definidos, bem como a extensão destes para cada raça estudada.

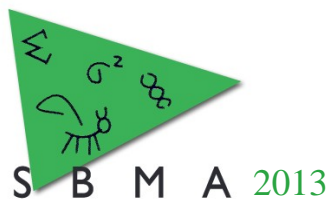
Resultados e Discussão

Como uma primeira abordagem, foram tabuladas as proporções médias obtidas com os blocos de haplótipos. Assim, foram formados 1.254 blocos haplotípicos, identificados por meio dos 122.197 SNPs das raças analisadas, sendo que a maior parte deles variou entre 70 a 117kb de comprimento médio (Tabela 1). Estes resultados evidenciam que podem haver diferenças sistemáticas nos níveis de desequilíbrio de ligação entre as populações estudadas. Nas raças bovinas Sindi, Gir e Nelore, os blocos haplotípicos apresentaram-se mais extensos do que nas amostras de Guzerá; entretanto, como esperado, a população F2 apresentou maior média de blocos comparado às quatro raças zebuínas.

Tabela 1. Extensão dos haplótipos (tamanhos: mínimo, máximo e médio) e quantidade de blocos haplotípicos (BH) com diferentes número de SNPs em cada raça estudada e F2.

Raças	Extensão dos BH (kb)		Tamanho médio dos BH (kb)	Total de BH	Quantidade de BH por nº de SNPs					
	Min.	Máx.			2	3	4	5	6	7
Sindi	0,179	196,6	79,79	113	54	2	42	13	2	-
Guzerá	0,085	199,4	70,63	208	117	4	60	26	1	-
Gir	0,024	198,6	79,62	92	44	1	38	8	1	-
Nelore	0,024	199,5	74,88	181	98	2	58	21	2	-
F2	0,085	200,0	116,30	660	166	5	368	112	7	2

A Tabela 1 também apresenta a caracterização dos blocos de haplótipos identificados, sendo que a maior parte deles foi etiquetado por dois, quatro ou cinco SNPs. Nessa mesma tabela, pode ser visto que uma quantidade de blocos de haplótipos relativamente pequenos foi identificada. No trabalho apresentado por Qanbari et al. (2010), o qual objetivou efetuar a caracterização dos blocos haplotípicos para animais da raça Holandês, verificou-se que os blocos formados apresentavam tamanho variando entre 100 a



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

150Kb, identificados por três marcadores. O menor comprimento dos blocos observados para os zebuínos pode ser atribuído ao menor desequilíbrio de ligação observado nestas raças e principalmente à maior informatividade do chip para DNA taurino. Diferentemente das raças puras analisadas, a população F2 possui maior quantidade de blocos haplotípicos, os quais foram etiquetados por até sete SNPs. Nessa população, dos 660 haplótipos identificados, 368 foram etiquetados por cerca de quatro SNPs. Percebe-se com isso que o número elevado de marcadores utilizados para a população F2 (devido a maior informatividade do chip para o DNA taurino presente nestes animais) contribuiu para que boa parte dos blocos de haplótipos fossem identificados.

Conclusões

Os blocos de haplótipos identificados nos genomas das quatro raças puras zebuínas analisadas foram, de modo geral, reduzidos comparado aos encontrados nas raças taurinas, provavelmente pelo menor desequilíbrio de ligação existente nestes grupos de animais e a menor informatividade do chip utilizado para o estudo. Os blocos haplotípicos encontrados constituem uma potencial ferramenta para estudos posteriores. No entanto, sua aplicação demanda análises adicionais envolvendo um número maior de indivíduos das populações.

Literatura citada

- SCHEET, P.; STEPHENS, M. A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase. **Am. J. Hum Genet.** 78:629-644, 2006.
- WALL, J. D.; PRITCHARD, J. K. Haplotype Blocks And Linkage Disequilibrium In The Human Genome. **Nature.** v. 4, p.587-597, 2003.
- PURCELL, S.; NEALE, B.; TODD-BROWN, K.; THOMAS, L.; FERREIRA, M.A.R.; BENDER, D.; MALLER, J.; SKLAR, P.; DE BAKKER, P.I.W.; DALY, M.J.; SHAM, P.C. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. **American Journal of Human Genetics**, 81, 2007.
- QANBARI, S.; PIMENTEL, E.C.G.; TETENS, J. et al. A genome-wide scan for signatures of recent selection in Holstein cattle. **Animal Genetics**, v.41, p.377-389, 2010.