

XI Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal  
Santa Maria, RS – 07 e 08 de setembro de 2015

## Seleção de Marcadores a partir do Estudo de Associação Genômica Ampla para Resistência ao Carrapato em Bovinos das Raças Hereford e Braford<sup>1</sup>

Bruna Pena Sollero<sup>1</sup>, Karoline da Silva Vaz Oliveira<sup>2</sup>, Gustavo Garcia Santiago<sup>3</sup>,  
Fernando Flores Cardoso<sup>4</sup>

<sup>1,4</sup>Pesquisador A – Embrapa Pecuária Sul, Bagé. E-mail: [bruna.sollero@embrapa.br](mailto:bruna.sollero@embrapa.br), [fernando.cardoso@embrapa.br](mailto:fernando.cardoso@embrapa.br)

<sup>2</sup>Estudante de graduação Medicina Veterinária, Universidade da Região da Campanha, Bagé-RS. [Karolvaoliveira67@hotmail.com](mailto:Karolvaoliveira67@hotmail.com)

<sup>3</sup>Estudante de Doutorado, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande. [gustavo\\_garciaSantiago@hotmail.com](mailto:gustavo_garciaSantiago@hotmail.com)

**Resumo:** O presente trabalho utilizou inferência bayesiana para analisar as associações estatísticas existentes entre a característica resistência ao carrapato e genótipos de marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) referentes a 3.455 animais representantes das raças Hereford e Braford. Por meio do método BayesB ( $\pi=0,99$ ), 914 SNPs representaram 48 janelas que explicaram 22% da variância genética da característica estudada. A partir destes marcadores, critérios baseados em parâmetros estatísticos (*Model Frequency* e *t.like*) relacionados ao efeito e à amostragem dos marcadores nas iterações de MCMC, bem como desequilíbrio de ligação (DL) e *Minor Allele Frequency* (MAF), foram utilizados para selecionar os SNPs mais informativos. A seleção final, visando priorizar os SNPs com valores mais altos de *Model Frequency* e *t.like* e DL <0,4, resultou em 58 marcadores, dos quais 51 foram mapeados próximos ou dentro de 103 genes envolvidos no mecanismo de resposta fisiológica relacionado à resistência do bovino ao carrapato.

**Palavras-chave:** Bayesiana, desequilíbrio de ligação, resposta imune.

## Selection of Tag SNPs from GWAS analysis for tick resistance in Hereford and Braford Cattle Breeds

**Abstract:** This study applied Bayesian inference to analyze statistic associations between tick resistance trait and genotypes for SNP markers of 3,455 Hereford and Braford cattle breeds. Based on BayesB method ( $\pi=0,99$ ), 914 SNPs represented 48 windows which explained 22% of the genetic variance of the trait. From these markers, criteria based on statistic parameters (“Model Frequency” and “t.like”) related to marker effects and markers samples from MCMC, as well as linkage disequilibrium (LD) and Minor Allele Frequency (MAF) were used to select the most informative SNPs. The final selection, aiming to prioritize SNPs with higher “Model Frequency” and “t.like” and LD <0,4, resulted in 58 marker’s in which 51 were mapped close or in 103 genes involved with the mechanism of physiological responses related to tick resistance trait in cattle.

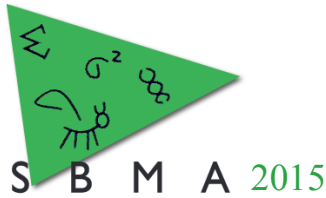
**Keywords:** Bayesian, linkage disequilibrium, immune response.

### Introdução

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, acarreta sérios prejuízos econômicos ao setor agropecuário. Entretanto, estratégias genômicas têm possibilitado a identificação e seleção de fenótipos mais resistentes a este parasita bovino (Cardoso et al., 2015). Associações estatísticas entre a característica e marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) possibilitam a descoberta de genes candidatos, e a compreensão de fatores genéticos envolvidos na expressão destes fenótipos mais resistentes. O presente trabalho tem como objetivo avaliar, por meio de inferência bayesiana, a associação genômica ampla (GWAS) para a característica resistência ao carrapato em bovinos das raças Hereford e Braford e a partir dos resultados, aplicar uma estratégia de seleção dos marcadores mais informativos.

### Material e Métodos

Por meio do painel de alta densidade (Illumina BovineSNP50 BeadChip), 3.545 bovinos das raças Hereford e Braford foram genotipados, e após controle de qualidade de amostras e marcadores, formou-se uma matriz final de genótipos (41.045 SNPs) referentes a 3.455 animais. Os genótipos destes



animais juntamente com seus respectivos valores de EBVs desregredidos (DEBV) (Garrick et al., 2009) para a característica resistência a carrapato foram utilizados na análise Bayesiana de associação genética ampla (GWAS) por meio do programa GenSel, versão 4.0 (Fernando & Garrick, 2009). Os efeitos dos marcadores foram calculados pelo método BayesB (Meuwissen et al., 2001) ( $\pi=0.99$ ), considerando 41.000 iterações de *Monte Carlo* via *Cadeias de Markov*, intervalos de amostragem de 40, e 1.000 iterações iniciais descartadas (*burn-in*). As proporções de variâncias genéticas explicadas por intervalos cromossômicos equivalentes a um Megabase (1Mb) e representados por SNPs ordenados de acordo com o mapeamento físico do genoma bovino (UMD 3.1), também foram propostas.

Os marcadores mais informativos representantes das janelas que explicaram maiores proporções da variância genética (potencial QTL) relacionada à característica foram primeiramente selecionados de acordo com parâmetros que refletem: 1) a proporção de cadeias que incluíram determinado marcador no modelo (*Model Frequency*) e 2) a razão do efeito médio *a posteriori* somente das cadeias que incluíram o efeito no modelo sobre o desvio padrão das distribuições destes efeitos (*t-like*). Posteriormente, a seleção final considerou o desequilíbrio de ligação (DL) entre pares de SNPs e os valores de *Minor Allele Frequency* (MAF) (se  $DL > 0,4$ , aquele de maior MAF é selecionado).

Bancos de dados públicos como o “Ensembl genome browser” e o NCBI (“National Center for Biotechnology Information”) foram acessados via scripts em PERL, o programa BEDtools e pacotes do programa R (“NCBI2R”) para localizar e investigar a funcionalidade de genes mapeados próximos aos SNPs selecionados.

### Resultados e Discussão

A análise simultânea de 41.045 marcadores SNPs pelo método BayesB resultou em um valor médio *a posteriori* da variância genética referente a 0,010, herdabilidade estimada de 0,11 e um total de 2.519 janelas não-sobrepostas (Figura 1). Janelas que explicaram mais de 0,2% da variância genética da característica ( $n=48$ ) foram consideradas potenciais QTLs (Onteru et al. (2011).

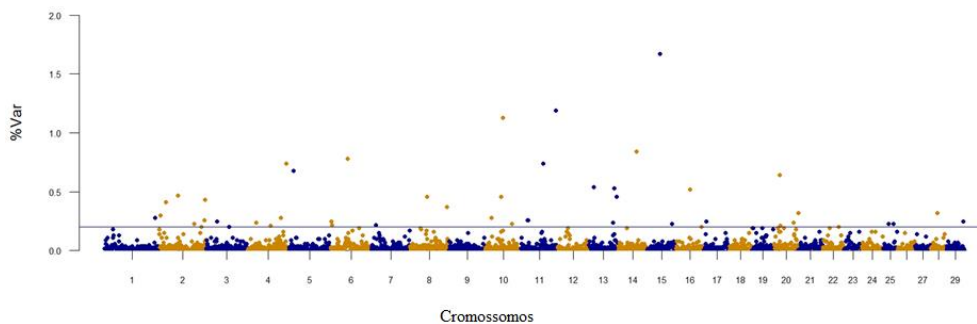
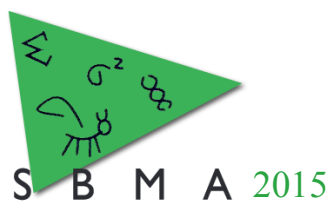


Figura 1. *Manhattan plot* das porcentagens de variâncias genéticas (%Var) representadas por cada uma das 2.519 janelas de 1Mb propostas pelo programa GenSel (BayesB,  $\pi=0,99$ ) apresentadas em ordem cromossômica (BTA1:BTA29). A linha define o limiar (0,2%) acima do qual se sugere potenciais QTLs.

No total, 914 SNPs representaram estas 48 janelas que explicaram 22% da variância genética, incluindo aquelas de maiores valores, identificadas nos cromossomos BTA10 (1.13%), BTA11 (1.19%) e BTA15 (1.67%). Com base nesta lista de marcadores pré-selecionados, a estratégia de seleção daqueles mais informativos foi aplicada. Primeiramente, o valor mínimo de MF (0,0898) encontrado entre os SNPs que apresentaram os valores máximos de MF dentro de cada janela, foi utilizado como limiar de seleção entre os 914 SNPs classificados em ordem decrescente, ou seja, selecionando-se somente SNPs com valores de MF acima de 0,0898 (filtro 2). Posteriormente, considerando também o valor mínimo para *t-like* observado entre os 57 remanescentes (0,9020) (filtro 3), incluiu-se mais seis SNPs na lista de selecionados (63 SNPs), os quais foram finalmente avaliados pelos critérios de DL e MAF (filtro 4). A



fim de priorizar os SNPs com valores mais altos de *Model Frequency* e *t.like*, a seleção final resultou em 58 marcadores mais informativos. A tabela 1 apresenta a dispersão dos valores obtidos para MF e *t.like* entre as etapas de seleção.

Tabela 1. Número de marcadores selecionados (N. SNP), valores mínimos, médios e máximos obtidos para os parâmetros *Model Frequency* e *t.like* a cada etapa de seleção (filtros 1 a 4) dos marcadores mais informativos após GWAS.

Seleção SNPs	N. SNPs	<i>Model Frequency</i>			<i>t.like</i>		
		Min.	Média	Máx.	Min.	Média	Máx.
filtro 1	914	0,0053	0,0245	0,7574	0,0040	0,523	1,3930
filtro 2	57	<b>0,0898</b>	0,2116	0,7574	0,9020	0,9572	1,3930
filtro 3	63	0,0744	0,199	0,7574	<b>0,9020</b>	0,9525	1,3930
filtro 4	58	0,0744	0,2044	0,7574	0,9020	0,9547	1,3930

Entre os 29 cromossomos autossômicos de bovinos, 20 foram amostrados por este pequeno painel de marcadores selecionados, sendo que o BTA2 foi o mais representado por SNPs entre todos (9 dos 58 SNPs). Outros trabalhos também encontraram efeitos significativos associados à característica resistência ao carrapato no BTA2 (Turner et al., 2010). De acordo com a análise funcional dos 58 SNPs selecionados, 51 foram mapeados (41 no genoma *Bos taurus* e 10 no genoma *Homo sapiens*) próximos ou dentro da região de 103 genes. Dentre os genes mapeados, vários se enquadram a componentes moleculares e/ou funções biológicas relacionadas à coagulação, remodelamento de citoesqueleto e imunidade inata ou adquirida, dentre as quais, estimulação da proliferação/diferenciação de macrófagos e quimiotaxia de linfócitos.

### Conclusões

O método bayesiano de análise de associação ampla, aplicado em duas raças taurinas de bovinos de corte, identificou QTLs que representam mais de 20% da característica resistência ao carrapato. A estratégia de seleção de marcadores mais informativos utilizada foi capaz de propor um painel de 58 SNPs relacionados a genes potencialmente envolvidos com a resposta fisiológica da resistência do bovino ao carrapato.

### Literatura citada

- Cardoso, F. F., Gomes, C. C. G., Sollero, B. P. 2015. Genomic prediction for tick resistance in Braford and Hereford cattle. *Journal of Animal Science* 93: 2693-2705. doi:10.2527/jas.2014-8832.
- Fernando, R.L., Garrick, D.J. 2009. GenSel – User Manual for a Portfolio of Genomic Selection Related Analyses. Animal Breeding and Genetics Iowa State University Ames. <http://www.biomedcentral.com/content/supplementary/1471-2105-12-186-S1.PDF>.
- Garrick, D.J.; Taylor, J.F.; Fernando, R.L. 2009. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. *Genetic Selection Evolution* 41-55.
- Meuwissen, T.H.E.; Hayes, B.J.; Goddard, M.E. 2001. Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.
- Onteru, S.K., Fan, B., Du, Z-Q. 2011. A whole-genome association study for pig reproductive traits. *Animal Genetics*, 43(1):18-26.
- Turner, L.B., Harrison, B.E., Bunch, R.J., Neto, L.R.P., Li, Y., Barendse, W. 2015. A genome-wide association study of tick burden and milk composition in cattle. *Animal Production Science*, 50: 235–245.