

Estudo dos segmentos de homozigose em uma população de suínos

Letícia Borges Joaquim¹, Guilherme Batista do Nascimento¹, Jorge Augusto Petroli Marchesi², Rodrigo Pelicioni Savegnago¹, Mauricio Egidio Cantão³, Mônica Corrêa Ledur³, Danísio Prado Munari¹

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, Brasil.

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil

*Autor correspondente: leticiajoaquim@gmail.com

Resumo: Marcadores do tipo SNP (Polimorfismo de nucleotídeo único) são úteis em estudos de estrutura da população e conservação genética, permitindo obter informações sobre a história de uma população e parentesco entre seus indivíduos. Para investigar o histórico de seleção de uma linhagem comercial materna de suínos, 300 fêmeas e 25 machos foram analisados utilizando um painel de SNPs de 60K para a detecção de segmentos de homozigose (ROH, do inglês *Runs of Homozygosity*) com alta frequência populacional. As regiões de ROH em mais de 30% dos animais foram investigadas para identificar possíveis regiões conservadas. Um grande número de ROHs longos (> 5Mb) foi encontrado podendo indicar recentes eventos de endogamia na população estudada. Nas regiões de homozigose com frequência maior que 30% foram identificados 240 genes, dos quais alguns estão descritos como envolvidos na expressão de características reprodutivas e de comportamento. Logo, o presente estudo reforça a eficácia na utilização de dados de ROH para o estudo do histórico de seleção em populações animais, e sugere que os ancestrais da população estudada possivelmente foram submetidos a seleção direta ou indireta para características reprodutivas e comportamentais.

Palavras-chave: Domesticação, Linhagem fêmea, Polimorfismo de nucleotídeo único, Seleção

Study of runs of homozygosity in a pig population

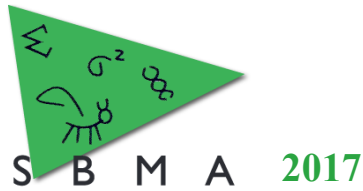
Abstract: Single nucleotide polymorphism (SNP) markers are useful to study population structure and conservation genetics, which allows assessing information about population history and the relationship among individuals. To investigate the population history, 300 females and 25 males from a commercial maternal pig line were analyzed using genomic data to detect runs of homozygosity (ROH). The ROH regions present in more than 30% of the samples were investigated to identify possible conserved regions. A large number of long ROHs (> 5Mb) were found and might indicate recent inbreeding events in the studied population. In the homozygous regions with frequency greater than 30% 240 genes were identified, which some of them were described affecting behavioral and reproductive traits. Therefore, the study showed evidence that the ancestors of the studied population have undergone direct or indirect selection for behavior and reproduction traits.

Keywords: Domestication, Maternal line, Single nucleotide polymorphism, Selection

Introdução

A disponibilidade de painéis de SNP surgiu como uma ferramenta essencial para os estudos de associação genômica ampla e seleção de características economicamente importantes. Além do uso para fins da produção agropecuária, estes painéis têm demonstrado a sua funcionalidade no estudo da estrutura e conservação das populações (HERERRO-MEDRANO et al., 2013).

A análise de dados genéticos possibilitou a identificação de segmentos de homozigose (ROH) e revelou a ocorrência comum de alguns desses segmentos nas populações de todo o mundo. Logo, surgiu interesse em compreender o papel destes ROHs realizando análises para investigar tanto questões relacionadas com a teoria básica de genética de populações quanto em estudos de susceptibilidade a doenças. Em estudos de genética de populações, trabalhos foram realizados para analisar a distribuição,



XII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal Ribeirão Preto, SP – 12 e 13 de junho de 2017

localização e prevalência dos ROH com objetivo de inferir sobre a estrutura e histórico de seleção natural ou artificial destas populações (HOWRIGAN, SIMONSON, KELLER, 2011).

Dado que o estudo de variantes genômicas é importante em análises genéticas uma vez que estas fornecem informações sobre a ancestralidade genética de indivíduos e a história evolutiva das populações, o objetivo deste trabalho foi analisar o número e o tamanho de segmentos de ROH, assim como investigar os genes presentes em regiões de ROH frequentes na população, para tentar entender o histórico de seleção de uma linhagem comercial materna de suínos.

Material e Métodos

As amostras de tecido da orelha de 300 fêmeas e 25 machos de uma linhagem fêmea base Landrace foram genotipadas com o painel Illumina PorcineSNP60 v2 BeadChip (Illumina, San Diego, CA, EUA). Foi realizado controle de qualidade para remoção de amostras e SNPs com ‘call rate’ menor que 90% e dos marcadores localizados nos cromossomos sexuais ou sem posição definida. Os segmentos de homozigose foram detectados utilizando o programa PLINK v.1.9 definindo-se ROH como os segmentos com pelo menos 50 SNPs homozigotos em uma distância mínima de 1.000 Kb, permitindo a presença de um SNP heterozigoto e um SNP faltante/perdido dentro de uma janela de 50 SNPs.

As regiões de ROH presentes em mais que 30% da população foram exploradas com objetivo de identificar possíveis regiões conservadas associadas com características adaptativas e de sobrevivência. Para isso, genes localizados nessas regiões foram identificados utilizando o UCSC *genome browser* (Scrofa 10.2) e para a análise de enriquecimento, o programa DAVID 6.8 (FDR < 0,20).

Resultados e Discussão

Os segmentos de homozigose cobriram 11,89% do genoma da população estudada com média de 54 ROHs por animal e máximo de 74 segmentos. O tamanho dos segmentos variou de 152,1 Mb a 652,5 Mb apresentando média de 333,9 Mb. O alto número de ROH longos (>5 Mb) observado nessa população pode ser indicativo de que a população não sofreu cruzamento recente, caso contrário o cruzamento com outras linhagens teria provocado a quebra desses segmentos. Herrero-Medrano et al. (2013), estudando raças Ibéricas, encontraram ROHs com tamanho médio de 50 a 100 Mb, enquanto que Bosse et al. (2012) verificaram maior proporção de ROHs entre 0,1 a 5 Mb para raças comerciais europeias. A alta prevalência de longos ROHs pode indicar também endogamia recente na população estudada. Fisher (1954) observou que o tamanho esperado de um segmento de DNA, que é idêntico por descendência, segue distribuição exponencial com média igual a $\frac{1}{2}g$ Morgans, em que “g” é o número de gerações passadas desde o ancestral comum. Desta maneira, longos ROH (>5 Mb) refletem endogamia a partir de um ancestral comum que está a menos de 10 gerações passadas.

Foram encontrados 36 ROHs presentes em mais que 30% da população. Esses ROHs identificados apresentaram tamanho pequeno (1 a 5 Mb) e estavam localizados principalmente no cromossomo 17 (78%). Os outros segmentos presentes em mais de 30% da população foram encontrados nos cromossomos 1, 4, 7 e 14. Nas regiões de homozigose com frequência maior que 30% foram identificados 240 genes enriquecidos em 12 *GO-terms* (FDR < 0,20) associados com processos biológicos agrupados em cinco *superclusters*, sendo o de regulação negativa da secreção de hormônios o mais enriquecido (Figura 1).

Os ROHs identificados no presente estudo fornecem um indicativo da história evolutiva e de seleção de suínos de linhagens maternas, visto que genes localizados nessas regiões, como *PLCB1* (*Phospholipase C Beta 1*) e *TMX4* (*Thioredoxin Related Transmembrane Protein 4*), foram enriquecidos em processos biológicos como do desenvolvimento do córtex cerebral e comportamento locomotor (Figura 1), sugerindo uma possível seleção para características comportamentais, como ocorreu no processo de domesticação de animais de produção. Além disso, também foram identificados genes relacionados com características reprodutivas, como gene *LIF* (*Leukemia Inhibitory Factor*) que já foi relacionado com o número total de nascidos vivos em suínos das raças Landrace, Large White e Duroc. Corroborando com os resultados encontrados, estudos recentes com suínos utilizando outras metodologias também identificaram regiões de assinatura de seleção que coincidem com *loci* que controlam processos biológicos relacionados com características comportamentais e reprodutivas que podem ter sido favorecidas pelo processo de seleção (Wang et al., 2015).

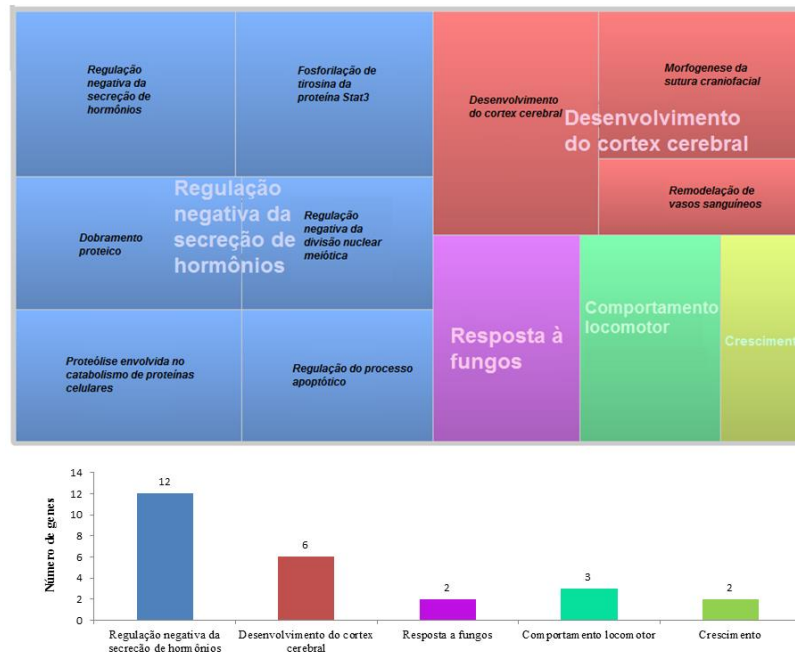


Figura 1. “Treemap” dos processos biológicos baseados na estatística da ontologia dos genes significativamente ($FDR < 0,20$) identificados nas ROHs compartilhadas pela população. Cada retângulo representa um único cluster. Os clusters relacionados são agrupados em ‘superclusters’, visualizados pelas diferentes cores.

Conclusão

Os resultados do presente estudo demonstram a importância dos painéis de genotipagem para fornecer conhecimento sobre o histórico da população. Além disso, o estudo de ROHs nessa população auxilia na compreensão de como a pressão de seleção pode moldar o genoma durante o processo de domesticação, e evidenciam que os ancestrais da população estudada sofreram seleção direta ou indireta para características reprodutivas e comportamentais.

Literatura citada

BOSSE, M.; MEGENS, H-J.; MADSEN, O.; PAUDEL, Y.; FRANTZ, L.A.F.; SCHOOK, L. B.; CROOIJMANS, R. P. M. A.; GROENEN, M. A. M.; Regions of homozygosity in the porcine genome: consequence of demography and the recombination landscape. **Plos Genetics**, v. 8, e1003100, 2012.

FISHER, R. A. A fuller theory of “junctions” in inbreeding. **Heredity**, v. 8, p. 87–197, 1954.

HERRERO-MEDRANO, J.; MEGENS, H-J.; GROENEN, M. A. M.; RAMIS, G.; BOSSE, M.; PÉREZ-ENCISO, M.; CROOIJMANS, R.P.M.A. Conservation genomic analysis of domestic and wild pig populations from the Iberian Peninsula. **BMC Genetics**, v. 14, p. 106-119, 2013.

HOWRIGAN, D. P.; SIMONSON, M.; KELLER, M. C. Detecting autozygosity through runs of homozygosity: A comparison of three autozygosity detection algorithms. **BMC Genomics**, v. 12, p. 460-475, 2011.

WANG, C.; WANG, H.; ZHANG, Y.; TANG, Z.; LI, K.; LIU, B. Genome-wide analysis reveals artificial selection on coat colour and reproductive traits in Chinese domestic pigs. **Mol. Ecol. Resour.**, v.15, 414-424, 2015.