

IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

Aplicação da metodologia de homozigose do haplótipo estendido (EHH) para genes relacionados com crescimento e deposição de gordura em bovinos da raça Nelore¹

Adriana Luiza Somavilla², Roberto Hiroshi Higa³, Maurício de Alvarenga Mudadu⁴, Mauricio Mello de Alencar^{4,5}, Luciana Correia de Almeida Regitano^{4,5}, Rede BifeQuali⁶

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor

²Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal – UNESP/Jaboticabal. Bolsista CNPq. e-mail: adri_somavilla@yahoo.com.br

³Pesquisador Embrapa Informática Agropecuária – Campinas/SP

⁴Pesquisador Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos/SP

⁵Pesquisador CNPq

⁶<http://www.macroprograma1.cnptia.embrapa.br/bifequali>

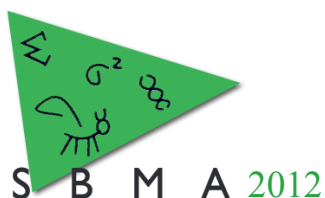
Resumo: O rebanho bovino brasileiro destinado à produção de carne vem sendo selecionado há décadas, por programas de melhoramento genético, para diversas características de crescimento e, mais recentemente, de deposição de gordura. A seleção artificial resulta em alterações no genoma, que podem ser detectadas, por exemplo, por diferenças nos padrões de homozigose dos indivíduos de uma população, permitindo a identificação de regiões do genoma que controlam características sob seleção. Com o objetivo de avaliar a presença de assinaturas de seleção do genoma de bovinos Nelore que continham genes candidatos relacionados com crescimento e deposição de gordura, foram genotipados 796 indivíduos com o chip *Illumina BovineHD BeadChip* e, posteriormente, inferida a fase de ligação dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), formados os blocos de desequilíbrio de ligação (haplótipos) e realizada a detecção de possíveis evidências de seleção nas regiões específicas de quatro genes candidatos - somatostatina (SST), receptor da leptina (LEPR), gene da proteína de ligação de ácido graxo 4 (FABP4) e gene do hormônio do crescimento (GH1) - bem como o padrão de frequência e homozigose dos haplótipos. Foram encontradas evidências de seleção nos quatro genes, sugerindo que estão relacionados com crescimento (SST e GH1), metabolismo e deposição de gordura (LEPR e FABP4) na raça Nelore.

Palavras-chave: acabamento, assinaturas de seleção, deposição muscular, desequilíbrio de ligação, gado de corte

Extendend Haplotype Homozygosity (EHH) method application for genes related to growth and fat deposition in Nelore cattle

Abstract: The Brazilian beef cattle herd has been selected for decades in breeding programs, for several growth traits and, more recently, for fat deposition. Selection results in genome changes, which can be detected by differences in patterns of homozygosity of the individuals in a population, allowing the identification of genome regions controlling traits under selection. In order to evaluate the presence of selection signatures in genome regions of Nelore containing candidate genes related to growth and fat deposition, 796 individuals were genotyped with the *Illumina BovineHD BeadChip* and subsequently the phase of single nucleotide polymorphisms (SNPs) were inferred and blocks of linkage disequilibrium (haplotypes) were built. Tests for detect evidence of selection in specific regions of four candidate genes – somatostatin (SST), leptin receptor (LEPR), fatty acid bind protein 4 (FABP4) and growth hormone – as well the frequency and homozygous patterns of haplotypes were determined. We found evidence of selection in all genes, suggesting they are related to growth (TSS and GH1), or metabolism and fat deposition (LEPR and FABP4) in this breed.

Keywords: beef cattle, finishing, linkage disequilibrium, muscle deposition, selection signatures



Introdução

A produção de carne bovina no Brasil é baseada principalmente em raças zebuínas e seus cruzamentos, sendo a raça Nelore (*Bos indicus*) a de maior destaque. Nessa raça, a seleção para características de crescimento vem ocorrendo há décadas. Mais recentemente as características de deposição de gordura também têm recebido maior atenção nos programas de melhoramento genético. Sabe-se que a seleção artificial resulta em alterações no genoma, que podem ser detectadas, por exemplo, por diferenças nos padrões de homozigose dos indivíduos de uma população, permitindo a identificação de regiões do genoma que controlam características sob seleção, por meio da análise dos padrões dos dados genômicos, sem a necessidade de informações fenotípicas (Simianer et al., 2010).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar regiões de interesse do genoma de bovinos Nelore, que continham genes candidatos, possivelmente relacionados com crescimento e deposição de gordura.

Material e Métodos

Foram genotipados 796 indivíduos da raça Nelore com o chip *Illumina BovineHD BeadChip*, que possui mais de 777 mil SNPs. A inferência da fase de ligação dos SNPs, para posterior formação dos haplótipos foi feita por meio do software *AlphaPhase* (Hickey et al., 2011). Para detectar possíveis evidências de seleção nas regiões específicas, observou-se o LD entre os SNPs, bem como o padrão de frequência e homozigose dos haplótipos pelo software *Sweep 1.1* (Sabeti et al., 2002), que aplica a metodologia EHH (homozigose do haplótipo estendido), que consiste na relação entre as frequências dos alelos e a extensão do LD. Nesse caso, a mensuração do LD foi realizada entre um alelo em um locus específico com múltiplos loci, a várias distâncias. Como as taxas de recombinação não são constantes ao longo do genoma, os autores propuseram uma correção, assim, a extensão do LD e avaliada pela homozigose relativa do haplótipo estendido (REHH).

Os genes candidatos avaliados foram: somatostatina (SST), receptor da leptina (LEPR), gene da proteína de ligação de ácido graxo 4 (FABP4) e gene do hormônio do crescimento (GH1).

Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os genes em análise, o SNP mais próximo do gene, frequências dos haplótipos e o resultado da aplicação do teste EHH. Partiu-se do pressuposto que a medida de REHH é um indicativo do LD ao redor do haplótipo em estudo e, valores superiores a 1 significam alta homozigosidade daquele bloco em relação aos outros de igual frequência (Sabeti et al., 2002). Com base nos *P*-valores de REHH, entende-se que os genes SST, LEPR, FABP4 e GH1 estão em regiões sob possível seleção (Tabela 1).

Tabela 1 Resultados da aplicação do teste EHH em regiões de genes candidatos no genoma de bovinos Nelore

Gene	Cromossomo	SNP (posição)	Frequência (%) ^a	REHH ^b	<i>P</i> -valores REHH ^b
SST	1	BovineHD0100023090 (80272087)	H1: 67	12,69/3,93	0,001/0,09
			H2: 25	0,07/0,24	1,00/0,89
LEPR	3	BovineHD0300023059 (80107536)	H1: 56	7,24/3,21	0,02/0,28
			H2: 37	0,14/0,31	0,94/0,63
FABP4	14	BovineHD1400013253 (46823262)	H1: 86	0,74/3,16	0,65/ 0,03
			H2: 14	1,35/0,32	0,14/0,86
GH1	19	BovineHD1900013561 (48772161)	H1: 72	1,12/0,55	0,77/0,97
			H2: 13	1,10/2,78	0,15/ 0,01

^a Frequência dos dois haplótipos mais frequentes na população; ^b Os valores de REHH e *P*-valores do REHH foram calculados para ambos os lados do haplótipo núcleo

Para observar o declínio da homozigosidade nesses genes, o EHH foi plotado contra a distância, em cM, do haplótipo núcleo (Figura 1). Em nenhum deles a homozigosidade se estende além de 0,2 cM, evidenciando a pequena extensão do LD na raça Nelore.

Esses resultados são importantes, pois os genes *SST* e *GH1* estão relacionados com crescimento e deposição muscular, sendo que o gene *SST* é regulador negativo do *GH1* (Gao et al., 2011). Assim, como a raça vem sendo selecionada para maior deposição muscular, era esperado que genes relacionados esse fenótipo estivessem sob pressão de seleção. Além disso, o gene *LEPR* está associado com o balanço energético dos indivíduos, sendo um potencial candidato a afetar características de crescimento (Guo et al., 2011), e o gene *FABP4* está relacionado com deposição de gordura intramuscular e, consequentemente, maior marmoreio em bovinos de corte (Michal et al., 2006).

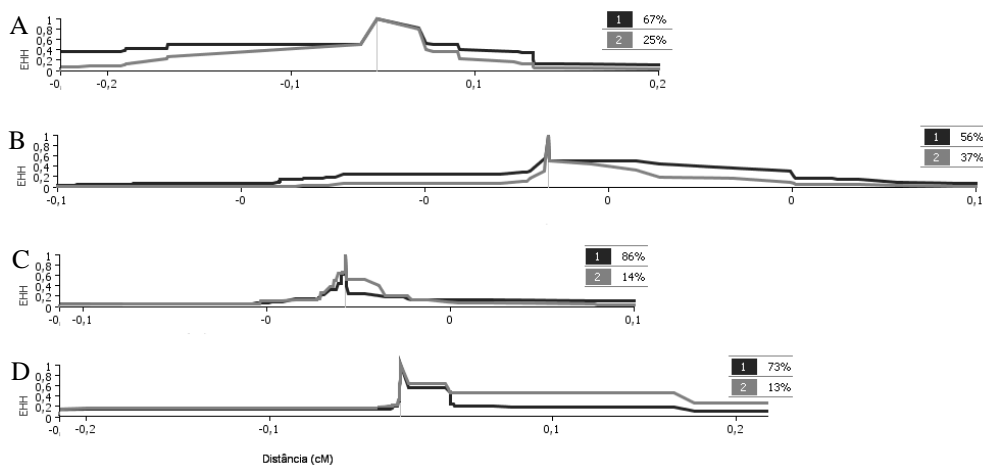


Figura 1 EHH x distância para os genes *SST* (A), *LEPR* (B), *FABP4* (C) e *GH1* (D), mostrando o declínio da homozigosidade dos dois haplótipos mais frequentes, em função da distância do haplótipo núcleo, medida em cM. As legendas representam a frequência de cada haplótipo para cada gene.

Conclusões

Os padrões de assinaturas de seleção observados evidenciam os efeitos que os programas de melhoramento genético têm causado no genoma de bovinos da raça Nelore, uma vez que genes relacionados com as características selecionadas ao longo dos anos apresentam padrões de homozigose e frequência compatíveis com assinaturas de seleção recente.

Literatura citada

- GAO, L.; ZAN, L.S.; WANG, H.B. et al. Polymorphism of somatostatin gene and its association with growth traits in Chinese cattle. **Genetics and Molecular Research**, v.10, n.2, p.703-711, 2011.
- GUO, Y.; CHEN, H.; LAN, X. et al. Novel SNPs of the bovine *LEPR* gene and their association with growth traits. **Biochemical Genetics**, v.46, p.828-834, 2008.
- HICKEY, J.M.; KINGHORN, B.P.; TIER, B. et al. A combined long-range phasing and long haplotype imputation method to impute phase for SNP genotypes. **Genetics Selection Evolution**, v.43, n.12, doi:10.1186/1297-9686-43-12, 2011.
- MICHAL, J.J.; ZHANG, Z.W.; GASKINS, C.T. et al. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. **Animal Genetics**, v.37, p.400-402, 2006.
- SABETI, P.C.; REICH, D.E.; HIGGINS, J.M. et al. Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. **Nature**, v.419, p.832-837, 2002.
- SIMIANER, H.; QANBARI, S.; GIANOLA, D. Detection of selection signatures within and between cattle populations. **Proceedings of 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, 2010.