

## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

### Associações genômicas para perímetro escrotal ao desmame em bovinos da raça Canchim<sup>1</sup>

Marcos E. Buzanskas<sup>2</sup>, Daniela A. Grossi<sup>3</sup>, Luciana C. A. Regitano<sup>4</sup>, Flavio S. Schenkel<sup>3</sup>, Maurício M. Alencar<sup>4</sup>, Danísio P. Munari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor, UNESP/Jaboticabal, Bolsista CNPq (processo: 142053/2010-4) e PDSE-CAPES (processo: 5285-11-9).

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista, Departamento de Ciências Exatas, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, CEP: 14884-900, Jaboticabal/SP. e-mail: [marcosbuz@yahoo.com.br](mailto:marcosbuz@yahoo.com.br), [danisio@fcav.unesp.br](mailto:danisio@fcav.unesp.br)

<sup>3</sup> University of Guelph, Guelph, ON, Canada. e-mail: [d\\_agrossi@yahoo.com.br](mailto:d_agrossi@yahoo.com.br), [schenkel@uoguelph.ca](mailto:schenkel@uoguelph.ca)

<sup>4</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos/SP. e-mail: [luciana.regitano@embrapa.br](mailto:luciana.regitano@embrapa.br), [mauricio.alencar@embrapa.br](mailto:mauricio.alencar@embrapa.br)

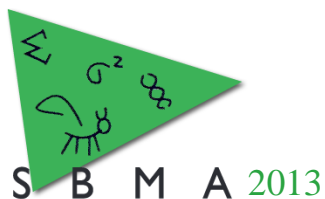
**Resumo:** O objetivo deste trabalho foi estudar a associação entre polimorfismos de base única (SNP) com os valores genéticos do perímetro escrotal mensurado ao desmame (PED) em bovinos de corte de raça sintética. Neste estudo foram utilizados 285 animais da raça Canchim e 114 animais do grupo genético MA (utilizados na formação da raça Canchim), genotipados com o painel de alta densidade (786.799 SNPs). Após o controle de qualidade de informações (genótipos e fenótipos) restaram 672.778 SNPs e 392 animais. Foram observadas associações para PED nos cromossomos 20 e 28. Após a correção para múltiplos testes ("false discovery rate") ao nível de 10%, 12 SNPs foram significativamente associados, ao longo do cromossomo, com PED. Novos e promissores genes associados com características reprodutivas foram identificados, como os genes SRD5A1 (*steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1*), NSUN2 (*NOP2/Sun domain family, member 2*) e LOC100297493 (*Odorant-binding protein-like*). Estes genes podem ser destacados, pois os dois primeiros parecem atuar no crescimento corporal; desenvolvimento do sistema reprodutivo de machos devido à produção de hormônios andrógenos e espermatogênese; enquanto que o último atua no sistema olfativo. As regiões polimórficas identificadas apresentaram funções moleculares e processos biológicos que podem estar envolvidas na manutenção do organismo e no desempenho reprodutivo de machos. Genes associados à processos hormonais poderiam ser utilizados como genes candidatos para a melhoria do desempenho reprodutivo na raça Canchim. No entanto, é necessária a validação destes resultados em outra população de bovinos Canchim para confirmação das associações genômicas.

**Palavras-chave:** bovinos de corte, melhoramento genético, seleção genômica

### Genome wide association study for scrotal circumference at weaning in Canchim breed

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the genome wide association between single nucleotide polymorphisms (SNP) with the breeding values of scrotal circumference at weaning (SCW) in a synthetic breed. A total of 285 Canchim animals and 114 MA genetic group animals (used to produce Canchim breed) were genotyped with the high-throughput SNP panel (786,799 SNPs). After the quality control of information (genotypes and phenotypes) 672,778 SNPs and 392 animals remained in the dataset. Associations were observed for SCW on chromosomes 20 and 28. After correction for multiple testing ("false discovery rate") at 10%, 12 SNPs were significantly associated (chromosome-wide) with SCW. Promising new candidate genes associated with reproduction traits were identified, such as SRD5A1 (*steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1*), NSUN2 (*NOP2/Sun domain family, member 2*) e LOC100297493 (*Odorant-binding protein-like*) genes. The first two genes seem to act in body development; male's reproductive system due to the production of androgen hormones and spermatogenesis; while the third acts in the olfactory system. The polymorphic regions identified exhibited biological processes and molecular functions that may be involved in body maintenance and reproductive performance. Genes associated with SCW could be used as candidate genes for improving the reproductive performance in the Canchim breed. However, the validation of these results in another Canchim population to confirm these genomic associations is needed.

**Keywords:** animal breeding, beef cattle, genomic selection



## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

### Introdução

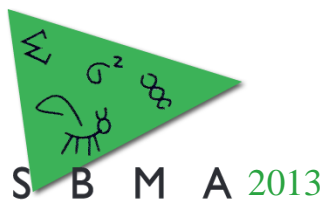
Medidas de perímetro escrotal em machos são frequentemente utilizadas em programas de avaliação genética com o objetivo de melhorar as eficiências produtiva e reprodutiva de rebanhos de bovinos de corte. Estas características são indicadoras do potencial reprodutivo, pois o tamanho dos testículos está associado com a produção e qualidade do esperma e produção de hormônios sexuais. Outro fator positivo destas medidas é que sua estimativa de herdabilidade varia de moderada a alta magnitude (BORBA et al., 2011). Embora a resposta à seleção seja eficiente devido às qualidades já descritas, a utilização de ferramentas moleculares (em especial, as genômicas) poderia auxiliar no processo de seleção desta e de outras características de interesse econômico. Além disto, seria possível identificar potenciais genes ou regiões gênicas responsáveis para variação da característica em idades jovens. Logo, tais ferramentas poderão contribuir para a redução do intervalo de geração. O objetivo deste trabalho foi associar os valores genéticos da característica perímetro escrotal ao desmame com os polimorfismos de base única presentes no genoma de animais da raça Canchim e do grupo genético MA, genotipados com o painel de alta densidade.

### Material e Métodos

Os valores genéticos da característica perímetro escrotal ao desmame (PED) foram cedidos pelo Programa Embrapa de Melhoramento de Gado de Corte e utilizados para o estudo de associação genômica. Foram considerados nas análises 285 animais da raça Canchim e 114 animais do grupo genético MA, genotipados com o painel de alta densidade (BovineHD - Illumina® bead chip - 786.799 SNPs). Para o controle de qualidade dos genótipos foram excluídos SNPs com escore de leitura inferior a 0,15; SNPs com desvios significativos ( $P < 10^{-5}$ ) do equilíbrio de Hardy-Weinberg; SNPs com excesso de heterozigose ( $> 15\%$ ); SNPs com frequência alélica inferiores a 5%; e taxa de leitura para SNPs e animais inferiores a 85%. Apenas os cromossomos autossômicos e SNPs com posição conhecida foram utilizados. Após o controle de qualidade, 392 registros de animais permaneceram no arquivo de dados. A análise de associação foi realizada utilizando-se o método “Generalized Quasi-Likelihood Score” (GQLS), desenvolvido por Feng et al. (2011). O método GQLS utiliza o modelo de regressão logística para associar os fenótipos de uma característica (tratados como co-variável) aos genótipos (tratados como variável resposta). Foi utilizada a correção para múltiplos testes (“false discovery rate”) ao nível de significância de 10%. Após a análise de associação genômica foi verificado a localização dos SNPs significativos no genoma. Caso o SNP estivesse em região intergênica, verificou-se a presença de genes no intervalo de 250 kb (quilo base). Verificaram-se então as funções biológicas e processos moleculares destes genes por meio de pesquisa nos bancos de dados genômicos “National Center for Biotechnology Information” ([www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/)) e Ensembl Genome Browser ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)).

### Resultados e Discussão

Após o controle de qualidade restaram 672.778 SNPs para a análise de associação. Destes, apenas 12 SNPs foram significativamente associados ( $P < 0,00001$ ) a PED. Destes 12 SNPs associados à PED, cinco estão localizados no cromossomo 20 (rs135355728, rs137042056, rs136276163, rs41582170 e rs136535499) e sete no cromossomo 28 (rs110746860, rs110371081, rs109902875, rs110870694, rs110610232, rs134356559 e rs137379228). No cromossomo 20, os SNPs rs135355728, rs137042056, rs136276163 e rs41582170 encontram-se localizados em região intergênica próximos aos genes FBXW11 (*F-box and WD repeat domain containing 11*), LOC533234 (*pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 3-like*), SRD5A1 (*steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1*), NSUN2 (*NOP2/Sun domain family, member 2*), PAPD7 (*PAP associated domain containing 7*) e LOC100297493 (*Odorant-binding protein-like*). O SNP rs136535499 encontra-se localizado no íntron do gene IRX1 (*iroquois homeobox 1*). As funções moleculares ou processos biológicos para os genes FBXW11 e LOC533234 não foram observadas na literatura ou em bases de dados consultados. Em humanos, o gene SRD5A1 participa do processo biológico de diferenciação celular e sexual e na biossíntese de andrógenos (ELLIS et al., 2005). Além disto, este gene atua na conversão da testosterona em andrógeno mais potente, a dihidrotestosterona. A função molecular do gene NSUN2 é a de participar da atividade da enzima tRNA (citosina-5-)-metiltransferase. Em camundongos, este gene mostrou-se essencial para a diferenciação em



## X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

células germinativas nos testículos (HUSSAIN et al., 2013). O gene PAPD7 participa do processo biológico de resposta a medicamentos e função molecular na atividade da nucleotidiltransferase (reparação do DNA danificado durante o ciclo celular). A função molecular do gene LOC100297493 refere-se à atividade transportadora de substâncias (moléculas ou íons), no meio intra ou extracelular; e também função de estimulação do sentido do olfato (ZIMIN et al., 2009). O gene IRX1 participa nas atividades moleculares de ligação no DNA e no desenvolvimento embrionário de camundongos. Apenas um SNP foi localizado no íntron do gene LOC782502 (*uncharacterized LOC782502*) no cromossomo 20 e não foram observadas as funções moleculares e processos biológicos deste gene nas bases de dados acessadas. No cromossomo 28, observaram-se seis SNPs (rs110746860, rs110371081, rs109902875, rs110870694, rs110610232, rs134356559) associados à PED e localizados próximos ao gene EDARADD (*EDAR-associated death domain*). Este gene participa dos processos biológicos de diferenciação celular, desenvolvimento de folículo capilar, odontogênese, transdução de sinal e desenvolvimento da glândula da traqueia. O SNP rs137379228 não possui anotação nos mapas genéticos pesquisados. Em geral, a maior parte dos genes identificados como associados com PED parecem desempenhar o papel de manutenção do organismo e nos processos de crescimento. Os genes SRD5A1, NSUN2 e LOC100297493 podem ser destacados, pois os dois primeiros parecem atuar no crescimento corporal; desenvolvimento do sistema reprodutivo de machos devido à produção de hormônios andrógenos e espermatogênese; enquanto que o último atua no sistema olfativo. Uma vez que o comportamento sexual de touros está ligado aos sistemas visual e olfativo, este último assume importância por estar relacionado à detecção de feromônios na urina de fêmeas (CHENOWETH, 1983). A produção hormonal e o desenvolvimento das gônadas, ambos responsáveis pelo desenvolvimento do sistema reprodutivo, têm seu início durante a fase embrionária. No entanto, tal sistema encontra-se em estágio funcional quando o animal atinge a puberdade. A idade em que esta ocorre dependerá da espécie ou raça, além de ser altamente influenciada pelo manejo e por fatores ambientais e genéticos. Os genes identificados para PED (estudado em idade padronizada de 205 dias) podem contribuir para o início dos processos biológicos que levam à puberdade em machos da raça Canchim e do grupo genético MA.

### Conclusões

A metodologia GQLS foi eficiente para a condução das análises de associação genômica. As regiões polimórficas identificadas apresentaram funções moleculares e processos biológicos que podem estar envolvidas na manutenção do organismo e no desempenho reprodutivo de machos. Genes associados à processos hormonais (SRD5A1, NSUN2, LOC100297493) poderiam ser utilizados como genes candidatos para a melhoria do desempenho reprodutivo na raça Canchim. No entanto, é necessária a validação destes resultados em outra população de bovinos Canchim para confirmação das associações genômicas.

### Literatura citada

- BORBA, L. H. F.; REY, F. S. B.; SILVA, L. O. C. et al.. Parâmetros genéticos para características de crescimento e reprodução de bovinos da raça Canchim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 11, p. 1570-1578, 2011.
- CHENOWETH, P. J. Sexual behavior of the bull: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 1, p. 173-179, 1983.
- ELLIS, J. A.; PANAGIOTOPOULOS, S.; AKDENIZ, A. et al. Androgenic correlates of genetic variation in the gene encoding 5alpha-reductase type 1. **Journal of Human Genetics**, v. 50, n. 10, p. 534-537, 2005.
- FENG, Z.; WONG, W. W. L.; GAO, X. et al. Generalized genetic association study with samples of related individuals. **The Annals of Applied Statistics**, v. 5, n. 3, p. 2109-2130, 2011.
- HUSSAIN, S.; TUORTO, F.; MENON, S.; et al. The mouse cytosine-5 RNA methyltransferase NSun2 is a component of the chromatoid body and required for testis differentiation. **Molecular and Cellular Biology**, p. (In Press), 2013.
- ZIMIN, A. V.; DELCHER, A. L.; FLOREA, L. et al. A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. **Genome Biology**, v. 10, n. 4, p. 1-10, 2009.