

Ilhas de homozigose para identificação de genes relacionados com características de importância econômica na pecuária leiteira em bovinos da raça Gir (*Bos primigenius indicus*)

Elisa Peripolli^{*}, Hermenegildo Lucas Justino Chiaia¹, Mariana Piatto Berton¹, Sabrina Kluska¹, Nedenia Bonvino Stafuzza¹, Danísio Prado Munari^{2,3}, João Cláudio do Carmo Panetto⁴, Marco Antônio Machado⁴, Ricardo Vieira Ventura⁵, Fernando Baldi^{1,3}, Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva^{3,4}

¹ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP Univ Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Departamento de Zootecnia, Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

² Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP Univ Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Departamento de Ciências Exatas, Jaboticabal, 14884-900 Brasil.

³ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), Lago Sul, 71605-001 Brasil.

⁴ Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, 36038-330 Brasil.

⁵ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 13635-900, Brasil.

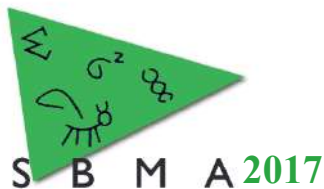
*Autor correspondente: elisa_peripolli@hotmail.com

Resumo: Os padrões das corridas de homozigose (ROH) não são vistos distribuídos aleatoriamente pelo genoma e as regiões genômicas que compartilham tais ROH apresentam maior potencial de conterem alelos associados ao melhoramento genético. Objetivou-se, com este estudo, identificar ROH compartilhados por mais de 50% das amostras e prospectar genes de importância leiteira nessas ilhas de ROH. Os genótipos foram imputados para o BovineHD BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) utilizando o software FImpute. SNPs sem posição definida e mapeados nos cromossomos sexuais foram excluídos, totalizando 2.908 animais e 735.236 SNPs. A função *--homozyg-group* implementada no PLINK v1.07 foi empregada para identificar as ilhas compartilhadas entre as amostras. O Map Viewer do genoma bovino UMD3.1.1 foi utilizado para prospectar genes contidos nas ilhas, assim como a ferramenta DAVID v6.8 para identificar a ontologia dos genes (GO) utilizando a anotação do genoma *Bos primigenius taurus* como background. Ilhas de ROH foram evidentes no genoma e 14 regiões foram identificadas com frequências de ROH superiores a 50% entre as amostras. Relevante número de genes (n=282) foi identificado nas ilhas, nas quais muitos deles estão associados com o conteúdo de gordura no leite (DGAT1, CYP11B, EEF1D, INSIG2 e STAT1), involução da glândula mamária (IGFBP7), lactação (CHR e TRAPPC9) e adaptação ao calor (HSF1). Com base nos resultados, foram encontradas várias ilhas de ROH no genoma dessa população Gir, sugerindo que as regiões genômicas que compartilham ROH contêm potencialmente alelos associados com melhoramento genético, uma vez que a seleção tende a imprimir trechos homozigóticos no genoma.

Palavras-chave: Autozigosidade, Características Leiteiras, Ilhas de ROH, Seleção

Runs of homozygosity islands for dairy-related gene content in Gyr (*Bos primigenius indicus*) cattle

Abstract: Runs of homozygosity (ROH) patterns are not seen to be randomly distributed across the genome and genomic regions sharing ROH potentially contain genes associated with genetic improvement in livestock. The aim of this study was to identify ROH shared by more than 50% of the samples so as to prospect dairy-related genes inside those ROH islands. Gir genotypes were imputed to the BovineHD BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) using the FImpute software. SNPs unsigned to any chromosome and mapped to sexual chromosomes were removed from the dataset, totaling 2,908 animals and 735,236 SNPs. The *--homozyg-group* function implemented in PLINK v1.07 was used to assess ROH islands shared among samples. The Map Viewer of the bovine genome UMD3.1.1 was used for identification of genes in ROH regions. Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery (DAVID) v6.8 tool was used to identify Gene Ontology (GO) terms using the list of genes from ROH islands and the *Bos primigenius taurus* annotation file as background. ROH islands were evident across the genomes and 14 regions were identified with ROH frequencies exceeding 50% of the whole population. A relevant number of genes (n=282) inside these ROH islands were observed, in which several of them were associated with fat content of milk (DGAT1, CYP11B, EEF1D, INSIG2, and STAT1), mammary gland involution (IGFBP7), lactation (CHR and TRAPPC9), and heat



XII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Ribeirão Preto, SP – 12 e 13 de junho de 2017

adaptation (HSF1). On the basis of the results, several ROH islands have been found in the Gyr genome, suggesting that genomic regions sharing ROH potentially contain alleles associated with genetic improvement in livestock, since selection tend to print homozygous stretches on the genome.

Keywords: Autozygosity, Dairy traits, ROH islands, Selection

Introdução

A autozigosidade baseada nas corridas de homozigose (ROH) pode auxiliar a melhor compreensão dos processos de seleção genética de características quantitativas, uma vez que ela tende a imprimir trechos homozigóticos no genoma dos indivíduos (Marras et al., 2014). As ilhas de ROH são descritas como regiões do genoma na qual indivíduos compartilham grande proporção de ROH e que apresentam diversidade genética reduzida e, consequentemente, alta homozigosidade em torno do loco alvo de seleção (Pemberton et al., 2012). Deste modo, as ilhas de ROH podem ser utilizadas para explorar assinaturas de seleção, uma vez que as regiões genômicas que compartilham ROH potencialmente contêm genes associados ao melhoramento genético. O objetivo deste estudo foi identificar ROH compartilhados por mais de 50% das amostras e prospectar genes de importância na pecuária leiteira contidos nessas ilhas.

Material e Métodos

Os animais utilizados neste estudo pertencem ao teste de progênie do Programa Nacional de Melhoramento Genético do Gir Leiteiro (PNMGL) conduzido pela Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil). Dezenove vacas e 563 touros nascidos entre 1964 e 2013 foram genotipados com o BovineHD BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), 1664 vacas com o BovineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) e 662 vacas com o GGP-LD Indicus (GeneSeek® Genomic Profiler Indicus 30K). Todos os genótipos foram imputados para o BovineHD BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) utilizando o FImpute (Sargolzaei et al., 2014). Marcadores do tipo SNP e amostras com *call rate* inferior a 90%, bem como SNPs sem posição definida ou mapeados nos cromossomos sexuais foram excluídos, totalizando 735,236 SNPs e 2.908 animais para as análises. As corridas de homozigose (ROH) foram identificadas em cada animal utilizando o software PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007). Os parâmetros aplicados para definir um segmento como ROH foram: --homozyg-window-snp 50, --homozyg-window-het 1, --homozyg-window-missing 5, --homozyg-snp 100, --homozyg-window-threshold 0.05, --homozyg-gap 500, --homozyg-kb 1000 e --homozyg-density 50. A função --homozyg-group foi utilizada para identificar as ilhas compartilhadas entre as amostras. O Map Viewer do genoma bovino UMD3.1.1 foi utilizado para identificar os genes contidos nas ilhas, assim como a ferramenta DAVID v6.8 para identificar a ontologia dos genes (GO) utilizando a anotação do genoma *Bos primigenius taurus* como background.

Resultados e Discussão

Ilhas de ROH foram evidentes no genoma e 14 regiões distribuídas entre os BTA 2, 6, 10,12 e 14 (Figura 1) foram identificadas com frequências de ROH superiores a 50% entre as amostras. O padrão mais evidente foi observado no BTA 2 (78,394,916:87,587,063) com uma região compartilhada por 92% das amostras. Um relevante número de genes (n=282) foi identificado nas ilhas, destacando aqueles com funções relacionadas à biologia da glândula mamária (*TRAPPC9*, *IRS2*, *CRH* e *IGFBP7*), características leiteiras (*EEF1D*, *STAT1*, *DGATI*, *CYP11B1* e *INSIG2*) e adaptação corporal ao estresse térmico (*HSF1*). Dentre os genes relacionados à biologia da glândula mamária, destacam-se o *TRAPPC9* que possui efeitos significativos sobre características relacionadas à mastite em bovinos (Wang et al., 2015) e o *IGFBP7* que desempenha papel essencial no desenvolvimento da glândula mamária ao influenciar a proliferação, diferenciação e sobrevivência de células epiteliais mamárias. Genes associados às características leiteiras apresentaram efeitos na porcentagem de gordura (*EEF1D*, *STAT1*, *DGATI* e *CYP11B1*) e proteína (*STAT1* e *CYP11B1*) do leite e também na composição dos ácidos graxos do mesmo (*DGATI* e *INSIG2*). O gene *HSF1* é um fator de transcrição de choque térmico que tem sua transcrição rapidamente induzida após o estresse térmico (fornecido por RefSeq, Jul 2008) e desempenha um papel primordial na adaptação corporal às variações de temperatura (Kumar et al., 2015).

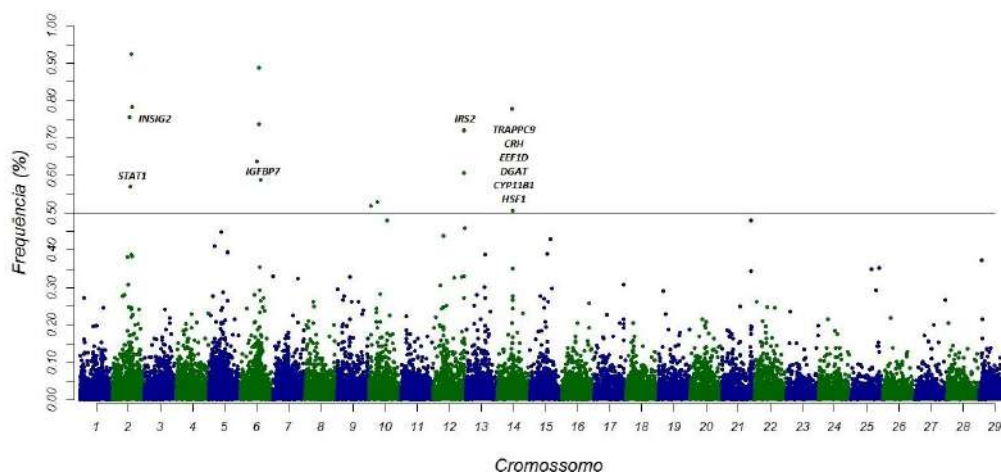


Figura 1. Distribuição das ilhas de ROH no genoma de bovinos da raça Gir. Eixo X: Cromossomos ao longo do genoma bovino. Eixo Y: Frequência (%) das regiões de ROH compartilhadas entre as amostras (Ilhas de ROH).

Enriquecimento de genes envolvidos em vários processos biológicos foram observados, dentre os quais destacam-se a diferenciação celular (GO:0030154), regulação da morte celular (GO:0010941), regulação positiva da migração celular (GO:0030335), transmissão sináptica e dopaminérgica (GO:0001963), desenvolvimento embrionário (GO:0001701), transcrição de mRNA (GO:0009299), resposta celular ao estímulo insulínico (GO:0032869), regulação positiva da proliferação de células B (GO:0030890) e regulação negativa do processo apoptótico das células B (GO:0002903).

Conclusão

As ilhas de ROH identificadas no genoma de bovinos da raça Gir contendo genes de importância produtiva corroboram com a hipótese de que os ROH podem ser utilizados para identificar regiões genômicas sob seleção. Provavelmente, os genes prospectados nas ilhas demonstram a existência de uma forte seleção para características de importância econômica na pecuária leiteira e de adaptação ambiental nessa população.

Literatura citada

- KUMAR A.; ASHRAF S.; GOUD T.S.; GREWAL A.; SINGH S.V.; YADAV B.R.; UPADHYAY R.C. Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) under tropical climatic condition. **Journal of Thermal Biology**, v. 51, p. 55-64, 2015.
- MARRAS G.; GASPA G.; SORBOLINI S.; DIMAURO C.; AJMONE-MARSAN P.; VALENTINI A.; WILLIAMS J.L.; MACCIOTTA N.P.P. Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. **Animal Genetics**, v. 46, p. 110-121, 2014.
- PEMBERTON T.J.; ABSHER D.; FELDMAN M.W.; MYERS R.M.; ROSENBERG N.A.; LI J.Z. Genomic Patterns of Homozygosity in Worldwide Human Populations. **The American Journal of Human Genetics**, v. 91, p. 275-292, 2012.
- PURCELL S.; NEALE B.; TODD-BROWN K.; THOMAS L.; FERREIRA M.A.; BENDER D.; MALLER J.; SKLAR P.; DE BAKKER P.I.; DALY M.J.; SHAM P.C. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. **The American Journal of Human Genetics**, v. 81, p. 559-575, 2007.
- SARGOLZAEI M.; CHESNAIS J.P.; SCHENKEL F.F. A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. **BMC Genomics**, v. 15, 2014.
- WANG Y. **Genetic and Geographic Diversity of Gyr (*Bos Indicus*) Cattle in Brazil**. 2015. 33 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, 2015.