

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**UTILIZAÇÃO DE CORRIDAS DE HOMOZIGOSE PARA ESTIMATIVA
DE ENDOGAMIA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Dissertação de Mestrado

ANGELA BITTENCOURT

CAMPO GRANDE – MS, 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**UTILIZAÇÃO DE CORRIDAS DE HOMOZIGOSE PARA ESTIMATIVA
DE ENDOGAMIA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE**

ANGELA BITTENCOURT

Orientadora: Dra. Andréa Alves do Egito

Coorientador: Dr. Marcos Vinicius G.
Barbosa Silva

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal. Área concentração:
Produção Animal.

CAMPO GRANDE – MS, 2020

Certificado de aprovação

Angela Bitencourt

Utilização de corridas de homozigose para estimativa de endogamia
em bovinos da raça Nelore

Use of Runs of Homozygosity to Estimate Inbreeding in Nelore Cattle

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul como requisito à obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.

Aprovado(a) em: 11-02-2020


BANCA EXAMINADORA:



Dra. Andréa Alves do Egito
Orientadora (EMBRAPA)



Dr. Gilberto Romário de Oliveira Menezes
(EMBRAPA)



Dr. Fábio José Carvalho Faria
(UFMS)

Dedico esse trabalho à minha família, pelo apoio e confiança incondicionais, e a todos que têm a coragem de abraçar a pesquisa científica, pois o aprendizado é enorme, mas os desafios enfrentados também o são.

Agradecimentos

A **Deus** pelas adversidades superadas nessa vida, pela força e resiliência em sobreviver, na vida e nos desafios enfrentados.

Aos meus pais, **Elfie Sprung Bittencourt** e **Fernando Bittencourt**, pelo dom da vida. À minha Oma, **Muchi Sprung**, por ter sido a mãe presente que a minha não pôde ser. Você também já se foi, mas continua viva no meu coração, e é a sua voz que ouço quando preciso de forças para continuar.

À minha **Família**, gratidão por todo o suporte, pela compreensão pelo caminho que escolhi, mesmo que este signifique não estar presente na maior parte do tempo. Para nós, a distância física nunca prejudicou os laços de amor, e a cada vez que retorno, é como se nunca estivera longe. Gratidão especial à minha prima-irmã **Elise Sprung**, pelo apoio incondicional e por fazer sempre questão de me mostrar que nunca estarei sozinha, não importa o que aconteça.

À minha orientadora, **Dra. Andréa A. do Egito**, que me recebeu de braços e coração abertos. Sua compreensão pela minha rotina intensa de trabalho que resultava em longas ausências foi crucial para que eu pudesse continuar. Sou infinitamente grata, por seus ensinamentos, por sua paciência, e, principalmente, pelos seus “empurrõezinhos” na reta final. Você foi essencial nessa jornada!

Ao meu coorientador, **Marcos Vinícius G. B. da Silva**, pelo incentivo inicial que me encorajou a encarar este desafio depois de tantos anos fora da vida acadêmica, por tanto compartilhamento de conhecimento antes e durante esta jornada, e principalmente por acreditar em mim e em meu potencial, muitas vezes até mais do que eu mesma. Obrigada pela compreensão e estímulo, nas inúmeras vezes em que pensei em desistir.

Aos **professores, funcionários e colegas** do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS, gratidão por sua contribuição na minha formação e na de tantos colegas.

Às duas amigas que fazem parte da minha vida desde os primeiros dias de graduação na UFV e se tornaram irmãs de coração, **Camila C. B. F. Ítavo** e **Karina Dosualdo**. Vocês foram, são e continuarão sendo exemplos para mim, de vida e de profissão. Amo vocês! Não poderia deixar de reforçar minha gratidão especial à **Camila**, pela força de sempre, por me receber dentro de sua família e de sua comunidade, pela parceria, pelos conselhos sempre tão serenos e sábios, e por ter se mantido uma

grande amiga mesmo me conhecendo tão bem, sabendo bem dos meus defeitos mas sempre valorizando minhas qualidades. Você, **Luis Carlos, Lucas e Pedro Ítavo** são referência para mim de amor, união e família.

Às minhas amigas **Adriane Zart e Rosicler Medeiros**, esse período não teria sido o mesmo sem os ombros (e ouvidos) amigos de vocês aqui em Campo Grande. Vocês são pessoas iluminadas, generosas e especiais como poucos que encontrei nessa vida, obrigada pelo carinho e amizade de sempre, seu lugar no meu coração é eterno.

Aos amigos e parceiros de trabalho da Melhora+, **Roberta Gestal, Luiz Fernando Figueiredo, Walter Domingues e Luis Gustavo Figueiredo**, pelo apoio e compreensão nos períodos de ausência, um enorme obrigada.

Aos colegas **Paula Adas Suniga e Gustavo Garcia Santiago**, agradeço imensamente por toda a ajuda e compartilhamento de conhecimentos ao longo deste desafio, sem vocês eu não poderia ter evoluído e concretizado essa conquista. Gratidão também ao **Dr. Fábio Luiz B. Toral**, pelo compartilhamento de dados, de conhecimento e por estar sempre disposto a ajudar. Obrigada por fazerem parte desse caminho, espero um dia poder ajudar a outros da mesma forma que vocês fizeram comigo. Muito, muito obrigada!

Aos membros da banca do Exame Geral de Qualificação, **Dr. André Luiz J. Ferraz e Dr. Fábio José C. Faria**, pelas sugestões e contribuições tão significativas para este trabalho.

Aos membros da banca de Defesa da Dissertação, **Dr. Gilberto R. de Oliveira Menezes e Dr. Fábio José C. Faria**, pelas contribuições e disponibilidade.

Agradeço à **Embrapa Gado de Corte**, pelo amplo acesso ao conhecimento e, finalmente, muitíssimo obrigada à **Fazenda Mundo Novo**, em especial ao **Eduardo Penteado Cardoso** e ao **Daniel Resende**, pela abertura para uso dos dados de seu rebanho e por tantas informações compartilhadas para enriquecer este trabalho.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram com a minha jornada e com este trabalho, serei sempre muito, muito grata.

“Se tem coração, é um bom caminho!” (C. Castañeda).

“Nem tudo o que pode ser contado conta,
e nem tudo que conta pode ser contado” (Einstein).

“A dúvida é o princípio da sabedoria” (Aristóteles).

Resumo

BITTENCOURT, ANGELA. **Utilização de Corridas de Homozigose Para Estimativa de Endogamia em Bovinos da Raça Nelore**. 2020. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

A pecuária brasileira tem evoluído a passos largos nas últimas décadas, e a bovinocultura de corte é considerada um dos pilares que sustentam a alta representatividade do agronegócio no PIB nacional. O surgimento dos programas de melhoramento genético proporcionou aos criadores uma ferramenta potente para acelerar os ganhos em produtividade e rentabilidade. Alguns criatórios optaram por manter uma seleção fechada, utilizando a endogamia como ferramenta de seleção para aumentar a uniformidade em linhagens de interesse. Em casos como este, se faz necessário o controle dos níveis de endogamia na população, pois acasalamentos entre animais aparentados podem levar a efeitos negativos como a redução nos valores fenotípicos de características economicamente importantes. O coeficiente de endogamia (F) é definido como a proporção do genoma de um indivíduo que é autozigoto, ou seja, que possui segmentos “idênticos por descendência” (IBD), e a média dos valores individuais de F representam o nível de endogamia de uma população. O objetivo deste estudo foi comparar a endogamia estimada por pedigree (F_{PED}), que é tradicionalmente usada para controle interno nos rebanhos e programas, com a endogamia genômica estimada por meio das corridas de homozigose (ROH), caracterizada como F_{ROH} num rebanho fechado da raça Nelore com histórico de seleção e com foco na manutenção de uma linhagem específica. Para efeito comparativo, também foi estimada a endogamia usando a matriz genômica de parentesco (F_{GRM}). Foram genotipados 1.229 animais da raça Nelore, provenientes da linhagem Lemgruber, utilizando o SNP chip GGP-LD Indicus (Geneseek® Genomic Profiler Indicus 30K) que contém mais de 35.000 marcadores. Após aplicados os filtros de controle de qualidade, 26.331 SNPs foram mantidos para as análises. Em todos os animais avaliados, foi identificada a presença de segmentos em ROH, com média de 14,95 e comprimentos de, em média, 12,44Mb. A maior quantidade encontrada foi de segmentos com tamanho entre 4 e 8Mb, porém a maior proporção de cobertura encontrada no genoma foi de segmentos mais longos ($F_{ROH>16Mb}$). Em média, 6,85% (186,19Mb) do genoma da população foi identificado como autozigótico. As

estimativas de F_{PED} variaram de 0,000 a 0,305 e as de F_{ROH} de 0,001 a 0,2407. Foram observadas correlações baixas a moderadas entre as estimativas de F_{PED} - F_{ROH} (0,1071 a 0,4893) e baixa correlação entre F_{PED} - F_{GRM} (0,1751). A correlação moderada ($r > 0,48$) encontrada entre F_{PED} - F_{ROH} para segmentos longos indica que os níveis de autozigosidade derivados dos ROH podem ser utilizados como uma estimativa mais precisa níveis de endogamia recente, porém, para investigação de eventos de endogamia mais remotos e histórico de populações, a utilização de painéis de marcadores mais densos (HD) se faz necessária.

Palavras-chave: Autozigosidade, *Bos indicus*, Corrida de Homozigidade, Endogamia, Seleção, SNP

Abstract

BITTENCOURT, ANGELA. **Runs of homozygosity to estimate inbreeding in Nelore Cattle**. 2020. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

The Brazilian cattle industry has been evolving in large steps in the past decades, being the beef cattle business considered one of the pillars that sustain the high representativeness of the agribusiness on the national GDP. The advent of breeding programs provided a powerful tool for the breeders to accelerate performance and profitability gains. Some breeders opted to keep their herds closed, using inbreeding as a selection tool to improve uniformity in lineages of their interest. In cases like that, it is necessary to control the inbreeding levels in the population, for mating between related animals can lead to negative effects like the decline on phenotypic values of economically important traits. The inbreeding coefficient (F) is defined as the proportion of the genome that is autozygous, that is, has “identical by descent” (IBD) segments, and the average of individual values of F represent the level of inbreeding in a population. The aim of this study was to compare the inbreeding estimated from pedigree data (F_{PED}), traditionally used for internal monitoring by herds and breeding programs, with the genomic estimates through runs of homozygosity (ROH), characterized as F_{ROH} in a closed Nelore herd with a history of selecting with focus on maintaining a specific lineage. For comparative effect, the inbreeding through the genomic relatedness matrix F_{ROH} was also estimated. 1,230 animals from the Nelore breed have been genotyped with the GGP-LD Indicus (Geneseek® Genomic Profiler Indicus 30K) SNP chip, that contains more than 35,000 markers. After applying quality control filters, 1,229 animals and 26,331 SNPs remained for the analysis. Presence of ROH segments were identified in all analysed animals, with an average number of 14,95 and average length of 12.44Mb. The higher quantity was of segments between 4 and 8Mb, however, the biggest proportion of coverage found was of longer segments ($F_{ROH>16Mb}$). In average, 6.85% (186.19Mb) of the population’s genome was identified as autozygotic. Estimates of F_{PED} ranged from 0.000 to 0.305 and of F_{ROH} from 0.001 to 0.2407. Low to moderate correlations were observed between F_{PED} - F_{ROH} (0.1071 to 0.4893) and low correlation between F_{PED} - F_{GRM} (0.1751). The moderate correlation ($r>0.48$) found between F_{PED} - F_{ROH} for long segments suggests that autozygosity levels derived from ROH can be used as an accurate estimate of recent inbreeding levels,

although for older inbreeding events and population history the use of denser marker panels becomes necessary.

Keywords: Autozygosity, *Bos indicus*, Inbreeding, Runs of Homozygosity, Selection, SNP

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO.....	13
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1.1. História da raça Nelore.....	14
1.1.1. A Linhagem Lemgruber.....	17
1.2 Endogamia.....	19
1.2.1 Variantes deletérias e depressão endogâmica.....	20
1.3. Corridas de Homozigose (ROH).....	21
1.3.1 Histórico dos estudos em ROH.....	22
1.3.2 Ilhas de ROH.....	24
1.3.3 Estudos ROH em raças zebuínas.....	26
REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO 2 – ARTIGO.....	31
Resumo.....	31
Abstract.....	32
Implicações.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	35
Resultados e discussão.....	38
Conclusão.....	44
Referências.....	45
Tabela 1.....	50
Tabela 2.....	50
Figura 1.....	51
Figura 2.....	51
Figura 3.....	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53

INTRODUÇÃO

O Brasil, assim como outros países de clima tropical na América do Sul, enfrenta constantemente o desafio de produzir animais aptos à exploração mais eficiente dentro das condições desse ambiente, caracterizado por elevadas temperaturas e altas taxas de umidade relativa e radiação solar. Tais condições tendem a provocar mudanças fisiológicas nos animais, reduzindo a taxa de crescimento, a habilidade materna e o desempenho reprodutivo (AZEVEDO e ALVES, 2009).

Uma estratégia adotada para minimizar esses efeitos nos rebanhos criados nessas regiões foi a introdução de animais zebuínos, provenientes da Índia e do Paquistão, que são mais adaptados às condições ambientais brasileiras e podem ser utilizados como raças puras ou em cruzamentos (MADALENA et al., 1990; McGLOTHEN et al., 1995). Devido à sua melhor adaptação ao clima tropical, desde a entrada dos primeiros exemplares no século XIX até meados do século XX, o que se viu foi o crescimento e disseminação do rebanho pelo país (KOURY FILHO et al., 2015).

Dentre os zebuínos, a raça Nelore destacou-se como a de maior potencial para a produção de carne e representa atualmente cerca de 80% do rebanho total de corte no Brasil, entre animais puros ou com algum percentual de alelos provenientes da raça Nelore.

Como consequência natural deste cenário, a busca constante por aumento da produtividade tem submetido as populações de bovinos a uma intensidade de seleção cada vez maior, fato que tem despertado um alerta na comunidade científica para a necessidade de estudos de estratégias para a conservação e manutenção das populações (HERRERO-MEDRANO et al., 2013). Neste sentido, cresce o interesse por parte dos pesquisadores em caracterizar e monitorar a autozigosidade (alelos iguais por descendência), visando a preservação da diversidade genética a longo prazo dentro dos programas de melhoramento genético animal (ZAVAREZ et al., 2015).

O aumento da taxa de endogamia em populações de animais domésticos é um assunto importante e de muita preocupação por parte de técnicos e produtores. A endogamia tem como consequência direta a redução da heterozigosidade e, conseqüentemente, aumento na homozigosidade e na frequência de alelos recessivos

deletérios que podem reduzir o desempenho fenotípico e a viabilidade dos indivíduos (ZHANG et al., 2015). Como resultado, ocorre a herança de haplótipos idênticos por descendência (IBD - *Identical By Descent*), que dão origem às corridas de homozigidade (ROH, do inglês *Runs of Homozygosity*) – vários alelos de marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) em homozigose e em sequência - no genoma dos seus sucessores (KU et al., 2011, HOWRIGAN et al., 2011). Assim sendo, o acasalamento entre indivíduos aparentados resulta em progênes endogâmicas, especialmente em populações fechadas e selecionadas. O aumento da endogamia reduz a variabilidade genética e pode levar à depressão endogâmica (FERENČAKOVIĆ et al., 2013a).

Atualmente, o estudo das ROH tornou-se uma ferramenta aplicável para estudar a estrutura das populações, entender suas interações e para estimar parâmetros populacionais relevantes. A identificação e caracterização das ROH podem informar sobre o histórico de uma população, fornecendo informações a respeito da ocorrência de gargalos populacionais e do seu histórico demográfico (PERIPOLLI et al., 2016; BOSSE et al., 2012; PURFIELD et al., 2012; HERRERO-MEDRANO et al., 2013), além de prover informações a respeito da pressão de seleção exercida e do manejo reprodutivo adotado (BOSSE et al., 2012; PURFIELD et al., 2012; KARIMI, 2013; KIM et al., 2013; ZHANG et al., 2015).

O objetivo deste estudo foi identificar e caracterizar segmentos homozigóticos presentes no genoma de bovinos da raça Nelore provenientes de um rebanho fechado em uma linhagem conhecida, além de associá-los com níveis de endogamia obtidos a partir do pedigree e de dados genômicos oriundos da matriz genômica de parentesco.

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 A raça Nelore

A raça Nelore é da sub-espécie zebuína (*Bos taurus indicus*), e suas primeiras importações para o Brasil datam dos séculos XIX e XX. Originalmente conhecida como Ongole, foi encontrado na antiga Província de Madras, localizada na costa oriental da Índia que atualmente é o estado de Andhra Pradesh. Recebeu o nome Nelore no Brasil em homenagem ao município de Nellore, um dos mais populosos de Andhra Pradesh. Nas décadas seguintes, foi amplamente incorporado ao, até então, altamente heterogêneo rebanho brasileiro, contribuindo com sua genética através de cruzamentos por absorção e seleção intensa, para chegar ao Nelore que encontramos hoje no País, altamente eficiente e adaptado ao sistema de produção.

No histórico do Centro de Referência da Pecuária Brasileira – Zebu (CRPBZ, 2015a), a primeira referência à entrada do zebu no Brasil data de 1813, quando um casal de animais provenientes da Costa do Malabar foi deixado no Porto de Salvador, na Bahia. O interesse, além do econômico, era na origem exótica dos animais, acompanhando as tendências neoliberais do século, em que o Ocidente “civilizado” redescobria a cultura “selvagem” dos povos afro-asiáticos.

Seguindo a mesma tendência, alguns animais da subespécie foram levados para os zoológicos europeus para serem exibidos como atração, e atingiam recordes de público. Foi em um desses zoológicos, o Tiepark Hagenbeck, na cidade de Stelling, próxima a Hamburgo, que Manuel Ubelhart Lemgruber, em uma de suas viagens, se deparou com os animais expostos, e lhe agradaram os do tipo Ongole, dos quais encomendou um pequeno lote que chegou ao Brasil em outubro de 1878. Esse gado deu origem à linhagem Lemgruber, que é abordada neste trabalho, e será descrita com mais detalhes mais à frente (CRPBZ, 2015b).

A fase seguinte das importações se deu no final do Século XIX, quando alguns importadores, mesmo enfrentando um período de ebulições culturais na Índia contra a dominação britânica, se aventuraram pelo continente em busca das vantagens oferecidas pelos animais zebuínos, chegando até mesmo a escolher pessoalmente os indivíduos que ajudariam a formar o rebanho brasileiro. Entre eles, o primeiro brasileiro a pisar em solo indiano com essa finalidade foi Teófilo de Godoy, pecuarista e comerciante da cidade de Araguari. Depois disso, entre os anos 1898 a 1921, outros

percorreram esta jornada no intuito de encontrar respostas para os desafios da pecuária nacional, sendo responsáveis pelo desembarque de grandes lotes, alguns com mais de 100 cabeças, no Brasil. Vale salientar que a concentração das propriedades importadoras desta fase se encontrava no Triângulo Mineiro, região que posteriormente se tornaria a referência do gado Zebu no país (CRPBZ, 2015c). Em 1938, através da criação do Registro Genealógico, começaram a ser definidas as características raciais do Nelore (ACNB).

Entre os anos de 1960 e 1962 aconteceram as mais significativas importações de reprodutores Nelore, que praticamente foram responsáveis pela origem de quase todo o rebanho brasileiro. Nesse período, foram trazidos grandes genearcas como Karvadi, Golias, Rastã, Checurupadu, Godhvari, Padu e Akasamu, touros que representam a base formadora das principais linhagens da raça. Os animais desembarcaram na ilha de Fernando de Noronha, onde permaneceram em quarentena (CRPBZ, 2015d; ACNB).



Figura 1 – Convés do navio durante a importação de zebuínos no início do Séc. XX

Fonte: Acervo Museu do Zebu, Uberaba, MG.

O termo linhagem é amplamente utilizado no meio agropecuário, e neste trabalho preconizou-se a definição de Magnabosco et al. (1997), que consideram linhagem como um grupo de animais, descendentes de um reprodutor ou matriz, que constituem

uma família cujos membros compartilham maior grau de parentesco do que a média observada na raça. As linhagens são formadas através do uso da endogamia, onde um mesmo reprodutor e seus descendentes são acasalados ao longo de algumas gerações, visando a fixação de determinadas características de interesse (OLIVEIRA et al., 2002).

Como exemplos de linhagens da raça Nelore no Brasil, temos as classificadas através de seus genearcas, como Karvadi, Taj Mahal, Golias, Godhavari, Rastã, Akasamu e Padhu, e as classificadas pelo trabalho de seleção de instituições governamentais ou rebanhos particulares, como a linhagem do IZ – Instituto de Zootecnia de Sertãozinho, mantido pela Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, e a linhagem Lemgruber, alvo deste estudo, que é descrita mais a fundo no próximo ítem.



Figura 2 - Touro Karvadi, um dos genearcas do Nelore, importado em 1962

Fonte: Acervo Museu do Zebu, Uberaba, MG.

1.1.1 A Linhagem Lemgruber

Inserido na história da raça no Brasil, o rebanho Nelore Lemgruber teve início no ano de 1878, através de Manuel Ubelhart Lemgruber, pertencente à primeira geração nascida no Brasil proveniente de imigrantes suíços que chegaram ao país entre 1819 e 1820, e se estabeleceram no estado do Rio de Janeiro. Em uma de suas viagens,

Manuel interessou-se por alguns animais do tipo Ongole, expostos como exóticos em um zoológico na Alemanha, dos quais encomendou um pequeno lote que chegou ao Brasil em outubro de 1878. Esse gado deu origem à linhagem Lemgruber. Com a notável adaptação do plantel à região e as técnicas de seleção aplicadas por Manoel, o rebanho evoluiu e acabou se tornando base para outros criadores.

Entre os anos de 1975 e 1985, a Manah, conhecida empresa de fertilizantes da época, adquiriu o touro Mistério, um dos genearcas da linhagem, e mais alguns exemplares, de Geraldo de Paula, pecuarista mineiro adepto da linhagem que mantinha um rebanho fechado, e formou a base de seu plantel Lemgruber na cidade de Brotas, SP. Em 1980, a empresa passou a adotar métodos científicos de avaliação genética, realizando mensurações testiculares e provas de desempenho individual a pasto.

Em 2001, todo o rebanho da Manah foi adquirido pelos irmãos Eduardo e Fernando Penteado Cardoso Filho, e transferido para a Fazenda Mundo Novo, em Uberaba, MG, onde permanece até hoje mantendo o trabalho de seleção iniciado por Manoel Lemgruber em 1878 (FAZENDA MUNDO NOVO, 2008a).

A seleção se baseia em quatro pilares básicos, sendo: i. Adaptação ao meio ambiente; ii. Fertilidade; iii. Aptidão Econômica e iv. Padrão Racial. Além disso, possui seu próprio programa de melhoramento genético, com as análises conduzidas pela Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, e publica um sumário anual, onde são relacionadas DEPs (Diferenças Esperadas da Progenie) das diversas características avaliadas, para todas as categorias de animais (ELER et al., 2019, FAZENDA MUNDO NOVO, 2008b).

Como o rebanho preconiza acasalamentos dentro da própria linhagem com um mínimo de influência de genética de outros rebanhos, busca utilizar os benefícios da homozigose para imprimir características desejadas na seleção, controlando as taxas de endogamia para minimizar as perdas ocasionadas por depressão endogâmica.

Em programas de seleção como este, faz-se necessário o monitoramento de parâmetros explicativos da estrutura da população, a fim de se evitar perdas por efeitos da depressão endogâmica, e aumentar o ganho genético a cada geração.

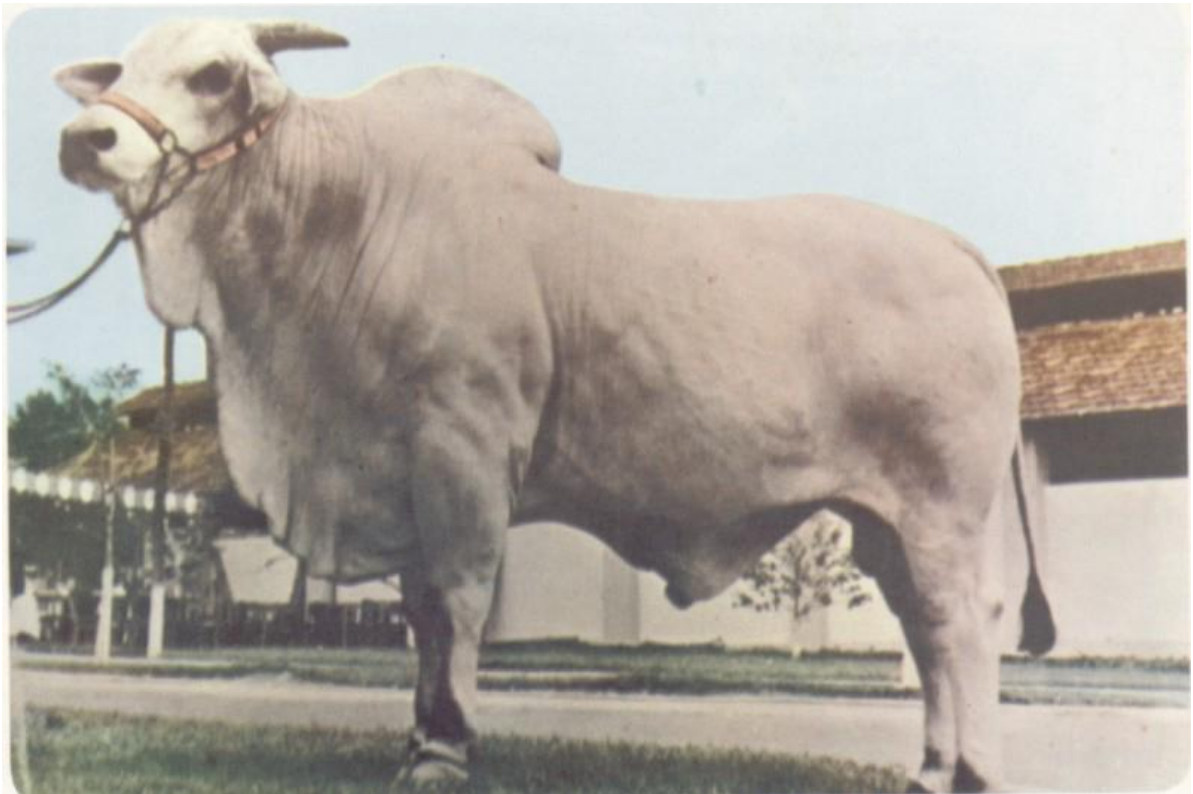


Figura 3 - Touro Mistério, adquirido de Geraldo de Paula pela Manah, em 1974.

Fonte: Arquivo particular Fazenda Mundo Novo, Uberaba, MG.

1.2 Endogamia

O termo endogamia é usado para especificar acasalamentos entre indivíduos mais aparentados entre si que a média da população à qual pertencem (OLIVEIRA et al., 1999).

Se dois indivíduos possuem um ancestral em comum, é possível que ambos carreguem réplicas de um dos genes presentes no ancestral, e, quando acasalados entre si, podem passar estas réplicas à sua progênie. Portanto, animais produzidos por endogamia podem possuir dois alelos em um loco que são réplicas de um único alelo da geração anterior (FALCONER & MACKAY, 1996).

Quando os alelos são provenientes de ancestrais em comum, são denominados idênticos por descendência e conhecidos como IBD (do inglês *identical by descent*). Porém, indivíduos podem também compartilhar alelos devido a associações aleatórias sem padrões conhecidos de herança denominados idênticos por estado, e definidos como IBS (do inglês *identity by state*) (CLARK et al., 2013).

O coeficiente de endogamia individual (F) é definido como a proporção esperada do genoma de um indivíduo que é autozigótico. A partir deste coeficiente, é possível determinar a probabilidade dos alelos em uma região aleatória do genoma serem IBD (WRIGHT, 1922). A média dos valores individuais de F representam a média de endogamia de uma população (FERENČAKOVIĆ et al., 2013a).

As estimativas de coeficiente de endogamia podem ser obtidas por meio da matriz de parentesco utilizando dados de pedigree (F_{PED}), ou por intermédio de informações genômicas, de diferentes maneiras: i) correlação dos gametas unidos (F_{UNI}); ii) homoziguidade excessiva (F_{HOM}) (WRIGHT, 1922); iii) matriz genômica de parentesco (F_{GRM}) (VAN RADEN, 2008); e iv) proporção do genoma autossômico em ROH (F_{ROH}) (MCQUILLAN et al., 2008).

1.2.1 Variantes Deletérias e Depressão Endogâmica

Em populações fechadas e sob seleção, a ocorrência da endogamia é inevitável, reduzindo a variabilidade genética e conseqüentemente resultando em problemas de depressão endogâmica (FERENČAKOVIĆ et al., 2013a).

Em estudo conduzido por Szpiech et al. (2013) foi reportado que indivíduos com alta cobertura de ROH apresentaram maior fração de variantes deletérias ocorrendo em ROH mais longos, o que está de acordo com a hipótese que a endogamia recente favorece a existência de variantes deletérias raras em homozigose. Também foi observado por Zhang et al. (2015) que homozigotos deletérios ocorrem mais frequentemente em regiões de ROH que homozigotos não-deletérios. Desta forma, o papel da autoziguidade colaborou para o interesse recente em estudos que determinem a correlação entre esses segmentos e fatores de risco para doenças simples e complexas (HOWRIGAN et al., 2011) e a depressão endogâmica (CHARLESWORTH e WILLIS, 2009).

Pryce et al. (2014) estimaram a depressão endogâmica para produção de leite e características funcionais usando coeficientes de endogamia baseados em pedigree. Foi observado que aumento do F_{PED} e do F_{GRM} (endogamia estimada pela matriz genômica de parentesco) em 1% para vacas da raça Holandesa diminuiu a produção de leite em 21 e 28 litros/lactação, respectivamente. Para vacas Jersey, a redução foi

de 12 e 27 litros/lactação, respectivamente. O efeito do FPED na fertilidade só foi significativo nas vacas Holandesas, onde um aumento de 1% resultou na extensão do intervalo de partos em 0,04%. Além disso, as produções de leite, de gordura e de proteína diminuíram para as duas raças, o que foi atribuído ao aumento de 1% em SNPs homozigotos.

1.3 Corridas de Homozigose (ROH)

Os elementos da matriz genômica de parentesco e a proporção do genoma que contém SNPs homozigotos são exemplos de medidas genômicas que podem ser utilizadas para determinar o nível de endogamia ao longo do genoma; todavia, possuem a limitação de não distinguir entre identidade por estado (IBS) e identidade por descendência (IBD). Uma possibilidade para contornar esse problema é usar as corridas de homozigose (ROH) (PRYCE et al., 2014). As ROH (do inglês Runs of Homozygosity) foram definidas por Gibson et al. (2006) como segmentos contínuos e ininterruptos de sequências de DNA sem heterozigose em organismos diplóides.

Quando comparados à diagonal da matriz genômica ou à proporção de SNPs homozigotos, segmentos longos de ROH têm pouca probabilidade de terem surgido ao acaso, e provavelmente são fragmentos de cromossomos homólogos em um mesmo indivíduo que são IBD (KELLER et al., 2012). Os eventos de recombinação, ao longo do tempo, interrompem segmentos longos do cromossomo, portanto ROH mais longos tendem a ser segmentos autozigóticos originados de ancestrais recentes em comum. Por outro lado, ROH mais curtos provavelmente são originários de ancestrais mais remotos, todavia também podem incluir alguns segmentos que não são IBD. Desta forma, os comprimentos de ROH podem ser esclarecedores quanto à ancestralidade da endogamia (FERENČAKOVIĆ et al., 2013a).

A extensão e a frequência dos ROH podem informar a respeito dos níveis de endogamia de um indivíduo ou população, porém é possível o surgimento de ROH através de diferentes mecanismos, como seleção natural ou artificial, deriva genética ou aleatória, gargalos populacionais e acasalamento entre indivíduos aparentados (ZAVAREZ et al., 2015). Por outro lado, algumas vezes os ROH podem aparecer em indivíduos não-endogâmicos, talvez devido a mutações, desequilíbrio de ligação (LD) ou recombinações em certas regiões genômicas. Nesse sentido, a endogamia a partir

dos ROH (F_{ROH}) pode ser identificada por meio do comprimento dos ROH (PURFIELD et al., 2012).

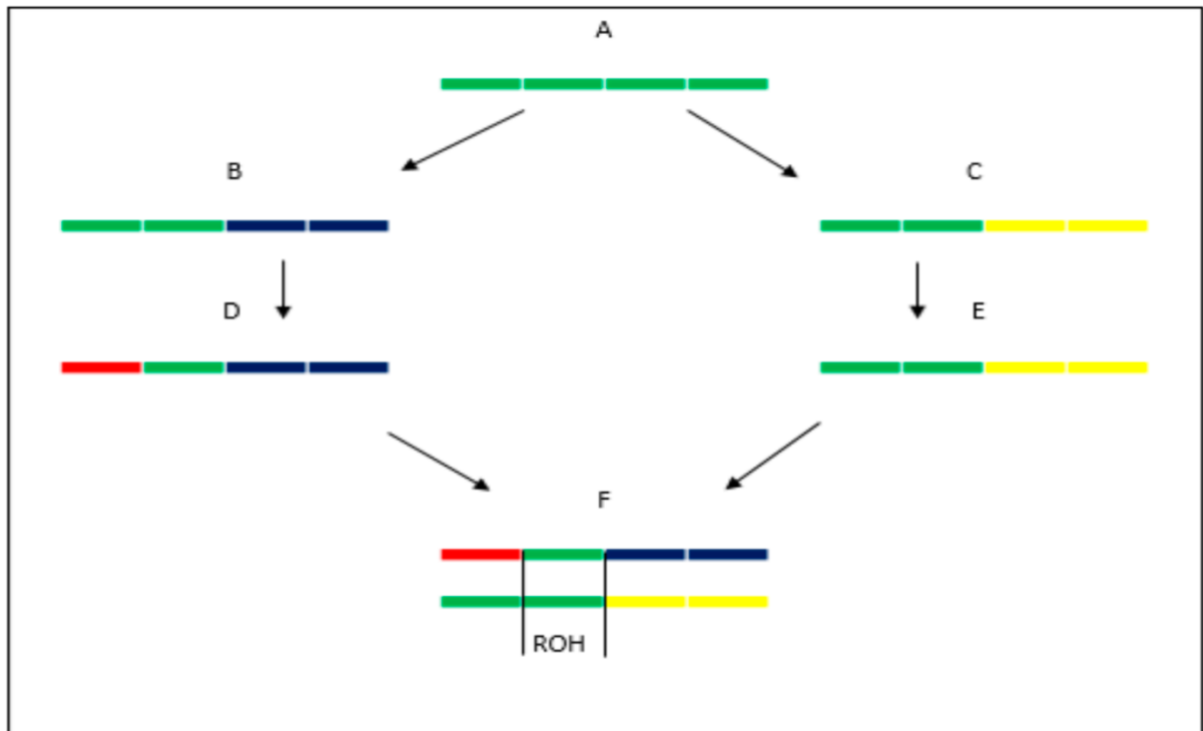


Figura 4 - Ilustração representando a formação de uma ROH. O indivíduo “F” possui uma ROH (verde) que foi formada devido ao pareamento de trechos em homocigose provenientes do cromossomo homólogo do ancestral comum “A” (Fonte: REBELATO, 2018).

1.3.1 Histórico dos estudos em ROH

McQuillan et al. (2008) forneceram a base mais sólida para o uso dos ROH na genética de populações ao analisar populações europeias, definindo um novo coeficiente de endogamia genômica baseado no comprimento dos ROH (F_{ROH}). Os autores encontraram forte correlação entre F_{ROH} e a endogamia a partir de dados do pedigree (F_{PED}), com valores variando de 0,74 a 0,82. A partir deste trabalho, o conceito de ROH tem sido utilizado em estudos de genômica de populações (KIRIN et al., 2010), depressão endogâmica, genes deletérios (KELLER et al., 2011) e recombinação (BOSSE et al., 2012).

A utilização dos ROH em estudos com animais domésticos é relativamente recente. Os primeiros a aplicar o conceito de ROH em bovinos foram Sölkner et al. (2010) e Ferenčaković et al. (2011), e foram seguidos por Purfield et al. (2012) e

Ferenčaković et al. (2013a, 2013b). Estes estudos focaram principalmente na comparação entre F_{ROH} e F_{PED} em termos de comprimento, profundidade e qualidade de pedigree, algoritmos de cálculo e densidade de marcadores.

A endogamia a partir dos ROH mostrou-se ser mais acurada uma vez que: i) O F_{PED} descreve o status de IBD levando em conta uma geração de animais fundadores consideravelmente mal definida, assumindo esta como não aparentada, portanto esse método não é eficiente em capturar a influência de consanguinidade entre os fundadores da população de base; ii) O F_{PED} é a proporção esperada do genoma que é idêntica por descendência, não levando em consideração a natureza estocástica da recombinação (CAROTHERS et al., 2006); iii) Vários estudos confirmaram que os erros de pedigree em bovinos são comuns devido a problemas de interpretação, identificação e registro; iv) Um estudo conduzido por Curik et al. (2002) demonstrou que o F_{PED} considera o genoma inteiro como neutro à seleção e não leva em conta as potenciais influências causadas pela seleção. Assim sendo, os efeitos da seleção eram ignorados na era pré-genômica e a endogamia era incorporada na genética quantitativa na forma de um modelo infinitesimal que considerava que a seleção não afetava a autozigosidade de um locus (FERENČAKOVIĆ et al, 2013a, CURIK et al, 2014).

Diferentes raças bovinas foram estudadas por Purfield et al. (2012), que encontrou diferenças claras nos níveis e variações na frequência de ROH entre as mesmas, além de padrões discerníveis em relação à origem de cada raça. As amostras das raças britânicas (Angus, Guernsey, Hereford e Jersey) apresentaram a maior soma individual de ROH por animal, enquanto que as raças européias tiveram níveis variados de ROH e as zebuínas apresentaram níveis intermediários. Além disso, raças africanas mostraram uma tendência a baixos níveis de ROH, e as de países ao Sul da África (Baoule, Lagune, N'Dama e Somba) tiveram alta variabilidade nos níveis individuais de ROH entre as amostras de cada raça. Os autores concluíram que os ROH são frequentes em todas as raças e que algumas categorias de extensão de ROH podem ser usadas como indicadores de consanguinidade. Podem, ainda, ser informativas quanto ao histórico de populações, pelo fato de que efeitos como gargalos populacionais, pressão de seleção e programas de melhoramento têm o potencial de deixar marcas no comprimento dos ROH.

A mesma variabilidade na distribuição e frequência de ROH entre as raças foi observada por Ferenčaković et al. (2013a), que estudaram a autozigosidade nas raças bovinas Pardo Suíço, Simental, Norwegian Red e Tyrol Grey. Os animais da raça Pardo Suíço tiveram a maior média em quantidade de ROH (98,9) e a maior cobertura do genoma por ROH. A menor média de comprimento de ROH foi dos animais Simental, cujo genoma era composto em sua maioria por segmentos curtos de ROH. Os animais Pardo Suíço tinham, na maioria, poucos segmentos grandes de ROH. Os exemplares da raça Norwegian Red apresentaram um padrão similar aos Simental, e alguns animais Tyrol Grey tinham poucos segmentos em ROH, porém estes cobriam mais de 630Mb do genoma.

Segundo os autores, o grande número de ROH longos observados no Pardo Suíço está relacionado com a importação de sêmen de um número pequeno de touros. Os exemplares Simental apresentaram uma pequena proporção do genoma em autozigose, o que é consistente com uma população efetiva maior. O padrão de ROH encontrado nos animais Norwegian Red é atribuído à maior heterogeneidade resultante dos cruzamentos históricos na raça.

Da mesma forma, Mastrangelo et al. (2016), em estudo conduzido com raças leiteiras locais, encontraram padrões similares. A raça Modicana apresentou o maior número médio de ROH por indivíduo e o maior valor de F_{ROH} , enquanto a raça Reggiana apresentou os valores mais baixos. Diferenças entre raças foram observadas para os comprimentos de ROH, com a raça Holandesa Italiana apresentando alto número de segmentos curtos de ROH, que estão relacionados a endogamias mais remotas. Resultados similares foram observados na Reggiana, com alguns animais extremos cujos segmentos cobriam mais de 400Mb do genoma. Por outro lado, as raças Modicana e Cinisara apresentaram resultados próximos entre si, com a cobertura total de ROH caracterizada pela presença de segmentos mais longos.

1.3.2. Ilhas de ROH

O termo “ilhas de ROH” é utilizado por Karimi (2013) para descrever regiões do genoma onde vários indivíduos de uma população compartilham ROH. Em estudo realizado em taurinos e zebuínos, a autora encontrou algumas Ilhas de ROH nas duas subespécies, e muitas ilhas de ROH em comum entre elas, que podem ser um sinal

tanto de seleção natural como artificial. Por exemplo, as ilhas de ROH encontradas em comum no cromossomo 6 somente nas raças Pardo Suíço e Simental são, supostamente, sinal de uma forte seleção artificial nestas raças. Notadamente, a funcionalidade dessas raças é a mesma, tendo a produção de leite como uma característica importante para ambas. Além disso, foram observadas ilhas de ROH no cromossomo 16 apenas na raça Angus, onde os genes estavam associados com QTLs importantes para produção de carne; como ganho médio diário, maciez, área muscular etc., o que provavelmente é sinal de forte pressão de seleção para características de produção de carne. Para ilhas de ROH comuns entre todas as raças, como as localizadas no cromossomo 21, a autora considera a hipótese de que essas sejam apenas conjuntos de haplótipos localizados no genoma em regiões com baixa diversidade haplotípica. Essa possibilidade é mais aplicável para estes padrões, pelo fato dos genes presentes nessas ilhas de ROH serem, em sua maioria, de função desconhecida com nenhuma associação a QTLs. Outra possibilidade poderia ser um fenômeno histórico que tenha sido vivenciado por todas as subpopulações, como por exemplo um gargalo populacional que tenha ocorrido antes que essas subpopulações tivessem se separado. Também foram encontradas ilhas de ROH no cromossomo 10, observadas apenas nas raças zebuínas, fato que a autora relacionou a uma possível seleção natural para características favoráveis às condições tropicais, como adaptabilidade ao calor ou a infecções parasitárias, levando à fixação dos melhores alelos para características relevantes nessas raças.

Zavarez et al. (2015), em estudo com amostras da raça Nelore, identificou três ilhas de ROH, indicando regiões candidatas que muito provavelmente estão sob seleção desde antes da formação do rebanho Nelore brasileiro. Segundo os autores, as supostas assinaturas de seleção nos cromossomos 4, 7 e 12 podem estar envolvidas na resistência a doenças infecciosas e na fertilidade, e devem ser objeto de investigações futuras, segundo os autores.

Quatorze regiões compartilhando segmentos por mais de 50% dos indivíduos foram identificadas e classificadas como ilhas de ROH por Peripolli et al. (2016). Nessas regiões, foram relacionados genes associados com o conteúdo de gordura no leite, involução da glândula mamária, lactação e adaptação. Os autores concluíram que os genes contidos nas ilhas de ROH sugerem uma forte seleção para características leiteiras e adaptação ambiental.

1.3.3. Estudos ROH em raças zebuínas

Zavarez et al. (2015) investigaram a distribuição dos níveis de autozigosidade com base nos ROH em uma mostra de 1.278 animais da raça Nelore. Foram encontrados segmentos de ROH maiores que 10Mb em mais de 70% das amostras, representando assinaturas relacionadas provavelmente ao uso massivo de poucos touros no passado recente. Porém, a média de cobertura do genoma por ROH (>1Mb) foi menor do que as médias reportadas em outras raças bovinas (4,58%). Apesar de 99,98% dos SNPS estarem incluídos nos ROH em ao menos um indivíduo, somente 19,37% dos marcadores estavam englobados nos ROH em comum, sugerindo que a seleção atual para características de peso, carcaça e reprodutivas nessa população é muito recente para ter criado assinaturas de seleção na forma de ROH.

Peripolli et al. (2016) analisaram padrões genômicos de ROH para a estimação dos coeficientes de endogamia em 2.908 animais da raça Gir, identificando segmentos em homozigose em todos os indivíduos, com média de $55,12 \pm 10,37$ segmentos por animal e um comprimento médio de 3,17 Mb. Segmentos pequenos (ROH1-2Mb) foram encontrados abundantes nos genomas dos animais, totalizando aproximadamente 60% de todos os ROH identificados, entretanto, a proporção total do genoma coberto pelos mesmos foi relativamente pequena. Os resultados sugerem que em média 7,01% (175,28Mb) do genoma dessa população é autozigótico. Correlações baixas a moderadas foram observadas entre F_{PED} - F_{ROH} e F_{GRM} - F_{ROH} , com valores variando de -0,16 a 0,59. Correlações entre F_{ROH} de diferentes tamanhos e F_{PED} aumentaram com o comprimento da ROH. As baixas correlações ($r < 0,44$) entre F_{PED} - F_{ROH} para segmentos pequenos indicam que o F_{PED} não é adequado para capturar eventos remotos de endogamia. Correlações moderadas ($r > 0,44$) entre segmentos grandes indicam que os níveis de autozigosidade derivados das ROHs podem ser utilizados como uma estimativa acurada dos níveis de endogamia.

Assim sendo, fica evidente que a identificação das ROHs permite a caracterização genômica de um rebanho, sendo eficiente no cálculo da estimativa genômica de endogamia através do índice F_{ROH} . Nosso objetivo foi estudar a distribuição dos alelos idênticos por descendência no genoma de bovinos da raça Nelore em um rebanho fechado, para estimação das relações de parentesco entre animais visando a manutenção da variabilidade genética.

REFERÊNCIAS

- ACNB – Associação dos Criadores de Nelore do Brasil. Histórico. Disponível em: <http://www.nelore.org.br/Raca/Historico>. Acesso em 25 de outubro de 2019.
- AZEVÊDO, D.M.M.R.; ALVES, A.A. Bioclimatologia Aplicada à Produção de Bovinos Leiteiros nos Trópicos. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 83 p. **Documentos / Embrapa Meio-Norte**, ISSN 0104-866X; 188, 2009.
- BOSSE, M.; MEGENS, H.-J.; MADSEN, O.; PAUDE, I Y.; FRANTZ, L.A.; SCHOOK, L.B.; CROOIJMANS, R.P.; GROENEN, M.A. Regions of homozygosity in the porcine genome: consequence of demography and the recombination landscape. **PLoS Genetics** 8, e1003100, 2012.
- BROMAN, K.; WEBER, J.L. Long homozygous chromosomal segments in reference families from the Centre d'Étude du Polymorphisme Humain. **American Journal of Human Genetics** 65, 1493–500, 1999.
- CAROTHERS, A.; RUDAN, I.; KOLCIC, I. Estimating human inbreeding coefficients: Comparison of genealogical and marker heterozygosity approaches. **Annals of Human Genetics** 70, 666 – 676, 2006.
- CHARLESWORTH, D.; WILLIS J.H. The genetics of inbreeding depression. **Nature Reviews** 10, 783–96, 2009.
- CLARK, S.A.; KINGHORN, B.P.; VAN DER WERF J.H.J. Comparisons of Identical by State and Identical by Descent Relationship Matrices Derived from SNP Markers in Genomic Evaluation. **Proceedings of the Twentieth Conference of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics**, p. 261-265, 2013.
- CRPBZ - CENTRO DE REFERÊNCIA DA PECUARIA BRASILEIRA – ZEBU. Uma Breve Apresentação sobre as Importações (1ª Fase). 2015a. Disponível em: <http://zebu.org.br/Home/Conteudo/14105>. Acesso em 25 de outubro de 2019.
- CRPBZ - CENTRO DE REFERÊNCIA DA PECUARIA BRASILEIRA – ZEBU. Uma Breve Apresentação sobre as Importações (2ª Fase). 2015b. Disponível em: <http://zebu.org.br/Home/Conteudo/14115>. Acesso em 25 de outubro de 2019.
- CRPBZ - CENTRO DE REFERÊNCIA DA PECUARIA BRASILEIRA – ZEBU. Uma Breve Apresentação sobre as Importações (3ª Fase). 2015c. Disponível em: <http://zebu.org.br/Home/Conteudo/14086>. Acesso em 25 de outubro de 2019.
- CRPBZ - CENTRO DE REFERÊNCIA DA PECUARIA BRASILEIRA – ZEBU. Uma Breve Apresentação sobre as Importações (4ª Fase). 2015d. Disponível em: <http://zebu.org.br/Home/Conteudo/14087>. Acesso em 25 de outubro de 2019.
- CRPBZ - CENTRO DE REFERÊNCIA DA PECUARIA BRASILEIRA – ZEBU. Uma Breve Apresentação sobre as Importações (2ª Fase). 2015e. Disponível em: <http://zebu.org.br/Home/Conteudo/14115>. Acesso em 29 de outubro de 2019.
- CURIK, I.; SÖLKNER, J.; STIPIC, N. Effects of models with finite loci, selection, dominance, epistasis and linkage on inbreeding coefficients based on pedigree and genotypic information. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 119, 101–15, 2002.
- CURIK, I.; FERENČAKOVIĆ, M.; SÖLKNER, J. Inbreeding and runs of homozygosity: a possible solution to an old problem. **Livestock Science** 166, 26–34, 2014.

- DE CARA, M.A.R.; VILLANUEVA, B.; TORO, M.A.; FERNÁNDEZ, J. Using genomic tools to maintain diversity and fitness in conservation programmes. **Molecular Ecology** 22, 6091–9, 2013.
- ELER, J.P.; FERRAZ, J.B.S.; OLIVEIRA, E.C.M. **Sumário de touros Nelore Lemgruber 2019**. Pirassununga : NAP-GMABT-FZEA-USP, 2019.
- FALCONER, D.S., MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4. ed. Longman, Essex, 1996.
- FAZENDA MUNDO NOVO. História. 2008a. Disponível em: www.fazendamundonovo.com/historia.asp. Acesso em 31 de outubro de 2019.
- FAZENDA MUNDO NOVO. Seleção. 2008b. Disponível em: www.fazendamundonovo.com/selecao.asp. Acesso em 20 de Novembro de 2019.
- FERENČAKOVIĆ, M.; HAMZIC, E.; GREDLER, B.; CURIK, I.; SÖLKNER, J. Runs of homozygosity reveal genome-wide autozygosity in the Austrian Fleckvieh cattle. **Agriculturae Conspectus Scientificus** 76, 325–8, 2011.
- FERENČAKOVIĆ, M.; HAMZIC, E.; GREDLER, B.; SOLBERG, T.R.; KLEMETS DAL, G.; CURIK, I. and SÖLKNER, J. Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. **Journal of Animal Breeding and Genetics** 130, 286–93, 2013a.
- FERENČAKOVIĆ, M.; SÖLKNER, J.; CURIK, I. Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. **Genetics Selection Evolution** 45, 42, 2013b.
- GIBSON, J.; MORTON, N.E.; COLLINS A. Extended tracts of homozygosity in outbred human populations. **Human Molecular Genetics** 15, 789–795, 2006.
- HAYES, B.; GODDARD, M. Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. **Genome**, v. 53, n. 11, p. 876-883, 2010.
- HERRERO-MEDRANO, J.M.; MEGENS, H.-J.; GROENEN, M.A.M.; RAMIS, G.; BOSSE, M.; PEREZ-ENCISO, M.; CROOIJMANS, R.P.M.A. Conservation genomic analysis of domestic and wild pig populations from the Iberian Peninsula. **BMC Genetics** 14, 106, 2013.
- HOWRIGAN, D.P.; SIMONSON, M.A.; KELLER, M.C. Detecting autozygosity through runs of homozygosity: a comparison of three autozygosity detection algorithms. **BMC Genomics** 12, 460, 2011.
- JORGE, W. A genômica bovina-origem e evolução de taurinos e zebrinos. **Veterinária e Zootecnia** v. 20, n. 2, p. 217-237, 2013.
- JOSAHKIAN, L.A.; VENTURA, H.T.; COSTA, E.V.; PEREIRA, M. A. A genética como fator de produção sustentável: Contribuição e uso. **Anais do IX SIMPEC – Simpósio de Pecuária de Corte** pp. 199-202. Lavras, MG, 2015.
- KARIMI, S. Runs of homozygosity patterns in taurine and indicine cattle breeds. Thesis (D.Sc.). **University of Natural Resources and Life Sciences**, Vienna, 2013.
- KELLER, M.; VISSCHER, P.; GODDARD, M. Quantification of inbreeding due to distance ancestors and its detection using dense SNP data. **Genetics** 189, 237–49, 2011.

- KIM, E.-S.; COLE, J.B.; HUSON, H.; WIGGANS, G.R.; VAN TASSELL, C.P.; CROOKER, B.A.; LIU, G.; DA, Y.; SONSTEGARD, T.S. Effect of artificial selection on runs of homozygosity in U.S. Holstein cattle. **PLoS One** 8, e80813, 2013.
- KIRIN, M.; MCQUILLAN, R.; FRANKLIN, C.; CAMPBELL, H.; MCKEIGUE, P.M.; WILSON, J.F. Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. **PLoS One** 5, e13996, 2010.
- KELLER, M.C., SIMONSON, M.A., RIPKE, S., NEALE, B.M., GEJMAN P.V., HOWRIGAN, D.P., LEE, S.H., LENCZ, T., LEVINSON, D.F., SULLIVAN, P.F. Runs of homozygosity implicate autozygosity as a schizophrenia risk factor. **PLoS Genetics**, 8:e1002656, 2012.
- KOURY FILHO, W.; TRAMONTE, N.C.; BITTENCOURT, A.; ALVES, F.C.P. Avaliação Visual – EPMURAS Descritivo. **Anais do IX SIMPEC – Simpósio de Pecuária de Corte** pp. 203-212. Lavras, MG, 2015.
- KU, C.S.; NAIDOO, N.; TEO, S.M.; PAWITAN, Y. Regions of homozygosity and their impact on complex diseases and traits. **Human Genetics**, vol. 129, 2011.
- MADALENA, F.E.; LEMOS, A.M.; TEODORO, R.L.; BARBOSA, R.T.; MONTEIRO, J.B.N. Dairy production and reproduction in Holstein-Friesian and Guzera crosses. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1872–1886, 1990.
- MASTRANGELO, S.; TOLONE, M.; DI GERLANDO, R.; FONTANESI, L.; SARDINA, M. T.; PORTOLANO, B. Genomic inbreeding estimation in small populations: evaluation of runs of homozygosity in three local dairy cattle breeds. **Animal**, 10:5, pp 746–754, 2016..
- MCGLOTHEN, M.E.; EL AMIN, F.; WILCOX, C.J.; DAVIS R.H. Effects on milk yield of crossbreeding zebu and European breeds in Sudan. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 18, p. 221–228, 1995.
- MCQUILLAN, R.; LEUTENEGGER, A.; ABDEL-RAHMAN, R. FRANKLIN, C.S.; PERICIC, M., BARAC-LAUC, L.; SMOLEJ-NARANCIC, N.; JANICIJEVIC, B.; POLASEK, O.; TENESA, A.; MACLEOD, A.K.; FARRINGTON, S.M.; RUDAN, P.; HAYWARD, C.; VITART, V.; RUDAN, I.; WILD, S.H.; DUNLOP, M.G.; WRIGHT, A.F.; CAMPBELL, H.; WILSON, J.F. Runs of homozygosity in European populations. **American Journal of Human Genetics** 83, 359–72, 2008.
- NAIK, S.N. Origin and Domestication of Zebu Cattle (*Bos indicus*). **Journal of Human Revolution**, Volume 7, Issue 1 pp 23-30, 1977.
- OLIVEIRA, J.A.; BASTOS, J.F.P.; TONHATI, H. Endogamia em um rebanho da raça Guzera. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 4, p. 721-728, 1999.
- OLIVEIRA, J.H.F; MAGNABOSCO, C.U.; BORGES, A.M.S.M. Nelore: base genética e evolução seletiva no Brasil. **Documentos/Embrapa Cerrados**, ISSN 1517-5111; 49, 2002.
- PERIPOLLI, E.; MUNARI, D.P.; SILVA, M.V.G.B.; LIMA, A.L.F.; IRGANG, R.; BALDI, F. Runs of homozygosity: Current Knowledge and application in livestock. **Animal Genetics**. <http://dx.doi.org/10.1111/age.12526>, 2016.
- PRYCE, J.E.; HAILE-MARIAM, M.; GODDARD, M.E.; HAYES, B.J. Identification of genomic regions associated with inbreeding depression in Holstein and Jersey dairy cattle. **Genetics Selection Evolution** 46, 71, 2014.

PURFIELD, D.C.; BERRY, D.; MCPARLAND, S.; BRADLEY, D.G. Runs of homozygosity and population history in cattle. **BMC Genetics** 13, 70, 2012.

PEARSON, K. Principal components analysis. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, v. 6, n. 2, p. 559, 1901.

REBELATO, A.B. Estimativas de Autozigose e Identificação de Assinaturas de Seleção em Bovinos da Raça Nelore Utilizando Painéis de SNP de Alta Densidade. Brasília: **Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília, 2018, 96p.** Tese de Doutorado, 2018.

REVERTER, A.; PORTO-NETO, L. R.; FORTES, M. R. S.; KASARAPU, P.; DE CARA, M. A. R.; BURROW, H. M.; LEHNERT, S. A. Genomic inbreeding depression for climatic adaptation of tropical beef cattle. **Journal of Animal Science** 95:3809–3821, 2017.

SOLKNER, J.; FERENČAKOVIĆ, M.; GREDLER, B.; CURIK, I. Genomic metrics of individual autozygosity, applied to a cattle population. **Proceedings of the 61st Annual Meeting of the European Association of Animal Production**. Heraklion, Greece, 2010.

SZPIECH, Z.A.; Xu, J.; PEMBERTON, T.J.; PENG, W.; ZOLLNER, S.; ROSENBERG, N.A.; LI, J.Z. Long runs of homozygosity are enriched for deleterious variation. **American Journal of Human Genetics** 93, 90– 102, 2013.

ZAVAREZ, L.B.; UTSUNOMIYA, Y.T.; CARMO, A.S.; NEVES, H.R.; CARVALHEIRO, R.; FERENČAKOVIC, M.; O'BRIEN, A.M.P.; CURIK, I.; COLE, J.M.B.; VANTASSELL, C.P.; SILVA, M.G.V.B.; SONSTEGARD, T.S.; SOLKNER, J.; GARCIA, J.F. Assessment of autozygosity in Nelore cows (*Bos indicus*) through high density SNP genotypes. **Frontiers in Genetics** 6, 5, 2015.

ZHANG, Q.; GULDBRANDTSEN, B.; BOSSE, M.; LUND, M.S.; SAHANA, G. Runs of homozygosity and distribution of functional variants in the cattle genome. **BMC Genomics**, v.16, 2015.

CAPÍTULO 2: ARTIGO

O artigo foi redigido de acordo com as normas da revista Animal (ISSN 1751-7311).

Corridas de Homozigose Para Caracterização da Endogamia em um Rebanho Fechado de Bovinos da Raça Nelore

Resumo

O objetivo deste estudo foi comparar a endogamia estimada por pedigree (F_{PED}), que é tradicionalmente usada para controle interno nos rebanhos e programas, com a endogamia genômica estimada através das corridas de homozigose (ROH), caracterizada como F_{ROH} . Foram genotipados 1.229 animais da raça Nelore, provenientes de um rebanho fechado, utilizando o SNP chip GGP-LD Indicus (Geneseek® Genomic Profiler Indicus 30K) que contém mais de 35.000 marcadores. Após aplicados os filtros de controle de qualidade, 26.331 SNPs foram mantidos para as análises. Foi identificada a presença de segmentos em ROH em todos os animais analisados, com quantidade média de 14,95 e comprimentos de em média 12,44Mb. A maior quantidade encontrada foi de segmentos entre 4 e 8Mb, porém a maior proporção de cobertura encontrada no genoma estudado foi de segmentos mais longos ($F_{ROH>16Mb}$). Em média, 6,85% (186,19Mb) do genoma da população foi identificado como autozigótico. As estimativas de F_{PED} variaram de 0,000 a 0,305 e as de F_{ROH} de 0,001 a 0,2407. Foram observadas correlações baixas a moderadas entre as estimativas de F_{PED} - F_{ROH} (0,1071 a 0,4893) e baixa correlação entre F_{PED} - F_{GRM} (0,1751). A correlação moderada ($r>0,48$) encontrada entre F_{PED} - F_{ROH} para segmentos longos indica que os níveis de autozigosidade derivados dos ROH podem ser utilizados como uma estimativa acurada dos níveis de endogamia recente, todavia, para investigação de eventos de endogamia mais remotos e

histórico de populações, a utilização de painéis de marcadores mais densos (HD) se faz necessária.

Palavras-chave: Autozigosidade, *Bos indicus*, Corrida de Homozigosidade, Endogamia, Seleção, SNP

Abstract

The aim of this study was to compare the inbreeding estimated from pedigree data (F_{PED}), traditionally used for internal monitoring by herds and breeding programs, with the genomic estimates through runs of homozygosity (ROH), characterized as F_{ROH} . 1,230 animals from a closed herd of the Nelore breed have been genotyped with the GGP-LD Indicus (Geneseek® Genomic Profiler Indicus 30K) SNP chip, that contains more than 35,000 markers. After applying quality control filters, 1,229 animals and 26,331 SNPs remained for the analysis. Presence of ROH segments were identified in all analysed animals, with an average number of 14.95 and average length of 12.44Mb. The higher frequency was of segments between 4 and 8Mb, however, the biggest proportion of coverage found was of longer segments ($F_{ROH>16Mb}$). In average, 6.85% (186.19Mb) of the population's genome was identified as autozygotic. Estimates of F_{PED} ranged from 0.000 to 0.305 and of F_{ROH} from 0.001 to 0.2407. Low to moderate correlations were observed between F_{PED} - F_{ROH} (0.1071 to 0.4893) and low correlation between F_{PED} - F_{GRM} (0.1751). The moderate correlation ($r>0.48$) found between F_{PED} - F_{ROH} for long segments suggests that autozygosity levels derived from ROH can be used as an accurate estimate of recent inbreeding levels, although for older inbreeding events and population history the use of denser marker panels becomes necessary.

Keywords: Autozygosity, *Bos indicus*, Inbreeding, Runs of Homozygosity, Selection, SNP

Implicações

Este estudo apresenta novos comparativos envolvendo a utilização de pedigree e da tecnologia de marcadores moleculares para estimativas de endogamia na espécie bovina em rebanhos considerados fechados. A intensificação da bovinocultura ao redor do mundo torna imperativo o conhecimento a respeito das diferentes formas de cálculo da endogamia, bem como sobre as várias formas de se utilizar as estimativas calculadas através das corridas de homozigose (ROH). Esta metodologia é de fundamental importância para o estudo de populações, especialmente em rebanhos mantidos fechados por longos períodos, onde se faz necessário o monitoramento dos índices de endogamia visando a otimização e controle sobre a variabilidade genética, seja dentro de um programa de melhoramento genético ou em rebanhos específicos. Este tipo de abordagem também demonstra ampla utilização em rebanhos/raças com número restrito de animais ou com fins de conservação.

Introdução

Desde Wright (1922), pesquisas têm considerado estimativas de endogamia baseadas no pedigree (F_{PED}), todavia estas são expectativas estatísticas da proporção genômica provável de identidade por descendência, enquanto as estimativas baseadas no genótipo revelam o parentesco real entre indivíduos (Visscher et al., 2006).

Visando a fixação de determinadas características de interesse econômico, alguns rebanhos que trabalham com melhoramento genético fazem uso da endogamia como ferramenta para este fim. Trabalhando com linhagens específicas e dando prioridade a acasalamentos com reprodutores do próprio rebanho, procuram manter suas populações fechadas, com a mínima influência externa possível. Assim sendo, o controle das taxas de endogamia se faz essencial, ressaltando a importância de uma estimativa mais sensível e acurada de F .

Para tanto, o uso da tecnologia molecular para obtenção de estimativas de coeficiente de endogamia derivados de ROH (F_{ROH}) e da matriz genômica de parentesco (F_{GRM}) (VanRaden, 2008) tem sido amplamente estudado. Por ter a capacidade de capturar a influência do parentesco entre fundadores da população de base e considerar a natureza estocástica da recombinação, a F_{ROH} é válida para estimar a autozigosidade ao longo do genoma (Keller et al., 2011). Além disso, também leva em conta o potencial viés que pode surgir com a seleção (Curik; Sölkner; Stipic, 2002).

Na atualidade, a F estimada por ROH (F_{ROH}) é considerada o método mais eficiente para detecção dos efeitos da endogamia dentre as várias estimativas alternativas disponíveis (Keller et al., 2011, Mastrangelo et al., 2016).

No presente estudo, foi investigada a presença de ROH, com base em marcadores moleculares do tipo SNPs, no genoma de 1.229 machos da raça Nelore (*Bos indicus*) provenientes de um rebanho predominantemente fechado há mais de 5 décadas. O objetivo foi caracterizar a distribuição e comprimento de ROH e níveis de autozigosidade e comparar as endogamias estimadas por pedigree (F_{PED}), pela matriz genômica (F_{GRM}) e por ROH (F_{ROH}).

Material e Métodos

Animais e genotipagem

Um total de 1.230 animais da raça Nelore foram genotipados utilizando o BeadChip GGP-LD Indicus (GeneSeek® Genomic Profiler Indicus 30K), que contém mais de 35.000 marcadores SNP bialélicos. O grupo de animais genotipados é composto por 1.130 machos das safras 2011 a 2015 e 100 touros de safras anteriores, sendo estes reprodutores influentes no rebanho, pais ou avôs das safras mais recentes. Todos os animais são provenientes do rebanho da Fazenda Mundo Novo, localizada no município de Uberaba, MG , cuja seleção se baseia em quatro pilares básicos: i. Adaptação ao meio ambiente; ii. Fertilidade; iii. Aptidão Econômica e iv. Padrão Racial. Além disso, possui seu próprio programa de melhoramento genético, sendo as análises conduzidas pela Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, e publica um sumário anual, onde são relacionadas as DEPs (Diferenças Esperadas da Progenie) das diversas características avaliadas, para todas as categorias de animais (ELER et al., 2019, FAZENDA MUNDO NOVO, 2008b). O criatório preconiza acasalamentos dentro da própria linhagem com um mínimo de influência de genética de outros rebanhos, para imprimir características desejadas na seleção, controlando as taxas de endogamia para minimizar as perdas ocasionadas por depressão endogâmica.

Corridas de Homozigose

A análise dos dados foi realizada utilizando o software SNP & Variation Suite v8.8.3 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT, USA. <http://www.goldenhelix.com>). SNPs não relacionados a nenhum cromossomo e mapeados em cromossomos sexuais e mitocondriais foram removidos. Amostras e SNPs também foram editados para *call*

rate (<95%), frequência alélica mínima (MAF) (>0,03) e equilíbrio de Hardy-Weinberg (10⁻⁶). Seguindo a sugestão de Purcell et al. (2007) de que a detecção de ROH que não são verdadeiramente IBD pode ocorrer devido a altas taxas de desequilíbrio de ligação (LD), este filtro também foi aplicado previamente às análises para aumento da eficiência. Depois da edição por filtros de qualidade, um total de 1.229 animais e 26.331 SNPs foram retidos para as análises.

As estimativas de autozigosidade são fortemente influenciadas pela densidade do painel de SNPs empregado para gerar os dados a serem usados para identificação de ROH (Mastrangelo et al., 2016). De acordo com Ferenčaković et al. (2013b), o uso de painéis de 50K resultou em abundância de segmentos curtos e superestimou o número de segmentos com comprimento entre 1 e 4Mb, sugerindo que os mesmos não possuem sensibilidade suficiente para identificação precisa de segmentos mais curtos. O mesmo autor também observou que erros na genotipagem com SNP chips podem ocorrer, portanto é pertinente permitir alguns genótipos heterozigotos, especialmente em segmentos longos, que são mais frequentes em populações bovinas. Para minimizar tais problemas, os parâmetros e limites aplicados neste estudo para definir um ROH foram: (i) comprimento mínimo de ROH de 5Mb; (ii) número mínimo de 50 SNPs consecutivos incluídos em uma ROH; (iii) intervalo máximo de 100kb entre SNPs homozigotos consecutivos; (iv) densidade de 1 SNP a cada 100 kb; e (vii) máximo de cinco SNPs com genótipos faltantes e máximo de três genótipos heterozigotos em uma ROH. As ROH foram classificadas em quatro classes de extensão: Total, 4-8, 8-16 e >16Mb, identificadas como ROH Total, ROH 4-8Mb, ROH 8-16Mb e ROH >16Mb, respectivamente.

Coeficientes de endogamia por pedigree e genômicos

Foram estimados três tipos de coeficientes de endogamia: F_{PED} , F_{ROH} e F_{GRM} . As estimativas de coeficiente de endogamia pelo Pedigree (F_{PED}) foram estimadas para todos os indivíduos a partir de um conjunto de dados de pedigree de 5.090 animais nascidos entre 1985 e 2015. As informações de pedigree foram fornecidas pela Fazenda Mundo Novo (Uberaba, Minas Gerais, Brasil).

As estimativas de F_{PED} foram obtidas através do software INBUPGF90 (AGUILAR; MISZTAL, 2008), e os coeficientes de endogamia genômica (F_{ROH}), medidos com base no percentual do genoma de cada animal coberto por ROH, foram calculados de acordo com McQuillan et al. (2008):

$$F_{ROH} = \frac{\sum_{j=1}^n L_{ROHj}}{L_{total}}$$

Em que: L_{ROHj} representa o total de ROH acima do tamanho mínimo determinado (L_{ROH}), identificado em um indivíduo, e L_{total} é o tamanho total do genoma autossômico coberto por SNPs. O L_{total} considerado foi baseado na montagem ARS-UCD1.2, que totalizou 2,715,853,792bp.

As F_{ROH} ($F_{ROH\ Total}$, $F_{ROH4-8\ Mb}$, $F_{ROH8-16\ Mb}$ e $F_{ROH>16\ Mb}$) foram calculadas para cada animal através do Software R (R Core Team, 2018), tomando como base as distribuições de ROH em quatro comprimentos diferentes (ROH_j): Total, 4-8, 8-16 e >16 Mb. Apesar do parâmetro determinado para comprimento de corridas ter sido de 5Mb, o software faz uma aproximação e algumas ROH abaixo deste podem ser encontradas, assim optou-se por formar uma classe de F_{ROH} entre 4 e 8Mb.

Foi estimada ainda uma segunda medida de endogamia genômica, a partir da Matriz de Parentesco Genômica (G), apresentada como F_{GRM} , calculada de acordo com VanRaden (2008) utilizando a seguinte fórmula:

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum_{i=1}^n P_i(1 - P_i)}$$

Em que: Z é uma matriz genômica que contém valores 0-2p para homozigotos, 1-2p para heterozigotos e 2-2p para homozigotos opostos, e P_i é a frequência do alelo referência no locus i. A diagonal dos elementos da matriz G representam a relação do animal com ele mesmo, portanto foi usada para avaliar o coeficiente de endogamia genômica.

Coefficientes de correlação de Pearson foram calculados entre as estimativas de endogamia de pedigree (F_{PED}) e genômicas (F_{ROH} e F_{GRM}).

Resultados e Discussão

Distribuição genômica das corridas de homozigose

Todos os 1.229 animais tiveram ROH identificados em seu genoma, e o total encontrado em todas as amostras foi de 18.383 segmentos homozigóticos. A quantidade de ROH encontrado em cada indivíduo variou entre 2 e 34, com média de 14,95 e os comprimentos identificados variaram de 4,71 a 110,76 com média de 12,44Mb. Em estudo sobre ROH utilizando 2.908 animais da raça Gir, Peripolli et al. (2016) encontraram de 17 a 121 segmentos ROH por animal, com tamanhos variando entre 1Mb e 108,97Mb nos cromossomos BTA7 e BTA8, respectivamente. Considerando que o estudo citado utilizou SNP Chip de alta densidade (HD), é justificável a diferença em número e comprimento dos segmentos encontrados, já

que o mesmo é capaz de detectar segmentos mais curtos de ROH (<5Mb), enquanto que o utilizado no presente estudo (30K) é mais eficiente na detecção de segmentos mais longos.

Analisando uma amostra contendo 1.278 animais da raça Nelore de diversos rebanhos, Zavarez et al. (2015) identificaram comprimento médio de ROH de $6,75 \pm 9,20$ Mb, com comprimento máximo encontrado em um animal de 43,79 Mb. A diferença contrastante entre os resultados de Zavarez et al. (2015), encontrados na mesma raça analisada neste trabalho, pode ser relacionada com a diferença entre as populações, já que os autores analisaram um grupo de animais provenientes de diferentes rebanhos, enquanto que, neste estudo, o grupo em questão é proveniente de um mesmo rebanho, que preconiza o uso de genética própria nos acasalamentos. Desta forma, tende a apresentar maior endogamia e, conseqüentemente, maiores segmentos de ROH por indivíduo.

As maiores quantidades de ROH por cromossomo foram encontradas no BTA1 (955) e BTA2 (1025), e estes valores tenderam a decrescer de acordo com o tamanho do cromossomo. Purfield et al. (2012), Neves et al. (2015) e Mastrangelo et al. (2016) encontraram resultados semelhantes, com maior número de ROH presentes no cromossomo BTA1. Já Peripolli et al. (2016) observaram número maior de ROH no cromossomo BTA5, diferindo dos nossos resultados, o que novamente pode ter relação com as diferenças em densidade dos SNP Chips utilizados, bem como nos parâmetros pré-definidos para detecção dos ROH nos diferentes estudos.

A maior proporção de cobertura de ROH foi encontrada no cromossomo BTA25 (25,74%) (Figura 1), contrastando com os 11,98% e 6% encontrados no mesmo cromossomo por Peripolli et al. (2016) e Zavarez et al. (2015). Purfield et al. (2012)

encontraram maior proporção de ROH nos cromossomos BTA14 e BTA16, de 13,71% e 14,16%, respectivamente, analisando diferentes raças taurinas.

Na Tabela 1 estão apresentadas as estatísticas descritivas em relação ao número de ROH por classes de comprimento. No rebanho analisado, o comprimento total de corridas de homozigose é composto em sua maioria por segmentos entre 4 e 8Mb, o que é equivalente a aproximadamente 39% de todos os ROH identificados, porém ao compararmos com a cobertura total em ROH, estes segmentos contribuem com apenas 20%. Resultados semelhantes foram encontrados por Purfield et al. (2012), Ferenčaković et al. (2013b), Marras et al. (2014), Mastrangelo et al. (2016) e Peripolli et al. (2016).

Por outro lado, os segmentos mais longos, acima de 16Mb, foram quase duas vezes menos frequentes que os mais curtos (4-8Mb) e ainda assim representaram maior cobertura do genoma total (45%) quando comparados aos segmentos curtos e médios (Tabela 1). Ferenčaković et al. (2013b) observaram padrão semelhante na raça Pardo Suíço, em que o comprimento total de ROH é composto por um número menor de segmentos mais longos. De acordo com Howrigan et al. (2011), segmentos acima de 10Mb são referentes a eventos de endogamia que podem ter ocorrido ao longo das últimas 5 gerações, o que sugere que, nesta população específica da raça Nelore, a eficiência maior foi na detecção de segmentos mais longos, demonstrando presença de endogamia mais recente. Isto fica ainda mais evidente ao observarmos que, no total, 1.154 indivíduos (94%) apresentaram ao menos 1 segmento de ROH >16Mb.

O animal que apresentou valor máximo de autozigosidade apresentou 34 ROH >5Mb, totalizando 797,95Mb, que corresponde a 29,38% do comprimento total do genoma coberto por marcadores (2.71 Gb), com comprimento médio de ROH de

23,47 ± 8,84Mb, e comprimento máximo de ROH de 110,77Mb (1.144 SNPs).

Purfield et al. (2012), ao analisar diferentes raças bovinas, observou que os indivíduos com maior autozigosidade eram provenientes de raças leiteiras, apresentando em média 700,3Mb cobertos por ROH. Valor similar também foi encontrado por Mastrangelo et al. (2016), que verificaram 725,2Mb cobertos por ROH na raça Reggiana. Peripolli et al. (2016) observaram resultados semelhantes na raça Gir, com o animal de maior autozigosidade apresentando uma cobertura do genoma por ROH de 730,21Mb, correspondendo a 29,20% do genoma bovino. Contrastando com nossos resultados, o animal de maior autozigosidade encontrado por Zavarez et al. (2015) na raça Nelore apresentou apenas 465,66 Mb cobertos por ROH, representando 18% do comprimento total do genoma coberto por marcadores. O animal com a menor ROH encontrada de (4,6Mb - 54 SNPs), apresentou 12 ROH > 5 Mb, totalizando 164,45Mb (1,04% do genoma bovino), com comprimento médio de 13,70 ± 6,59Mb. Estes resultados mostram que o estudo dos ROH pode ser uma ferramenta em potencial a ser utilizada na tomada de decisão do processo de seleção dentro de um rebanho ou população, por tornar possível a observação dos níveis individuais de endogamia por animal, facilitando assim a identificação dos chamados *outliers*, ou seja, indivíduos muito distantes da média em termos de cobertura de ROH. Por exemplo, em uma população fechada, que tende a ter baixo N_e (tamanho efetivo da população), esta informação pode ser muito útil para direcionamento dos acasalamentos, aumentando ou diminuindo o uso de um reprodutor de acordo com seu nível de autozigosidade.

A relação entre o número total de ROH por animal e comprimento total do genoma em ROH para cada indivíduo está demonstrada na Figura 2. Em termos gerais, as estatísticas sugerem que, em média, 6,85% (186,19Mb) do genoma da população é

autozigótico. Valores similares foram encontrados por Marras et al. (2014), de 7% para a raça Marchigiana, e por Peripolli et al. (2016), de 7,01% para a raça Gir. A maior autozigosidade ocorre pela seleção artificial intensa e o uso recorrente de touros provados como superiores (Kim et al., 2013), práticas que, aliadas ao fato da população avaliada ser proveniente de uma seleção fechada, também podem esclarecer a maior autozigosidade observada, quando comparada aos resultados encontrados por Zavarez et al. (2015) na raça Nelore (4,58%).

Endogamia genômica e de pedigree

A média do equivalente de gerações foi de 7,2, o que indica boa profundidade e preenchimento de pedigree para esta população. A Tabela 2 apresenta as estatísticas descritivas para F_{PED} , F_{GRM} e F_{ROH} . A F_{PED} estimada variou entre 0,000 e 0,3050, com a média da população sendo determinada em 0,0520, e a F_{GRM} aferida variou de -0,224 a 0,312, com média de 0,0520. O maior nível de endogamia F_{ROH} foi observado para a estimativa de $F_{ROH\ Total}$, que variou entre 0,0103 e 0,2938 e média de 0,0685, seguido pela classe de $F_{ROH>16\ Mb}$, com valores variando de 0,0059 a 0,2407. Nas demais classes de F_{ROH} os níveis foram consideravelmente mais baixos, tendo sido o menor encontrado na classe $F_{ROH4-8Mb}$ (0,0017) e o maior na classe $F_{ROH8-12Mb}$ (0,0479).

Peripolli et al. (2016) reportaram diferenças semelhantes entre os F_{ROH} de segmentos menores (0,001 a 0,082) e na $F_{ROH>16Mb}$ (0,006 a 0,201) na raça Gir, porém seus resultados diferiram quanto ao F_{PED} , observando valores menores tanto na média (0,019) quanto na máxima (0,327). O mesmo ocorreu nos resultados reportados por Zavarez et al. (2015), que identificaram $F_{ROH>1Mb}$ com valores entre 0,0043 e 0,1855 com média de 0,0479 e $F_{ROH>16Mb}$ com média de 0,44. Já Rebelato

(2018), analisando população Nelore de 1.709 animais, reportou resultados contrastantes de F_{ROH} , com valor mínimo na classe $F_{ROH>1Mb}$ (0,0004) e máximo na $F_{ROH>0,5Mb}$ (0,2336), e valores de $F_{ROH>16Mb}$ variando entre 0,006 e 0,1132 com média de 0,0167.

Tais contrastes podem ter relação com a densidade do chip utilizado pelos autores (700K) e do presente estudo (30K), corroborando as evidências encontradas na literatura recente sobre a eficiência maior na detecção de ROH mais curtas por chips HD, indicadoras de endogamias mais remotas, e dos chips de menor densidade para detecção de endogamias mais recentes. Fatores como estrutura e origem das populações Nelore analisadas nos três estudos citados com a raça, além das diferenças entre parâmetros como tamanho mínimo de ROH, densidade de SNPs e mínimo de genótipos heterozigotos permitidos nas ROH também devem ser considerados ao comparar resultados.

Apesar das médias semelhantes, a correlação entre F_{PED} e F_{GRM} foi baixa (0,1751). Esta correlação difere dos valores moderados encontrados por Peripolli et al. (2016) (0,37), e a disparidade é ainda mais contrastante ao compararmos com a correlação encontrada por Hayes e Godard (2008) em população de Angus Australiano (0,69). Por outro lado, Marras et al. (2014) encontraram correlações similarmente baixas para as raças Pardo Italiano e Holandês Italiano, de 0,134 e 0,128 respectivamente. Uma explicação para a baixa correlação entre F_{PED} e F_{GRM} pode estar no fato de que, mesmo quando dados confiáveis e abrangentes de pedigree estão disponíveis, os coeficientes de endogamia não estimam parentescos mais remotos (Ferenčaković et al., 2011). Além disso, geralmente os fundadores de uma população são considerados como tendo zero de endogamia, e o F_{PED} ignora as diferenças estocásticas na proporção herdada de genoma IBD. Por sua vez, a F_{GRM}

tende a fornecer estimativas mais uniformes de endogamia. Portanto, estimativas de endogamia por pedigree e por informações moleculares podem diferir (Marras et al., 2014).

Foram observadas correlações baixas a moderadas entre F_{PED} e F_{ROH} (Figura 3), sendo a correlação mais baixa observada para $F_{ROH4-8Mb}$ (0,1071) e as mais altas para $F_{ROH\ Total}$ (0,5209) e $F_{ROH>16Mb}$ (0,4789). A correlação mais elevada para as estimativas de $F_{ROH\ Total}$ e $F_{ROH>16Mb}$ pode ser explicada pelos seguintes fatores: (i) as ROH identificam tanto os parentescos remotos quanto os mais recentes ($F_{ROH4-8Mb}$, $F_{ROH8-16Mb}$ e $F_{ROH>16Mb}$ correspondem a 12, 6 e 3 gerações, respectivamente) e $F_{ROH\ Total}$ é composto em sua maioria por corridas mais longas; (ii) as estimativas de F_{PED} são baseadas em informações de pedigree, que nesta população se estendem em média a somente 7,2 gerações; e (iii) ROH mais longos abrangem parentesco recente (Ferenčaković et al., 2013a; Marras et al., 2014).

Neste trabalho foram analisadas as relações entre corridas de homozigose com SNPs ao longo do genoma e os níveis de endogamia em uma população da raça Nelore. Comparando as estimativas de endogamia F_{PED} , F_{GRM} e F_{ROH} , nota-se a capacidade dos ROHs em demonstrar a ancestralidade da endogamia e de detectar as regiões do genoma com maior ou menor autozigosidade nos indivíduos em uma população. Este diferencial faz destes uma estratégia mais efetiva para controlar os níveis de endogamia, por possibilitar a identificação de indivíduos ou conjuntos de indivíduos que estejam acima ou abaixo da média da população, otimizando o processo de seleção.

Conclusão

Conclui-se que as corridas de homozigose são capazes de demonstrar a ancestralidade da endogamia e detectar as regiões do genoma com maior ou menor autozigosidade em indivíduos de uma população, o que as torna mais efetivas para o controle dos níveis de endogamia pela identificação de indivíduos ou conjunto de indivíduos acima ou abaixo da média da população.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul, e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradecemos ainda à EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, ao Dr. Fábio Luiz B. Toral e colegas pelo compartilhamento dos genótipos utilizados neste estudo, e à Fazenda Mundo Novo por permitir a realização destas análises em seu rebanho.

Declaração de interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Declaração de ética

O presente estudo não necessita avaliação pelo comitê de ética local visto que o DNA foi extraído de amostras de pelo armazenadas pela fazenda de origem do rebanho.

Referências

- Aguilar I e Misztal I 2007. Technical Note: Recursive Algorithm for Inbreeding Coefficients Assuming Nonzero Inbreeding of Unknown Parents. *Journal of Dairy Science*, v. 91.
- Bjelland DW, Weigel KA, Vukasinovic N e Nkrumah JD 2013. Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *Journal of Dairy Science* 96, 4697–706.
- Broman KW e Weber JL 1999. Long homozygous chromosomal segments in reference families from the centre d'Etude du polymorphisme humain. *Am. J. Hum. Genet.* 65, 1493–1500.
- Caetano AR 2009. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n. 8, p. 64-71.
- Curik I, Sölkner J e Stipic N 2002. Effects of models with finite loci, selection, dominance, epistasis and linkage on inbreeding coefficients based on pedigree and genotypic information. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v. 119, p. 101– 115.
- Curik I, Ferenčaković M e Sölkner J 2014. Inbreeding and runs of homozygosity: a possible solution to an old problem. *Livestock Science* 166, 26–34.
- Falconer DS e Mackay, TFC 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4. ed. Longman, Essex.
- Ferenčaković M, Hamzic E, Gredler B, Curik I e Sölkner, J 2011. Runs of homozygosity reveal genome-wide autozygosity in the Austrian Fleckvieh cattle. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 76, 325–8.
- Ferenčaković M, Hamzic E, Gredler B, Solberg TR, Klemetsdal G, Curik I e Sölkner, J 2013a. Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 130, 286–93.

- Ferenčaković M, Sölkner J e Curik I 2013b. Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genetics Selection Evolution* 45, 42.
- Hanotte O, Ronin Y, Agaba M, Nilsson P, Gelhaus A, Horstmann R, Sugimoto Y, Kemp S, Gibson J, Korol A, Soller M e Teale A 2003. Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(13), 7443-7448.
- Hayes BJ e Goddard ME 2008. Technical note: Prediction of breeding values using marker-derived relationship matrices. *Journal of Animal Science*, v. 86, p. 2089- 2091.
- Howrigan DP, Simonson MA, Keller MC 2011. Detecting autozygosity through runs of homozygosity: a comparison of three autozygosity detection algorithms. *BMC Genomics* 12, 460.
- Keller M, Visscher P e Goddard M 2011. Quantification of inbreeding due to distance ancestors and its detection using dense SNP data. *Genetics* 189, 237–49.
- Kim E-S, Cole JB, Huson H, Wiggans GR, Van Tassell CP, Crooker BA, Liu G, Da Y e Sonstegard TD 2013. Effect of Artificial Selection on Runs of Homozygosity in U.S. Holstein Cattle. *PLoS ONE*, v. 8, e80813.
- Kirin M, McQuillan R, Franklin C, Campbell H, McKeigue PM e Wilson JF 2010. Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. *PLoS One* 5, e13996.
- Li LH, Ho SF, Chen CH, Wei CY, Wong WC, Li LY, Hung SI, Chung WH, Pan WH, Lee MT, Tsai FJ, Chang CF, Wu JY e Chen YT 2006. Long contiguous stretches of homozygosity in the human genome. *Hum Mutat.* Nov, 27(11):1115-21.
- Marras G, Gaspa G, Sorbolini S, Dimauro C, Ajmone-Marsan P, Valentini A, Williams JL e Macciotta NPP 2014. Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Animal Genetics*, v. 46, p. 110-121.

Mastrangelo S, Tolone M, Di Gerlando R, Fontanesi L, Sardina, MT e Portolano B 2016.

Genomic inbreeding estimation in small populations: evaluation of runs of homozygosity in three local dairy cattle breeds. *Animal*, v.10, p.746-754.

McQuillan R, Leutenegger AL, Abdel-Rahman R, Franklin CS, Pericic M, Barac-Lauc L,

Smolej-Narancic N, Janicijevic B, Polasek O, Tenesa A, Macleod AK, Farrington SM, Rudan P, Hayward C, Vitart V, Rudan I, Wild SH, Dunlop MG, Wright AF, Campbell H and Wilson JF 2008. Runs of homozygosity in European populations. *The American Journal of Human Genetics* 83, 359–372.

Neves HHR, Desidério JA, Pimentel ECG, Scalez DCB e Queiroz SA 2015. Preliminary

study to determine extent of linkage disequilibrium and estimates of autozygosity in Brazilian Gyr dairy cattle. *Archivos de Zootecnia* 64, 99–108.

Peripolli E, Munari DP, Silva MVGB, Lima ALF, Irgang R e Baldi F 2016. Runs of

homozygosity: Current Knowledge and application in livestock. *Animal Genetics*.
<http://dx.doi.org/10.1111/age.12526>.

Porto-Neto L R, Sonstegard TS, Liu GE, Bickhart DM, Da Silva MV, Machado MA,

Utsunomiya YT, Garcia JF, Gondr, C e Van Tassell CP 2013. Genomic divergence of zebu and taurine cattle identified through high-density SNP genotyping. *BMC Genomics*. 14, 876.

Purfield DC, Berry D, McParland S e Bradley DG 2012. Runs of homozygosity and

population history in cattle. *BMC Genetics* 13, 70.

R Core Team 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation

for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rebelato AB 2018. Estimativas de Autozigose e Identificação de Assinaturas de Seleção em

Bovinos da Raça Nelore Utilizando Painéis de SNP de Alta Densidade. Tese de Doutorado, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 96p.

- Silva JM, Giachetto PF, Silva, LOC, Cintra LC, Paiva SR, Caetano AR e Yamagishi MEB
2015. Genomic Variants Revealed by Invariably Missing Genotypes in Nelore Cattle.
PLoS ONE 10(8): e0136035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136035>.
- Sölkner J, Ferenčaković M, Karimi Z, Perez O'Brien AM, Mészáros G, Eaglen S, Boison SA
e Curik I 2014. Extremely Non-uniform: Patterns of Runs of Homozygosity in Bovine
Populations. Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock
Production.
- VanRaden PM 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. Journal of Dairy
Science, v. 91, p. 4414–4423.
- Visscher PM, Medland SE, Ferreira MAR, Morley KI, Zhu G, Cornes BK, Montgomery GW e
Martin NG 2006. Assumption-Free Estimation of Heritability from Genome-Wide
Identity-by-Descent Sharing between Full Siblings. PLoS Genetics, v. 2, e41.
- Wright S 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. American Naturalist 56, 330–8.
- Zavarez LB, Utsunomiya YT, Carmo AS, Neves HR, Carvalheiro R, Ferenčaković M, O'Brien
AMP, Curik I, Cole JMB, Vantassell CP, Silva MGVB, Sonstegard TS, Solkner J e
Garcia JF 2015. Assessment of autozygosity in Nelore cows (*Bos indicus*) through
high density SNP genotypes. Frontiers in Genetics 6, 5.
- Zhang Q, Guldbbrandtsen B, BOSSE M, Lund MS e Sahana G. 2015. Runs of homozygosity
and distribution of functional variants in the cattle genome. BMC Genomics, v.16.

Tabela 1 Estatística descritiva da quantidade de corridas de homozigose (ROH) e comprimento (em Mb) por classes (Total, 4-8, 8-16 e >16Mb)

Classe ROH	Quantidade ROH	(%)	Comprimento Médio	Mín	Máx	Desvio Padrão	Cobertura do Genoma (%)
ROH Total	18.838	100	12,44	4,61	110,76	8,78	8,42
ROH 4-8 Mb	7.115	38,7	6,37	4,61	7,99	0,85	1,67
ROH 8-16 Mb	7.292	39,7	11,14	8	15,99	2,25	2,99
ROH >16 Mb	3.976	21,6	25,71	16	110,76	10,05	3,76

Tabela 2 Número de animais genotipados (N) e estatísticas descritivas para coeficiente de endogamia por pedigree (F_{PED}) e coeficientes de endogamia genômica baseados na matriz genômica de parentesco (F_{GRM}) e nas corridas de homozigose (F_{ROH}) para diferentes comprimentos ($F_{ROH\ Total}$, $F_{ROH\ 4-8Mb}$, $F_{ROH\ 8-16Mb}$ e $F_{ROH\ >16Mb}$).

Coeficiente de Endogamia	Média	Mediana	Mín	Máx	Coeficiente de Variação	N
F_{PED}	0,0520	0,050	0,000	0,3050	2,2953	1.230
F_{GRM}	0,0520	0,0512	-0,224	0,312	3,1568	1.230
$F_{ROH\ Total}$	0,0685	0,0657	0,0103	0,2938	39,52	1.229
$F_{ROH\ 4-8\ Mb}$	0,0135	0,0133	0,0017	0,0368	43,5746	1.228
$F_{ROH\ 8-16\ Mb}$	0,0244	0,0238	0,0029	0,0794	44,5249	1.223
$F_{ROH\ >16\ Mb}$	0,0326	0,0283	0,0059	0,2407	67,9058	1.154

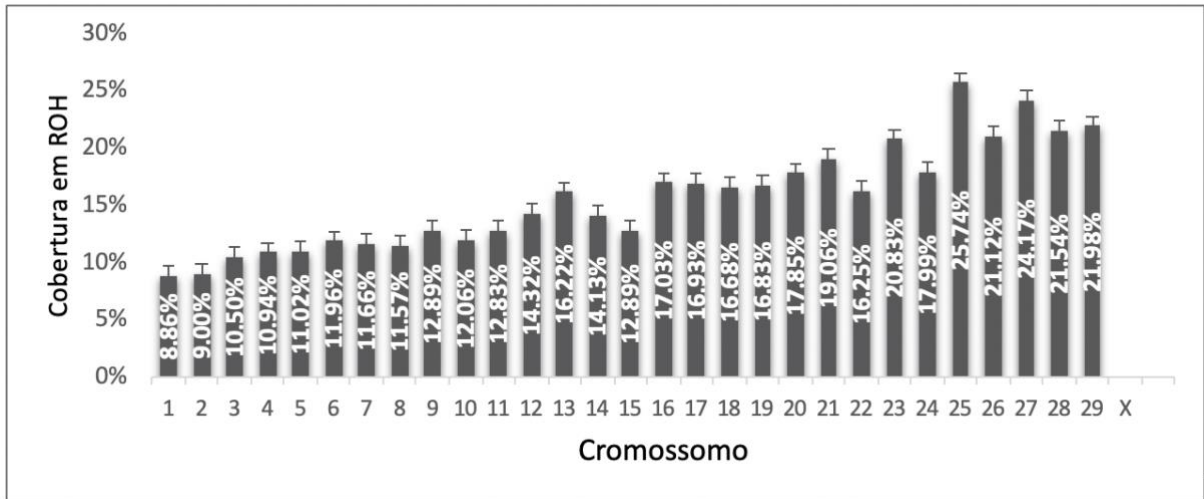


Figura 1 Porcentagem de cobertura média de ROH por cromossomo com comprimento mínimo de 5Mb. As barras nas colunas indicam erro padrão.

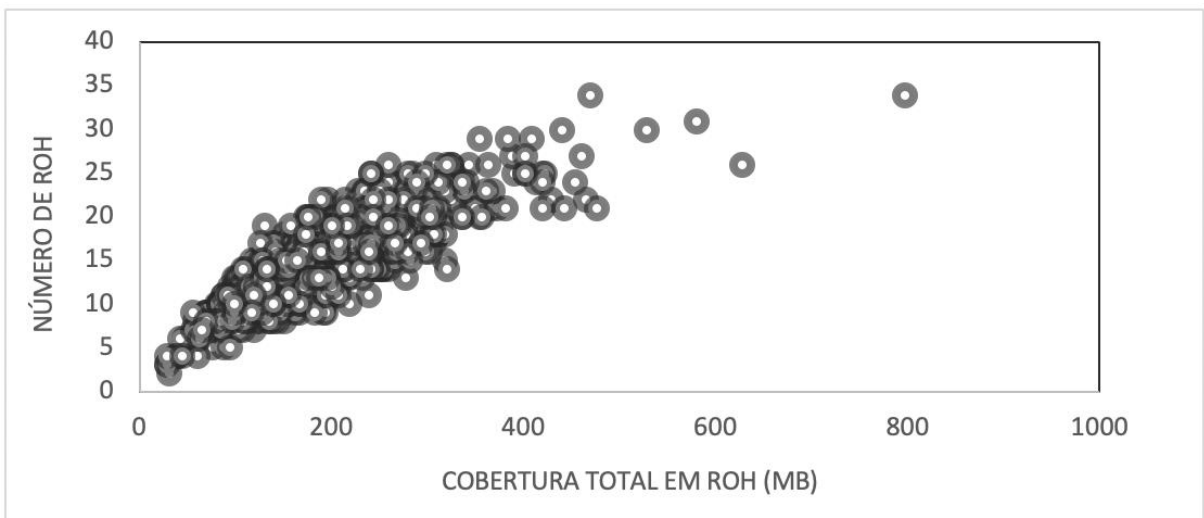


Figura 2 Relação entre o número total de corridas de homozigose (ROH>5 Mb) e a cobertura total do genoma em ROH (Mb) para cada indivíduo. Cada círculo representa um animal.

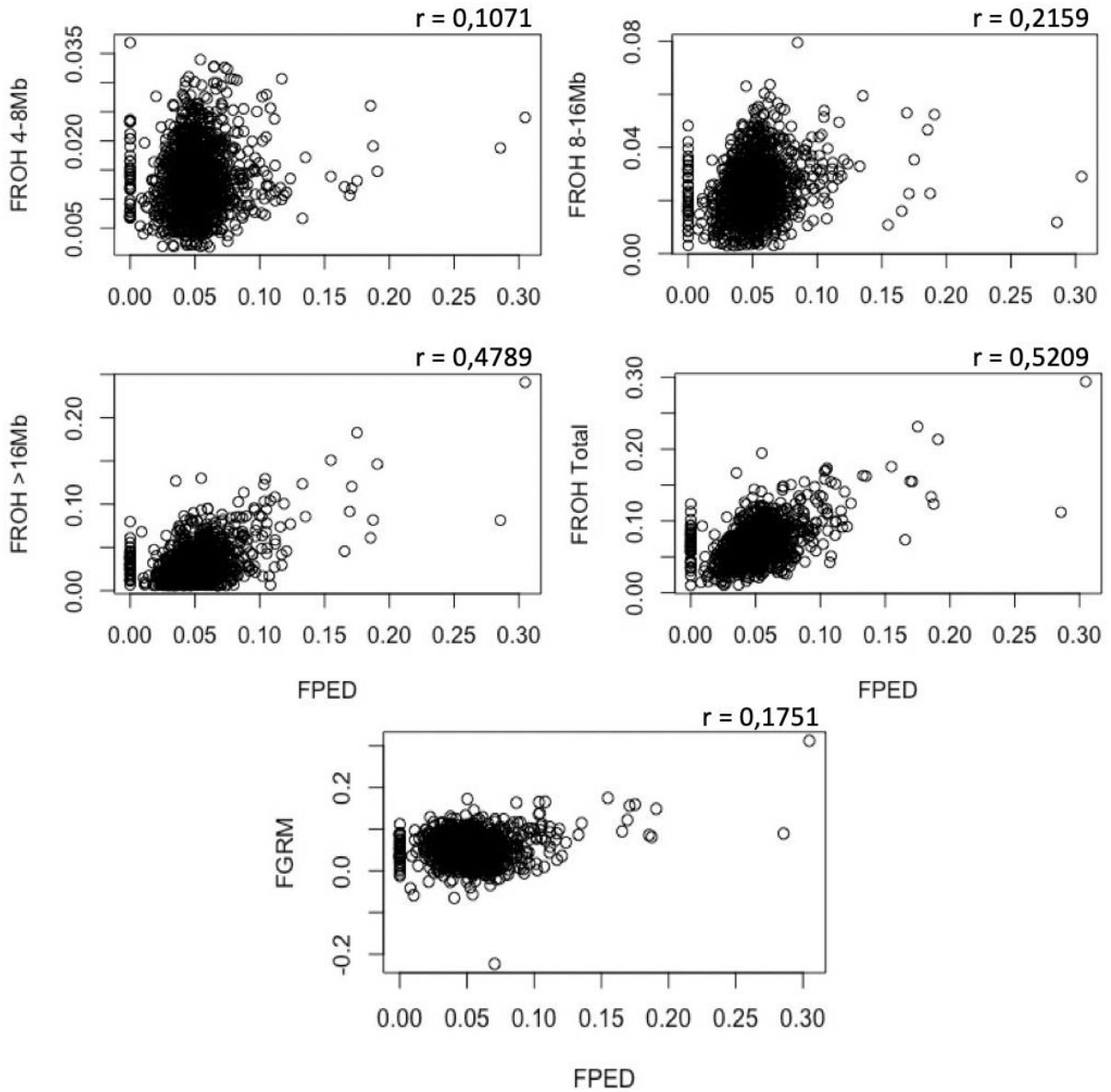


Figura 3 Representação gráfica (scatterplots) e correlações (canto superior direito) dos coeficientes de endogamia F_{ROH} (F_{ROH} 4-8 Mb, F_{ROH} 8-16 Mb, F_{ROH} >16 Mb e F_{ROH} Total), coeficientes de endogamia por pedigree (F_{PED}) e pela matriz genômica de parentesco (F_{GRM}).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além de se mostrar uma nova forma de estimar autozigosidade nos cromossomos, o uso das distribuições e comprimento das ROH também pode ser uma ferramenta para investigar princípios e conhecimentos estabelecidos no passado no estudo da endogamia.

Este trabalho analisou as relações entre corridas de homozigose em SNPs ao longo do genoma e os níveis de endogamia, encontrando distribuições de ROH longos mais frequentes quando comparado com estudos anteriores na mesma raça e em outras raças de corte. Se levarmos em conta o perfil do rebanho analisado, confirma-se o potencial do estudo das ROH, por sua habilidade em explorar eventos históricos de endogamia, geralmente limitados pela falta de profundidade nos pedigrees. Além disso, as estimativas de F_{ROH} podem ser úteis no processo de melhoramento genético, por possibilitar a identificação dos indivíduos que se destacam da média em termos de autozigosidade, sendo esta uma informação valiosa no processo de seleção e determinação da intensidade de uso dos reprodutores e matrizes.

Os níveis de endogamia baseados em ROH mais longos, que se referem a gerações mais recentes, foram menores que os estimados por pedigree. Portanto, a conclusão inicial a que se pode chegar é que, apesar do perfil de população fechada, a condução do processo de seleção tem sido eficiente no controle da endogamia média da população. Este fato pode ser explicado pelo rebanho possuir um programa de melhoramento genético envolvendo teste de múltiplos touros jovens buscando utilizar touros de famílias diferentes com grupos pequenos de matrizes.

As observações preliminares deste estudo podem ser úteis para o delineamento de novas análises dentro de populações participantes de programas de melhoramento genético e submetidas a seleção intensa. Demonstram ainda a importância em se investigar as discrepâncias entre os níveis de endogamia por pedigree e por ROH em mais detalhe, identificando grupos ou indivíduos distintos geneticamente dentro das populações, informações que podem ser úteis para delineamento dos acasalamentos e tomada de decisão no processo de seleção.

Por fim, vale ressaltar que a comparação entre diferentes estudos de ROH não é precisa e deve ser realizada com muita cautela, pois as diferenças nos critérios adotados, principalmente comprimento de ROH, densidade do SNP chip e número de SNPs por ROH podem ter grande impacto nos valores encontrados.