

Identificação de CNVs associados com características reprodutivas e produtivas em animais Gir Leiteiro¹

Identification of CNVs associated to reproductive and productive traits in dairy Gyr animals

Adriana Santana do Carmo², Gerson A. de Oliveira Júnior³, Tatiana de Oliveira Seleguim Chud⁴, João Cláudio do Carmo Panetto⁵, Rui da Silva Verneque⁵, Marco Antônio Machado⁵, John Bruce Cole⁶ e Marcos Vinícius Gualberto Barbosa Da Silva⁵

¹Parte do pós doutorado da primeira autora, financiado pelo CNPq (Processo: 407246/2013-4)

²Pós doutoranda da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil. Bolsista CNPq PDI (Processo:150990/2014-6). E-mail: adrianasantanacarmo@gmail.com

³Aluno de doutorado em Melhoramento Animal e Biotecnologia – FZEA / USP, Pirassununga, SP, Brasil.

⁴Aluna de doutorado em Genética e Melhoramento Animal – Unesp / FCAV, Jaboticabal, SP, Brasil.

⁵Pesquisador - Embrapa Gado del Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil.

⁶Pesquisador - United States Department of Agriculture – USDA/ARS, Beltsville, MD, Estados Unidos.

Resumo: Levando em consideração que inúmeros trabalhos demonstraram o importante envolvimento de CNVs na expressão e no controle de diversas características em humanos, o presente estudo objetivou identificar CNVs associados com características reprodutivas e produtivas em animais Gir Leiteiro, bem como ampliar o entendimento sobre os genes associados à essas características. Os valores dos LogR (LRR) foram utilizados para identificação dos CNVs e um modelo genético aditivo por meio de uma regressão linear corrigido para os 10 primeiros componente principais foi aplicado para testar a associação dos mesmos com as características. Os resultados observados indicam que os CNVs identificados apresentam relação funcional direta com a produção de leite e que um mesmo CNV pode estar envolvido com a regulação de diversas características reprodutivas e produtivas de animais Gir Leiteiro.

Palavras-chave: gado de leite, genômica, produção, reprodução, variação no número de cópias

Abstract: Considering that numerous studies demonstrated the important role of CNVs in the expression and control of several humans traits, this study aimed to identify CNVs associated with reproductive and productive traits in Gyr animals and enlarge our understanding of the genes associated with these traits. LogR (LRR) were used for CNVs identification and a linear regression under an additive genetic model corrected by the first 10 principal components was applied to test association between CNV and these traits. The results indicated that the identified CNVs have direct functional relationship with milk production and the same CNV may be involved with the regulation of various reproductive and productive characteristics of Gyr animals.

Keywords: copy number variants, dairy cattle, genomics, production, reproduction

Introdução

Um dos principais objetivos das pesquisas aplicadas ao gado leiteiro é identificar as regiões do genoma envolvidas com a expressão das características reprodutivas e produtivas que poderiam ser utilizadas em programas de seleção. A identificação dessas regiões e a investigação dos mecanismos genéticos e moleculares que as regulam, permitiria aumentar a eficiência da seleção e as taxas de progresso genético.

Para tanto, na última década, foram realizados diversos estudos para identificação de locos de características quantitativas (QTL – quantitative trait loci), e de SNPs associados às características produtivas, por meio de Estudos de Associação Ampla do Genoma (GWAS – Genome Wide Association Study).

Entretanto, apenas pequeno número desses estudos foi capaz de identificar variantes causais de grande efeito sobre características de produção de leite, destacando-se os genes DGAT, ABCG, GRH, e mais recentemente, o gene AGPAT6.

Apesar do grande número de estudos, os QTLs e os SNPs identificados até o momento, explicam apenas pequena porção da variabilidade genética aditiva. Sendo assim, outras variantes estruturais poderiam ser exploradas na tentativa de explicar maior porção da variabilidade genética.

XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA ZOOTEC 2015



Dimensões Tecnológicas e Sociais da Zootecnia

Fortaleza - CE, 27 a 29 de maio de 2015



Um estudo realizado por Stranger et al., (2007) demonstrou que a variabilidade genética aditiva total é igual à soma das variâncias genéticas explicadas pelos SNPs e pelos CNVs. Segundo esses autores, os SNPs e CNVs explicam cerca de 18% e 82% da variância genética aditiva total, respectivamente.

Levando em consideração que inúmeros trabalhos demonstraram o importante envolvimento de CNVs na expressão e no controle de diversas características em humanos, o presente estudo objetivou identificar CNVs associados com características reprodutivas e produtivas em animais Gir Leiteiro, bem como ampliar o entendimento sobre os genes associados à essas características.

Material e Métodos

Um total de 475 touros foram genotipados utilizando o Illumina BovineHD Genotyping BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA). As PTAs (Predicted Transmitting Ability) para oito características de produtivas, incluindo a produção de leite (PL305), produção de gordura (PG305), produção de proteína (PP305) e produção de sólidos (PS305) avaliadas em até 305 dias, além de percentual de gordura (PG), percentual de proteína (PP), percentual de sólidos (PS) e idade ao primeiro parto (IPP), foram preditas pela Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, Brasil) com base nas lactações das vacas Gir presentes no Arquivo Zootécnico Nacional (2014). As PTAs foram desregressadas (dPTAs) como proposto por Garrick et al. (2009) e utilizadas como pseudo fenótipos nos testes de associação genômica.

Os valores dos LogR (LRR) de 737.027 sondas de SNP gerados na genotipagem foram utilizados para identificação dos CNVs. Para tal, foi utilizado o módulo de análise do número de cópia (CNAM), do programa Golden Helix SNP & Variation Suite (SVS) 8.3.0 (Golden Helix Inc., Bozeman, MT, EUA), sob a opção multivariada utilizando como parâmetros: máximo de 20 segmentos por janela (10.000 marcadores), mínimo de 5 marcadores por segmento, e nível de significância de $p = 0,001$ para as permutações pareadas ($n = 1.000$), como descrito por Xu et al. (2014).

Um total de 735.303 SNPs foram mapeados em 29 cromossomos autossômicos na montagem do genoma bovino UMD 3.1. Previamente à identificação dos CNVs, foi realizada a correção do efeito de ondulação (*wave effect*) dos LRR com base no teor de GC do genoma bovino, utilizando o arquivo do conteúdo de GC padrão (GC bos taurus_UMD3.1_gc_digest Referência. DSF) provido pelo programa.

Para testar a associação dos CNV com as características, foi aplicado um modelo genético aditivo por meio de uma regressão linear corrigidos para os 10 primeiros componente principais. Foram considerados como significativos, os CNVs que apresentaram valores de significância de FDR (*False Discovery Rate*) < 0,001.

Resultados e Discussão

Foram observados 155 CNVs associados significativamente com as oito características estudadas. Dentre eles, 26 CNVs únicos encontram-se associados com pelo menos 3 das características avaliadas. Os CNVs comuns entre as características avaliadas encontram-se localizados dentro dos 256 genes.

Dentre os genes associados com mais de três características, muitos foram relatados como significativamente associados com características de reprodutivas e produtivas em diversas raças bovinas. Dentre eles, destacam-se os genes: a) DIP2A, relatado por Jiang et al., (2010) como significativamente associados com produção total de proteínas do leite em animais da raça Holstein de diferentes origens; b) MAP4K3, relatado por Pérez O'Brien et al., (2014) como um gene sobreposto a assinatura de seleção diferenciais entre as raças Angus e Gir e Gir e Nelore, sendo um importante diferenciador das aptidões corte e leite e das sub-espécies *Bos Taurus Indicus* e *Bos Taurus Taurus*. c) ITGB6, relatado por Bonnefont et al., (2011) como um gene diferencialmente expresso em ovelhas susceptíveis à mastite ocasionada por *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*.

Conclusões

Os resultados observados indicam que os CNVs identificados apresentam relação funcional direta com a produção de leite e que um mesmo CNV pode estar envolvido com a regulação de diversas características reprodutivas e produtivas de animais Gir Leiteiro.

Literatura citada

Bonnefont, C.; Toufeer, M.; Caubet, C. et al. Transcriptomic analysis of milk somatic cells in mastitis resistant and susceptible sheep upon challenge with *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. BMC Genomics, v. 12, p.208, 2011.

**XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA
ZOOTEC 2015**



Dimensões Tecnológicas e Sociais da Zootecnia

Fortaleza - CE, 27 a 29 de maio de 2015



Garrick DJ, Taylor JF, Fernando RL: Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. *Genet Sel Evol.* v. 41, p. 55, 2009.

Jiang, L.; Liu, J.; Sun, D.; Ma, P. et al. Genome Wide Association Studies for Milk Production Traits in Chinese Holstein Population. *PLoS ONE* 5(10): e13661. doi:10.1371/journal.pone.0013666, 2010.

Pérez O'Brien, A. M.; Utsunomiya, Y. T.; Mészáros, G. et al. Assessing signatures of selection through variation in linkage disequilibrium between taurine and indicine cattle. *Genet Sel Evol.* Doi: 10.1186/1297-9686-46-19, 2014.

Stranger, B. E.; Forrest, M. S.; Dunning, M. et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science.* v. 315, p. 848-53, 2007.

Xu, L.; Hou, Y.; Bickhart, D. M. et al. A genome-wide survey reveals a deletion polymorphism associated with resistance to gastrointestinal nematodes in Angus cattle. *Funct Integr Genomics.* v. 14, p.333-339, 2014.