

XII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Ribeirão Preto, SP – 12 e 13 de junho de 2017

Desequilíbrio de ligação nos cromossomos 10 e 23 em populações Gir, F1 e F2 (Gir x Holandês)

Pamela Itajara Otto^{1*}, Wanessa de Araújo Carvalho², Marcos Vinicius G. Barbosa da Silva², João Cláudio do Carmo Panetto², Simone Eliza Facioni Guimarães¹, Marco Antonio Machado²

¹Laboratório de Biotecnologia Animal (LABTEC), Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil.

*Autor correspondente: ottopamela90@gmail.com

Resumo: O desequilíbrio de ligação (LD) refere-se à associação não aleatória de alelos em dois ou mais loci diferentes e possui grande importância em estudos de associação genômica ampla e seleção genômica. Desta forma, objetivou-se com este estudo estimar a estrutura de LD nos cromossomos 10 e 23 em populações bovinas da raça Gir, F1 e F2 (Gir x Holandês). As análises foram conduzidas utilizando genótipos obtidos com o Illumina BovineSNP50 BeadChip, sendo avaliados 28 animais Gir, 65 F1 e 384 F2, resultando em 40.283 SNPs mapeados. A correlação das frequências gênicas foi usada como uma medida de LD e foi calculada usando o software Haploview. O LD diminuiu em função da distância, sendo que os animais da raça Gir apresentaram os menores valores em quase todas as distâncias analisadas. As três populações apresentaram frequência de alelos SNP com correlação acima de 0,30. De acordo os valores de LD observado, o chip Illumina BovineSNP50 BeadChip foi eficaz para a realização de estudos de associação e seleção genômica nestas populações.

Palavras-chave: GWAS e seleção genômica.

Linkage disequilibrium on chromosomes 10 and 23 in Gyr, F1 and F2 (Gyr x Holstein) populations

Abstract: Linkage disequilibrium (LD) refers to nonrandom association between two or more alleles in different loci, having a great importance in Genome-Wide Association Studies and Genomic Selection. Thus, in this study we aimed to estimate the LD structure on chromosomes 10 and 23 in Gyr, F1 and F2 (Gyr X Holstein) cattle populations. Analyses were realized using genotypes obtained from Illumina BovineSNP50 v.1 BeadChip, with 28 animals Gyr, 65 F1 and 384 F2, resulting 40.283 mapped SNPs. Gene frequencies correlation was used as a measure of LD, calculated using Haploview software. LD decreased due to distance, since Gyr animals showed lower values in almost all distances analyzed. All three populations showed SNP allelic frequencies with correlations above 0.30. According to LD observed values, the Illumina BovineSNP50 v.1 BeadChip was powerful for Genome-Wide Association Studies and Genomic Selection in these populations.x

Keywords: genomic selection, GWAS.

Introdução

Ferramentas da genética molecular e da estatística têm possibilitado o estudo de características complexas, poligênicas, por meio do mapeamento de Loci de Características Quantitativas (QTL). Estudos de associação genômica ampla (GWAS) e seleção genômica (GS) dependem da força do desequilíbrio de ligação (LD) entre marcadores genéticos e QTLs de uma população. Os marcadores devem estar em LD suficiente com um QTL para permitir a estimação de seus efeitos em toda a população e entre gerações (Neves et al., 2015).

O LD refere-se à associação não aleatória de alelos em dois ou mais loci diferentes. Essa correlação decorre principalmente da proximidade física, mas também pode ser influenciada por vários processos evolutivos e por eventos populacionais históricos, resultando em diferenças entre população e, conseqüentemente, na eficácia de estudos genômicos (Pérez O'Brien et al., 2014). Tendo em vista a importância de estudos de LD e a escassa informação de LD em animais cruzados Gir x Holandês (Girolando), objetivou-se com este estudo estimar a estrutura de LD nos cromossomos 10 e 23 em populações da raça Gir, F1 e F2 (Gir x Holandês).

Material e Métodos

Os animais amostrados foram obtidos de populações geradas pela Embrapa Gado de Leite. As populações eram compostas de 28 animais da raça Gir, 65 F1 e 384 F2 (Gir x Holandês), que foram genotipados com o Illumina BovineSNP50 v.1 BeadChip (Illumina, San Diego, Califórnia, EUA). Após o controle de qualidade, selecionando-se apenas SNPs autossômicos, com call rate >0,90 e frequência do alelo menos frequente (MAF) >0,03, o arquivo de genótipos totalizou 40.283 marcadores SNP.

A correlação das frequências gênicas (r^2) (Hill e Robertson, 1968) foi usada como uma medida de desequilíbrio de ligação (LD), que é definida pela seguinte fórmula:

$$r^2 = D_{ij}^2 / p_1 p_2 q_1 q_2,$$

em que $D_{ij} = P_{ij} - p_i q_j$ é a medida de LD, P_{ij} é a frequência observada de o haplótipo que consiste nos alelos i e j , p_i é a frequência do alelo i , q_j é a frequência do alelo j , e $p_1 p_2 q_1 q_2$ é o produto das quatro frequências alélicas em ambos os loci.

O valor r^2 foi calculado usando o *software* Haploview v.4.2 para os cromossomos 10 e 23, que foram identificados em estudo de associação genômica ampla (resultados não publicados). A edição dos resultados do Haploview foram realizadas utilizando-se funções básicas do *software* R v.2.14.0 e gráficos foram construídos com base na média de LD em cada distância amostrada.

Resultados e Discussão

Foi observado uma diminuição do LD até 500 Kb para ambas populações, seguido de pequena variação nas demais distâncias (Figura 1). No cromossomo 10 (BTA 10), animais da raça Gir apresentaram maior LD nas distâncias mais curtas, apresentando declínio acentuado até os 350 Kb, onde seu LD passou a ser inferior ao das outras populações. Já no cromossomo 23 (BTA 23), o LD da raça Gir apresentou-se inferior ao LD dos animais F1 e F2 em todas as distâncias. Em ambos os cromossomos, os animais F2 apresentaram predominantemente estruturas de LD mais altas que as demais populações. Segundo Pérez O'Brien et al. (2014), avaliando o comportamento do LD até 10 Megabase em diversas raças, os autores observaram que o LD de animais da raça Gir era inferior ao de animais Holandeses ao longo de todas as distâncias analisadas e é predominantemente o menor entre as sete raças avaliadas.

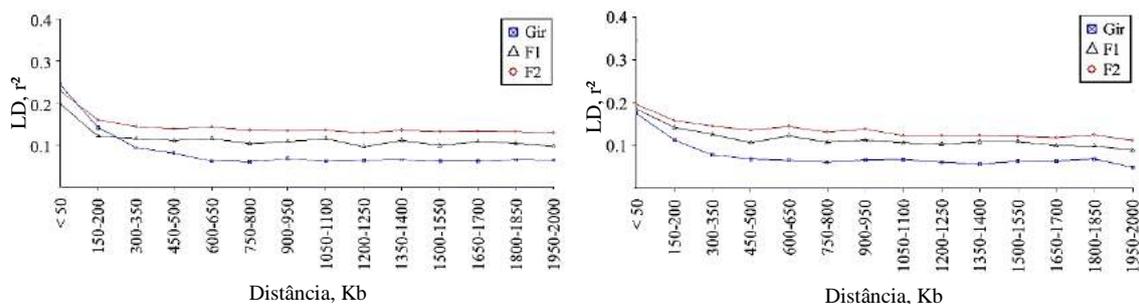
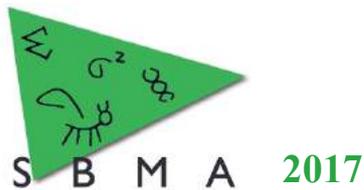


Figura 1. Distribuição da correlação das frequências gênicas (r^2) em função da distância entre marcadores nas populações de Gir, F1 e F2.

As estimativas médias de LD (r^2) nos BTA 10 e 23, foram 0,19 e 0,16 em animais Gir, 0,18 na F1 e 0,21 e 0,20 na F2, respectivamente. Diferentes resultados foram encontrados em populações de Hereford (0,21 e 0,16) e Braford (0,16 e 0,19), Gir (0,19 e 0,18), Angus (0,19), Charolês (0,15 e 0,13) e Cruzados (0,14 e 0,13), nos BTA 10 e 23, respectivamente (Biegelmeyer et al., 2016; Lu et al., 2012; Pérez O'Brien et al., 2014). Estes resultados estão de acordo com a literatura, pois demonstram que o padrão de LD varia conforme cada cromossomo e população avaliada.

A frequência (%) de alelos de SNPs com r^2 acima de 0,30 também apresentou queda em função do aumento das distâncias (Tabela 1). Entre as três populações avaliadas, a F2 apresentou as maiores taxas em todas as distâncias analisadas, enquanto que animais Gir predominantemente apresentaram menores frequências nos cromossomos 10 e 23. Em contrapartida, em estudo realizado por Lu et al. (2012), animais mestiços apresentaram menores frequências de alelos SNPs com r^2 maior que 0,30 quando comparado a



XII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Ribeirão Preto, SP – 12 e 13 de junho de 2017

animais puros Angus e Charolês. Estes autores encontraram uma diminuição mais acentuada desta frequência e em uma distância menor (1.000 Kb), quando comparado aos resultados do presente trabalho. O LD estimado diminui rapidamente com o aumento da distância entre os SNPs, no entanto, estes resultados mostram ligações úteis para estudos de GWAS e GS.

Tabela 1. Frequência (%) de alelos SNP com $r^2 > 0,30$ em animais Gir, F1 e F2

Distância (Mb)	Cromossomo 10			Cromossomo 23		
	Gir	F1	F2	Gir	F1	F2
< 50	26.90	22.44	27.50	19.93	19.95	23.05
150 – 200	13.07	10.00	18.77	11.14	14.99	18.30
300 – 350	8.47	9.36	15.47	5.82	10.88	15.04
450 – 500	5.61	9.29	14.41	3.35	8.21	13.21
600 – 650	2.11	10.43	15.23	3.28	10.94	15.23
750 – 800	3.60	8.33	13.91	2.25	8.20	13.03
900 – 950	4.69	8.89	14.05	2.74	8.63	14.39
1.050 – 1.100	3.34	10.64	14.12	2.32	8.86	10.75
1.200 – 1.250	4.13	5.90	12.96	3.15	8.43	12.12
1.350 – 1.400	4.19	9.21	13.96	2.52	8.73	11.04
1.500 – 1.550	2.77	8.02	14.30	2.95	9.49	10.56
1.650 – 1.700	4.17	8.50	13.40	3.49	7.29	10.40
1.800 – 1.850	3.63	8.56	13.39	2.28	7.51	12.24
1.950 – 2.000	3.19	7.49	13.30	1.22	6.16	9.71

Conclusão

O estudo de desequilíbrio de ligação nos cromossomos 10 e 23, aplicado em populações bovinas da raça Gir, F1 e F2 (Gir x Holandês), demonstrou, de acordo com os valores de LD observados, que o chip BovineSNP50 v.1 BeadChip é eficaz para a realização de estudos de associação genômica ampla e seleção genômica nestas populações. Divergências no LD entre as gerações foram observadas em ambos os cromossomos estudados e contribuem para a compreensão da estrutura de LD das populações avaliadas.

Agradecimentos

À Embrapa, FAPEMIG, CAPES, CNPq e INCT-CA.

Literatura citada

- BIEGELMEYER, P. GULIAS-GOMES, C.C.; CAETANO, A.R.; STEIBEL, J.P.; CARDOSO, F.F. Linkage disequilibrium, persistence of phase and effective population size estimates in Hereford and Braford cattle. **BMC genetics**, v. 17, n. 1, p. 32, 2016.
- HILL, W. G., AND A. ROBERTSON. Linkage disequilibrium in finite populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v.38, p.226–231, 1968.
- LU, D.; SARGOLZAEI, M.; KELLY, M.; LI, C.; VOORT, G.V.; WANG, Z.; PLASTOW, G.; MOORE, S.; MILLER, S.P. Linkage disequilibrium in Angus, Charolais, and Crossbred beef cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 3, n. AUG, p. 1–10, 2012.
- NEVES, H.H.R.; DESIDÉRIO, J.A.; PIMENTEL, E.C.G.; SCALEZ, D.C.B.; QUEIROZ, S.A. Preliminary study to determine extent of linkage disequilibrium and estimates of autozygosity in Brazilian Gyr dairy cattle. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 246, p. 99–108, 2015.
- PÉREZ O'BRIEN, A.M.; MÉSZÁROS, G.; UTSUNOMIYA, Y.T.; SONSTEGARD, T.S.; GARCIA, J.F.; VAN TASSELL, C.P.; CARVALHEIRO, R.; DA SILVA, M.V.B.; SOLKNER, J. Linkage disequilibrium levels in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using medium and high density SNP chip data and different minor allele frequency distributions. **Livestock Science**, v. 166, n. 1, p. 121–132, 2014.