

Estudo de associação global do genoma revela novos genes e regiões genômicas associadas à conversão alimentar em frangos de corte

Jorge Augusto Petroli Marchesi^{1,2}, Rafael Keith Ono³, Adriana Mércia Guaratini Ibelli³, Marcos Eli Buzanskas⁴, Maurício Egídio Cantão³, Jane de Oliveira Peixoto³, Danísio Prado Munari², Luiz Lehmann Coutinho⁵, Mônica Corrêa Ledur^{3*}

¹Endereço atual: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

²Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, Brasil.

³Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil.

⁴Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias - Campus II, Areia, PB, Brasil.

⁵Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, Brasil.

*Autor correspondente: monica.ledur@embrapa.br

Resumo: Nos últimos anos, diversos foram os esforços para identificar a base genética de características de eficiência alimentar em frangos, tendo como resultado a descoberta de diversas regiões gênicas que controlam estas características. No entanto, devido à natureza complexa e poligênica de características como a conversão alimentar (CA), muitas regiões de menor efeito ainda não puderam ser identificadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar novas regiões e genes candidatos associados à CA em frangos de corte. Para isso, foram utilizadas 1.433 aves provenientes da expansão de uma linha paterna genotipadas com o painel 600 K Affymetrix® Axiom® HD. A análise de associação global do genoma foi realizada utilizando o programa Qxpack 5.0 com dois modelos, um testando o efeito aditivo e outro considerando os efeitos aditivo+dominância dos SNPs. Neste trabalho, 26 regiões genômicas foram associadas com a característica de CA considerando-se os dois modelos, sendo 25 regiões associadas sugestivamente ($P = 5 \times 10^{-5}$), e apenas uma associada significativamente ($P = 2 \times 10^{-6}$) utilizando o modelo aditivo+dominância. Nestas regiões associadas foram identificados 16 genes candidatos envolvidos na regulação da CA em frangos, dos quais muitos atuam em processos biológicos relacionados ao hipotálamo. Por fim, neste trabalho foi possível identificar regiões genômicas ainda não descritas para a característica em estudo, assim como novos genes candidatos até então não relacionados com a CA.

Palavras-chave: Eficiência Alimentar, *Gallus gallus*, GWAS, QTL.

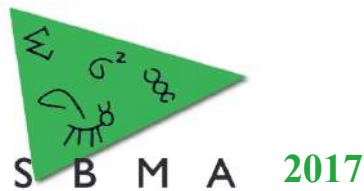
Genome-wide association study reveals new genes and genomic regions associated with feed conversion in broilers

Abstract: In the last years, several efforts have been made to identify the genetic basis of feed efficiency traits in broilers, resulting in the discovery of genomic regions that control these traits. However, due to the complex and polygenic nature of traits such as feed conversion (FC), many regions of small effect have not yet been identified. Thus, the aim of this study was identify new regions and candidate genes associated with FC in broilers. For this purpose, 1,433 chickens from the expansion of a paternal broiler line were genotyped with the Affymetrix® Axiom® HD 600 K array. The genome-wide association study was performed using the Qxpack 5.0 software with two models, one considering the additive effect and the other testing the additive+dominance effects of the SNPs. In this study, 26 genomic regions were associated with the FC trait considering both models, being 25 regions associated suggestively ($P = 5 \times 10^{-5}$), and one associated significantly ($P = 2 \times 10^{-6}$) using the additive+dominance model. In these associated regions, 16 candidate genes were identified as being involved in the regulation of FC in broilers, and having a role in biological processes related to the hypothalamus. Finally, in this study it was possible to identify genomic regions not previously described for FC, as well as new candidate genes involved in the genetic control of this trait.

Keywords: Feed efficiency, *Gallus gallus*, GWAS, QTL.

Introdução

Os ganhos obtidos na produção de frangos de corte desde a década de 50 superam os de qualquer outra espécie de interesse zootécnico, visto que apenas nos últimos 30 anos, o peso vivo destes animais



aumentou anualmente em 30,2 g ao mesmo tempo em que a taxa de conversão alimentar reduziu por volta de 0,036%. Características de consumo e eficiência alimentar são consideradas de grande importância econômica para a indústria avícola, uma vez que os insumos para a formulação da ração são responsáveis por aproximadamente 70% do custo total da produção. Assim, diversos estudos com marcadores moleculares como microssatélites e abordagens de polimorfismos em genes candidatos foram realizados com o intuito de entender a arquitetura genética que controla estes fenótipos, conseguindo assim identificar diversos *loci* de características quantitativas (QTL, do inglês *Quantitative Trait Loci*) de maior efeito em frangos de corte nos últimos anos (HAVENSTEIN, 2006).

Com o surgimento e a disponibilidade de painéis de genotipagem de alta densidade para galinhas, foi possível realizar varreduras de todo o genoma com uma maior resolução e assim identificar regiões de QTL de menor efeito. Estes estudos de associação global do genoma (GWAS, do inglês *Genome-Wide Association Study*) em frangos revelaram regiões associadas a características de produção, comportamentais e morfológicas (LI et al., 2016; YUAN et al., 2015). Contudo, muitos QTL ainda não foram identificados, uma vez que o sucesso do GWAS depende da estrutura populacional, da variabilidade dos marcadores e da metodologia empregada. Poucos foram os estudos de GWAS conduzidos em frangos de corte com características complexas como a conversão alimentar (CA) (YUAN et al., 2015). Desta maneira, o objetivo deste estudo foi identificar regiões genômicas que estejam associadas com a característica de conversão alimentar em uma linha paterna de frangos de corte.

Material e Métodos

Para este estudo foram utilizadas 1.433 aves da População Referência TT, provenientes da expansão de uma linha paterna de frangos de corte (TT), desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves para estudos genômicos. A taxa de CA das aves foi obtida por meio da razão entre consumo de ração e ganho de peso, medidos dos 35 aos 41 dias de idade em gaiolas individuais.

As aves foram genotipadas com o painel de alta densidade 600 K Affymetrix® Axiom® HD (Affymetrix, Santa Clara, CA, EUA). O controle de qualidade foi realizado com o programa PLINK v.1.9 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>), sendo excluídos SNPs com taxa de leitura <98%, significativo desvio ($P < 10^{-6}$) do equilíbrio de Hardy-Weinberg e frequência do menor alelo <2%. Amostras que apresentaram taxa de leitura <90% também foram excluídas. A análise de GWAS foi realizada com o programa Qxpack 5.0 (PÉREZ-ENCISO & MISZTAL, 2011) considerando-se dois modelos mistos, um para a captura do efeito aditivo e outro dos efeitos aditivo+dominância dos SNPs. Os dois modelos incluíram os efeitos fixos de sexo, incubação, SNPs e o peso aos 35 dias utilizado como covariável, além dos efeitos aleatórios infinitesimal e do resíduo. Foram considerados dois limiares de significância com base no critério de Bonferroni utilizando o número de testes independentes (24.959): um conservador (5%, valor de $P = 2 \times 10^{-6}$) e um sugestivo (10%, valor de $P = 5 \times 10^{-5}$).

Consideraram-se como SNPs representantes de cada região gênica detectada, os marcadores mais significativos de cada pico com desequilíbrio de ligação (LD) $r^2 > 0,30$ com os demais marcadores dentro de uma janela de 300 Kb. Após a definição das regiões gênicas, utilizou-se a ferramenta *Variant Effect Predictor* (<http://www.ensembl.org/Multi/Tools/VEP>) para identificar os genes candidatos próximos a estas regiões.

Resultados e Discussão

Após o controle de qualidade, 375.776 SNPs e 1.408 animais permaneceram para estudos de GWAS. Foram identificadas 12 regiões gênicas associadas sugestivamente com a CA com o modelo aditivo e 17 com o modelo aditivo+dominância (Figura 1), sendo 25 regiões associadas sugestivamente ($P = 5 \times 10^{-5}$), e apenas uma associada significativamente ($P = 2 \times 10^{-6}$). Quatro regiões identificadas, nos cromossomos *GGA1*, *GGA2*, *GGA3* e *GGA5*, foram detectadas pelos dois modelos. O grande número de regiões identificadas com os diferentes modelos enfatiza a natureza poligênica da CA e a complexidade das relações gênicas na expressão desta característica.

De acordo com as informações depositadas no *ChickenQTL database* (março de 2017), das 26 regiões gênicas identificadas no presente trabalho, apenas 3 picos identificados no cromossomo *GGA1* (nas posições 1:36.227.573, 1:36.643.548 e 1:37.966.694, entre 98 e 128 cM) estão localizados em regiões de QTL previamente descritas como associadas à CA (DE KONING et al., 2004). Ainda, próximo

a esta região do cromossomo *GGA1* (entre 125 e 139 cM), Nones et al. (2006) identificaram um QTL sugestivo associado à CA em uma população F_2 gerada a partir do cruzamento da linhagem do presente estudo com uma linhagem de postura.

Dos 16 genes candidatos identificados nas regiões associadas com a CA, devido a sua importância funcional, destaca-se o *TRHDE* (*Thyrotropin Releasing Hormone Degrading Enzyme*) localizado no cromossomo *GGA1*. Este gene codifica uma peptidase extracelular que cliva e inativa especificamente o hormônio liberador de tireotrofina, o qual é responsável por estimular a hipófise. Sabe-se que em mamíferos, síndromes clínicas hipofisárias são responsáveis por sintomas como a perda de peso e do apetite, evidenciando a possível atuação deste gene na fisiologia da característica de CA.

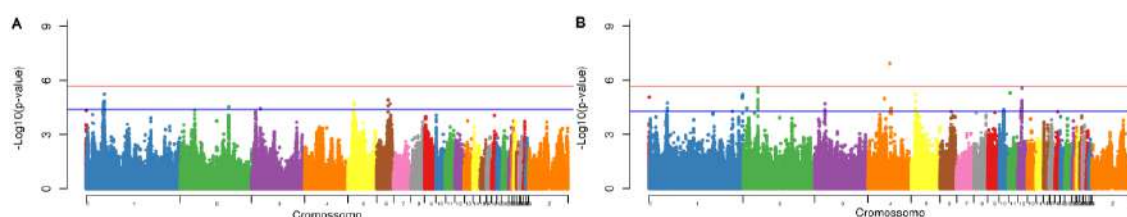


Figura 1. Gráficos Manhattan da característica de conversão alimentar utilizando o modelo aditivo (A) e aditivo+dominância (B). A linha vermelha representa o nível de significância a 5% ($P = 2 \times 10^{-6}$), e a linha azul o nível de significância sugestiva a 10% ($P = 5 \times 10^{-5}$).

Conclusão

Neste trabalho foram identificadas várias regiões associadas com a característica CA evidenciando sua natureza poligênica. Ainda, foi possível identificar novas regiões de QTL associadas com esta característica, assim como importantes genes candidatos como o gene *TRHDE* que podem diretamente atuar em processos biológicos que controlam a conversão alimentar em frangos.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa (projeto número 01.11.07.002.04.02) e pelo projeto temático (2014/08704-0) da Fundação de apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). J. A. P. Marchesi foi bolsista CAPES-EMBRAPA.

Literatura citada

- DE KONING, D. J.; HALEY, C. S.; WINDSOR, D.; HOCKING, P. M.; GRIFFIN, H.; MORRIS, A.; VINCENT, J.; BURT, D. W. Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. **Genetical Research**, v. 83, n.3, p. 211-220, 2004.
- HAVENSTEIN, G. B. Performance changes in poultry and livestock following 50 years of genetic selection. **Lohmann Information**, v. 41, p. 30-37, 2006.
- LI, Z.; ZHENG, M.; ABDALLA, B. A.; ZHANG, Z.; XU, Z.; et al. Genome-wide association study of aggressive behaviour in chicken. **Scientific Reports**, v. 6, n. 8, 2016.
- NONES, K.; LEDUR, M. C.; RUY, D. C.; BARON, E. E.; MELO, C. M. R.; MOURA, A. S. A. M. T.; ZANELLA, E. L.; BURT, D. W.; COUTINHO, L. L. Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. **Animal Genetics**, v. 37, p. 95-100, 2006.
- PÉREZ-ENCISO, M.; MISZTAL, I. Qxpak.5: old mixed model solutions for new genomics problems. **BMC Bioinformatics**, v. 12, n. 1, 2011.
- YUAN, J.; WANG, K.; YI, G.; MA, M.; DOU, T.; SUN, C.; QU, L. J.; SHEN, M.; QU, L.; YANG, N. Genome-wide association studies for feed intake and efficiency in two laying periods of chickens. **Genetics Selection Evolution**, v. 47, n. 82, 2015.