

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Cobertura genômica de painel de alta densidade para bovinos da raça Guzerá¹

Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto³, Daniel Jordan de Abreu Santos², Rusbel Raul Aspilcueta Borquis², Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva³, Maria Raquel Santos Carvalho⁴, Humberto Tonhati⁵

¹ Trabalho financiado pela Fapesp, Fapemig e CNPq

² Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal – FCAV/Unesp, Jaboticabal

³ Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. e-mail: gabriela.peixoto@embrapa.br

⁴ Instituto de Ciências Biológicas – UFMG, Belo Horizonte

⁵ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – UNESP, Jaboticabal

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho do *Chip* HD da Illumina® quanto à cobertura dos marcadores SNP no genoma de bovinos da raça Guzerá. Para isso foi utilizada a análise de densidade de Kernel, que consisti em descrever a cobertura de SNP ao longo do genoma bovino. Grande parte dos cromossomos mostraram regiões com boa cobertura por parte dos marcadores disponíveis neste *chip*. Isto possibilitaria bons resultados em estudos de associação e busca de genes dentro destes cromossomos.

Palavras-chave: zebu, SNP, genoma, seleção genômica

Genomic coverage of a high density panel for bovines of the Guzerá breed

Abstract: The aim of this study was to evaluate the performance of the Illumina® Chip HD on the coverage of SNP in the genome of Guzerá breed. For this analysis, the Kernel density was used. This procedure consists in describing the coverage of SNP along the bovine genome. Much of the chromosomes showed regions with good coverage by the SNP markers in this chip. This would provide good results in association studies as well as in the search for genes located in these chromosomes.

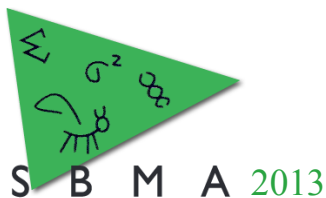
Keywords: zebu, SNP, genome, genomic selection

Introdução

Os marcadores moleculares do tipo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) têm sido amplamente utilizados em estudos genômicos (ZHANG et al., 2012). Para os estudos baseados nestas informações, visando ao monitoramento da diversidade/estrutura de população, à prospecção de genes e de regiões do genoma relacionados com a expressão de uma determinada característica e à seleção genômica, faz-se necessário que os marcadores utilizados no estudo possibilitem adequada cobertura física das diferentes regiões do genoma. Os Chips disponíveis no mercado contemplam pouca informação sobre SNP do genoma de zebuínos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho do *Chip* HD da Illumina® quanto à cobertura dos marcadores SNP no genoma de bovinos da raça Guzerá.

Material e Métodos

Um total de 25 touros provados pelo Programa Nacional de Melhoramento do Guzerá para Leite foi utilizado neste estudo (Peixoto et al., 2013). Estes touros representam as principais linhagens leiteiras existentes na raça. Para genotipagem dos SNPs foi utilizado o *High Density Bovine SNP BeadChip* do Illumina Infinium HD Assay®. Este *chip* contém mais de 770 mil marcadores espaçados a uma distância média de 3,43 kb. Os marcadores utilizados cobrem os cromossomos autossômicos e X. Para definição dos SNPs e das amostras, foram adotados os critérios: $GC_{10} > 0,30$ (percentil 10 da distribuição do *Gencall*), $call\ rate > 0,90$ (para amostra e SNP), $MAF > 0,05$ e $het\ excess > -0,7$ e $het\ excess < 0,7$. Após edição, permaneceram os 25 touros, 448.316 marcadores autossômicos e 22.112, para o cromossomo X. A cobertura do *chip* foi avaliada pelo estimador de densidade de Kernel, que consiste em descrever a concentração de SNPs ao longo do genoma. Sendo $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n \sim f$ amostras com distribuição independente e igualmente distribuídas de uma variável aleatória X, em que x_i é o local de observação, em bp (pares de base), do i-ésimo marcador de SNP, descrito por:



$$\hat{f}_h(x) = \frac{1}{nh} \sum_{i=1}^n K\left(\frac{x-x_i}{h}\right) \quad K\left(\frac{x-x_i}{h}\right) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-x_i)^2}{2h^2}}$$

em que $h > 0$ é o parâmetro de suavização, chamado de largura de banda (BW), e $K(x-x_i/h)$ são alguns núcleos de distribuição Gaussiana com média zero e variância 1, como descrito acima. Acima, h é um parâmetro livre, e tem uma forte influência nos resultados das estimativas de densidade de Kernel (gráficos). Para o presente estudo foi considerado $BW=0,05$. Como o chip de alta densidade cobre uma área com espaçamento de aproximadamente 4 Kb (3,4 Kb), foi testado $BW=0,004$, não sendo observada diferença em relação ao $BW=0,05$.

Resultados e Discussão

Os gráficos de densidade de Kernel mostraram padrões similares, com $BW=0,05$ e valores menores, e tendeu a apresentar gráficos mais planos quando $BW > 0,1$ (não mostrado). A adequação do $BW=0,05$ também foi observada por Michelizzi et al. (2011), porém, trabalhando com *Illumina Bovine50SNP BeadChip* em búfalos. Segundo os autores, a largura das bandas dos núcleos de densidade deveria ser aproximadamente a distância média dos SNPs, o que justificaria a utilização de $BW=0,05$ (intervalo entre marcadores de aproximadamente 50 Kb). Como o espaçamento entre marcadores no *Illumina Bovine770SNP BeadChip* é de aproximadamente 4 Kb (Illumina, 2010), e após depuração o espaçamento é de aproximadamente 6 Kb, foi testado $BW=0,004$ não sendo observado diferenças marcantes em relação a 0,05. Na figura 1, encontram-se os gráficos da análise de densidade de Kernel. Quanto maior a densidade maior será a cobertura por marcadores para determinada área do cromossomo. Foi definida como região rica em SNP aquela que apresenta dois desvios padrão acima da média, bem como região pobre aquela que se apresenta abaixo de dois desvios da média. Quanto mais baixo o ponto de uma região pobre se aproxima de zero, indica que não existe cobertura para esta, pelos SNPs selecionados. Como esperado, maior parte das regiões ficaram a dois desvios de densidade da média do cromossomo. Os BTA8, BTA16 e BTA24 quase não apresentaram regiões ricas em SNP, apresentando inclusive algumas regiões pobres. Os BTA4 e BTA25 apresentaram maior densidade na porção final e inicial, respectivamente. Os BTA7, BTA10, BTA13, BTA17, BTA 23, BTA 29 e X apresentaram maior dinâmica em relação à variação entre regiões ricas e pobres em SNP. O cromossomo X apresentou uma região entre 40 a 80 megabase, com uma possível ausência de cobertura. Grande parte dos cromossomos mostraram regiões ricas nas porções iniciais, intermediária e final de sua extensão indicando boa cobertura por parte dos marcadores para suas regiões. Isto indica que resultados adequados poderiam ser obtidos em estudos de associação e busca de genes dentro destes cromossomos.

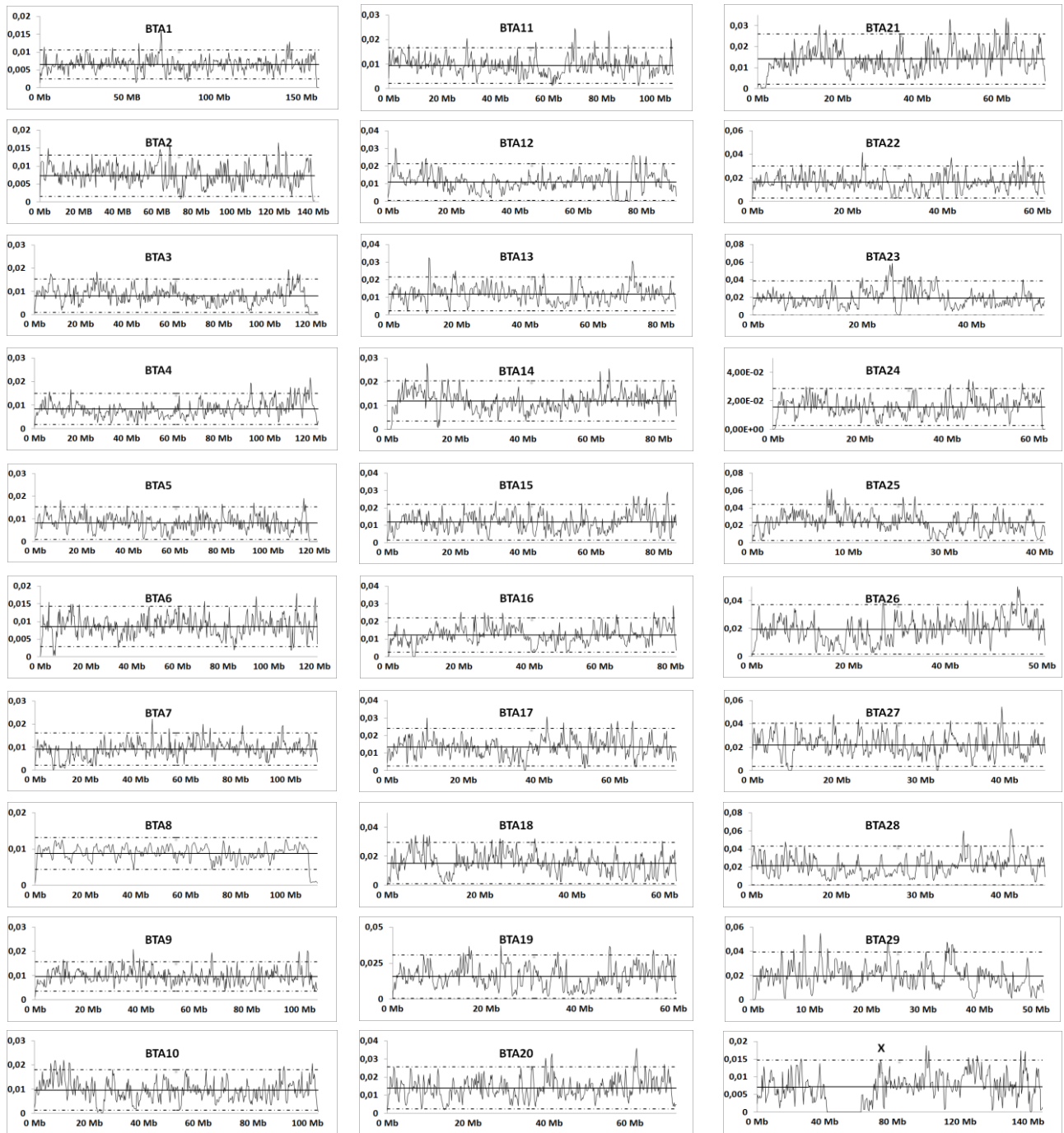
Conclusões

Os resultados sugeriram uma cobertura variada de acordo com o cromossomo abordado, bem como para grandes regiões dentro de alguns cromossomos. Entretanto, grande parte dos cromossomos mostraram regiões ricas nas porções iniciais, intermediária e final de sua extensão indicando boa cobertura por parte dos marcadores do *chip* para suas regiões do genoma de bovinos da raça guzerá. Isto possibilitaria resultados adequados em estudos de associação e busca de genes dentro destes cromossomos.

Literatura citada

- MICHELIZZI, V.N., WU, X., DODSON, M.D., MICHAL, J.J., ZAMBRANO-VARON, J., MCLEAN, D.J., JIANG, Z. A Global View of 54,001 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) on the Illumina BovineSNP50 BeadChip and Their Transferability to Water Buffalo. *Int. J. Biol. Sci.* v.7, p.18-27, 2011.
- ILLUMINA. BovineHD Genotyping BeadChip. *Technology Spotlight*, 2010.
- ZHANG, H., WANG, Z., WANG, S., LI, H. Progress of genome wide association study in domesticated animals. *J. Anim. Sci. Biotech.* 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/2049-1891-3-26.pdf>> Acessado em: 24 de junho de 2013.

PEIXOTO, M.G.C.D., SANTOS, G.G., BRUNELI, F.A.T et al. Programa Nacional de Melhoramento do Guzerá para Leite: resultados do Teste de Progênie, do Programa de Melhoramento Genético de Zebuínos da ABCZ e do núcleo MOET. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2013.



— Média do cromossomo - - - 2 desvios padrão da média do cromossomo.

Figura 7. Densidade de Kernel dos SNPs no Illumina Bovine SNP770 BeadChip para cada cromossomo.