

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Estudo de associações genômicas para idade ao primeiro e segundo parto em bovinos da raça Canchim¹

Marcos E. Buzanskas², Ricardo V. Ventura³, Luciana C. A. Regitano⁴, Flavio S. Schenkel³, Maurício M. Alencar⁴, Danísio P. Munari²

¹ Parte da tese de doutorado do primeiro autor, UNESP/Jaboticabal, Bolsista CNPq (processo: 142053/2010-4) e PDSE-CAPES (processo: 5285-11-9).

² Universidade Estadual Paulista, Departamento de Ciências Exatas, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, CEP: 14884-900, Jaboticabal/SP. e-mail: marcosbuz@yahoo.com.br, danisio@fcav.unesp.br

³ University of Guelph, Guelph, ON, Canada. e-mail: rventura@uoguelph.ca, schenkel@uoguelph.ca

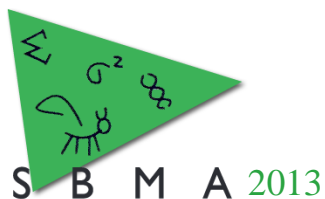
⁴ Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos/SP. e-mail: luciana.regitano@embrapa.br, mauricio.alencar@embrapa.br

Resumo: Recentemente, programas de melhoramento genético de bovinos de corte têm dado maior ênfase para características reprodutivas de fêmeas devido à sua importância econômica para o sistema de produção. O objetivo deste trabalho foi estudar a associação entre polimorfismos de base única (SNP) com os valores genéticos das características idade ao primeiro (IPP) e segundo (ISP) parto em bovinos de corte de raça sintética. Neste estudo foram utilizados 285 animais da raça Canchim e 114 animais do grupo genético MA (utilizados na formação da raça Canchim), genotipados com o painel de alta densidade (786.799 SNPs). Após o controle de qualidade de informações (genótipos e fenótipos) restaram 672.778 SNPs e 392 animais. Foram observadas associações para IPP nos cromossomos 4 e 27, e para ISP nos cromossomos 10, 11 e 15. Após a correção para múltiplos testes (“false discovery rate”) ao nível de 10%, seis e quatro SNPs foram significativamente associados, ao longo do cromossomo, com IPP e ISP. Novos e promissores genes associados com características reprodutivas foram identificados, como os genes SLC8A1 e UBQLN3. Com base nas análises de associação entre SNPs e as características estudadas, verificou-se que os SNPs observados como significativos poderiam ser utilizados na seleção genômica da raça Canchim. As regiões polimórficas identificadas apresentaram funções moleculares e processos biológicos que podem estar envolvidos na manutenção do organismo e no desempenho reprodutivo. Os genes associados à IPP e ISP poderiam ser utilizados como genes candidatos para a melhoria do desempenho de fêmeas e, indiretamente, de machos. A validação destes resultados em outra população de bovinos Canchim deve ser conduzida futuramente para confirmação das associações genômicas.

Palavras-chave: bovinos de corte, melhoramento genético, seleção genômica

Genome wide association study for age at first and second calving in Canchim breed

Abstract: Recently, genetic improvement of beef cattle has given greater emphasis on reproduction traits of females due to their economic importance to the production system. The aim of this study was to investigate the genome wide association between single nucleotide polymorphisms (SNP) with the breeding values of age at first (AFC) and second (ASC) calving in a synthetic breed. In this study, 285 Canchim animals and 114 MA genetic group animals (used to produce Canchim breed) were genotyped with the high-throughput SNP panel (786 799 SNPs). After the quality control of information (genotypes and phenotypes) 672,778 SNPs and 392 animals remained in the dataset. Associations were observed for AFC on chromosomes 4 and 27, and for ASC on chromosomes 10, 11, and 15. After correction for multiple testing (“false discovery rate”) at 10%, a total of six and four SNPs were significantly associated chromosome-wide with AFC and ASC. Promising new candidate genes associated with reproduction traits were identified, highlighting the SLC8A1 and UBQLN3 genes. Based on genome wide association, it was found that the SNPs observed as significant could be used in genomic selection in Canchim breed. The polymorphic regions identified exhibited biological processes and molecular functions that may be involved in body maintenance and reproductive performance. Genes associated with AFC and ASC could be used as candidate genes for improving the performance of females and, indirectly, in males. The validation of these results in another Canchim population should be conducted in the future to confirm these genomic associations.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Keywords: animal breeding, beef cattle, genomic selection

Introdução

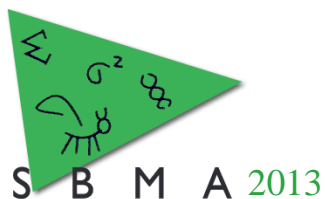
Programas de melhoramento genético no Brasil têm dado maior ênfase no estudo e seleção de características reprodutivas devido à sua importância econômica. Em geral, características reprodutivas de fêmeas são de difícil mensuração e, em alguns casos, altamente influenciadas pelos componentes ambientais. Segundo Martin et al. (1992), o desempenho reprodutivo das novilhas dependerá da idade em que essas fêmeas irão parir pela primeira vez e estas, parindo mais cedo, têm maior vida produtiva do que as fêmeas mais tardias. A resposta à seleção para estas características seria lenta devido às estimativas de herdabilidade de baixas magnitudes (BUZANSKAS et al., 2010). Neste aspecto, programas de seleção que utilizem informações e ferramentas em genética molecular poderiam alcançar maiores ganhos. Estudos de associações genômicas de fenótipos reprodutivos com polimorfismos de base única (SNP) seriam uma interessante alternativa para identificação de genes candidatos ou polimorfismos candidatos (SAHANA et al., 2010). Recentemente, Fortes et al. (2012) observaram associações genômicas para idade à puberdade em machos e fêmeas da raça Brahman. Estes autores observaram que SNPs localizados nos cromossomos 14 e X, próximos a genes que não possuíam descrições prévias de associações com tais características, poderiam ser explorados como genes (ou polimorfismos) candidatos e poderiam auxiliar o processo de seleção de animais Brahman. O objetivo deste trabalho foi associar os valores genéticos para as características de perímetro escrotal ao desmame e ao sobreano e idade ao primeiro e segundo parto com os polimorfismos presentes no genoma de animais da raça Canchim e do grupo genético MA, genotipados com o painel de alta densidade.

Material e Métodos

Os valores genéticos para as características idade ao primeiro (IPP) e ao segundo (ISP) parto foram cedidos pelo Programa Embrapa de Melhoramento de Gado de Corte e utilizados para o estudo de associação genômica. Animais genotipados, por meio do painel de alta densidade (BovineHD - Illumina® bead chip - 786.799 SNPs), incluíram 194 machos e 205 fêmeas, sendo 285 animais da raça Canchim e 114 animais do grupo genético MA. Para o controle de qualidade dos genótipos foram excluídos SNPs com escore de leitura inferior a 0,15; SNPs com desvios significativos ($P < 0,00001$) do equilíbrio de Hardy-Weinberg; SNPs com excesso de heterozigose ($> 15\%$); SNPs com frequência alélica inferiores a 5%; e taxa de leitura para SNPs e animais inferiores a 85%. Apenas os cromossomos autossômicos e SNPs com posição conhecida foram utilizados para análises de associação. Após o controle de qualidade, 392 registros de animais permaneceram no arquivo de dados. A análise de associação foi realizada utilizando-se o método “Generalized Quasi-Likelihood Score” (GQLS), desenvolvido por Feng et al. (2011) e implementado ao programa SLEUTH pelo Dr. Mehdi Sargolzaei (University of Guelph, Canada). O método GQLS utiliza o modelo de regressão logística para associar os fenótipos de uma característica (tratados como co-variável) aos genótipos (tratados como variável resposta). Foi utilizada a correção para múltiplos testes (“false discovery rate”) ao nível de significância de 10%. Após a análise de associação genômica foi verificada a localização dos SNPs significativos no genoma. Caso o SNP estivesse em região intergênica, verificou-se a presença de genes no intervalo de 250 kb (quilo base). Verificaram-se então as funções biológicas e processos moleculares destes genes por meio de pesquisa nos bancos de dados genômicos “National Center for Biotechnology Information” (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) e Ensembl Genome Browser (<http://www.ensembl.org/index.html>).

Resultados e Discussão

Após o controle de qualidade restaram 672.778 SNPs para a análise de associação. Destes, apenas seis e quatro SNPs foram significativamente associados ($P < 0,00001$) a IPP e ISP, respectivamente. Dos seis SNPs associados à IPP, dois estão localizados no cromossomo 4 (rs133411648 e rs110606254) e quatro no cromossomo 27 (rs134390082, rs137553882, rs133519327 e rs135481346). Para ISP observou-se um SNP localizado no cromossomo 10 (rs134100268), dois SNPs no cromossomo 11 (rs43661848 e rs136610615) e um SNP no cromossomo 15 (rs43031470).



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

O SNP rs133411648 está localizado na região promotora do snRNA (“small nuclear ribonucleoprotein”) U1. Este snRNA participa do processo biológico de montagem do spliceossoma, cuja principal função é a agregação, organização e ligação de um ou mais snRNAs em múltiplos componentes proteicos para formar um complexo de ribonucleoproteínas. O spliceossoma têm como uma das principais funções a retirada de íntrons de um segmento de pré RNA mensageiro. A função molecular deste gene é a de ligação dos íons de zinco e do RNA de fita simples. O SNP rs110606254 está localizado no íntron do gene EXOC4 (*exocyst complex component 4*) e participa do processo biológico de transporte de proteínas e exocitose. Os quatro demais SNPs associados a IPP encontram-se em região intergênica, próximos ao gene ZMAT4 (*Zinc finger matrin-type protein 4*). Este gene possui função molecular de ligação do DNA e do íon de zinco. Os genes identificados para IPP parecem desempenhar importante papel na manutenção do organismo e no transporte de íons e proteínas.

Para ISP, o SNP rs134100268 encontra-se no íntron do gene FMN1 (*formin 1*), que participa do processo biológico de organização do citoesqueleto de actina, sendo de grande importância para os movimentos celulares e musculares. O SNP rs43661848 está localizado próximo ao gene TMEM182 (*transmembrane protein 182*), que é um gene integrante de membrana celular. Na literatura consultada não foram observadas as funções dos genes TMEM178 (*transmembrane protein 178*), THUMPD2 (*THUMP domain containing 2*), LOC790871 (*hsc70-interacting protein-like*). O SNP rs136610615 localiza-se próximo ao gene SLC8A1 (*solute carrier family 8, member 1*), que atua no processo biológico de comunicação celular, regulação do transporte dos íons cálcio e sódio, regulação da força de contração do coração, desenvolvimento de fibras musculares, desenvolvimento da placenta e desenvolvimento embrionário. Sua função molecular é a de ligação de íons de metais e na catálise da atividade de entrada e saída de cálcio ou sódio da membrana celular. O gene SLC8A1 parece desempenhar importante papel durante a gestação de bovinos de corte. O SNP rs43031470, está localizado no éxon do gene UBQLN3 (*ubiquilin 3*), que é expresso no testículo de mamíferos e atua na espermatogênese. Pode-se inferir a utilização do gene UBQLN3 como gene candidato contribuiria geneticamente para menores ISP em fêmeas e, indiretamente, para o desempenho reprodutivo de machos. Assim, seria recomendada a utilização destas informações para a seleção de animais jovens, pois ISP é mensurada em idades avançadas.

Conclusões

Com base nas análises de associação entre SNPs e as características estudadas, verificou-se que os SNPs observados como significativos poderiam ser utilizados na seleção genômica da raça Canchim. As regiões polimórficas identificadas apresentaram funções moleculares e processos biológicos que podem estar envolvidos na manutenção do organismo e no desempenho reprodutivo. Os genes associados à IPP e ISP poderiam ser utilizados como genes candidatos para a melhoria do desempenho de fêmeas e, indiretamente, de machos. A validação destes resultados em outra população de bovinos Canchim deve ser conduzida futuramente para confirmação das associações genômicas.

Literatura citada

- BUZANSKAS, M. E.; GROSSI, D. A.; BALDI, F. et al. Genetic associations between stayability and reproductive and growth traits in Canchim beef cattle. **Livestock Science**, v. 132, p. 107-112, 2010.
- FENG, Z.; WONG, W. W. L.; GAO, X. et al. Generalized genetic association study with samples of related individuals. **The Annals of Applied Statistics**, v. 5, n. 3, p. 2109-2130, 2011.
- FORTES, M. R. S.; LEHNERT, S. A.; BOLORMAA, S. et al. Finding genes for economically important traits : Brahman cattle puberty. **Animal Production Science**, v. 52, p. 143-150, 2012.
- MARTIN, L. C.; BRFNKST, J. S.; BOURDONT, R. M. et al. Genetic Effects on and Subsequent Heifer Puberty. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 4006-4017, 1992.
- SAHANA, G.; GULDBRANDTSEN, B.; BENDIXEN, C. et al. Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. **Animal genetics**, v. 41, n. 6, p. 579-88, 2010.