



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ESTIMATIVAS DE AUTOZIGOSE E IDENTIFICAÇÃO DE ASSINATURAS
DE SELEÇÃO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE UTILIZANDO
PAINÉIS DE SNP DE ALTA DENSIDADE

ARNALDO BASSO REBELATO

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2018



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ESTIMATIVAS DE AUTOZIGOSE E IDENTIFICAÇÃO DE ASSINATURAS
DE SELEÇÃO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE UTILIZANDO
PAINÉIS DE SNP DE ALTA DENSIDADE

ARNALDO BASSO REBELATO

ORIENTADOR: ALEXANDRE RODRIGUES CAETANO

CO-ORIENTADOR: SAMUEL REZENDE PAIVA

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 197D/2018

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2018

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTIMATIVAS DE AUTOZIGOSE E IDENTIFICAÇÃO DE ASSINATURAS
DE SELEÇÃO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE UTILIZANDO
PAINÉIS DE SNP DE ALTA DENSIDADE**

ARNALDO BASSO REBELATO

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

APROVADA POR:

**ALEXANDRE RODRIGUES CAETANO, Pesquisador PhD, EMBRAPA.
(ORIENTADOR)**

**BERNARDO BORBA DE ANDRADE, Professor PhD, UNIVESIDADE DE BRASÍLIA.
(EXAMINADOR)**

**JOANLISE M. L. ANDRADE, Professora PhD, UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA.
(EXAMINADOR)**

**ALEXSANDRO S. GALDINO, Professor PhD, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO
JOÃO DEL REI.
(EXAMINADOR EXTERNO)**

BRASÍLIA/DF, 01 DE FEVEREIRO DE 2018.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

REBELATO, A. B. **Estimativas de Autozigose e Identificação de Assinaturas de Seleção em Bovinos da Raça Nelore Utilizando Painéis de SNP de Alta Densidade**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília, 2018, 96 p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador.

Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Rebelato, Arnaldo Basso. **Estimativas de Autozigose e Identificação de Assinaturas de Seleção em Bovinos da Raça Nelore Utilizando Painéis de SNP de Alta Densidade**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília, 2018, 96 p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2017.

1. Assinaturas de Seleção. 2. Autozigosidade. 3. Corridas em Homozigose. 4. F_{ROH}. 5. Nelore. I. Caetano, A. II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico esta Tese:

A Minha família, que sempre me ensinou o valor do estudo e da boa educação;

À família da minha esposa e companheira, Gisele, que sempre me acolheu como um filho;

À melhor mãe do mundo, Maria Catarina Corrêa Basso Rebelato, que sempre me apoiou;

À mulher da minha vida, Gisele Campos Ferreira Basso Rebelato, que sempre esteve ao meu lado, me fazendo acreditar que era possível;

Aos meus sobrinhos, Júlia Rebelato de Abreu, Lara Gontijo Ferreira, Felipe Gontijo Ferreira e minha afilhada, Júlia Pereira Camargos; que eu possa, por meio dessa Tese, despertar nessas crianças o valor da educação e o gosto pela ciência;

E, finalmente, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília – UnB pela estrutura, apoio do corpo docente e dos técnicos;

À Embrapa Cenargen pela estrutura e apoio;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pelo apoio financeiro;

Ao meu Orientador, Dr. Alexandre Rodrigues Caetano, pela brilhante orientação, dedicada a mim, ao longo desses quatro anos;

Ao meu Co-Orientador, Dr. Samuel Rezende Paiva, pela sua colaboração;

Ao dedicado corpo docente da Universidade de Brasília, em especial à Dra. Concepta McManus, à Dra. Joanlise M. L. Andrade, ao Dr. Bernardo Borba;

Ao corpo técnico da Embrapa Cenargen, em Especial à Dra. Patrícia Ianella;

Aos alunos da Universidade de Brasília e aos companheiros de curso de Doutorado, em especial à Ana Gabriela Pereira de Vasconcelos e Tiago Prado Paim;

Meu muito obrigado.

INDICE

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
LISTA DE TABELAS E QUADROS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE ABREVIACOES	xvi
CAPTULO I – Estimativa de Corridas em Homozigose e sua Utilizao para Estimar Autozigosidade, Identificar Assinaturas de Seleo e Caracterizar uma populao de Bovinos da Raa Nelore.	
1. INTRODUO	19
1.1 PROBLEMTICA E RELEVNCIA	21
1.2 OBJETIVOS	22
1.2.1 OBJETIVOS GERAIS	22
1.2.2 OBJETIVOS ESPECFICOS	22
2. REVISO DE LITERATURA	23
Caracterizao do Genoma Bovino	23
Raa Nelore	23
Marcadores Moleculares	24
Corridas em Homozigose	25
Softwares Utilizados para a identificao de ROHs	27
Fatores que Influenciam na Formao de Padres de ROH	28
Caracterizao de uma Populao baseado em ROH	29
Estimativa Genmica de Consanguinidade baseada em ROH (F_{ROH})	30
ROHs e Assinaturas de Seleo	33
Consideraes Finais	34
3. REFFERNCIAS BIBLIOGRFICAS	35

CAPÍTULO II – Influência dos Parâmetros “Tamanho Mínimo de Corrida” e “Número Máximo de Heterozigotos Permitidos” na Estimativa de Corridas em Homozigose, visando à identificação de Assinaturas de Seleção na Raça Nelore e Caracterização dessas Corridas	
RESUMO	41
ABSTRACT	42
1. INTRODUÇÃO	43
2. MATERIAIS E MÉTODOS	45
Comitê de Ética	45
População e Genotipagem	45
Qualidade e Análise dos Dados	45
Estimativa das ROHs	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1 Resultados	47
Controle de Qualidade	47
Estimativas de ROHs	47
Identificação dos Fatores mais Adequados	48
Caracterização e distribuição das ROHs identificadas com tamanho mínimo de 200 SNPs com um máximo de 2 heterozigotos permitidos	51
3.2 Discussão	52
Controle de Qualidade	52
Estimativas de ROH	52
Identificação dos Fatores mais Adequados	53
Caracterização e Distribuição das ROHs Identificadas	54
4. CONCLUSÕES	55
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
CAPITULO III – Utilização de Corridas em Homozigose (Runs of Homozygosity) para Estimativa de Níveis Individuais de Autozigosidade em Bovinos da Raça Nelore a partir de Dados de SNPs Provenientes de Chips de Alta Densidade	
RESUMO	60
ABSTRACT	61
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAIS E MÉTODOS	64

Estimativa Individual de Autozigosidade baseado em ROH	64
Estimativa F	64
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.1 Resultados	66
Índice F_{ROH}	66
Coefficiente de Consanguinidade (F)	68
3.2 Discussão	78
Estrutura da População Estudada	70
Índice F_{ROH}	70
4. CONCLUSÕES	72
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
CAPITULO IV – Utilização de Corridas em Homozigose (<i>Runs of Homozygosity</i>) para Identificação de Assinaturas de Seleção em Bovinos da Raça Nelore a partir de Dados de SNPs Provenientes de Chips de Alta Densidade	
RESUMO	77
ABSTRACT	78
1. INTRODUÇÃO	79
2. MATERIAIS E MÉTODOS	81
Identificação de Assinaturas de Seleção por ROHs comuns por SNP	81
Estudo de Sobreposição de QTL	81
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
3.1 Resultados	82
Identificação de Assinaturas de Seleção por ROHs Comuns	82
Estudo de Sobreposição com QTLs Conhecidos	83
3.2 Discussão	84
Identificação de Assinaturas de Seleção	84
Estudo de Sobreposição de QTL	86
4. CONCLUSÕES	91
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
CAPITULO V – CONCLUSÕES	
1. CONCLUSÕES	96

RESUMO

ESTIMATIVAS DE AUTOZIGOSE E IDENTIFICAÇÃO DE ASSINATURAS DE SELEÇÃO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE UTILIZANDO PAINÉIS DE SNP DE ALTA DENSIDADE Arnaldo Basso Rebelato¹ e Alexandre Rodrigues Caetano^{1,2}, PhD

Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária/Universidade de Brasília (FAV/UnB), DF¹, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Cenargen/Embrapa)²

A intensa seleção direcional, e o uso intensivo de métodos de reprodução assistida, observado nas últimas décadas na raça Nelore, sugerem perda da diversidade genética e baixo número efetivo da população. Processos que auxiliem na estimativa de níveis de consanguinidade dos rebanho e identificação de pacotes de genes favoráveis e desfavoráveis à produção que foram fixados nessa raça, poderão contribuir para traçar diretrizes a serem seguidas pelos programas de melhoramento em andamento. Os objetivos deste trabalho foram identificar os parâmetros mais adequados para estimar corridas em homozigose, do inglês Runs of Homozygosity (ROHs), em uma população de bovinos da raça Nelore; estimar níveis de autozigosidade individual a partir do cálculo do índice F_{ROH} ; e identificar Assinaturas de Seleção a partir da análise da distribuição de ROHs comuns. Foi utilizado o comprimento mínimo de 200 SNPs com 2 heterozigotos permitidos para a identificação de ROHs visando à obtenção de Assinaturas de Seleção na raça Nelore. As características das 120.707 ROHs observadas sugerem presença de eventos de consanguinidade recentes, devido à alta incidência de trechos longos, presentes em grande parte dos animais estudados (84,55%) e eventos antigos, devido à alta proporção de trechos curtos (96,23% de todas as ROHs identificadas abaixo de 10Mb). As estimativas de F_{ROH} indicaram altos níveis de autozigosidade no rebanho, em eventos de consanguinidade recente (até 3 gerações), subindo gradativamente até eventos antigos (acima de 50 gerações), sugerindo elevado nível de parentesco direto na população e efeitos de seleção

direcional na raça ou na espécie. A análise da frequência de ROHs comuns por SNPs levou a identificação de Assinaturas de Seleção nos cromossomos BTA4, 7 e 12, além de indícios de Assinatura de Seleção também no cromossomo BTA24. O estudo de sobreposição de QTL identificou QTLs nas regiões conservadas, relacionados a Características Reprodutivas; Crescimento; Produção de Carne, Carcaça e Conformação; Habilidade Materna; Eficiência Alimentar; Termorregulação e Resistência a Endo e Ectoparasitas. Os resultados encontrados mostraram-se em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

Palavras-chave: Assinaturas de Seleção, Autozigosidade, Corridas em Homozigose, F_{ROH} , Nelore.

ABSTRACT

ESTIMATES OF AUTOZYGOSITY AND IDENTIFICATION OF SIGNATURES SELECTION IN NELORE BREED CATTLE USING HIGH DENSITY SNP PANELS

The intense directional selection and the intensive use of assisted reproduction methods observed in last decades in the Nelore breed suggest a loss of genetic diversity and a low effective number. Processes that assist in estimating levels of inbreeding of the herd and in identification of favorable and unfavorable groups of genes, that have been fixed in this breed can contribute to the development of ways to be followed by breeding programs in progress. The objective of this study was to identify most appropriate parameters to estimate Runs of Homozygosity - ROHs in a Nelore cattle population; individual autozygosity levels, from the F_{ROH} index calculation and identify Signatures Selection, in this population, from the analysis of the distribution of common ROHs. Was used minimum length of 200 SNPs with 2 allowed heterozygotes for identification of ROHs with the purpose the identification of Signatures Selection on Nelore Breed. The characteristics of the 120,707 ROHs observed suggest the presence of recent inbreeding events due to the high incidence of long stretches, present in most of the animals studied (84.55%) and old events, due to the high proportion of short stretches (96.23 % of all ROHs identified below 10Mb). F_{ROH} estimates indicated high levels of autozygosity in the herd, in recent inbreeding events (up to 3 generations), growing gradually to ancient events (over 50 generations), suggesting a high level of direct parentage in the population and effects of directional selection in the breed or species. Analysis of the frequency of common ROHs by SNPs, allowed to the identification of Signatures Selection on BTA4, 7 and 12, and signs of Signatures Selection on the BTA24 chromosome. The study of overlapping of QTL identified QTLs in the conserved regions, related to Reproductive Characteristics; Growth; Meat, Carcass and Conformation Production; Maternal Ability; Food Efficiency; Thermoregulation and Resistance to Endo and Ectoparasites. The results found were similar to those described previously and in accordance with the expected, due to the characteristics of

the studied population

Keywords: Signature Selection, Autozygosity, Runs of Homozygosity, F_{ROH} , Nellore.

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 2.1. Número total, tamanho mínimo e máximo para as 10 combinações distintas de critérios para a identificação de ROHs.....	47
Tabela 3.1. Valores de F_{ROH} calculados para diferentes tamanhos mínimos de ROH.....	66
Tabela 3.2. Valores dos coeficientes de assimetria e de curtose para F_{ROH} calculados para diferentes tamanhos mínimos de ROH.....	68
Quadro 4.1. Lista de QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP.....	83
Quadro 4.2. QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROHs comuns por SNPs que afetam características de conformação.....	87
Quadro 4.3. QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP, pertencentes à categoria Sanidade.....	88
Quadro 4.4. QTLs identificados para as regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP, pertencentes à categoria Produção.....	88
Quadro 4.5. QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP, pertencentes à categoria Reprodução.....	89

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Ilustração representando a formação de uma ROH. O indivíduo “F” possui uma ROH (em verde) que foi formada devido ao pareamento de trechos em homozigossidade provenientes do cromossomo homólogo do ancestral comum “A”.....26
- Figura. 2.1. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 50 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....48
- Figura. 2.2. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 50 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....48
- Figura. 2.3. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 100 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....48
- Figura. 2.4. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 100 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....49
- Figura. 2.5. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 150 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....49
- Figura. 2.6. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 150 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....49
- Figura. 2.7. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 200 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....50

- Figura. 2.8. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 200 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....50
- Figura. 2.9. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 250 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....59
- Figura. 2.10. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 50 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....51
- Figura 2.11. Representação gráfica da proporção de ROHs de acordo com seu tamanho em Mb.....51
- Figura 3.1. Distribuição da proporção do genoma autossômico individual (F_{ROH}) para diferentes tamanhos mínimos de ROH (>0,5Mb; >1Mb; >2Mb; >4Mb; >8Mb e >16Mb).....67
- Figura 3.2. Frequência dos valores observados para os coeficientes de parentesco (calculados a partir da análise da frequência dos marcadores válidos).....68
- Figura 3.3. Diagramas de dispersão (baseado na frequência dos marcadores) e os diferentes F_{ROH} s. (A) $F_{ROH} > 0,5Mb \times F$; (B) $F_{ROH} > 1Mb \times F$; (C) $F_{ROH} > 2Mb \times F$; (D) $F_{ROH} > 4Mb \times F$; (E) $F_{ROH} > 8Mb \times F$ e (F) $F_{ROH} > 16Mb \times F$. Os valores de (r) nos gráficos representam as correlações específicas para cada comprimento mínimo de F_{ROH} e F.....69
- Figura. 4.1. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).....82

LISTA DE ABREVIACÕES

- ABCZ – Associação Brasileira de Criadores de Zebu
- BTA – cromossomo referente à espécie *Bos* e ao gênero *taurus*
- DNA – Ácido desoxiribonucleico
- DP – Desvio padrão
- F – Coeficiente de endogamia
- FIV – Fertilização “in vitro”
- F_{GRM} - Coeficiente de endogamia baseado em dados da matriz de relacionamento
- F_{HOM} - Coeficiente de endogamia baseado no excesso de homozigosidade
- F_{PED} - Coeficiente de endogamia baseado em informações de pedigree
- F_{ROH} – Coeficiente de endogamia baseado em ROH
- F_{UNI} - Coeficiente de endogamia baseado na correlação entre gametas unidas
- GAP - intervalo
- Gb – Giga bases
- HD – Alta densidade
- IA – Inseminação artificial
- IBD – Idêntico por descendência
- IBS – Idêntico por estado
- Kb – Kilo bases
- LD – Linkage disequilibrium
- Mb – Mega bases
- Ne – Número efetivo da população
- Promebo – Programa de melhoramento de bovinos de carne
- QTL – Quantitative trait loci
- ROH – Runs of homozygosity
- SNP – Single nucleotide polymorphism
- Sudam – Programa de desenvolvimento da Amazônia

Sudene - Programa de desenvolvimento do nordeste

Sudes - Programa de desenvolvimento do Espírito Santo

SVS – SNP & Variation Suite

TE – Transferência de embrião

UMD – Mapa de sequência do genoma bovino

US - dólar americano

CAPÍTULO I

Estimativa de Corridas em Homozigose e sua Utilização para Estimar Autozigosidade, Identificar Assinaturas de Seleção e Caracterizar uma população de Bovinos da Raça Nelore.

1. INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos com marcadores moleculares para auxiliar o melhoramento animal datam do final da década de 1980 e, baseados em poucos marcadores e técnicas de alto custo, seus resultados geraram dúvida quanto à eficiência e viabilidade da utilização de dados genômicos para a produção animal (Caetano 2009). Porém, a associação de tecnologias para fabricação de microarranjos de DNA com métodos moleculares desenvolvidos para genotipar marcadores polimórficos de base única – SNPs (do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*), levaram ao desenvolvimento de painéis com milhares de marcadores que permitem uma extensa avaliação do genoma em uma fração do tempo e do custo de metodologias anteriores (Caetano 2009; Da Silva et al. 2015).

Definidas como longos trechos ininterruptos do genoma que apresentam genótipos em homozigose (Lencz et al. 2007), as corridas em homozigose - ROH (do inglês *Runs of Homozygosity*) podem ser identificadas mediante análise de painéis de SNPs, preferencialmente em alta densidade (acima de 50.000 SNPs). Análises direcionadas dos dados gerados com esses painéis permitiram o surgimento de trabalhos para identificar e caracterizar ROHs em diferentes espécies (Curik et al. 2014). Análises secundárias das ROHs observadas podem ser utilizadas para identificação e monitoramento da taxa de consanguinidade em animais de produção; mapeamento e identificação de alelos deletérios recessivos; caracterização da demografia, estrutura e histórico de uma população; além da estimativa genômica de parentesco e autozigosidade, individual e populacional (Saura et al., 2015; Peripolli et al., 2016).

Atualmente a genotipagem de SNPs com Chips de DNA oferece a solução mais consistente e o menor custo para a geração de dados em alta densidade (Da Silva et al. 2015). Tal metodologia vem sendo utilizada para a realização de trabalhos para identificar e utilizar ROHs em diversas espécies de animais de produção, como bovinos (Zhang et al., 2015a;

Zavarez et al., 2015; Szmatola et al., 2016; Mastrangelo et al., 2016; Reverter et al. 2017);
ovinos (Beynon et al., 2015; Al-Mamun et al., 2015); equinos (Metzger et al. 2015); suínos
(Saura et al., 2015; Gomez-Raya et al., 2015); aves (Wolc et al. 2015); felinos (Bertolini et al.
2016) e abelhas (Fuller et al. 2015).

1.1 PROBLEMÁTICA E RELEVÂNCIA

O processo de domesticação de animais de produção, seguido nas últimas décadas de intensa seleção direcional com o uso de métodos quantitativos, resultou em incrementos genéticos significativos em características de adaptação, tipo e produção (Randhawa et al. 2016). Como consequência, pode-se observar drásticas reduções no tamanho efetivo da população (N_e) (Falconer & Mackay 1996) e prejuízos produtivos devido a altas taxas de consanguinidade (Reverter et al. 2017) em raças sob seleção intensa (Scraggs et al., 2014; Zavarez et al., 2015).

O equilíbrio entre altas taxas de ganhos genéticos e indesejadas perdas de diversidade genética faz com que os programas de melhoramento tenham que considerar e controlar taxas de acasalamentos endogâmicos nas populações em questão (Peripolli et al. 2016). Tradicionalmente, informações genealógicas são utilizadas nesses processos, mas erros aleatórios nos vários passos necessários para anotação, coleta, registro e armazenamento das informações de parentesco podem ter sérias consequências negativas, levando a aumentos indesejados nos níveis observados de autozigosidade (Curik et al. 2014; Hudson et al., 2015; Zavarez et al., 2015). A utilização de dados genômicos para complementar ou corrigir dados genealógicos existentes, pode consequentemente impactar positivamente os ganhos genéticos obtidos a longo prazo (Hudson et al., 2015; Marras et al., 2015; Zhang et al., 2015b).

A formação da raça Nelore no Brasil se deu de uma forma que pode ter gerado altos índices de consanguinidade nos rebanhos. O uso intensivo de métodos de reprodução assistida como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a fertilização *in vitro* (FIV), nas últimas décadas, resultou na utilização de um baixo número de reprodutores pelos programas de melhoramento genético dessa raça (Zavarez et al., 2015). Dessa forma, identificar em nível molecular quais pacotes de genes favoráveis e desfavoráveis à produção que foram consequentemente fixados nessa raça, poderá contribuir para traçar diretrizes a serem seguidas pelos programas de melhoramento em andamento.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVOS GERAIS

Estimar Corridas de Homozigose (*Runs of Homozygosity*- ROH) em uma população de bovinos comerciais da raça Nelore, a partir de dados provenientes de painéis de SNPs de alta densidade; estimar os níveis de autozigosidade da população e identificar assinaturas de seleção na raça.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar ROHs na população estudada a partir de dados genômicos;
- Identificar os critérios para uma melhor estimativa de ROHs nesta população visando a identificação de Assinaturas de Seleção;
- Analisar a distribuição das ROHs identificadas para caracterização da população estudada.
- Obter a estimativa de consanguinidade individual com base em ROHs, F_{ROH} e compará-la a outras estimativas individuais de consanguinidade;
- Identificar Assinaturas de Seleção na raça Nelore com base em ROHs comuns por SNPs.

REVISÃO DE LITERATURA

Caracterização do Genoma Bovino

De acordo com a montagem realizada por Liu et al., (2009), o genoma haploide bovino possui um elevado nível de complexidade, contendo cerca de 2,87 bilhões de pares de bases ou 2,87Gb (Giga bases), divididos em 29 autossomos e cromossomos sexuais, nos quais foram identificados cerca de 22.000 genes. Inúmeros estudos demonstram a importância do estudo de “grupos de genes” para características de interesse à produção animal, uma vez que a grande maioria dessas é influenciada por mais de um gene (poligênica) e as regiões do genoma (*loci*) que contém genes que influenciam essas características são denominadas “regiões de características quantitativas” ou QTL, do inglês, “*Quantitative trait loci*” (Georges & Andersson, 2003). Outro fator a ser levado em consideração na identificação das bases genéticas das características quantitativas é o desequilíbrio de ligação – LD (Linkage disequilibrium), que é observado quando combinações de alelos situados em diferentes regiões de um cromossomo ocorrem com uma frequência maior do que combinações ao acaso (Goddard et al., 2009). Dessa maneira, para se identificar variações genômicas que afetam caracteres quantitativos a partir de marcadores moleculares, é necessário que estes marcadores possuam forte ligação com os genes em questão, ou seja, que os marcadores utilizados estejam em LD com os genes procurados.

Raça Nelore

No início do século XX (1900-1920) criadores brasileiros começaram a se interessar pela raça zebuína “Ongole”, até então importada basicamente para entretenimento (circos e zoológicos), e a trazê-la diretamente da província de Nelore, na Índia, onde os animais escolhidos ficavam aguardando pelo embarque (Santos 2000). Dessa forma os melhores representantes da raça Ongole eram destinados aos brasileiros que passaram a identificá-los como Nelore e, ao longo das décadas seguintes, esta raça passou a contribuir com sua genética no, até então, altamente heterogêneo rebanho brasileiro. A partir da década de 1950 começaram

a surgir trabalhos de seleção de indivíduos da raça, visando precocidade produtiva e padrão racial. Vinte anos depois (1970) a raça foi permeada por todo território brasileiro devido, principalmente, ao interesse do governo federal que fomentou a fixação da raça com o incentivo da implantação de mais de 4.000 propriedades nas regiões Norte e Nordeste utilizando unicamente reprodutores Nelore (Santos 1998). Além disso, propiciaram incentivos fiscais para a utilização da raça Nelore em programas de desenvolvimento da Amazônia (Sudam), Nordeste (Sudene), Espírito Santo (Sudes) e dos cerrados da região Centro-Oeste (Santos 2000).

Nos anos de 1973-1974 ações para o desenvolvimento do Programa de Melhoramento de Bovinos de Carne (Prombebo) foram iniciadas. Com o apoio da Associação Nacional de Criadores de Zebu (ABCZ), a implementação do programa recomendava a avaliação dos animais tanto por escores de conformação quanto pela avaliação do animal pelo seu peso. Em apenas 5 anos de implantação (1974-1979) já haviam sido realizadas mais de 60.000 avaliações completas. Algumas propriedades de grande relevância para a formação da raça Nelore no Brasil participaram deste programa desde sua implantação, como as Estâncias Alvorada e Guatambú (núcleo inicial do atual condomínio Delta G), Agropecuária CFM Ltda e Agropecuária Jacarezinho Ltda (Oliveira & Barbosa 2007)

Atualmente, a raça Nelore pode ser considerada a de maior representatividade para a pecuária brasileira pois, com mais de 200 milhões de cabeças, o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e, em sua maioria (cerca de 80%), pertencente ao subgênero *indicus* e, quase a totalidade destes (90%), é composta de animais puros da raça Nelore ou animais cruzados (Aroeira et al., 2016; Nascimento et al., 2016).

Marcadores Moleculares

O termo marcador indica sua função de “identificar” ou “etiquetar” algo e, no caso de marcadores em genética, o objetivo é marcar alelos de um gene cuja função não é necessariamente conhecida. Ramalho et al. (2000) citam que existem vários tipos de marcadores, mas é essencial que sejam herdáveis, de fácil avaliação e que estejam fortemente ligados aos alelos que se deseja selecionar. Citam também que a primeira utilização de um marcador genético foi para auxiliar na seleção de um caráter quantitativo foi em 1923 em culturas de feijão, onde foi identificado que o alelo responsável pela ausência da pigmentação escura no tegumento da semente estava ligado a alelos de alguns genes responsáveis pelo maior tamanho da semente.

Na década de 1980 surgiram os primeiros estudos de identificação, caracterização e utilização de marcadores moleculares para a caracterizar recursos genéticos e, nos anos seguintes, o desenvolvimento da tecnologia permitiu grande avanço na geração de dados moleculares e uma redução significativa nos custos destes dados. Os marcadores do tipo SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*) identificam mutações em uma única base da cadeia de bases nitrogenadas e, geralmente, seus polimorfismos são encontrados em abundância nas espécies e distribuídas de maneira homogênea pelo genoma (Caetano, 2009; Arias et al., 2009). Isso representou uma verdadeira revolução na forma de identificar e genotipar marcadores pois este tipo de marcador permite, por meio da tecnologia de Chips de DNA, a genotipagem de centenas de milhares de marcadores em um único ensaio, cobrindo assim quase a totalidade do genoma em frações de tempo e de custo de metodologias anteriores (Caetano, 2009).

Metodologias estatísticas recentes foram desenvolvidas para, com base em painéis de marcadores SNP de alta densidade, estimar com acurácia, o valor genético de animais sem necessidade de informações fenotípicas ou de parentesco, a chamada Seleção Genômica Ampla, do inglês *Genome-Wide Selection* (Meuwissen et al., 2001). Atualmente, a genotipagem de SNPs com Chips de DNA oferece a solução mais consistente e o menor custo para geração de dados em alta densidade, o que incentivou a produção de painéis de SNP específicos para diversas espécies de interesse zootécnico como bovinos, ovinos, equinos, suínos, aves e cães (<https://www.illumina.com>).

Corridas em Homozigose

O termo *Runs of Homozygosity* foi utilizado pela primeira vez para denominar trechos de 100 ou mais SNPs consecutivos, em um único cromossomo, com ausência de heterozigotos ou genotipagens perdidas (Lencz et al. 2007). As ROHs foram inicialmente identificadas em cromossomos humanos (Broman & Weber 1999) devido à necessidade da ampla cobertura do genoma para a correta identificação de ROHs (Purfield et al. 2012), situação praticamente restrita à espécie humana até então. Estudos sobre tamanho e distribuição de ROHs, em outras espécies animais, só foram realizados cerca de 8 anos depois (Gibson et al. 2006), quando surgiram os primeiros painéis de SNPs de alta densidade para animais de produção.

O processo de formação de ROHs pode ser visualizado na figura 1; onde o indivíduo “A” representa o ancestral comum dos pais “D” e “E” do indivíduo “F”. O fragmento ROH do indivíduo “F”, assim como o cromossomo homólogo do ancestral comum “A”, que deu origem a essa ROH, estão representados em verde e as demais cores representam

fragmentos de cromossomo não originários do cromossomo homólogo do indivíduo “A” (Gomez-Raya et al., 2015, com adaptações).

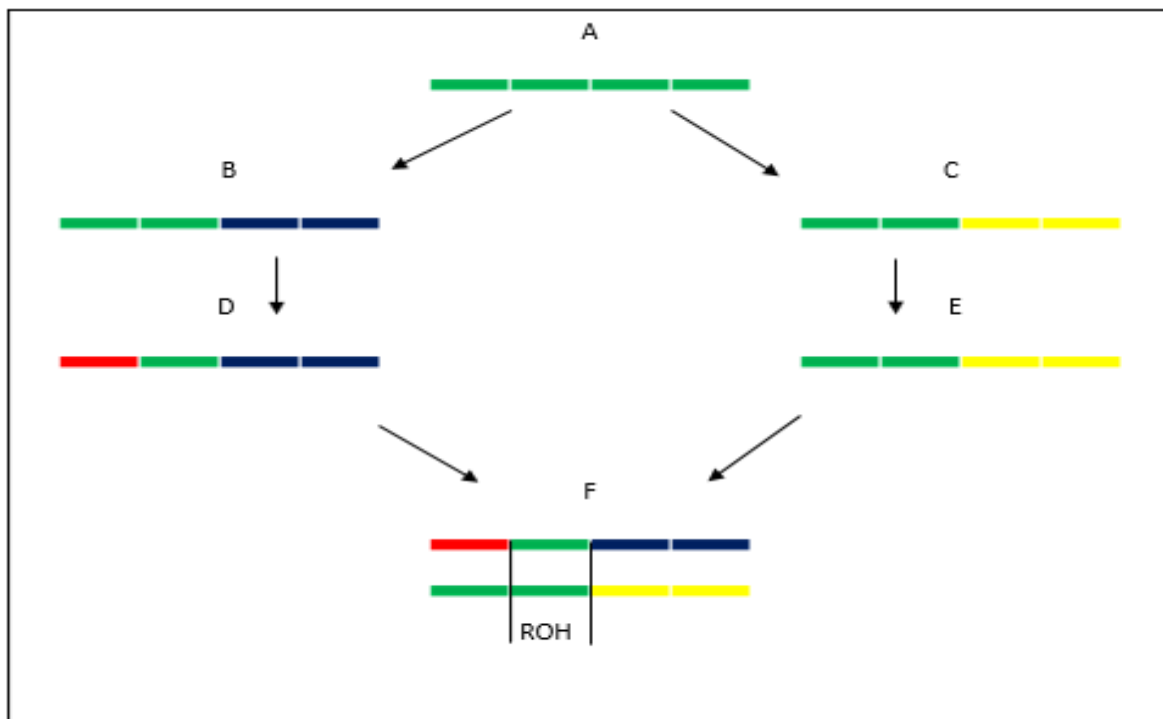


Figura 1. Ilustração representando a formação de uma ROH. O indivíduo “F” possui uma ROH (em verde) que foi formada devido ao pareamento de trechos em homozigotidade provenientes do cromossomo homólogo do ancestral comum “A”.

A correta identificação de ROHs depende do controle de fatores como a qualidade da genotipagem, a escolha do tamanho mínimo das ROHs e do número de heterozigotos permitidos. A estimativa de ROHs pode ser comprometida devido a eventuais erros de genotipagem e a escolha do tamanho mínimo das ROHs e do número de heterozigotos permitidos podem alterar o número total das ROHs identificadas (Ferenčaković et al. 2013). Outro fator a ser considerado na identificação das ROHs é o tipo de chip utilizado na obtenção dos dados, pois a ampla cobertura do genoma permite a identificação de um maior número de ROHs. Chips com densidades superiores a 50.000 SNPs são necessários na detecção precisa de ROHs menores que 5Mb (Purfield et al. 2012; Zhang et al., 2015a)

Painéis de marcadores SNP de alta densidade para animais de produção ficaram disponíveis somente a partir de 2008 (Caetano 2009). Atualmente, existem Chips de genotipagem de alta densidade para inúmeras espécies de interesse zootécnico, o que permitiu o desenvolvimento de trabalhos baseados em ROHs para essas espécies (Curik et al. 2014) e seus resultados vêm confirmando o potencial dessa tecnologia para se identificar regiões

genômicas de interesse, em áreas distintas da ciência. A caracterização das ROHs em diferentes populações, raças ou linhagens de uma espécie é importante para se obter informações acerca da história evolutiva (Metzger et al., 2015; Sorbolini et al., 2015; Zavarez et al., 2015), informações demográficas (Bosse et al. 2012), ou de consanguinidade (Marras et al. 2015) de uma população.

Softwares Utilizados para a Identificação de ROHs

Atualmente os *softwares* mais utilizados na identificação de ROHs são o PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007; <http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>) e o Golden Helix SNP and Variation Suite (SVS; www.goldenhelix.com) (Curik et al. 2014), seguidos de outros *softwares* como o BEAGLE e o GERMLINE (Howrigan et al. 2011).

O *software* PLINK v1.07 utiliza como método de identificação uma janela deslizante que, de acordo com o tamanho mínimo especificado pelo usuário, busca identificar sequências em homozigose que atendam ao critério “tamanho mínimo” pré-especificado, para identificar ROHs como trechos consecutivos que contenham um número mínimo de SNPs, em homozigose, dentro de uma distância mínima, em pares de bases. Esse método permite apenas detecções básicas dos trechos em homozigose, cabendo ao usuário definir apenas o parâmetro “tamanho mínimo” do segmento a ser identificado (Curik et al. 2014).

Tal *software* está disponível para download gratuito em diversas plataformas (zzz.bwh.harvard.edu/plink/download.shtml), sendo esta gratuidade sua grande vantagem em relação ao SVS Golden Helix, o qual por outro lado, justifica seu elevado custo (superando US\$ 1.000 anuais) pela grande capacidade de gerenciamento de dados, design amigável, qualidade do material produzido e assistência garantida (goldenhelix.com/forms/SNP_Variation/pricing).

O *software* SVS, por sua vez, considera todo SNP em homozigose como um possível início de uma nova ROH e cada SNP é classificado como “em homozigose”, “em heterozigose” ou “genotipagem perdida”. Fornece como resultado o conjunto de trechos com número de SNPs em homozigose maior que o especificado (para cada cromossomo e cada indivíduo). Posteriormente, um segundo algoritmo agrupa os trechos calculados pelo algoritmo anterior em conjuntos ou “clusters”, fornecendo uma lista com o número mínimo de indivíduos que contêm esses trechos em comum. Tal método permite ao usuário definir um conjunto de parâmetros como: tamanho mínimo de ROH, em pares de bases ou números de SNPs; densidade mínima, intervalo (gap) máximo; número máximo de heterozigotos permitidos e de genotipagens perdidas (Curik et al. 2014).

Fatores que Influenciam na Formação de Padrões de ROH

Processos de seleção natural e artificial aos quais os animais de produção são submetidos podem alterar padrões genotípicos e produzir padrões contrastantes em populações submetidas a pressões seletivas distintas (Sorbolini et al. 2015). A seleção de um pequeno número de animais superiores em relação a características determinadas de acordo com objetivos de seleção específicos para a formação de rebanhos comerciais, tende a reduzir a variabilidade fenotípica observada e leva também a um remodelamento do genoma, gerando padrões de ROH (Kim et al. 2013), devido ao aumento da homoziguidade nas regiões genômicas próximas aos locus que controlam as características de interesse (Zhang et al. 2015). Regiões genômicas nas quais se encontram locus que foram alvo de seleção artificial apresentam geralmente uma maior concentração de ROHs, quando comparadas a outras regiões do mesmo genoma (Metzger et al. 2015).

Fatores demográficos que levam à deriva genética e pressões seletivas naturais e artificiais podem causar modificações genômicas nas espécies (Ramey et al. 2013). O aumento da intensidade de seleção, observado nas últimas décadas em programas de melhoramento genético, aliado à utilização de um pequeno número de animais como reprodutores, tem contribuído para a redução do tamanho efetivo (N_e) das populações de animais de interesse zootécnico, o que contribui para o aumento da consanguinidade, da deriva genética e a diminuição da variabilidade genética (Peripolli et al. 2016), refletindo em uma tendência de ROHs grandes em populações de animais que foram submetidos a essas condições.

Por definição, ROHs são longos trechos ininterruptos do genótipos em homozigose, gerados por acasalamentos consanguíneos (Ferenčaković et al. 2013) e portanto, o tamanho desses trechos varia de acordo com o número de gerações em que estes acasalamentos ocorreram. Sendo assim, os tamanhos de ROHs em um rebanho tendem a diminuir a cada geração. A observação de longos trechos em homozigose (ROHs longas) indica alta consanguinidade entre os indivíduos em uma população (Curik et al. 2014), ocorrida devido a acasalamentos consanguíneos recentes.

As diferenças entre padrões de ROH observados sugerem que a seleção artificial altera a autozigosidade no genoma (Metzger et al., 2015; Peripolli et al., 2016; Szmatoła et al., 2016). Eventos de seleção e/ou deriva resultam na formação de ROHs longas (Pemberton et al., 2012; Howard et al., 2015), que posteriormente sofrem efeitos de recombinação e mutação, fazendo com que as ROHs herdadas diminuam de tamanho a cada geração sucessiva (Curik et al. 2014).

Caracterização de uma População baseado em ROH

A extensão e a frequência de ROHs podem ser utilizadas para fornecer informações sobre a ascendência de um indivíduo ou sobre a estrutura e histórico da população a qual ele pertence (Howrigan et al. 2011; Purfield et al., 2012) pois a sua distribuição, pelo genoma, não ocorre de forma aleatória e não é uniforme, sendo fortemente dependente das taxas de recombinação e mutação locais (Bosse et al. 2012) e, de outras forças evolutivas como a seleção e deriva genética (Ramey et al. 2013).

Assim, a formação e distribuição das ROHs pelo genoma é resultado da combinação de variáveis genômicas, como a taxa de recombinação e sinais de seleção direcional recente (Pemberton et al. 2012).

As variações no tamanho e na distribuição das ROHs observadas pelo genoma podem ser utilizadas para inferir sobre eventos de consanguinidade em uma população específica (Howrigan et al. 2011). Em animais de produção são esperados ROHs de tamanhos maiores que os encontrados em populações humanas, como consequência dos processos de seleção artificial e tamanhos efetivos populacionais (N_e) reduzidos observados (Curik et al. 2014). Raças e linhagens especializadas de animais de produção passaram e continuam sendo submetidas à intensa seleção de pacotes de alelos com efeito positivo sobre características produtivas, reprodutivas ou de padrão racial e, devido a isso, é comum se encontrar altas taxas de endogamia e, conseqüentemente, ROHs distribuídas em abundância pelo genoma e presentes em altas frequências nas populações estudadas (Zavarez et al., 2015; Zhang et al., 2015a).

A análise do tamanho, da posição e da frequência das ROHs pelo genoma pode fornecer informações sobre características genômicas, taxa de recombinação, direção de seleção ou evidenciar relação entre populações distintas (Bosse et al., 2012; Metzger et al., 2015). ROHs extensas podem indicar pressões seletivas intensas, devido à redução da variabilidade genética (Metzger et al. 2015), ou eventos de consanguinidade recentes em uma população (Al-Mamun et al. 2015), enquanto que ROHs curtas sugerem perda de diversidade genética, seja por efeito gargalo ou fundador (Al-Mamun et al. 2015) ou eventos de consanguinidade antigos na população (Howrigan et al. 2011).

Metzger et al., (2015) estudando padrões de ROH em diferentes populações de cavalos, observaram variações no número e na frequência de ROHs quando compararam cavalos de raças definidas com cavalos cruzados, estabelecendo-se uma relação entre a formação de padrões específicos de ROH com o histórico de pressões seletivas (natural ou artificial) sofridas pelos animais. Resultados semelhantes foram encontrados por Saura et al., (2015) que identificaram, por meio de presença/ausência de ROHs, perdas da variabilidade

genética causada pelo processo de melhoramento genético em suínos melhorados e por Szmatoła et al., (2016) que identificaram padrões distintos de ROH, em três populações distintas de bovinos (nativas, submetidas a processos de conservação e comerciais), sugerindo que uma vez conhecido o padrão de ROH de uma determinada espécie, raça ou população, é possível determinar a história evolutiva ou informações demográficas que caracterizem determinada população.

Estimativa genômica de Consanguinidade baseada em ROH (F_{ROH})

A autozigose ocorre quando indivíduos acasalados, que possuem ancestrais comuns, transmitem segmentos cromossômicos idênticos por descendência (do inglês *Identical by Descent - IBD*) para sua progênie. O coeficiente de endogamia (do inglês *Inbreeding Coefficient - F*), estima o nível de autozigosidade de um indivíduo com um ou mais ancestrais em comum, ou seja, estima a probabilidade dos alelos em uma região aleatória do genoma serem idênticos por descendência (Wright 1922).

Tradicionalmente, utilizam-se dados fornecidos pelo pedigree para compor a matriz de relacionamento “A” obtida por meio do valor esperado da proporção de loci idênticos por descendência (VanRaden 1992) como na expressão a seguir:

$$A_{ii} = \sum L^2_{ij} D_{ij}$$

Em que A_{ii} é o i^{th} elemento da diagonal da matriz A (matriz de relacionamento por pedigree), equivalente ao coeficiente de parentesco do i^{th} animal mais 1.

Informações genômicas podem ser utilizadas para se estimar a autozigosidade de um rebanho (McQuillan et al. 2008) de forma rápida, confiável e com baixo custo (Da Silva et al. 2015). Neste caso, a matriz de parentesco “A”, baseada em informações de pedigree, é substituída pela matriz de parentesco genômica “G”, construída a partir de informações provenientes de painéis de marcadores, geralmente de alta densidade. Os coeficientes de parentesco genômicos, obtidos pela proporção de loci idênticos por estado (IBS), são capazes de capturar mais informações que o coeficiente tradicional que é susceptível a erro devido ao seu caráter estocástico (Pértille et al. 2016). Existem quatro coeficientes de parentesco que podem ser estimados a partir de informações genômicas: F_{UNI} , F_{HOM} , F_{GRM} e F_{ROH} (Zhang et al. 2015).

Baseada nas teorias de Wright (1922), F_{UNI} pode ser estimada a partir da correlação entre gametas unidas, pela formula (Yang et al. 2011):

$$F_{UNI} = (X^2_i - (1 + 2p_i) x_i + 2p^2_i) / (2p_i (1-p_i)),$$

Em que p_i é a fração observada do primeiro alelo no locus i e x_i é o número de cópias do alelo de referência.

A estimativa F_{HOM} é baseada no excesso de homozigidade observada segundo Wright (1948) e pode obtida pela equação (Yang et al. 2011):

$$F_{HOM} = [(HOM_O) - (HOM_E)] / [1 - (HOM_E)] = 1 - (x_i (2-x_i) / (2p_i (1-p_i))),$$

Em que HOM_O e HOM_E são os números de genótipos em homozigose observados e esperados, respectivamente; e p_i e x_i são definidos como em F_{UNI} .

F_{GRM} é uma estimativa da relação genética de um indivíduo com ele mesmo, por meio da diagonal principal da matriz de relacionamento estimada com dados de genotipagem provenientes de painéis de SNPs de alta densidade (VanRaden 2008) que é calculada de acordo com a equação:

$$F_{GRM} = ([x_i - E(x_i)]^2 / (2p_i (1-p_i)) - 1) = (x_i - 2\hat{p}_i)^2 / (2p_i (1-p_i)) - 1,$$

Em que p_i e x_i são definidos como em F_{UNI} .

F_{ROH} é calculada a partir do somatório de corridas em homozigose (ROHs) estimadas, separadas em diferentes tamanhos mínimos de corridas e pode ser definida como a proporção do genoma autossômico coberto por SNPs (McQuillan et al. 2008), que é composta por ROHs.

$$F_{ROH} = \sum L_{ROH} / L_{auto},$$

Em que $\sum L_{ROH}$ representa a distância total de ROHs, em pares de bases (acima de um tamanho mínimo especificado) (L_{ROH}) identificadas em um indivíduo, em relação ao tamanho total do genoma autossômico coberto por SNPs em pares de bases (L_{auto}).

As estimativas de autozigosidade obtidas a partir dos coeficientes de endogamia

(F) (calculados com base em informações genômicas) são geralmente mais precisas que a estimada a partir de informações de pedigree (F_{PED}), uma vez que esta ignora a endogamia existente nos fundadores de um rebanho, para os quais não se tem informação de pedigree (e portanto se considera $F=0$), assim como desconsidera também os efeitos amostrais decorrentes da seleção (Curik et al. 2014; Zhang et al., 2015a). Os primeiros trabalhos utilizando F_{ROH} em estudos com animais domésticos tinham como foco comparar F_{ROH} com F_{PED} , (Curik et al. 2014) Em tal estudo a comparação F_{ROH} mostrou-se uma forma mais eficiente de estimativa que F_{PED} , sendo inclusive destacado como uma alternativa interessante para se corrigir erros de pedigree (Hudson et al. 2015).

Os trabalhos utilizando a estimativa F_{ROH} com animais domésticos surgiram após a década de 2010, devido ao aparecimento de painéis de alta densidade para animais de produção (Caetano 2009). Ferenčaković et al. (2011) baseados nos bons resultados obtidos em estudos de ROH com humanos, utilizaram dados de bovinos genotipados e de seus pedigrees para estimar correlações entre suas estimativas de coeficientes de endogamia (F_{ROH} e F_{PED}). Os autores identificaram uma alta correlação ($r=0,68$) entre F_{ROH} e F_{PED} utilizando informações de pedigree completo (F_{PEDT}). Correlações positivas entre esses coeficientes também foram obtidas por Marras et al., (2015) em diferentes raças de bovinos com valores variando entre 0,66 e 0,70; e por Mastrangelo et al., (2016) que obtiveram correlações ainda mais expressivas entre 0,83 e 0,95; utilizando diferentes raças de bovinos leiteiros.

As estimativas de consanguinidade baseadas em ROH (F_{ROH}) normalmente excedem as estimativas do coeficiente de consanguinidade identificado pelo pedigree. Ferenčaković et al., (2011) identificaram uma vantagem do índice proveniente de informações de ROH que, quando calculado para segmentos $>1\text{Mb}$ ($F_{ROH}>1\text{Mb}$), foi capaz de identificar eventos de consanguinidade antigos que não foram identificados na estimativa F_{PED} . Scraggs et al. (2014), ao estudarem bovinos puros de origem, encontraram uma média superior na estimativa genômica F_{ROH} em relação à média da estimativa de F_{PED} , comprovando que o índice F_{ROH} fornece informações adicionais sobre consanguinidade recente, quando comparado ao F_{PED} Gomez-Raya et al., (2015).

Dentre as estimativas obtidas a partir de informações genômicas (F_{UNI} , F_{HOM} , F_{GRM} e F_{ROH}), a estimativa de consanguinidade individual baseada em corridas de homozigose - F_{ROH} apresenta-se como uma alternativa mais precisa para se estimar consanguinidade (Marras et al., (2015); Zhang et al. (2015b); Gurgul et al., (2016), uma vez que o índice F_{ROH} é uma medida direta de homozigosidade, e é calculado com informações moleculares e, portanto, é menos suscetível a erros decorrentes de variações amostrais na fase de geração de gametas e

efeitos decorrentes da seleção (Marras et al., 2015), o que não ocorre com as demais estimativas genômicas (F_{GRM} , F_{HOM} e F_{UNI}) influenciadas pela frequência alélica. Dessa forma o índice F_{ROH} demonstra ser uma estimativa mais precisa que a estimativa de consanguinidade a partir de informações de pedigree ou mesmo que outras estimativas genômicas. Portanto, é considerada uma opção viável para a correção de erros de pedigree (Ferenčaković et al., 2011; Marras et al., 2015) e a mais indicada para estimar identidade por descendência – IBD (Zhang et al. 2015).

ROHs e Assinaturas de Seleção

Assinaturas de Seleção podem ser definidas como o resultado das alterações genotípicas causadas em uma determinada população quando esta é submetida a alguma forma de pressão seletiva (Ramey et al. 2013; Sorbolini et al. 2015). São resultantes do aumento da frequência de alelos, em um ou mais genes ou grupos de genes, envolvidos em processos de adaptação da população à resistência a doenças, tolerância ao frio/calor, habilidade materna, entre outros; ou com a finalidade para a qual essa população está sendo selecionada como produção de carne, leite, lã, entre outros. Assim, métodos que permitam a identificação de Assinaturas de Seleção podem levar à detecção de genes envolvidos em processos que afetam a produtividade de animais de interesse zootécnico.

As ROHs geralmente englobam regiões genômicas grandes o suficiente para conter genes ou pacotes de genes, os quais podem estar sob seleção por gerações. Dessa forma, a identificação de ROHs pode auxiliar na visualização e consequente identificação de “padrões” haplotípicos característicos de uma raça ou espécie que foram fixados em consequência de pressões seletivas. A partir de 2007 surgiram os primeiros trabalhos, com humanos, que buscavam identificar ROHs comuns em indivíduos afetados por patologias de mecanismos pouco conhecidos como Alzheimer e Esquizofrenia, visando à identificação de genes associados ao desenvolvimento da doença (Lencz et al., 2007; Nalls et al., 2009). Nos anos seguintes surgiram trabalhos com animais de produção, seguindo o mesmo princípio de identificação de ROHs dos trabalhos com humanos, porém com o objetivo de identificar genes ou pacotes de genes relacionados com a especialização produtiva da população, caracterização da raça ou linhagem dos animais em questão (Metzger et al., 2015; Sorbolini et al., 2015; Zavarez et al., 2015).

Na literatura recente é possível se observar exemplos de trabalhos associando Assinaturas de Seleção, detectadas a partir da análise da frequência e ocorrência de ROHs, com a especialização produtiva dos animais das mais variadas espécies. Fuller et al. (2015) identificaram ROHs relacionadas a características adaptativas como influência da temperatura

do ambiente na produção de mel em espécies comerciais de abelhas. Em bovinos, Pérez O'Brien et al. (2014); Somavilla et al. (2014) e Zavarez et al., (2015) identificaram ROHs em raças zebuínas, associadas ao potencial adaptativo e características reprodutivas e produtivas como ganho de peso, eficiência alimentar, qualidade de carne e deposição de gordura e Kim et al. (2015) identificaram mais de 15 regiões relacionadas à produção de leite, teor de gordura e proteína no leite, em rebanhos da raça Jersey especializados em produção de leite.

Considerações Finais

A identificação de ROHs pode ser utilizada para a caracterização genômica de um rebanho, mostrando-se eficiente para calcular a estimativa genômica de consanguinidade por meio do índice F_{ROH} , ou para identificação de padrões de genes característicos de uma raça ou espécie, estudados em nível genômico e conhecidos como Assinaturas de Seleção. O potencial de ROH para auxiliar as técnicas convencionais de produção animal é imenso e, com o aumento exponencial dos dados genômicos, fornecidos pelas novas tecnologias de genotipagem e de outras tecnologias em desenvolvimento, a tendência é que outras aplicações para ROH sejam desenvolvidas em um curto prazo, podendo assim, contribuir para diversas áreas da produção animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Mamun, Hawlader Abdullah, Samuel A Clark, Paul Kwan, and Cedric Gondro. 2015. "Genome-Wide Linkage Disequilibrium and Genetic Diversity in Five Populations of Australian Domestic Sheep." *Genetics, selection, evolution: GSE* 47(1): 90. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/90>.
- Arias, Juan a et al. 2009. "A High Density Linkage Map of the Bovine Genome." *BMC genetics* 10: 18. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2680908&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Aroeira, Carolina N. et al. 2016. "Freezing, Thawing and Aging Effects on Beef Tenderness from Bos Indicus and Bos Taurus Cattle." *Meat Science* 116: 118–25. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016300237>.
- Bertolini, Francesca et al. 2016. "Evidence of Selection Signatures That Shape the Persian Cat Breed." *Mammalian Genome* 27(3): 144–55.
- Beynon, Sarah E. et al. 2015. "Population Structure and History of the Welsh Sheep Breeds Determined by Whole Genome Genotyping." *BMC Genetics* 16(1): 65. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/16/65>.
- Bosse, Mirte et al. 2012. "Regions of Homozygosity in the Porcine Genome: Consequence of Demography and the Recombination Landscape." *PLoS genetics* 8(11): e1003100. <http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1003100#s4>.
- Broman, Karl W, and James L Weber. 1999. "Long Homozygous Chromosomal Segments in Reference Families from the Centre d'Etude Du Polymorphisme Humain." *American journal of human genetics* 65(6): 1493–1500. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1288359&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Caetano, Alexandre Rodrigues. 2009. "Marcadores SNP: Conceitos Básicos, Aplicações No Manejo E No Melhoramento Animal E Perspectivas Para O Futuro." *Revista Brasileira de Zootecnia* 38(SUPPL. 1): 64–71.
- Curik, Ino, Maja Ferenčaković, and Johann Sölkner. 2014. "Inbreeding and Runs of Homozygosity: A Possible Solution to an Old Problem." *Livestock Science* 166(1): 26–34. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060#>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060/pdf?md5=1506b3e92c5d45d8a4f82b29e6fe2409&pid=1-s2>.
- Falconer, Douglas S, and Trudy F C Mackay. 1996. 12 Trends in Genetics *Introduction to*

- Quantitative Genetics (4th Edition)*. <http://www.amazon.com/Introduction-Quantitative-Genetics-Douglas-Falconer/dp/0582243025>.
- Ferenčaković, M. et al. 2013. “Estimates of Autozygosity Derived from Runs of Homozygosity: Empirical Evidence from Selected Cattle Populations.” *Journal of Animal Breeding and Genetics* 130(4): 286–93. <http://doi.wiley.com/10.1111/jbg.12012>.
- Ferenčaković, Maja et al. 2011. “Runs of Homozygosity Reveal Genome-Wide Autozygosity in the Austrian Fleckvieh Cattle.” *Agriculturae Conspectus Scientificus*.
- Ferenčaković, Maja, Johann Sölkner, and Ino Curik. 2013. “Estimating Autozygosity from High-Throughput Information: Effects of SNP Density and Genotyping Errors.” *Genetics, selection, evolution : GSE* 45: 42. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4176748&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Fuller, Zachary L et al. 2015. “Genome-Wide Analysis of Signatures of Selection in Populations of African Honey Bees (*Apis Mellifera*) Using New Web-Based Tools.” *BMC genomics* 16: 518. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4496815&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Georges, M., and L. Andersson. 2003. “Positional Identification of Structural and Regulatory Quantitative Trait Nucleotides in Domestic Animal Species.” *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 68: 179–87.
- Gibson, Jane, Newton E. Morton, and Andrew Collins. 2006. “Extended Tracts of Homozygosity in Outbred Human Populations.” *Human Molecular Genetics* 15(5): 789–95. <http://www.hmg.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/hmg/ddi493>.
- Goddard, Michael E, Naomi R. Wray, Klara Verbyla, and Peter M. Visscher. 2009. “Estimating Effects and Making Predictions from Genome-Wide Marker Data.” *Statistical Science* 24(4): 517–29. <http://arxiv.org/abs/1010.4710>.
- Gomez-Raya, Luis, Carmen Rodríguez, Carmen Barragán, and Luis Silió. 2015. “Genomic Inbreeding Coefficients Based on the Distribution of the Length of Runs of Homozygosity in a Closed Line of Iberian Pigs.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 81. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/81>.
- Gurgul, A. et al. 2016. “The Use of Runs of Homozygosity for Estimation of Recent Inbreeding in Holstein Cattle.” *Journal of Applied Genetics* 57(4): 527–30.
- Howard, Jeremy T., Mekonnen Haile-Mariam, Jennie E. Pryce, and Christian Maltecca. 2015. “Investigation of Regions Impacting Inbreeding Depression and Their Association with the Additive Genetic Effect for United States and Australia Jersey Dairy Cattle.” *BMC Genomics* 16(1): 813. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/813>.
- Howrigan, Daniel P, Matthew A Simonson, and Matthew C Keller. 2011. “Detecting Autozygosity through Runs of Homozygosity: A Comparison of Three Autozygosity Detection Algorithms.” *BMC genomics* 12(1): 460. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/460>.
- Hudson, Nicholas J, Laercio Porto-Neto, James W Kijas, and Antonio Reverter. 2015. “Compression Distance Can Discriminate Animals by Genetic Profile, Build Relationship Matrices and Estimate Breeding Values.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 78. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/78>.

- Kim, Eui-Soo et al. 2013. “Effect of Artificial Selection on Runs of Homozygosity in U.S. Holstein Cattle.” *PLoS ONE* 8(11): e80813. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0080813>.
- Kim, Eui-Soo, Tad S Sonstegard, and Max F Rothschild. 2015. “Recent Artificial Selection in U.S. Jersey Cattle Impacts Autozygosity Levels of Specific Genomic Regions.” *BMC Genomics* 16(1): 302. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/302>.
- Lencz, Todd et al. 2007. “Runs of Homozygosity Reveal Highly Penetrant Recessive Loci in Schizophrenia.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(50): 19942–47.
- Liu, Yue et al. 2009. “Bos Taurus Genome Assembly.” *BMC genomics* 10: 180.
- Marras, Gabriele et al. 2015. “Analysis of Runs of Homozygosity and Their Relationship with Inbreeding in Five Cattle Breeds Farmed in Italy.” *Animal Genetics* 46(2): 110–21. <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12259>.
- Mastrangelo, S. et al. 2016. “Genomic Inbreeding Estimation in Small Populations: Evaluation of Runs of Homozygosity in Three Local Dairy Cattle Breeds.” *Animal*: 1–9. http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1751731115002943.
- McQuillan, Ruth et al. 2008. “Runs of Homozygosity in European Populations.” *American journal of human genetics* 83(3): 359–72. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2556426&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Metzger, Julia et al. 2015. “Runs of Homozygosity Reveal Signatures of Positive Selection for Reproduction Traits in Breed and Non-Breed Horses.” *BMC Genomics* 16(1): 764. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/764>.
- Meuwissen, T. H E, B. J. Hayes, and M. E. Goddard. 2001. “Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps.” *Genetics* 157(4): 1819–29.
- Nalls, M A et al. 2009. “Extended Tracts of Homozygosity Identify Novel Candidate Genes Associated with Late-Onset Alzheimer’s Disease.” *Neurogenetics* 10(3): 183–90. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2908484&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Nascimento, M.L. et al. 2016. “Feed Efficiency Indexes and Their Relationships with Carcass, Non-Carcass and Meat Quality Traits in Nellore Steers.” *Meat Science* 116: 78–85. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016300134>.
- Oliveira, Ronaldo Lopes, and Marco Aurélio A. F. Barbosa. 2007. *Bovinocultura de Corte*. ed. Editora da UFBA. Salvador.
- Pemberton, Trevor J. et al. 2012. “Genomic Patterns of Homozygosity in Worldwide Human Populations.” *The American Journal of Human Genetics* 91(2): 275–92. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929712003230>.
- Pérez O’Brien, Ana M et al. 2014. “Assessing Signatures of Selection through Variation in Linkage Disequilibrium between Taurine and Indicine Cattle.” *Genetics Selection Evolution* 46(1).
- Peripolli, E. et al. 2016. “Runs of Homozygosity: Current Knowledge and Applications in Livestock.” *Animal Genetics* (Wright 1922). <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12526>.
- Pértile, Simone Fernanda Nedel, Fabyano Fonseca e Silva, Mayara Salvian, and Gerson Barreto Mourão. 2016. “Seleção E Associação O Genômica Ampla Para O Melhoramento

- Genético Animal Com Uso Do Método ssGBLUP.” *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 51(10): 1729–36.
- Purfield, Deirdre C, Donagh P Berry, Sinead McParland, and Daniel G Bradley. 2012. “Runs of Homozygosity and Population History in Cattle.” *BMC genetics* 13(1): 70. BMC Genetics.
- Ramalho, M. A. P., J. B. Santos, and C. A. B. P. Pinto. 2000. *Genética Na Agropecuária*. segunda ed. Lavras: Editora UFLA.
- Ramey, Holly R et al. 2013. “Detection of Selective Sweeps in Cattle Using Genome-Wide SNP Data.” *BMC Genomics* 14(1): 382. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/382>.
- Randhawa, Imtiaz A S, Mehar S Khatkar, Peter C Thomson, and Herman W Raadsma. 2016. “A Meta-Assembly of Selection Signatures in Cattle.” : 1–31.
- Reverter, A, M R S Fortes, and P Kasarapu. 2017. “Genomic Inbreeding Depression for Climatic Adaptation of Tropical Beef Cattle 1.” *American Society of Animal Science*: 3809–21.
- S, Wright. 1948. “Genetics Fo Populations.” *Encyclopaedia Britannica*: 111-NaN-NaN-112.
- Santos, R. 1998. “O Zebu” *Edição Comemorativa Dos 60 Anos de Registro Genealógico Da ABCZ*. Uberaba: Editora Agropecuária Tropical.
- . 2000. *Nelore: A Vitória Brasileira*. Uberaba: Editora Agropecuária Tropical.
- Saura, María et al. 2015. “Detecting Inbreeding Depression for Reproductive Traits in Iberian Pigs Using Genome-Wide Data.” *Genetics, selection, evolution: GSE* 47: 1. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4297446&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Scraggs, E. et al. 2014. “Estimation of Inbreeding and Effective Population Size of Full-Blood Wagyu Cattle Registered with the American Wagyu Cattle Association.” *Journal of Animal Breeding and Genetics* 131(1): 3–10.
- Da Silva, Joaquim Manoel et al. 2015. “Genomic Variants Revealed by Invariably Missing Genotypes in Nelore Cattle.” *PLoS ONE* 10(8): 1–18.
- Somavilla, A L et al. 2014. “A Genome-Wide Scan for Selection Signatures in Nellore Cattle.” *Animal genetics* 45(6): 771–81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25183526>.
- Sorbolini, Silvia et al. 2015. “Detection of Selection Signatures in Piemontese and Marchigiana Cattle, Two Breeds with Similar Production Aptitudes but Different Selection Histories.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 52. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/52>.
- Szmatoła, Tomasz et al. 2016. “Characteristics of Runs of Homozygosity in Selected Cattle Breeds Maintained in Poland.” *Livestock Science* 188: 72–80.
- VanRaden, P. M. 1992. “Accounting for Inbreeding and Crossbreeding in Genetic Evaluation of Large Populations.” *Journal of Dairy Science* (3): 3136–44.
- VanRaden, P.M. 2008. “Efficient Methods to Compute Genomic Predictions.” *Journal of Dairy Science* 91(11): 4414–23. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030208709901>.
- Wolc, Anna et al. 2015. “Response and Inbreeding from a Genomic Selection Experiment in Layer Chickens.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 59. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/59>.

- Wright, Sewall. 1922. "Coefficients of Inbreeding and Relationship." *The American Naturalist* 56(645): 330–38.
- Yang, Jian, S. Hong Lee, Michael E. Goddard, and Peter M. Visscher. 2011. "GCTA: A Tool for Genome-Wide Complex Trait Analysis." *American Journal of Human Genetics* 88(1): 76–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.11.011>.
- Zavarez, Ludmilla B. et al. 2015. "Assessment of Autozygosity in Nellore Cows (*Bos Indicus*) through High-Density SNP Genotypes." *Frontiers in Genetics* 6(January): 1–8. <http://journal.frontiersin.org/journal/10.3389/fgene.2015.00005/abstract>.
- Zhang, Qianqian, Mario PI Calus, et al. 2015. "Estimation of Inbreeding Using Pedigree, 50k SNP Chip Genotypes and Full Sequence Data in Three Cattle Breeds." *BMC genetics* 16(1): 88. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/16/88>.
- Zhang, Qianqian, Bernt Guldbbrandtsen, et al. 2015. "Runs of Homozygosity and Distribution of Functional Variants in the Cattle Genome." *BMC Genomics* 16(1): 542. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/542>.

CAPÍTULO II

Influência dos Fatores “Tamanho Mínimo de Corrida” e “Número Máximo de Heterozigotos Permitidos” na Estimativa de Corridas em Homozigose, visando à identificação de Assinaturas de Seleção na Raça Nelore e Caracterização dessas Corridas.

RESUMO

A raça Nelore pode ser considerada, atualmente, a de maior representatividade para a pecuária brasileira de corte. O uso intensivo de métodos de reprodução assistida, observado nas últimas décadas, resultou na utilização de um baixo número de reprodutores pelos programas de melhoramento genético dessa raça e identificar quais pacotes de genes favoráveis e desfavoráveis à produção que foram consequentemente fixados nessa raça, poderá contribuir para traçar diretrizes a serem seguidas pelos programas de melhoramento em andamento. As corridas em homozigose - ROH (do inglês *Runs of Homozygosity*) podem ser identificadas mediante análise de dados de genotipagem gerados com painéis de SNPs. A análise das ROHs pelo genoma pode fornecer informações sobre características genômicas, taxa de recombinação, direção de seleção ou evidenciar relação entre populações distintas. O objetivo deste trabalho é comparar os fatores (tamanho mínimo de corrida e número máximo de heterozigotos permitidos) mais adequados para estimar ROHs em uma população de bovinos da raça Nelore e caracterizá-la. O comprimento mínimo de 200 SNPs com 2 heterozigotos permitidos demonstrou ser a configuração mais adequada para a estimativa de ROHs visando à identificação de Assinaturas de Seleção nesta população de bovinos da raça Nelore. As características das 120.707 ROHs observadas sugerem a presença de eventos de consanguinidade recentes, devido à alta incidência de trechos longos, presentes em grande parte dos animais estudados (84,55%) e eventos antigos, devido à alta proporção de trechos curtos (96,23% de todas as ROHs identificadas abaixo de 10Mb). Os resultados encontrados mostraram-se em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

Palavras-chave: Assinaturas de Seleção, Corridas em Homozigose, Nelore.

ABSTRACT

The Nelore breed can be considered, today, the most representative of Brazilian beef cattle. The intensive use of assisted reproduction methods, observed in the last decades, has resulted in the use of a low number of breeding herds in breeding programs of this breed and identify production favorable and unfavorable groups of genes was, consequently, fixed in this breed, can contribute to the development of ways to be followed by ongoing breeding programs. Runs of Homozygosity (ROH) can be identified by analyzing genotyping data obtained with SNPs panels. The analysis of the ROHs distributed by the genome can provide information about genomic characteristics, recombination rate, direction of selection or evidence relationship between distinct populations. The objective of this work is to compare the factors (minimum length size and maximum number of heterozygotes) best to estimate ROHs in a Nelore cattle population and to characterize it. The minimum length of 200 SNPs with 2 allowed heterozygotes proved to be the best configuration for the estimation of ROHs for the identification of Nelore Breed Selection Signatures for this sample. The characteristics of the 120.707 ROHs observed suggest the presence of recent inbreeding events due to the high incidence of long stretches, present in most of the animals studied (84.55%) and old events, due to the high proportion of short stretches (96.23 % of all ROHs identified below 10Mb). The results found were similar to those described previously and in accordance with the expected, due to the characteristics of the studied population.

Keywords: Signatures Selection, Runs of Homozygosity, Nelore.

1. INTRODUÇÃO

As corridas em homozigose - ROH (do inglês *Runs of Homozygosity*) podem ser definidas como longos trechos ininterruptos do genoma que apresentam genótipos em homozigose (Lencz et al. 2007). ROHs podem ser identificadas mediante análise de dados de genotipagem gerados com painéis de SNPs, preferencialmente em alta densidade (acima de 50.000 SNPs) e sua correta identificação depende, além da densidade do chip utilizado, do controle de fatores como a qualidade da genotipagem, o tamanho mínimo das ROHs e número de heterozigotos permitidos (Ferenčaković et al. 2013). Sua distribuição pelo genoma, não ocorre de forma aleatória e não é uniforme, sendo fortemente dependente das taxas de recombinação e mutação locais (Bosse et al. 2012) e de outras forças evolutivas como a seleção e deriva genética (Ramey et al. 2013).

A análise do tamanho e da posição e frequência das ROHs pelo genoma pode fornecer informações sobre características genômicas, taxa de recombinação, direção de seleção ou evidenciar relação entre populações distintas (Bosse et al., 2012; Metzger et al., 2015). Análises secundárias das ROHs observadas podem ser utilizadas para caracterização da demografia (Bosse et al. 2012), estrutura e histórico evolutivo de uma população (Metzger et al., 2015; Sorbolini et al., 2015; Zavarez et al., 2015), além da estimativa genômica de parentesco e autozigosidade, individual e populacional (Saura et al., 2015; Peripolli et al., 2016).

Em animais de produção são esperados longos trechos de ROHs como consequência dos processos de seleção artificial e tamanhos efetivos populacionais (N_e) reduzidos (Curik et al. 2014). Raças e linhagens especializadas de animais de produção passaram e continuam sendo submetidas à intensa seleção de pacotes de alelos com efeito positivo sobre características produtivas, reprodutivas ou de padrão racial e, devido a isso, é comum se encontrar altas taxas de endogamia e, conseqüentemente, ROHs distribuídas em abundância pelo genoma e presentes em altas frequências nas populações estudadas (Zavarez et al., 2015; Zhang et al., 2015a). ROHs extensas podem indicar pressões seletivas intensas,

devido à redução da variabilidade genética (Metzger et al. 2015), ou eventos de consanguinidade recentes em uma população (Al-Mamun et al. 2015), enquanto que ROHs curtas sugerem perda de diversidade genética, seja por efeito gargalo ou fundador (Al-Mamun et al. 2015) ou eventos de consanguinidade antigos na população (Howrigan et al. 2011).

A raça Nelore pode ser considerada a de maior representatividade para a pecuária brasileira pois, com mais de 200 milhões de cabeças. O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e, sua grande maioria (cerca de 80%), é pertencente ao sub-gênero *indicus* e, quase a totalidade destes (90%), é composta de animais puros da raça Nelore ou animais cruzados (Aroeira et al., 2016; Nascimento et al., 2016). O uso intensivo de métodos de reprodução assistida, como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a fertilização *in vitro* (FIV), observado nas últimas décadas, resultou na utilização de em um baixo número de reprodutores pelos programas de melhoramento genético dessa raça (Zavarez et al., 2015). Dessa forma, identificar em nível molecular quais pacotes de genes favoráveis e desfavoráveis à produção que foram conseqüentemente fixados nessa raça, poderá contribuir para traçar diretrizes a serem seguidas pelos programas de melhoramento em andamento.

O objetivo deste trabalho é comparar os fatores (tamanho mínimo de corrida e número máximo de heterozigotos permitidos) mais adequados para se estimar ROHs em uma população de bovinos da raça Nelore e caracterizá-las.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Comitê de Ética

A submissão a um comitê de ética não foi necessária já que os dados analisados provêm de coletas rotineiras de rebanhos comerciais e, portanto, nenhum animal foi manipulado, especificamente para esse estudo.

População e Genotipagem

As análises foram realizadas utilizando-se dados de genotipagem de amostras de DNA provenientes de 1.709 bovinos machos da raça Nelore, derivados de um programa comercial de melhoramento focado na seleção para ganho de peso a pasto, alta precocidade sexual e qualidade de carcaça.

O DNA foi extraído de amostras de sêmen de touros pertencentes a empresas comerciais e de sangue de animais em rebanhos comerciais, testados rotineiramente. As amostras foram genotipadas com o chip de alta densidade Illumina BovineHD Genotyping BeadChip, com mais de 777.000 SNP, por laboratório comercial terceirizado.

Qualidade e Análise dos Dados

O controle de qualidade dos dados genômicos foi realizado com o software SNP & Variation Suite v.8.4.1 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA. <http://www.goldenhelix.com>). Todos os animais com taxa de genotipagem (*call rate*) menor que 90% foram excluídos das análises. Todos os marcadores com taxa de genotipagem menor do que 98% foram também excluídos das análises. O filtro MAF (*Minor allele frequency*) não foi aplicado a esta população pois o objetivo era detectar trechos em homozigose e este filtro é indicado para identificar polimorfismos raros em uma população (Consortium 2005). O teste para equilíbrio de Hardy-Weinberg não se aplica a estes dados por se tratar de uma população submetida à seleção direcional.

Estimativa das ROHs

O SVS permite que o usuário estabeleça valores de alguns fatores como: tamanho mínimo da ROH (em SNPs ou pares de bases); número máximo de heterozigotos permitidos; número máximo de genotipagens perdidas, GAP máximo entre SNPs e densidade mínima. Para a definição dos critérios para estimativa de ROHs, diferentes tamanhos mínimos de ROH (50, 100, 150, 200 e 250 SNPs) foram utilizados assim como dois diferentes números de heterozigotos máximos permitidos (0 e 2) para cada tamanho mínimo de ROH, perfazendo um total de 10 combinações distintas. Os demais critérios para a estimativa de ROHs não variaram entre as 10 combinações, sendo eles: um máximo de 5 genotipagens perdidas, intervalos (ou “GAP”) inferiores a 500kb entre SNPs e uma densidade mínima de 1 SNP para cada 100Kb.

Considerando estes critérios, o programa analisou os trechos em homozigose em dois passos e com algoritmos distintos. O primeiro algoritmo foi utilizado para buscar por todo o cromossomo todos os possíveis trechos em homozigose de acordo com os parâmetros pré-estabelecidos. Este algoritmo considera todo SNP em homozigose como um possível início de uma nova ROH após classificara situação de cada SNP em “homozigose”, “heterozigose” ou “genotipagem perdida”. O resultado gerado contém o conjunto de trechos com número de SNP em homozigose maiores que o especificado, para cada cromossomo de cada indivíduo. O segundo algoritmo foi utilizado para agrupar os trechos em homozigose identificados pelo primeiro algoritmo em conjuntos ou “*clusters*”, fornecendo uma lista com o número mínimo de indivíduos que contêm trechos em homozigose em comum.

As estimativas de ROHs foram obtidas com o software SNP & Variation Suite v.8.4.1 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA. <http://www.goldenhelix.com>). As análises de distribuição dos dados foram realizadas utilizando o software livre R v.3.2.2 (R Development Core Team, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>) e a construção e representação dos gráficos foram realizadas utilizando o software Genome Browse (Golden Helix, Bozeman, MT, USA. <http://goldenhelix.com/products/GenomeBrowse/index.html>). Para as análises descritas neste experimento foram utilizados os dados de posição dos marcadores provenientes dos 29 pares de autossomos bovinos na montagem referência UMD 3.1 (Liu et al., 2009). Os dados do cromossomo X não foram utilizados pois a amostra foi composta exclusivamente de machos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados

Controle de Qualidade

Após a aplicação dos critérios de controle de qualidade, foram descartados 32 animais (1,87%) e 141.448 marcadores (18,18%), permanecendo ativos para as análises 1.677 animais e 636.514 SNPs.

Estimativa das ROHs

Após a realização das estimativas de ROH para as 10 combinações distintas, foram obtidos valores diferentes das quantidades de ROHs estimadas e do tamanho mínimo de ROH, de acordo com o número mínimo de SNPs pré-fixados por ROH ou o número máximo de heterozigotos permitidos. O tamanho máximo de ROH variou somente de acordo com o número máximo de heterozigotos permitidos (Tabela 2.1).

Combinação	Nº SNPs	Nº Max het permitidos	Nº ROHs estimadas	Tamanho mínimo de ROH (pb)	Tamanho max de ROH (pb)
1	50	0	1.859.568	57.470	54.251.568
2	50	2	3.441.121	55.546	73.776.661
3	100	0	424.142	147.739	54.251.568
4	100	2	780.602	149.451	73.776.661
5	150	0	160.978	249.427	54.251.568
6	150	2	263.470	242.850	73.776.661
7	200	0	89.279	342.764	54.251.568
8	200	2	120.707	342.764	73.776.661
9	250	0	63.263	469.088	54.251.568
10	250	2	73.024	505.581	73.776.661

Tabela 2.1. Número total, tamanho mínimo e máximo para as 10 combinações distintas de critérios para a identificação de ROHs.

Identificação dos Fatores mais Adequados

A representação gráfica das ROHs comuns por SNPs das 10 combinações distintas dos parâmetros avaliados, estão dispostas nas Figuras 2.1 a 2.10.

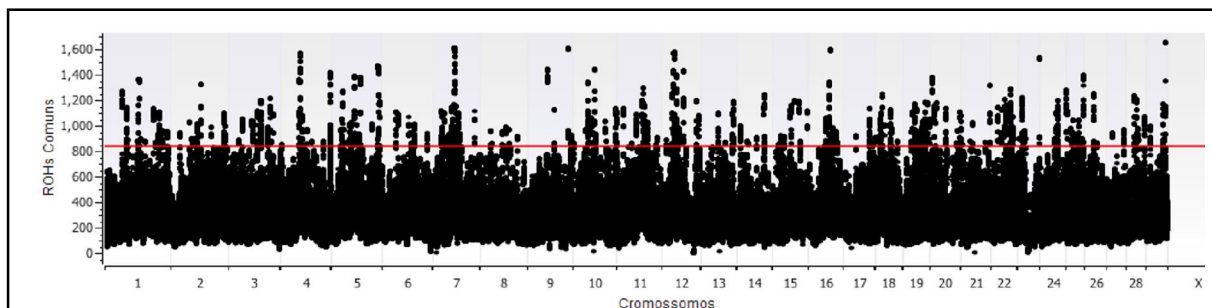


Figura 2.1. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 50 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

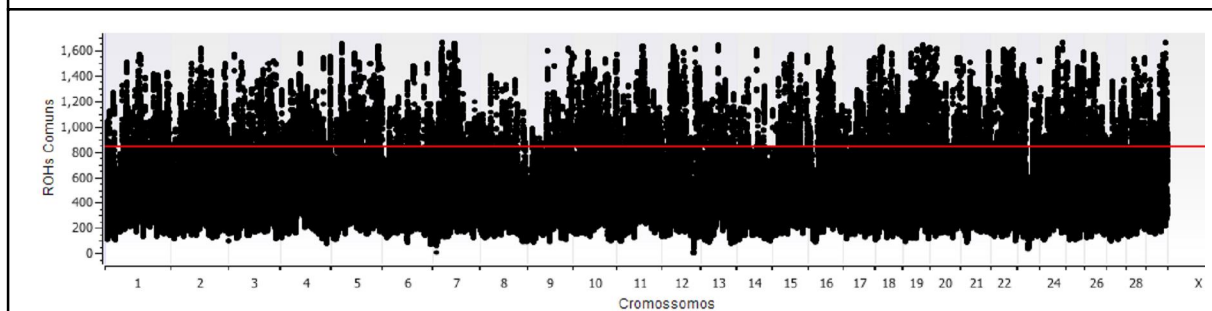


Figura 2.2. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 50 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

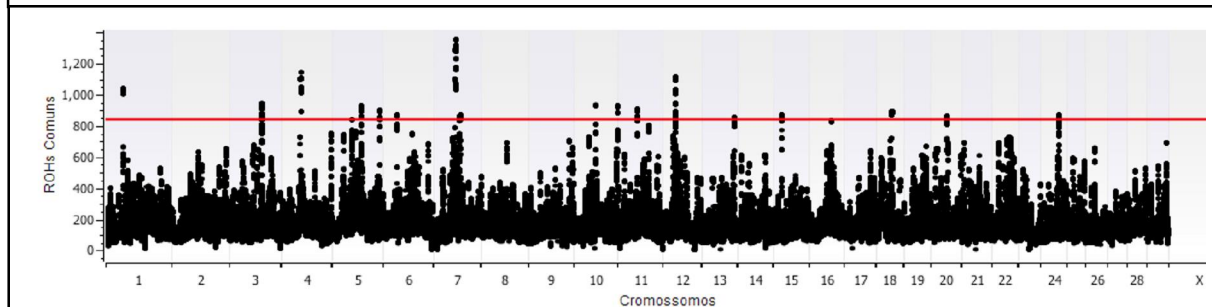


Figura 2.3. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 100 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

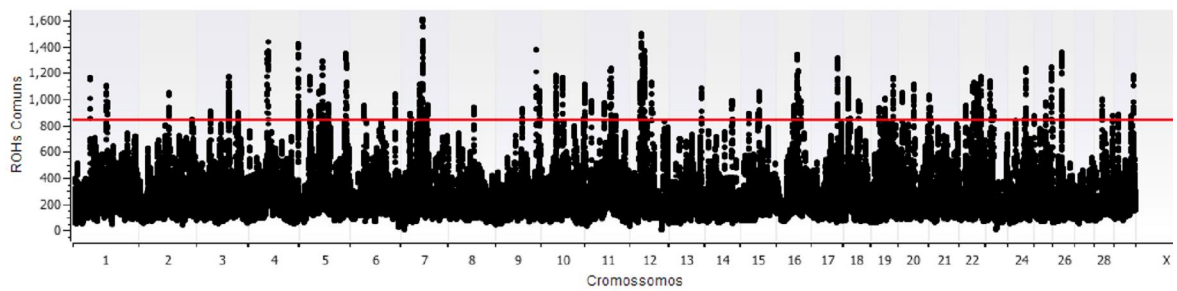


Figura 2.4. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 100 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

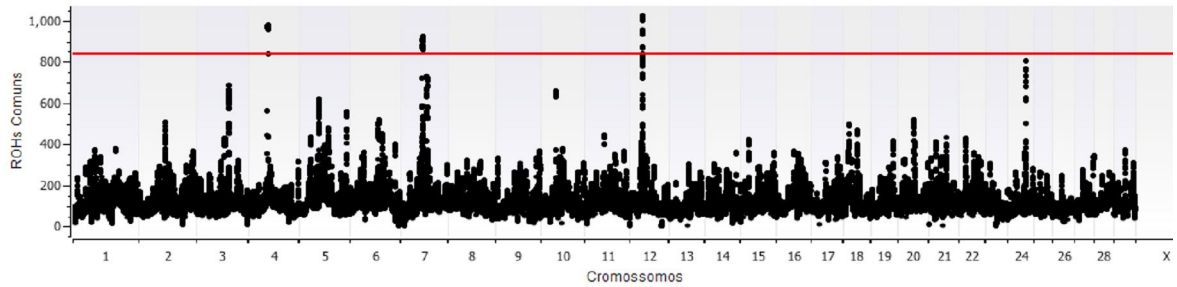


Figura 2.5. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 150 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

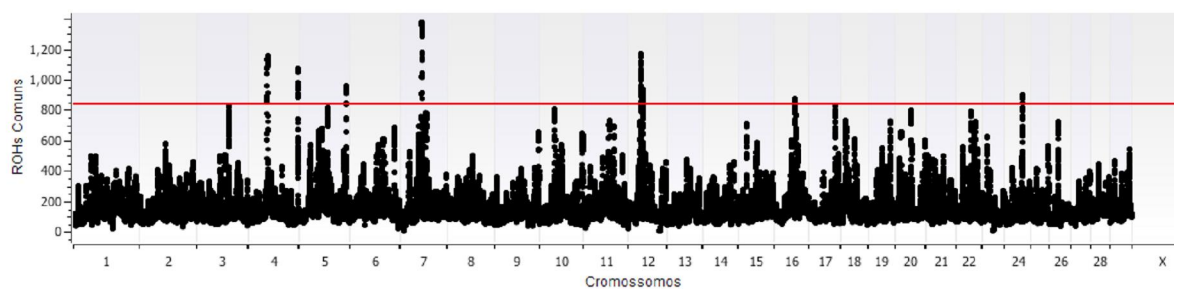


Figura 2.6. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 150 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

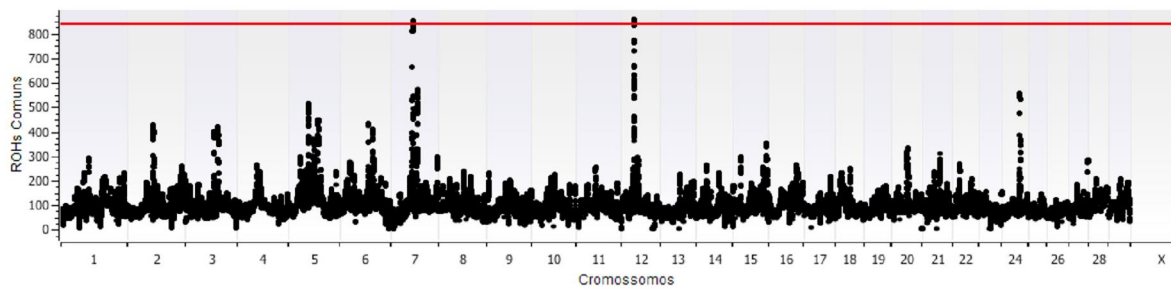


Figura 2.7. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 200 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

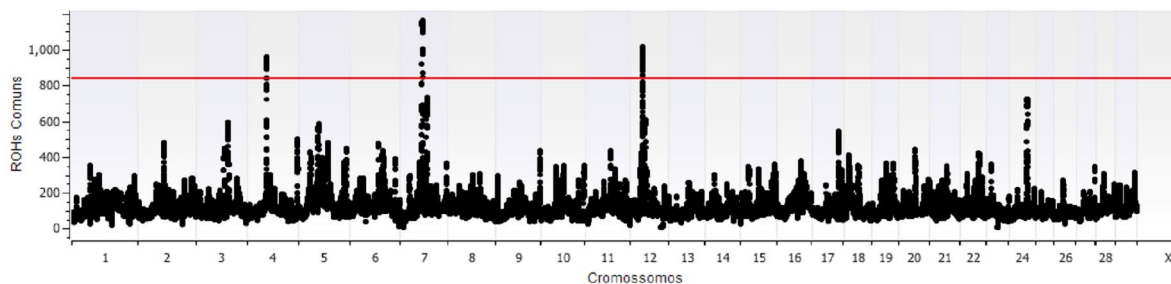


Figura 2.8. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 200 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

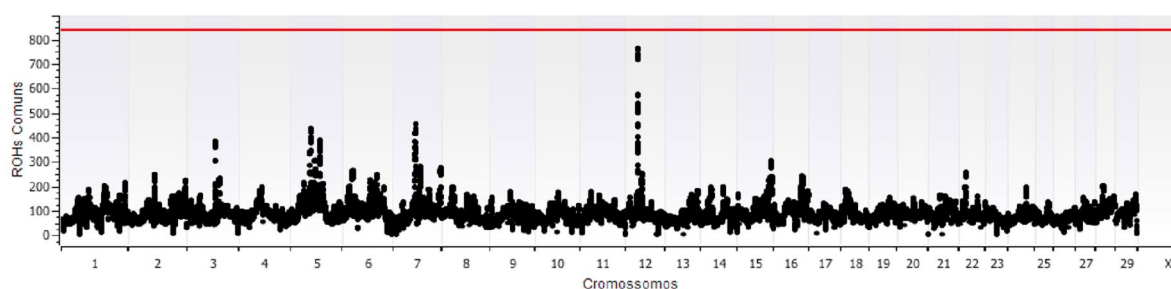


Figura 2.9. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 250 SNPs e um máximo de 0 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

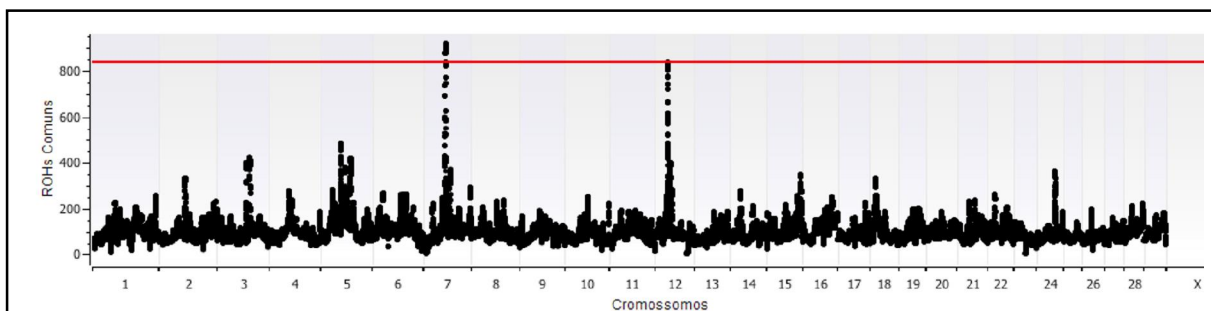


Figura 2.10. Representação gráfica (Manhattan plot) da distribuição de ROHs comuns por SNP em uma população de bovinos da raça Nelore, para os critérios: tamanho mínimo de 250 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos. A linha de corte representa 50% dos animais (838 indivíduos).

Caracterização e Distribuição das ROHs Identificadas com Tamanho Mínimo de 200 SNPs com um Máximo de 2 Heterozigotos Permitidos

Com a configuração de 200 SNPs e 2 heterozigotos permitidos, foram detectados 120.707 segmentos de ROHs, com tamanhos mínimo e máximo de 0,34 e 73,77Mb, respectivamente, valor de média de 2,37Mb e mediana de 1,16Mb. Desse total 96,23% apresentam tamanho inferior a 10Mb, sendo que 38% dessas apresentam tamanho inferior a 1Mb; 73,04% com tamanho inferior a 2Mb e 86,24% de todas as ROHs inferior a 4Mb (Figura 2.11). Porém, 1.418 animais (84,55% da população estudada) apresentavam pelo menos uma ROH maior que 10Mb.

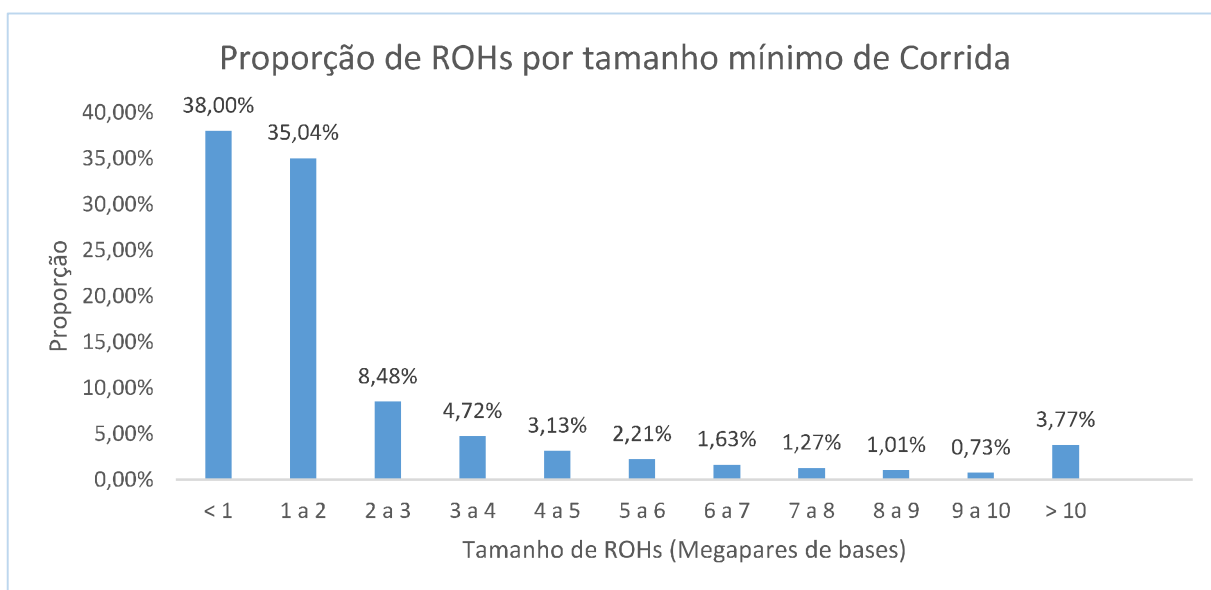


Figura 2.11. Representação gráfica da proporção de ROHs de acordo com seu tamanho em Mb.

3.2 Discussão

Controle de Qualidade

A correta identificação de ROHs depende, dentre outros fatores, da qualidade da genotipagem que pode comprometer a estimativa (Ferenčaković et al. 2013). Após a aplicação dos filtros e eliminação dos indivíduos e dos marcadores que não atingiram a taxa mínima de genotipagem pré-determinada, 98,13% dos indivíduos (1677) e 81,82% dos marcadores (636.514) permaneceram para a análise, sugerindo boa qualidade na genotipagem desta população, semelhante a encontrada por Zavarez et al. (2015), que trabalhando com uma população de Nelores, genotipada com chip de alta densidade, obteve cerca de 86% dos marcadores (668.589) após a aplicação do mesmo filtro, com os mesmos critérios, em sua população.

Outro fator a ser considerado na identificação das ROHs é o tipo de chip utilizado na obtenção dos dados, pois a ampla cobertura do genoma permite a identificação de um maior número de ROHs (Purfield et al. 2012; Zhang et al., 2015a). Atualmente, é possível encontrar painéis de SNP de alta densidade para diversas espécies de interesse zootécnico como: bovinos, ovinos, equinos, suínos, aves e cães (<https://www.illumina.com>). Os 636.514 SNPs que foram analisados neste trabalho permitem uma cobertura ampla satisfatória do genoma, mesmo para identificação de ROHs mais curtas, visto que, em trabalhos que testaram a cobertura necessária do genoma para correta identificação de ROH foi sugerida a utilização de densidades superiores a 50.000 SNPs para detectar ROHs menores que 5Mb. (Purfield et al. (2012); Zhang et al., (2015a).

Estimativas de ROH

O tamanho mínimo das corridas e o número máximo de heterozigotos permitidos podem influenciar a estimativa das ROHs (Ferenčaković et al. 2013) e a modificação nesses critérios de estimativa resultam na formação de quantidades distintas de ROHs. Considerando que o número de ROHs identificadas aumenta conforme se diminui o tamanho mínimo de corrida ou a exigência do número de heterozigotos permitidos, foi observada neste trabalho uma variação de cerca de 5.400% dentre as 10 combinações testadas.

Em relação ao tamanho máximo das ROHs estimadas, somente o parâmetro “número máximo de heterozigotos permitidos”, apresentou variação nos resultados obtidos, sendo que para todas as estimativas que permitiram um máximo de 0 heterozigotos, seus valores foram cerca de 26% menor do que as que exigiram um máximo de 2 heterozigotos,

independente do parâmetro “tamanho mínimo de ROH” exigido.

Para tamanho mínimo das ROHs os dois parâmetros testados apresentaram variação no número de ROHs estimadas, sendo que o parâmetro “número máximo de heterozigotos permitidos”, apresentou variações de 0 a 8%, e o parâmetro “tamanho mínimo de ROH” apresentou variações de 139 a 263%, indicando uma grande influência deste último parâmetro no tamanho mínimo das ROHs estimadas.

Esses resultados mostram que os dois parâmetros testados exercem influência na estimativa de ROHs, conforme citado na literatura, sendo que o parâmetro “número máximo de heterozigotos permitidos”, demonstrou uma maior influência no tamanho máximo e número total das ROHs estimadas, enquanto que o parâmetro “tamanho mínimo de ROH” demonstrou maior influência no tamanho mínimo e, também, no número total das ROHs estimadas.

Identificação dos Fatores mais Adequados

Assinaturas de Seleção podem ser definidas como o resultado das alterações genóticas causadas em uma determinada população quando esta é submetida a alguma forma de pressão seletiva (Ramey et al. 2013) (Sorbolini et al. 2015). A formação e distribuição das ROHs pelo genoma pode ser influenciada pela seleção direcional (Pemberton et al. 2012), comum em raças e linhagens especializadas de animais de produção, que são submetidas à intensa seleção de pacotes de alelos com efeito positivo sobre características produtivas, reprodutivas ou de padrão racial. As ROHs geralmente englobam regiões genômicas grandes o suficiente para conter genes ou pacotes de genes, os quais podem estar sob seleção por gerações. Na literatura recente é possível observar exemplos de trabalhos associando Assinaturas de Seleção, detectadas a partir da análise da frequência e ocorrência de ROHs, com a especialização produtiva dos animais das mais variadas espécies (Fuller et al., 2015).

Considerando o método de estimativa de ROH utilizado neste trabalho, não é possível que um mesmo SNP esteja presente em mais de uma ROH, em um mesmo indivíduo. Portanto, ao se observar que um SNP está presente em N ROHs, significa que este SNP está presente em N ROHs de N indivíduos distintos. Dessa forma a análise da distribuição das ROHs comuns por SNPs na população pode indicar a presença de regiões conservadas nos indivíduos e, dependendo do número de indivíduos, na população. Isto posto é possível observar, nas Figuras 2.1 à 2.10, regiões conservadas na população devido à incidência de ROHs comuns na a mais de 50% dos animais analisados.

Considerando a grande variação dos dois fatores estudados, a escolha dos parâmetros adequados para a estimativa de ROHs deve atender a um objetivo final que, neste

caso, é a possibilidade de identificação de Assinaturas de Seleção a partir de ROHs comuns. Ao se aumentar a exigência dos parâmetros de estimativas de ROH, o número de ROHs comuns diminui sistematicamente, sendo que, a visualização de regiões conservadas no genoma é dificultada em estimativas pouco restritivas, onde o elevado número de ROHs comuns impede a visualização de regiões conservadas (Figura 2.1 e 2.2). Em contrapartida a utilização de parâmetros muito restritivos só permite a visualização de áreas extremamente conservadas na população (Figura 2.9 e 2.10). Portanto, a identificação dos parâmetros mais adequados para atender ao seu objetivo requer um equilíbrio entre o número de ROHs estimadas e a representatividade das ROHs comuns, na população. A Figura 2.8 (tamanho mínimo de 200 SNPs com um máximo de 2 heterozigotos permitidos) aparentemente explicita este equilíbrio, permitindo a visualização de 3 regiões presentes em mais de 50% do rebanho, de forma clara, destacando-se das demais regiões comuns.

Caracterização e Distribuição das ROHs Identificadas

Segundo (Howrigan et al. 2011) existe uma relação direta entre o tamanho da ROH e o número de gerações desde o ancestral comum. Dentre as 120.707 ROHs identificadas com tamanho mínimo de 200 SNPs e com um máximo de 2 heterozigotos permitidos, pode-se observar, que 38% tem comprimento menor que 1Mpb, cobrindo, em média, um total de 514.317 pb do genoma. Por outro lado, apenas 3,77% das ROHs identificadas possuem comprimento maior que 10 Mb, cobrindo, em média, um total de 51.871.929 pb do genoma, e podem ser observadas em 84,55% da população estudada, indicando presença de eventos de homozigose recentes, com menos de 5 gerações desde o ancestral comum. Com o aumento do comprimento mínimo de ROH considerado na análise, é possível se observar uma diminuição da área coberta (Figura 2.11) indicando que eventos mais recentes de consanguinidade estão mais distribuídos pelo genoma e, com o passar das gerações, estes tendem a ficar restritos a uma porção menor do genoma.

Zavarez et al. (2015), trabalhando com 1.278 animais de outro rebanho da raça Nelore, identificaram segmentos de ROHs com tamanho mínimo de 0,5 Mb e máximo de 70,91 Mb, com média de 1,26 Mb e mediana de 0,70 Mb e 73,7% de seus animais possuíam pelo menos uma ROH maior que 10 Mb.

4. CONCLUSÕES

Dentre os parâmetros estudados, optou-se pelo comprimento mínimo de 200 SNPs com 2 heterozigotos permitidos que demonstrou ser a configuração mais adequada para a estimativa de ROHs visando à identificação de Assinaturas de Seleção neta população de bovinos da raça Nelore. As características das 120.707 ROHs observadas sugerem presença de eventos de consanguinidade recentes, devido à alta incidência de trechos longos, presentes em grande parte dos animais estudados (84,55%) e eventos antigos, devido à alta proporção de trechos curtos (96,23% de todas as ROHs identificadas abaixo de 10Mb). Os resultados encontrados mostraram-se em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Mamun, Hawlader Abdullah, Samuel A Clark, Paul Kwan, and Cedric Gondro. 2015. "Genome-Wide Linkage Disequilibrium and Genetic Diversity in Five Populations of Australian Domestic Sheep." *Genetics, selection, evolution: GSE* 47(1): 90. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/90>.
- Aroeira, Carolina N. et al. 2016. "Freezing, Thawing and Aging Effects on Beef Tenderness from Bos Indicus and Bos Taurus Cattle." *Meat Science* 116: 118–25. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016300237>.
- Bosse, Mirte et al. 2012. "Regions of Homozygosity in the Porcine Genome: Consequence of Demography and the Recombination Landscape." *PLoS genetics* 8(11): e1003100. <http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1003100#s4>.
- Consortium, The International HapMap. 2005. "A Haplotype Map of the Human Genome." *Nature* 437(October): 1299–1320.
- Curik, Ino, Maja Ferenčaković, and Johann Sölkner. 2014. "Inbreeding and Runs of Homozygosity: A Possible Solution to an Old Problem." *Livestock Science* 166(1): 26–34. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060#>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060/pdf?md5=1506b3e92c5d45d8a4f82b29e6fe2409&pid=1-s2>.
- Ferenčaković, Maja, Johann Sölkner, and Ino Curik. 2013. "Estimating Autozygosity from High-Throughput Information: Effects of SNP Density and Genotyping Errors." *Genetics, selection, evolution: GSE* 45: 42. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4176748&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- Fuller, Zachary L et al. 2015. "Genome-Wide Analysis of Signatures of Selection in Populations of African Honey Bees (*Apis Mellifera*) Using New Web-Based Tools." *BMC genomics* 16: 518. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4496815&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Howrigan, Daniel P, Matthew A Simonson, and Matthew C Keller. 2011. "Detecting Autozygosity through Runs of Homozygosity: A Comparison of Three Autozygosity Detection Algorithms." *BMC genomics* 12(1): 460. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/460>.
- Lencz, Todd et al. 2007. "Runs of Homozygosity Reveal Highly Penetrant Recessive Loci in Schizophrenia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(50): 19942–47.
- Liu, Yue et al. 2009. "Bos Taurus Genome Assembly." *BMC genomics* 10: 180.
- Metzger, Julia et al. 2015. "Runs of Homozygosity Reveal Signatures of Positive Selection for Reproduction Traits in Breed and Non-Breed Horses." *BMC Genomics* 16(1): 764. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/764>.
- Nascimento, M.L. et al. 2016. "Feed Efficiency Indexes and Their Relationships with Carcass, Non-Carcass and Meat Quality Traits in Nellore Steers." *Meat Science* 116: 78–85. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016300134>.
- Pemberton, Trevor J. et al. 2012. "Genomic Patterns of Homozygosity in Worldwide Human Populations." *The American Journal of Human Genetics* 91(2): 275–92. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929712003230>.
- Peripolli, E. et al. 2016. "Runs of Homozygosity: Current Knowledge and Applications in Livestock." *Animal Genetics* (Wright 1922). <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12526>.
- Purfield, Deirdre C, Donagh P Berry, Sinead McParland, and Daniel G Bradley. 2012. "Runs of Homozygosity and Population History in Cattle." *BMC genetics* 13(1): 70. BMC Genetics.
- Ramey, Holly R et al. 2013. "Detection of Selective Sweeps in Cattle Using Genome-Wide SNP Data." *BMC Genomics* 14(1): 382. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/382>.

- Saura, María et al. 2015. “Detecting Inbreeding Depression for Reproductive Traits in Iberian Pigs Using Genome-Wide Data.” *Genetics, selection, evolution: GSE* 47: 1. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4297446&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Sorbolini, Silvia et al. 2015. “Detection of Selection Signatures in Piemontese and Marchigiana Cattle, Two Breeds with Similar Production Aptitudes but Different Selection Histories.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 52. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/52>.
- Zavarez, Ludmilla B. et al. 2015. “Assessment of Autozygosity in Nellore Cows (*Bos Indicus*) through High-Density SNP Genotypes.” *Frontiers in Genetics* 6(January): 1–8. <http://journal.frontiersin.org/journal/10.3389/fgene.2015.00005/abstract>.
- Zhang, Qianqian, Mario Pl Calus, et al. 2015. “Estimation of Inbreeding Using Pedigree, 50k SNP Chip Genotypes and Full Sequence Data in Three Cattle Breeds.” *BMC genetics* 16(1): 88. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/16/88>.
- Zhang, Qianqian, Bernt Guldbbrandsen, et al. 2015. “Runs of Homozygosity and Distribution of Functional Variants in the Cattle Genome.” *BMC Genomics* 16(1): 542. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/542>.

CAPITULO III

Utilização de Corridas em Homozigose (*Runs of Homozygosity*) para Estimativa de Níveis Individuais de Autozigosidade em Bovinos da Raça Nelore a partir de Dados de SNPs Provenientes de Chips de Alta Densidade

RESUMO

O processo de domesticação de animais de produção, seguido de intensa seleção direcional, resultou em incrementos genéticos significativos e, como consequência, altas taxas de consanguinidade e perdas de diversidade genética. A utilização de dados genômicos, para complementar ou corrigir dados genealógicos existentes, pode impactar positivamente os ganhos genéticos. Análises secundárias de corridas em homozigose - ROH (do inglês *Runs of Homozygosity*) podem ser utilizadas para identificação e monitoramento da taxa de consanguinidade em animais de produção; mapeamento e identificação de alelos deletérios recessivos; e estimativa genômica de parentesco e autozigosidade, individual e populacional. A formação da raça Nelore no Brasil deu-se de uma forma que pode ter gerado altos índices de consanguinidade nos rebanhos. O objetivo deste trabalho é estimar os níveis de autozigosidade individual em uma população de bovinos da raça Nelore, a partir do cálculo do índice de consanguinidade baseado na proporção individual de ROH, o F_{ROH} . As 120.707 ROHs identificadas com comprimento mínimo de 200 SNP e 2 heterozigotos permitidos mostraram-se eficientes para estimativa de autozigosidade nesta população de bovinos da raça nelore. As estimativas de F_{ROH} indicaram altos níveis de autozigosidade no rebanho, em eventos de consanguinidade recente (até 3 gerações), subindo gradativamente até eventos antigos (acima de 50 gerações), sugerindo elevado nível de parentesco direto na população e efeitos de seleção direcional na raça ou na espécie. Os resultados encontrados mostraram-se semelhantes a trabalhos descritos anteriormente e em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

Palavras-chave: Autozigosidade, Corridas em Homozigose, F_{ROH} , Nelore.

ABSTRACT

The process of domestication of production animals, followed by intense directional selection, resulted in significant genetic increases and, as a consequence, high rates of consanguinity and loss of genetic diversity. The use of genomic data to complement or correct existing genealogical data can positively impact genetic gains. Secondary analyzes of Runs of Homozygosity (ROH) can be used to identify and monitor the inbreeding rate in production animals; mapping and identification of deleterious recessive alleles; and genomic estimation of parentage and autozigosidade, individual and population. The generation of the Nellore breed in Brazil occurred in a way that may have generated high rates of consanguinity in the herds. The objective of this work is to estimate the levels of individual autozigosidade in a population of Nellore cattle, based on the inbreeding index based on the individual proportion of ROH, the F_{ROH} . The 120.707 ROHs identified with a minimum length of 200 SNP and 2 allowed heterozygotes showed to be efficient for estimation of autozigosidade in this population of Nellore cattle. F_{ROH} estimates indicated high levels of autozigosidade in the herd, in recent inbreeding events (up to 3 generations), growing gradually to ancient events (over 50 generations), suggesting a high level of direct parentage in the population and effects of directional selection in the breed or species. The results found were similar to those described previously and in accordance with the expected, due to the characteristics of the studied population.

Keywords: Autozigosidade, Runs of Homozygosity, F_{ROH} , Nellore.

1. INTRODUÇÃO

O processo de domesticação de animais de produção, seguido nas últimas décadas de intensa seleção direcional com o uso de métodos quantitativos, resultou em incrementos genéticos significativos em características de adaptação, tipo e produção (Randhawa et al. 2016). Como consequência, pode-se observar drásticas reduções no tamanho efetivo da população (N_e) (Falconer & Mackay 1996) e prejuízos produtivos devido a altas taxas de consanguinidade (Reverter et al. 2017) em raças sob seleção intensa (Scraggs et al., 2014; Zavarez et al., 2015).

O equilíbrio entre altas taxas de ganhos genéticos e indesejadas perdas de diversidade genética faz com que os programas de melhoramento tenham de considerar e controlar taxas de acasalamentos endogâmicos nas populações em questão (Peripolli et al. 2016). Tradicionalmente, informações genealógicas são utilizadas nesses processos, mas erros aleatórios nos vários passos necessários para anotação, coleta, registro e armazenamento das informações de parentesco podem ter sérias consequências negativas, levando a aumentos indesejados nos níveis observados de autozigosidade (Curik et al. 2014; Hudson et al., 2015; Zavarez et al., 2015). A utilização de dados genômicos, para complementar ou corrigir dados genealógicos existentes, pode consequentemente impactar positivamente os ganhos genéticos obtidos a longo prazo (Hudson et al., 2015; Marras et al., 2015; Zhang et al., 2015b).

Atualmente a genotipagem de SNPs com Chips de DNA oferece a solução mais consistente e o menor custo para a geração de dados em alta densidade (Da Silva et al. 2015) e esta metodologia vem sendo utilizada para a realização de trabalhos para identificar e utilizar ROHs em bovinos (Zhang et al., 2015a; Zavarez et al., 2015; Szymatola et al., 2016; Mastrangelo et al., 2016; Reverter et al. 2017). Definidas como longos trechos ininterruptos do genoma que apresentam genótipos em homozigose (Lencz et al. 2007), as corridas em homozigose - ROH (do inglês *Runs of Homozygosity*) podem ser identificadas mediante análise de painéis de SNPs, preferencialmente em alta densidade (acima de 50.000 SNPs). Análises direcionadas dos dados gerados com esses painéis permitiram o surgimento de trabalhos para identificar e caracterizar

ROHs em diferentes espécies (Curik et al. 2014) e análises secundárias das ROHs observadas podem ser utilizadas para identificação e monitoramento da taxa de consanguinidade em animais de produção; mapeamento e identificação de alelos deletérios recessivos; e estimativa genômica de parentesco e autozigosidade, individual e populacional (Saura et al., 2015; Peripolli et al., 2016).

A formação da raça Nelore no Brasil deu-se de uma forma que pode ter gerado altos índices de consanguinidade nos rebanhos. O uso intensivo de métodos de reprodução assistida, como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a fertilização *in vitro* (FIV), observado nas últimas décadas, resultou na utilização de um baixo número de reprodutores pelos programas de melhoramento genético dessa raça (Zavarez et al., 2015).

O objetivo deste trabalho é estimar os níveis de autozigosidade individual em uma população de bovinos da raça Nelore, a partir do cálculo do índice de consanguinidade baseado na proporção individual de ROH, o F_{ROH} .

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As informações dos materiais e métodos referentes a comitê de ética, população e genotipagem, qualidade e análise de dados, utilizados neste trabalho, estão descritas no capítulo II desta tese.

Estimativa Individual de Autozigosidade baseado em ROH

Estimativas genômicas de autozigose individual (F_{ROH}) foram obtidas a partir do cálculo da proporção do genoma autossômico em ROH em relação ao genoma autossômico coberto por SNPs (McQuillan et al. 2008):

$$F_{ROH} = \sum L_{ROH} / L_{auto},$$

Onde $\sum L_{ROH}$ representa o total de ROHs, acima de um tamanho mínimo especificado (L_{ROH}) identificadas em um indivíduo, em relação ao tamanho total do genoma autossômico coberto por SNPs (L_{auto}).

O índice F_{ROH} foi calculado para cada animal e com seis comprimentos mínimos de ROH distintos: 500Kb; 1Mb; 2Mb; 4Mb; 8Mb e 16Mb. O comprimento total do genoma coberto por marcadores utilizado nos cálculos de F_{ROH} foi de 2,5Gb (Purfield et al., 2012). Para tanto, as ROHs foram divididas de acordo com o tamanho mínimo e, posteriormente, os resultados foram representados graficamente. Medidas descritivas como Coeficientes de Assimetria de Momento (D'Agostino = 0) e Coeficiente de Curtose de Momentos (Anscombe-Glynn = 3) foram utilizadas para caracterizar as distribuições de ROH. Todas as análises de F_{ROH} foram realizadas com o software livre R v.3.2.2.

Estimativa F

Para efeito de validação foi calculado o coeficiente de parentesco (*inbreeding coefficient*, representado por F) baseado na frequência dos marcadores, utilizando o software SNP & Variation Suite v.8.4.1 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA. <http://www.goldenhelix.com>). Para um marcador em particular, com a frequência dos alelos p

e q, o software calcula a probabilidade de homozigose individual considerando $f + (1 - f)(p^2 + q^2)$ como a probabilidade de ser homozigose por descendência (f), somado à probabilidade da homozigose ser ao acaso. Para “ L ” como o genótipo autossômico individual, coberto por marcadores, “ O ” como o número de marcadores em homozigose observados e “ E ” como o número de marcadores esperados: $O = fL + (1 - f)E$, ou $f = O - E/L - E$. O software calcula “ E ” baseado na soma de todos os marcadores válidos de um indivíduo, de tal modo.

$$E = \sum_{j=1}^L [1 - 2p_jq_j TA_j / (TA_j - 1)],$$

Onde: TA_j é o dobro do número de genotipagens válidas por marcador j .

Considerando que a estimativa F foi calculada para efeito de validação dos dados, foi calculada a correlação (r) existente ente a estimativa F e a estimativa F_{ROH} , para cada indivíduo. Visando uma maior confiabilidade nas informações 9 indivíduos, com estimativa F abaixo de -0,2, foram excluídos dos cálculos de correlação e, conseqüentemente, dos diagramas de dispersão representados na Figura 3.3.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados

Os resultados referentes ao controle de qualidade dos dados, estimativas e identificação de ROHs estão descritos no capítulo II dessa tese.

Índice F_{ROH}

Os valores médios, desvios padrão, os maiores e os menores valores de F_{ROH} , para os seis tamanhos mínimos diferentes de ROH (>0,5; >1; >2; >4; >8 e >16Mb), são apresentados descritos na Tabela 3.1. O menor valor observado foi de 0,04% da cobertura do genoma (para $F_{ROH} > 1Mb$), o maior foi de 23,36% (para $F_{ROH} > 0,5Mb$) e a média geral foi de 4,17%.

F_{ROH}	Número de animais	Média	Desvio padrão	Mediana	Desvio interquartilico	Valor mínimo	Valor máximo
> 0,5Mb	1675	6,83	2,47	6,39	2,55	0,39	23,36
> 1Mb	1675	5,94	2,47	5,50	2,55	0,04	22,72
> 2Mb	1663	4,63	2,39	4,19	2,47	0,08	21,65
> 4Mb	1644	3,60	2,25	3,13	2,33	0,16	20,75
> 8Mb	1543	2,39	1,91	1,91	1,90	0,32	17,95
> 16Mb	880	1,67	1,33	1,31	1,26	0,64	11,32

Tabela 3.1. Valores de F_{ROH} calculados para diferentes tamanhos mínimos de ROH.

A distribuição da proporção destes F_{ROHs} no genoma do rebanho é ilustrada na Figura 3.1. O resultado dos cálculos para os coeficientes de assimetria de momentos (D'Agostino para assimetria = 0) e os coeficientes de curtose de momentos (Anscombe-Glynn para curtose = 3) para os diferentes tamanhos mínimos de F_{ROH} estão descritos na Tabela 3.2.

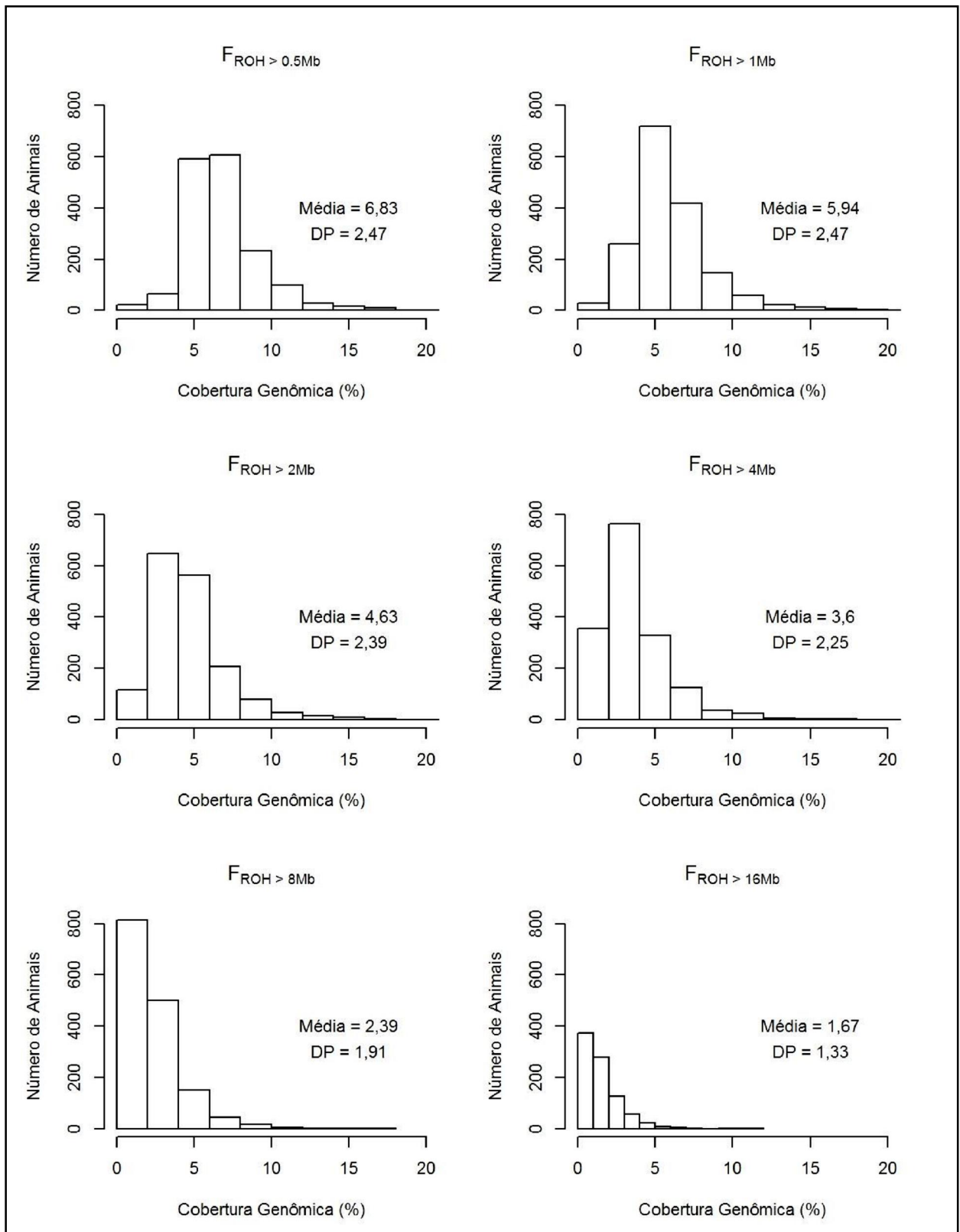


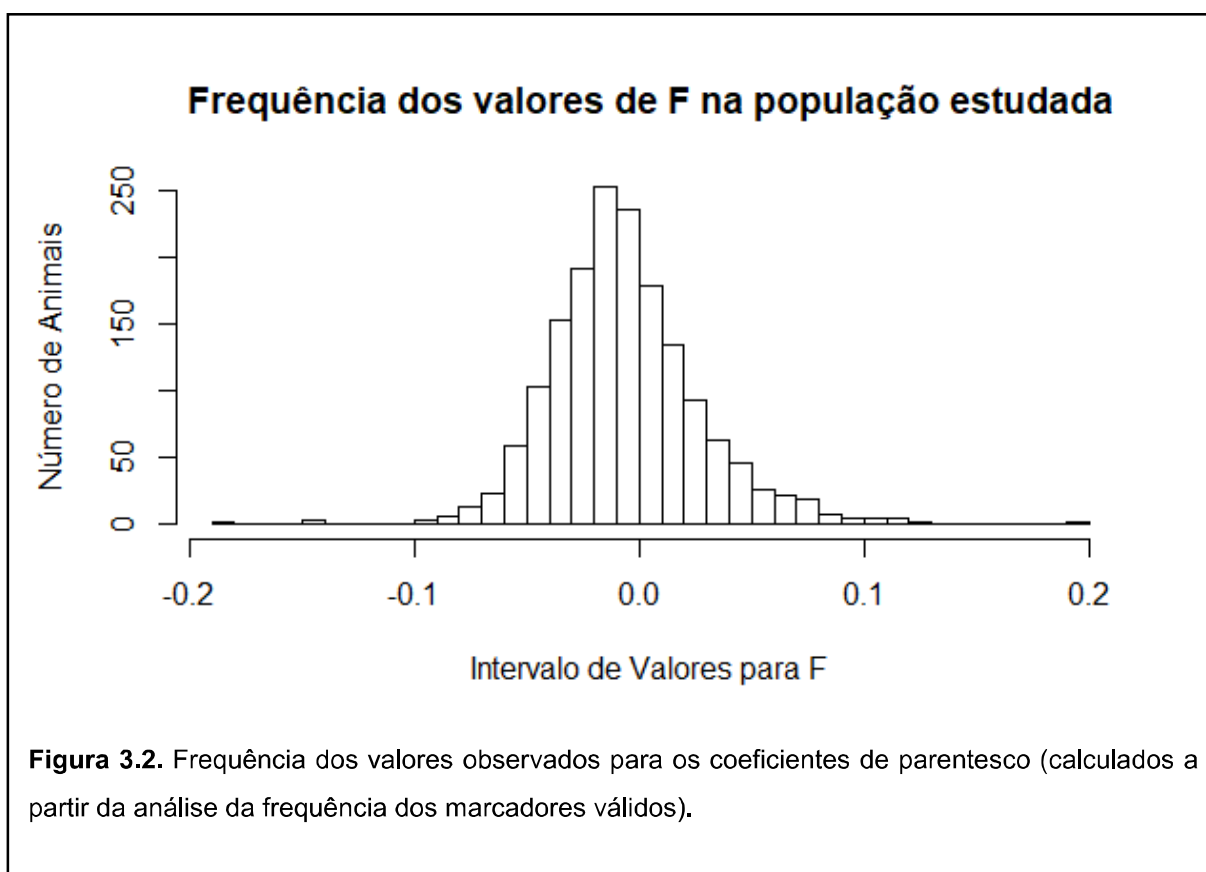
Figura 3.1. Distribuição da proporção do genoma autossômico individual (F_{ROH}) para diferentes tamanhos mínimos de ROH (>0,5Mb; >1Mb; >2Mb; >4Mb; >8Mb e >16Mb).

F_{ROH}	Coeficiente momento		Coeficiente momento	
	Assimetria	Valor de P	curtose	Valor de P
> 0,5Mb	1,51	< 0,0001	7,90	< 0,0001
> 1Mb	1,57	< 0,0001	8,10	< 0,0001
> 2Mb	1,74	< 0,0001	8,61	< 0,0001
> 4Mb	1,97	< 0,0001	9,84	< 0,0001
> 8Mb	2,36	< 0,0001	12,55	< 0,0001
> 16Mb	3,06	< 0,0001	17,28	< 0,0001

Tabela 3.2. Valores dos coeficientes de assimetria e de curtose para F_{ROH} calculados para diferentes tamanhos mínimos de ROH.

Coeficiente de consanguinidade (F)

Para os valores de F, calculados a partir da frequência de marcadores, a variação foi de -0,67 a +0,20, com seu valor médio foi de 0,00. Na Figura 3.2 é possível observar a distribuição da frequência dos valores de F nos 1677 animais analisados.



Diagramas de dispersão entre os índices F_{ROH} com o índice F, bem como seus coeficientes de correlação (r) calculados estão representados na Figura 3.3.

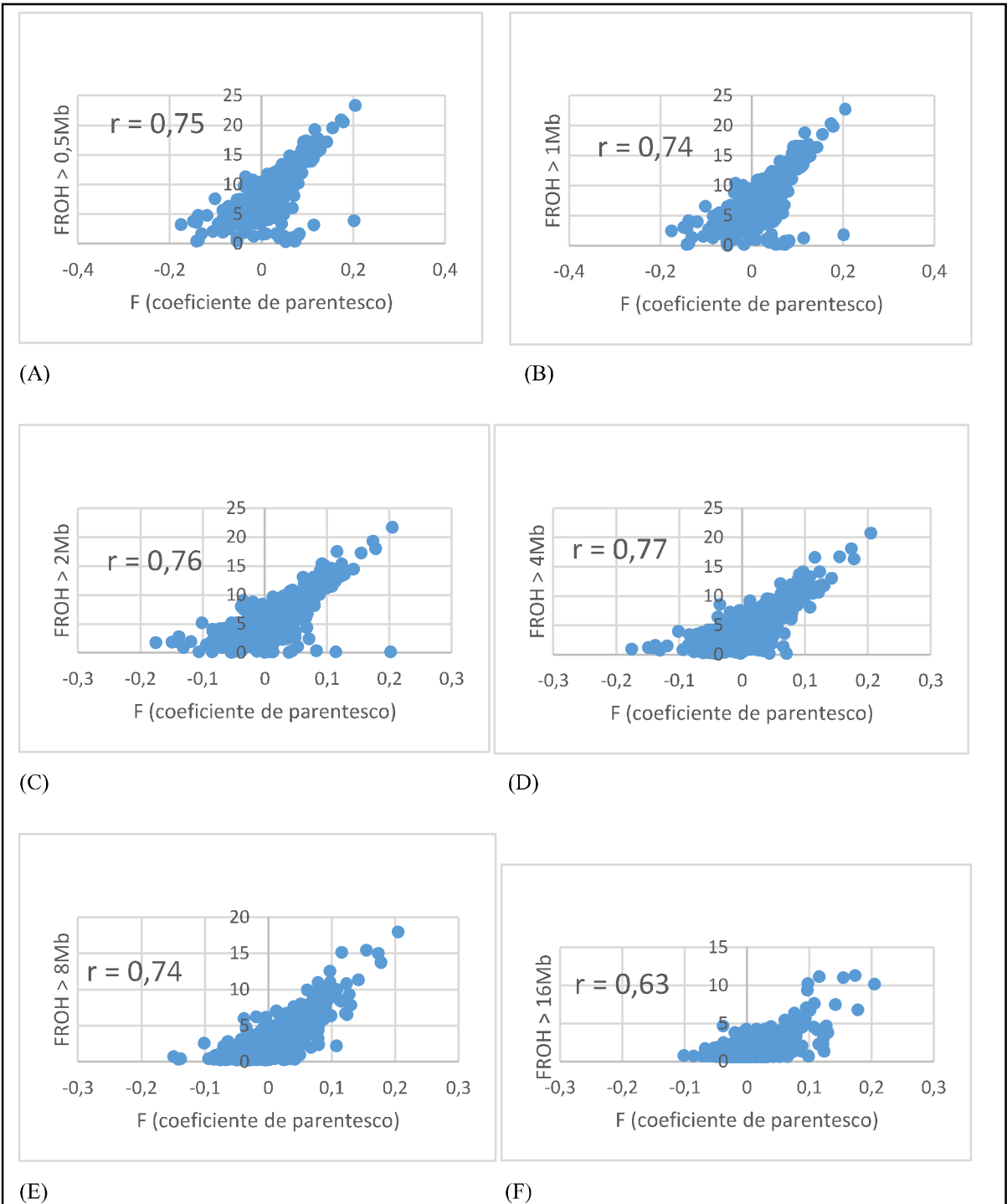


Figura 3.3. Diagramas de dispersão (baseado na frequência dos marcadores) e os diferentes F_{ROH} s. (A) $F_{ROH} > 0,5Mb$ x F; (B) $F_{ROH} > 1Mb$ x F; (C) $F_{ROH} > 2Mb$ x F; (D) $F_{ROH} > 4Mb$ x F; (E) $F_{ROH} > 8Mb$ x F e (F) $F_{ROH} > 16Mb$ x F. Os valores de (r) nos gráficos representam as correlações específicas para cada comprimento mínimo de F_{ROH} e F.

3.2 Discussão

Estrutura da População Estudada

A amostra analisada neste estudo é composta por bovinos machos da raça Nelore e. Parte dos quais são reprodutores (touros) genotipados e seus filhos também genotipados, constituindo assim, algumas famílias de meio-irmãos. Do total de 1677 animais analisados, 736 (44%) possuem pais genotipados e, dentre esses, 644 (38% do total) pertencem a famílias de meio-irmãos na população estudada, sendo que 44 famílias são compostas por até 5 meio-irmãos, 23 famílias de até 10 meio-irmãos, 16 famílias apresentam mais de 10 meio-irmãos, e a mais representativa delas é composta por 81 meio-irmãos.

Índice F_{ROH}

Analisando as informações dos índices F_{ROH} é possível observar que eventos de autozigosidade recente, com menos de 3 gerações passadas (representados por ROHs maiores que 16 Mb) estão presentes em 52% dos animais analisados (880 animais). De acordo com a estrutura da população estudada podemos verificar que a mesma é composta por famílias representativas de meio-irmãos, além de estruturas familiares de avô, pai e filho em parte da amostra. Dessa forma, é esperado que índices $F_{ROH} > 16$ Mb sejam encontrados em uma parcela significativa da população.

Quando se analisa eventos a partir de 6 gerações passadas (representados por ROHs maiores que 8 Mb) o número de animais observados aumenta para 92% do total (1.543 animais), indicando o somatório da grande consanguinidade esperada pelos grupos familiares, relatados no parágrafo anterior, com as altas taxas de consanguinidade esperada em populações de animais com baixo Número Efetivo da população (N_e).

Todos os animais analisados apresentaram eventos de homozigosidade ocorridos a partir de 50 gerações passadas (representados por ROHs maiores que 1 Mb), situação esperada para uma população de animais de raça especializada, submetida à seleção direcional para a formação da raça, neste caso, a Nelore.

Na Tabela 3.1 é possível observar um aumento gradual no valor máximo de F_{ROH} , que representa um aumento na cobertura do genoma. Para $F_{ROH} > 0,5$ Mb é possível observar animais com até 23% do genoma coberto por esse comprimento de ROH. Na Figura 3.1 esse aumento gradual da cobertura genômica está representado nos gráficos e pode ser facilmente identificado. Tal situação pode ser explicada pelo caráter cumulativo do índice F_{ROH} .

Outro fator importante a ser observado na Figura 3.1 é o comportamento assimétrico dos gráficos. Os Coeficientes de Assimetria dos gráficos de F_{ROH} aumentaram com o aumento do tamanho mínimo de ROH (saindo de 1,51 em $F_{ROH} > 0,5$ Mb para 3,06 em $F_{ROH} > 16$ Mb). Todos os valores (Tabela 3.2) indicaram assimetria à direita ou positiva (coeficiente maior que 1), crescendo com o aumento do tamanho da ROH mínima utilizada para calcular F_{ROH} , sugerindo maior cobertura do genoma e um número maior de indivíduos envolvidos, conforme se diminui o tamanho mínimo de ROH utilizado para calcular F_{ROH} . Resultados semelhantes foram reportados por (Zavarez et al. 2015), 1,56 e 3,98 para $F_{ROH} > 0,5$ Mb para e >16 Mb, respectivamente.

Na figura 3.3 é possível observar a correlação positiva existente entre os índices F_{ROH} , para os diferentes tamanhos mínimos de ROH e o coeficiente de parentesco baseado na frequência de marcadores (F), sugerindo a eficiência do índice F_{ROH} , em todos seus comprimentos mínimos (0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 Mb), para estimar autozigosidade nesta população.

4. CONCLUSÕES

As 120.707 ROHs identificadas com comprimento mínimo de 200 SNP e 2 heterozigotos permitidos mostraram-se eficientes para estimativa de autozigosidade nesta amostra de bovinos da raça nelore. As estimativas de F_{ROH} indicaram altos níveis de autozigosidade no rebanho em eventos de consanguinidade recente (até 3 gerações), aumentando gradativamente até eventos antigos (acima de 50 gerações), sugerindo elevado nível de parentesco direto na população e efeitos de seleção direcional na raça ou na espécie. Os resultados encontrados mostraram-se semelhantes a trabalhos descritos anteriormente e em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Curik, Ino, Maja Ferenčaković, and Johann Sölkner. 2014. “Inbreeding and Runs of Homozygosity: A Possible Solution to an Old Problem.” *Livestock Science* 166(1): 26–34. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060><http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060#><http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060/pdf?md5=1506b3e92c5d45d8a4f82b29e6fe2409&pid=1-s2>.
- Falconer, Douglas S, and Trudy F C Mackay. 1996. 12 Trends in Genetics *Introduction to Quantitative Genetics (4th Edition)*. <http://www.amazon.com/Introduction-Quantitative-Genetics-Douglas-Falconer/dp/0582243025>.
- Hudson, Nicholas J, Laercio Porto-Neto, James W Kijas, and Antonio Reverter. 2015. “Compression Distance Can Discriminate Animals by Genetic Profile, Build Relationship Matrices and Estimate Breeding Values.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 78. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/78>.
- Lencz, Todd et al. 2007. “Runs of Homozygosity Reveal Highly Penetrant Recessive Loci in Schizophrenia.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(50): 19942–47.
- Marras, Gabriele et al. 2015. “Analysis of Runs of Homozygosity and Their Relationship with Inbreeding in Five Cattle Breeds Farmed in Italy.” *Animal Genetics* 46(2): 110–21. <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12259>.
- Mastrangelo, S. et al. 2016. “Genomic Inbreeding Estimation in Small Populations: Evaluation of Runs of Homozygosity in Three Local Dairy Cattle Breeds.” *Animal*: 1–9. http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1751731115002943.
- McQuillan, Ruth et al. 2008. “Runs of Homozygosity in European Populations.” *American*

journal of human genetics 83(3): 359–72.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2556426&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.

Peripolli, E. et al. 2016. “Runs of Homozygosity: Current Knowledge and Applications in Livestock.” *Animal Genetics* (Wright 1922). <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12526>.

Purfield, Deirdre C, Donagh P Berry, Sinead McParland, and Daniel G Bradley. 2012. “Runs of Homozygosity and Population History in Cattle.” *BMC genetics* 13(1): 70. BMC Genetics.

Randhawa, Imtiaz A S, Mehar S Khatkar, Peter C Thomson, and Herman W Raadsma. 2016. “A Meta-Assembly of Selection Signatures in Cattle.” : 1–31.

Reverter, A, M R S Fortes, and P Kasarapu. 2017. “Genomic Inbreeding Depression for Climatic Adaptation of Tropical Beef Cattle 1.” *American Society of Animal Science*: 3809–21.

Saura, María et al. 2015. “Detecting Inbreeding Depression for Reproductive Traits in Iberian Pigs Using Genome-Wide Data.” *Genetics, selection, evolution: GSE* 47: 1. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4297446&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.

Scraggs, E. et al. 2014. “Estimation of Inbreeding and Effective Population Size of Full-Blood Wagyu Cattle Registered with the American Wagyu Cattle Association.” *Journal of Animal Breeding and Genetics* 131(1): 3–10.

Da Silva, Joaquim Manoel et al. 2015. “Genomic Variants Revealed by Invariably Missing Genotypes in Nelore Cattle.” *PLoS ONE* 10(8): 1–18.

Szmatoła, Tomasz et al. 2016. “Characteristics of Runs of Homozygosity in Selected Cattle Breeds Maintained in Poland.” *Livestock Science* 188: 72–80.

Zavarez, Ludmilla B. et al. 2015. “Assessment of Autozygosity in Nellore Cows (*Bos Indicus*) through High-Density SNP Genotypes.” *Frontiers in Genetics* 6(January): 1–8. <http://journal.frontiersin.org/journal/10.3389/fgene.2015.00005/abstract>.

Zhang, Qianqian, Mario Pl Calus, et al. 2015. “Estimation of Inbreeding Using Pedigree, 50k SNP Chip Genotypes and Full Sequence Data in Three Cattle Breeds.” *BMC genetics* 16(1): 88. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/16/88>.

Zhang, Qianqian, Bernt Guldbrandtsen, et al. 2015. "Runs of Homozygosity and Distribution of Functional Variants in the Cattle Genome." *BMC Genomics* 16(1): 542. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/542>.

CAPITULO IV

Utilização de Corridas em Homozigose (*Runs of Homozygosity*) para Identificação de Assinaturas de Seleção em Bovinos da Raça Nelore a partir de Dados de SNPs Provenientes de Chips de Alta Densidade

RESUMO

A raça Nelore pode ser considerada, atualmente, a de maior representatividade para a pecuária brasileira. O uso intensivo de métodos de reprodução assistida, observado nas últimas décadas, resultou na utilização de um baixo número de reprodutores pelos programas de melhoramento genético dessa raça. Assinaturas de Seleção podem ser identificadas pela análise da frequência e ocorrência de corridas em homozigose - ROHs pelo genoma. O objetivo deste trabalho é identificar Assinaturas de Seleção em uma população de bovinos da raça Nelore, a partir da análise da distribuição de ROHs comuns ao rebanho e verificar a importância das regiões identificadas para a raça Nelore. As 120.707 ROHs identificadas com comprimento mínimo de 200 SNP e 2 heterozigotos permitidos mostraram-se eficientes para identificação de Assinaturas de Seleção nesta população de bovinos da raça nelore. A análise da frequência de ROHs comuns por SNPs levou a identificação de Assinaturas de Seleção nos cromossomos BTA4, 7 e 12, além de indícios de Assinatura de Seleção também no cromossomo BTA24. O estudo de sobreposição de QTL identificou QTLs nas regiões conservadas, relacionados a Características Reprodutivas; Crescimento; Produção de Carne, Carcaça e Conformação; Habilidade Materna; Eficiência Alimentar; Termorregulação e Resistência a Endo e Ectoparasitas. Os resultados encontrados mostraram-se em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

Palavras-chave: Assinaturas de Seleção, Corridas em Homozigose, Nelore, ROHs Comuns.

ABSTRACT

The Nelore breed can be considered, today, the most representative of Brazilian beef cattle. The intensive use of assisted reproduction methods, observed in the last decades, has resulted in the use of a low number of breeding herds by breeding programs of this breed. Signatures Selection can be identified by analyzing the frequency and occurrence of Runs of Homozygosity - ROHs distributed by the genome. The objective of this study is to identify Signatures Selection in a population of Nelore cattle, from the analysis of the distribution of ROHs common to the herd and verify the importance of the regions for the Nelore breed. The 120.707 ROHs identified with a minimum length of 200 SNP and 2 allowed heterozygotes were efficient for identification of Signatures Selection in this population of Nelore cattle. Analysis of the frequency of common ROHs led to the identification of Signatures Selection on BTA4, 7 and 12, as well as Signs of Signatures Selection on the BTA24 chromosome. The study of overlapping QTL identified QTLs in the conserved regions, related to Reproductive Characteristics; Growth; Meat, Carcass and Conformation Production; Maternal Ability; Food Efficiency; Thermoregulation and Resistance to Endo and Ectoparasites. The results found were similar to those described previously and in accordance with the expected, due to the characteristics of the studied population.

Keywords: Signatures Selection, Runs of Homozygosity, Nelore, Common ROHs.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a raça Nelore pode ser considerada a de maior representatividade para a pecuária brasileira pois, com mais de 200.000.000 de cabeças, o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e, sua grande maioria (cerca de 80%) é pertencente ao sub-gênero *indicus* e, quase a totalidade destes (90%) é composta de animais puros da raça Nelore ou animais cruzados (Aroeira et al., 2016; Nascimento et al., 2016). Porém, a formação dessa raça, no Brasil, deu-se de uma forma que pode ter gerado altos índices de consanguinidade nos rebanhos. O uso intensivo de métodos de reprodução assistida, como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a fertilização *in vitro* (FIV), observado nas últimas décadas, resultou na utilização de um baixo número de reprodutores pelos programas de melhoramento genético dessa raça (Zavarez et al., 2015). Dessa forma, identificar em nível molecular quais pacotes de genes favoráveis e desfavoráveis à produção que foram consequentemente fixados nessa raça, poderá contribuir para traçar diretrizes a serem seguidas pelos programas de melhoramento em andamento.

Os marcadores do tipo SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*) identificam mutações em uma única base da cadeia de bases nitrogenadas e, geralmente, seus polimorfismos são encontrados em abundância nas espécies e distribuídas de maneira homogênea pelo genoma (Caetano, 2009; Arias et al., 2009). Devido ao desenvolvimento de metodologias estatísticas recentes, com a utilização de painéis de marcadores SNP de alta densidade, a genotipagem de SNPs com Chips de DNA oferece, atualmente, a solução mais consistente e o menor custo para geração de dados em alta densidade (Caetano, 2009; Da Silva et al., 2015). Esse cenário impulsionou a produção de painéis de SNP específicos para diversas espécies de interesse zootécnico, inclusive bovinos (<https://www.ilumina.com>), que permitiu o desenvolvimento de trabalhos baseados em ROHs para essa espécie (Curik et al. 2014), gerando resultados que vêm confirmando o potencial de ROH para se identificar regiões genômicas de interesse.

As diferenças entre padrões de ROH observados sugerem que a seleção artificial altera a autozigosidade no genoma em animais de produção (Metzger et al., 2015; Peripolli et al., 2016; Szmatoła et al., 2016), pois a seleção de um pequeno número de animais superiores em relação a características determinadas de acordo com objetivos de seleção específicos para a formação de rebanhos comerciais, tende a reduzir a variabilidade fenotípica observada e leva também a um remodelamento do genoma, gerando padrões de ROHs (Kim et al. 2013) que podem ser contrastantes em populações que foram submetidas a pressões seletivas distintas (Sorbolini et al. 2015), devido ao aumento da homoziguidade nas regiões genômicas próximas aos loci que controlam as características de interesse (Zhang et al. 2015). As assinaturas de Seleção podem ser definidas como o resultado das alterações genotípicas causadas em uma determinada população quando esta é submetida a alguma forma de pressão seletiva (Ramey et al. 2013) (Sorbolini et al. 2015). A análise da frequência e ocorrência de ROHs pelo genoma pode ser utilizada para identificar Assinaturas de Seleção no genoma em estudo, como foi efetuado em bovinos (Pérez O'Brien et al. (2014); Somavilla et al. (2014) e Zavarez et al., (2015)).

O objetivo deste trabalho é identificar Assinaturas de Seleção em uma população de bovinos da raça Nelore a partir de um novo método proposto, que consiste na análise da distribuição de ROHs comuns ao rebanho e, após a identificação, verificar a importância dessas regiões para a raça Nelore, por meio de estudo de sobreposição de QTL.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As informações dos materiais e métodos referentes ao comitê de ética, população e genotipagem, qualidade e análise de dados e critérios de identificação de ROHs, estão relacionados no capítulo II desta tese.

Identificação de Assinaturas de Seleção por ROHs comuns por SNP.

Para a identificação das ROHs comuns por SNPs foi utilizado o programa SVS Golden Helix, para a verificação de todos os SNPs e identificação do número de ROHs, previamente identificadas, que possuíam este SNP em comum. Considerando a forma como o programa SVS Golden Helix estima as ROHs é possível concluir que não existem SNPs comuns a mais de uma ROH, em um mesmo indivíduo, portanto, a análise das ROHs comuns por SNPs, desde que utilizada esta metodologia para identificação de ROHs, permite a visualização de ROHs distribuídas no rebanho que contém trechos que foram, por alguma razão, conservados na população analisada. Os resultados dessa análise foram plotados visando à identificação visual de possíveis regiões fixadas na população estudada.

As ROHs em alta frequência na população estudada foram visualizadas com o programa Golden Helix GenomeBrowse 2.1.0 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA. <http://www.goldenhelix.com>) para mapeamento exato das regiões identificadas em cada cromossomo.

Estudo de Sobreposição de QTL

As regiões com ROHs comuns foram sobrepostas com informações de QTLs identificados em bovinos a partir de dados disponíveis no *Animal QTL data base* (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>). O banco de dados específico para bovinos (Cattle QTL) continha 71.448 QTLs no momento da análise (21/11/2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

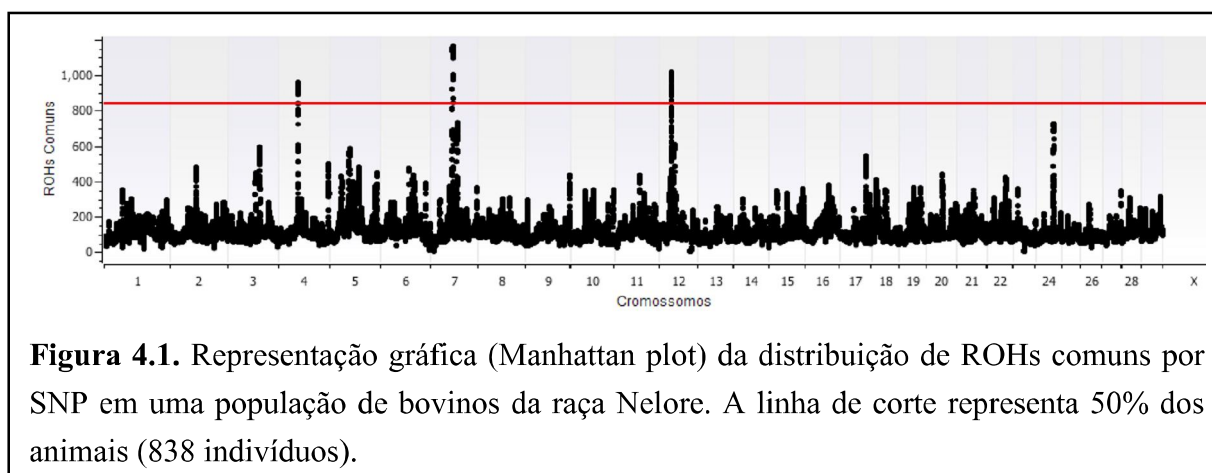
3.1 Resultados

Os resultados referentes ao controle de qualidade dos dados, estimativas e identificação de ROHs estão descritos no capítulo II dessa tese.

Identificação de Assinaturas de Seleção por ROHs Comuns

A frequência observada nas ROHs comuns identificadas com um tamanho mínimo de 200 SNPs e um máximo de 2 heterozigotos permitidos, variou entre 0 e 69,35% do rebanho (1.163 indivíduos). Foram consideradas regiões com alta frequência de ROHs comuns aquelas que estavam presentes em mais de 50% dos indivíduos, o equivalente a 838 observações.

Na Figura 4.1 é possível observar picos de ROHs comuns em mais de 50% dos indivíduos nas posições dos cromossomos: BTA4 (46.379.576 – 47.114.998), BTA7 (51.601.415 – 53.009.752) e BTA12 (28.840.681 – 29.636.922). A região do cromossomo BTA24 (43.086.122 – 43.935.185) foi observada em 43% dos indivíduos estudados (721 observações).



Estudo de Sobreposição com QTLs Conhecidos

A lista completa dos QTLs identificados neste estudo de sobreposição, bem como das classes às quais estão relacionados, está disposta no Quadro 4.1.

Cromossomo	Identificação do QTL	Classe do QTL
4	QTL:102112	Produção (Crescimento)
4	QTL:15175	Reprodução (Fertilidade)
4	QTL:15176	Reprodução (Fertilidade)
4	QTL:10013	Produção (Carne e Carcaça)
4	QTL:26163	Produção (Composição do Leite)
4	QTL:28503	Produção (Capacidade de Ingestão de Alimentos)
4	QTL:28634	Reprodução (Fertilidade)
4	QTL:26169	Produção (Composição do Leite)
4	QTL:28681	Reprodução (Fertilidade)
4	QTL:25811	Produção (Composição do Leite)
7	QTL: 10290	Produção (Produção de Leite)
7	QTL: 10291	Produção (Produção de Leite)
7	QTL: 31181	Sanidade (Parâmetros Gerais de Sanidade)
7	QTL: 31767	Produção (Carne e Carcaça)
7	QTL: 21539	Produção (Composição do Leite)
7	QTL: 10804	Produção (Carne e Carcaça)
7	QTL: 3582	Conformação (Conformação Corporal)
7	QTL: 4822	Produção (Carne e Carcaça)
7	QTL: 3440	Reprodução (Fertilidade)
7	QTL: 9916	Sanidade (Parasitas/resistência a parasitas)
12	QTL:15186	Reprodução (Parâmetros Gerais)
12	QTL:15187	Reprodução (Parâmetros Gerais)
12	QTL:15188	Reprodução (Parâmetros Gerais)
12	QTL:15189	Reprodução (Fertilidade)
12	QTL:10922	Produção (Crescimento)
12	QTL:10921	Produção (Carne e Carcaça)
12	QTL:2599	Produção (Composição do Leite)
12	QTL:3418	Exterior (Conformação de Úbere)
12	QTL:11354	Reprodução (Fertilidade)
12	QTL:1331	Produção (Carne e Carcaça)
24	QTL:12025	Sanidade (Parasitas/quantidade de parasitas)
24	QTL:56371	Produção (Composição do Leite)
24	QTL:12209	Produção (Carne e Carcaça)
24	QTL:1643	Exterior (Conformação de Úbere)
24	QTL:1646	Exterior (Conformação de Úbere)
24	QTL:5308	Produção (Conversão Alimentar)
24	QTL:11200	Produção (Carne e Carcaça)
24	QTL:1645	Exterior (Conformação de Úbere)
24	QTL:5338	Produção (Conversão Alimentar)

24	QTL:5341	Produção (Conversão Alimentar)
----	----------	--------------------------------

Quadro 4.1. Lista de QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP.

A região do cromossomo BTA4 observada com alta frequência de ROHs (46.379.576 – 47.114.998) apresenta sobreposição de QTLs relacionados a características reprodutivas (QTLs: 15175, 15176, 28634 e 28681), crescimento (QTL: 102112), produção de carne, carcaça e conformação (QTL: 10013), habilidade materna (QTLs: 26163, 26169 e 25811) e eficiência alimentar (QTL: 28503).

A região do cromossomo BTA7 observada com alta frequência de ROHs (51.601.415 – 53.009.752) possui sobreposição de QTLs que afetam habilidade materna (QTLs: 10290, 10291 e 21539), termorregulação (QTL: 31181), produção de carne, carcaça e conformação (QTLs: 31767, 10804, 3582 e 4822), reprodução (QTL: 3440) e resistência a carrapatos (QTL: 9916).

A região destacada no cromossomo BTA12 observada com alta frequência de ROHs (28.840.681 – 29.636.922) apresenta sobreposição de QTLs relacionados a características reprodutivas (QTLs: 15186, 15187, 15188, 15189 e 11354), produção de carne, carcaça e conformação (QTLs: 10921, 10922, 3418 e 1331) e habilidade materna (QTL: 2599).

Na região destacada para o cromossomo BTA24 com alta frequência de ROHs (43.086.122 – 43.935.185) a sobreposição de QTL indica QTLs para produção de carne, carcaça e conformação (QTLs: 12209, 1643, 1646, 11200 e 1645), resistência a endoparasitas (QTL: 12025), habilidade materna (QTL: 56371) e eficiência alimentar (QTLs: 5308, 5338 e 5341).

3.2 Discussão

Identificação de Assinaturas de Seleção

Assinaturas de Seleção podem ser definidas como o resultado das alterações genotípicas causadas em uma determinada população quando esta é submetida a alguma forma de pressão seletiva (Ramey et al. 2013; Sorbolini et al. 2015) e são resultantes do aumento da frequência de alelos, em um ou mais genes ou grupos de genes, envolvidos em processos de adaptação como: resistência a doenças, tolerância ao frio/calor, habilidade materna, entre outros; ou com a finalidade para a qual essa população está sendo selecionada como produção de carne, leite, lã, entre outros. Essas alterações na frequência alélica podem ocorrer em uma raça ou mesmo espécie, dependendo da representatividade da população que foi submetida à pressão seletiva. Dessa forma, regiões conservadas em grande parte da população analisada

podem ser resultado da atuação de seleção direcional na população, na raça ou mesmo na espécie estudada.

As regiões com alta frequência de ROHs identificadas nos cromossomos BTA4 (46.379.576 – 47.114.998), BTA7 (51.601.415 – 53.009.752) e BTA12 (28.840.681 – 29.636.922), foram também observadas em trabalhos anteriores que utilizaram diferentes metodologias de análise, tanto para populações de bovinos da raça Nelore (Zavarez et al. 2015) quanto para populações de outras raças dentro da espécie bovina (Gautier & Naves (2011); Porto-Neto et al. (2013)). A sobreposição dos resultados observados nesses estudos independentes indica que essas três regiões contêm genes que afetam características produtivas e de tipo, sob seleção, na raça Nelore e na espécie bovina.

Regiões semelhantes à identificada no cromossomo BTA4 (46.379.576 – 47.114.998), foram identificadas por Gautier & Naves, (2011), BTA4 (48.600.000 – 49.600.000) em populações zebuínas, buscando por genes candidatos; por Porto-Neto et al. (2013), BTA4 (46.670.940 – 46.814.875) em populações zebuínas e taurinas, utilizando o método de estatística F_{ST} , e (Zavarez et al. 2015), BTA4 (46.384.250 – 47.113.352) em uma população de fêmeas de Nelore, utilizando estimativa de autozigosidade.

Regiões semelhantes à identificada no cromossomo BTA7 (51.601.415 – 53.009.752), foram identificadas por (Gautier & Naves 2011) a região BTA7 (52.180.000 – 52.204.000) e o gene candidato CENTD3 que os autores o associaram à sinalização celular e resposta imunológica e por (Zavarez et al. 2015) que identificaram a região BTA7 (51.605.639 – 53.035.752) e sugeriram seu envolvimento com controle da parasitemia causada pelo parasita *Trypanosoma congolense* em bovinos.

Na região do cromossomo BTA12 (28.840.681 – 29.636.922), Gautier & Naves (2011) identificaram o gene RFXP2 na região BTA12 (29.012.000 – 29.072.000) e o relacionaram com características reprodutivas. Região semelhante à BTA12 (28.433.881 – 29.743.057) foi identificada por (Zavarez et al. 2015) que a classifica como uma região de alto índice de incidência de ROHs (ROH hotspot) e salienta ser uma região de divergência entre seleção ocorrida em *Bos taurus* e *Bos indicus*.

A região do cromossomo BTA24 (43.086.122 – 43.935.185) não foi citada por outros autores consultados, necessitando assim um maior estudo desta região para verificar se esta foi identificada, somente pelo método apresentado neste trabalho, ou se é específica da população aqui estudada. Porém, devido aos resultados encontrados no estudo de sobreposição de QTL (tópico seguinte) os QTLs identificados nessa região sugerem ser de grande importância para a raça Nelore, ou até mesmo para a espécie bovina, levando a crer que essa

região pode não ter sido detectada pelos métodos utilizados em trabalhos anteriores.

Estudo de Sobreposição de QTL

O genoma haploide bovino contém cerca de 2,87 bilhões de pares de bases ou 2,87Gb (Giga bases), divididos em 29 autossomos e cromossomos sexuais, nos quais foram identificados cerca de 22.000 genes (Liu et al., 2009). Inúmeros estudos discutem a importância do estudo de “grupos de genes” para características de interesse à produção animal, uma vez que a grande maioria dessas é influenciada por mais de um gene (poligênica) e as regiões do genoma (*loci*) que contém genes que influenciam essas características são denominadas “regiões de características quantitativas” ou QTL - “*Quantitative trait loci*” (Georges & Andersson, 2003). Outro fator a ser levado em consideração na identificação das bases genéticas das características quantitativas é o desequilíbrio de ligação – LD (Linkage disequilibrium), que é observado quando combinações de alelos situados em diferentes regiões de um cromossomo ocorrem com uma frequência maior do que combinações ao acaso (Goddard et al., 2009). Ou seja, o estudo de sobreposição de QTL permite a identificação de regiões que podem conter genes que evidenciem a especialização produtiva de determinada população.

Os trabalhos de seleção de indivíduos da raça Nelore são recentes, iniciaram na década de 1950, com foco na precocidade produtiva e padrão racial, porém, devido principalmente a estímulos governamentais, em vinte anos a raça foi permeada por todo território brasileiro, com o incentivo da implantação de mais de 4.000 propriedades nas regiões Norte e Nordeste utilizando, unicamente, reprodutores Nelore (Santos 1998); além de propiciar incentivos fiscais para a utilização da raça Nelore em programas de desenvolvimento da Amazônia (Sudam), Nordeste (Sudene), Espírito Santo (Sudes) e dos cerrados da região Centro-Oeste (Santos 2000).

Nos anos de 1973-1974 ações para o desenvolvimento do Programa de Melhoramento de Bovinos de Carne (Promebo) foram iniciadas. Com o apoio da Associação Nacional de Criadores de Zebu (ABCZ), a implementação do programa recomendava a avaliação dos animais tanto por escores de conformação quanto pela avaliação do animal pelo seu peso. Em apenas 5 anos de implantação (1974-1979) já eram somadas mais de 60.000 avaliações completas. Algumas propriedades de grande relevância para a formação da raça Nelore no Brasil participaram deste programa desde sua implantação, como as Estâncias Alvorada e Guatambú (núcleo inicial do atual condomínio Delta G), Agropecuária CFM Ltda e Agropecuária Jacarezinho Ltda (Oliveira & Barbosa 2007). Devido à grande representatividade dessas três empresas na formação da raça Nelore no Brasil, as características

produtivas esperadas na raça Nelore podem ser estimadas mediante a análise dos objetivos dos programas de melhoramento dessas empresas.

A empresa Delta G relata que seus reprodutores são avaliados visando a três características primordiais: conformação de carcaça, precocidade e musculatura (<http://sites.beefpoint.com.br/deltag/melhoramento-genetico-79724/>), semelhante à empresa CFM Ltda que divulga que todo seu programa de melhoramento genético, para a raça Nelore, é fundamentado em ganho de peso a pasto, alta precocidade sexual e qualidade de carcaça (<http://agrocfm.com.br/touros-cfm/>) e à empresa Jacarezinho Ltda que baseia o melhoramento de seus touros da raça Nelore no ganho de peso a pasto, sexualidade e acabamento precoces (<http://www.agrojacarezinho.com.br/agropecuaria-jacarezinho/>). Outras características como habilidade materna, conformação e rusticidade também são citadas, pelas três empresas, como características desejáveis em seus rebanhos.

Ao se realizar um estudo de Sobreposição de QTLs em regiões do genoma conservadas em uma população composta por animais da raça Nelore, é esperado que sejam identificados QTLs relacionados à especialização produtiva e aos objetivos de seleção dessa raça. Nos quadros a seguir é possível visualizar os QTLs identificados neste estudo divididos em quatro categorias distintas (conformação, sanidade, produção e reprodução) para facilitar a discussão.

ID	QTL	BTA	Posição	Descrição do QTL
QTL: 3582		7	51103828-58369259	Conformação (pernas, pés, pênis e prepúcio)
QTL:3418		12	25539491-44028903	Inserção de teta
QTL:1643		24	30415688-43200013	Inserção de úbere
QTL:1646		24	30415688-43200013	Qualidade de úbere
QTL:1645		24	41600571-43200013	Profundidade de úbere

Quadro 4.2. QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROHs comuns por SNPs que afetam características de conformação.

O QTL relacionado com conformação de aprumos e aparelho reprodutor masculino, localizado no BTA7 (quadro 4.2), na região com uma forte assinatura de seleção (1.163 indivíduos apresentam ROH nesta região), afeta características de grande importância para a forma como a raça Nelore é criada no Brasil (criação extensiva), onde o animal permanece solto no pasto, a maior parte de sua vida, e a altura de suas pernas e a inserção de seu prepúcio pode trazer vantagens quanto ao desenvolvimento de doenças inflamatórias que acometem bovinos criados nestas circunstâncias. Além disso, essas características possuem grande relevância para a população estudada por se tratar de uma população composta

exclusivamente por machos e, dentre eles, touros.

Os demais quatro QTLs destacados no Quadro 4.2 (3418, 1643, 1646 e 1645) apresentam correlação com características importantes para produção de leite. Mesmo a raça Nelore não sendo uma raça especializada para produção de leite, estas características devem ser consideradas como habilidade materna e estão diretamente correlacionadas com a capacidade de sobrevivência e desenvolvimento de bezerros criados em sistema de criação extensiva.

QTL ID	BTA	Posição	Descrição do QTL
QTL: 31181	7	14315781-87735009	Tolerância ao frio
QTL:12025	24	26571082-55707720	Tolerância a nematoide gastrointestinal
QTL: 9916	7	2035167-58369259	Resistência a carrapato

Quadro 4.3. QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP, pertencentes à categoria Sanidade.

Quanto ao Quadro 4.3 pode-se destacar a importância dos três QTLs (31181; 12025 e 9916) e sua possível relação com a característica do gado zebuino (*Bos Indicus*) de rusticidade, pois estes QTLs sugerem tolerância à temperatura e a infestações de endo e ectoparasitas, o que são de grande importância para uma raça desenvolvida em um país de clima tropical.

QTL ID	BTA	Posição	Descrição do QTL
QTL:5308	24	25435547-51266517	Taxa de conversão alimentar
QTL:5338	24	43443943-43612170	Taxa de conversão alimentar
QTL:5341	24	43443943-43612170	Taxa de conversão alimentar
QTL:28503	4	46834289-46834365	Capacidade de ingestão de alimentos
QTL:102112	4	46687398-46687438	Ganho médio diário
QTL:10922	12	21356707-30181682	Peso ao nascer
QTL:10013	4	8553221-50937899	Índice de Marmoreio
QTL: 31767	7	3069944-79408707	Ácido palmitoleico total
QTL: 10804	7	49889630-58867298	Teor de gordura (12ª costela)
QTL: 4822	7	49039346-58867298	Intensidade de sabor da carne
QTL:10921	12	21356707-30181682	Área de olho de lombo
QTL:1331	12	14396004-30303510	Rendimento de carne
QTL:12209	24	5544307-62091950	Ácido oleico total
QTL:11200	24	41590595-50955296	Índice de marmoreio
QTL:26163	4	46834289-46834365	Produção de leite
QTL:26169	4	46834289-46834365	Produção de leite
QTL:25811	4	46834289-46834365	Produção de gordura no leite

QTL: 21539	7	20669-56958148	Porcentagem de beta-caseína no leite
QTL:2599	12	6949164-44222684	Produção de gordura no leite
QTL:56371	24	39336340-47880145	Porcentagem de ácido mirístico no leite
QTL: 10290	7	25254399-64995512	Velocidade de descida do leite
QTL: 10291	7	25254399-64995512	Produção de leite

Quadro 4.4. QTLs identificados para as regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP, pertencentes à categoria Produção.

No Quadro 4.4 pode-se observar a presença de QTLs diretamente relacionados com características produtivas, sendo 4 deles (5308; 5338; 5341 e 28503) relacionados com capacidade de ingestão e conversão de alimentos; 4 deles (102112; 10922; 10921 e 1331) com peso e rendimento de carne; 6 deles (10013; 31767; 10804; 4822; 12209 e 11200) com qualidade da carne produzida e 8 (26163; 26169; 25811; 21539; 2599; 56371; 10290 e 10291) com produção, qualidade e disponibilidade do leite.

Estes 22 QTLs destacados são de grande importância para rebanhos especializados na produção de carne e bezerros, como os da raça Nelore, uma vez que a ingestão e conversão de alimentos em quantidades satisfatórias de carne, de boa qualidade, sempre foi alvo de programas de melhoramento para bovinos com esta aptidão.

QTL ID	BTA	Posição	Descrição do QTL
QTL:15175	4	41610894-47137606	Nascimento de bezerros
QTL:15176	4	41610894-47137606	Facilidade de parto
QTL:28634	4	46834289-46834365	Concepção da primeira à última inseminação
QTL:28681	4	46834289-46834365	Concepção ao primeiro estro após o parto
QTL: 3440	7	50138650-63169369	Taxa de concepção
QTL:15189	12	23991213-33037434	Facilidade de parto
QTL:11354	12	21356707-30181682	Nascimento de bezerros
QTL:15186	12	23991213-33037434	Tamanho ao nascer
QTL:15187	12	23991213-33037434	Taxa de nascimento
QTL:15188	12	23991213-33037434	Tamanho ao nascer

Quadro 4.5. QTLs identificados nas regiões dos cromossomos BTA4, 7, 12 e 24 com maior número de ROH comuns por SNP, pertencentes à categoria Reprodução.

Assim como os QTLs relacionados à produção, qualidade e disponibilidade de leite (vistos nos tópicos anteriores) os 10 QTLs presentes no Quadro 4.5 estão relacionados com outra forte atividade da criação do gado Nelore: a produção de bezerros, onde características reprodutivas são sempre objetivo de programas de melhoramento genético de bovinos para esta finalidade.

As características relacionadas aos 40 QTLs sugeridos nesse estudo de sobreposição estão em conformidade com o esperado para uma população de zebuínos selecionados para produção de carne. O Nelore brasileiro é, comumente, criado extensivamente, sob temperaturas elevadas e com a finalidade de produzir bezerros (cria), animais recuperados (recria) ou carne (engorda), portanto, características como as identificadas nesse estudo de sobreposição de QTL são desejáveis para um rebanho nelore.

4. CONCLUSÕES

As 120.707 ROHs identificadas com comprimento mínimo de 200 SNP e 2 heterozigotos permitidos mostraram-se eficientes para identificação de Assinaturas de Seleção nesta população de bovinos da raça nelore. A análise da frequência de ROHs comuns por SNPs levou a identificação de Assinaturas de Seleção nos cromossomos BTA4, 7 e 12, além de indícios de Assinatura de Seleção também no cromossomo BTA24. O estudo de sobreposição de QTL identificou QTLs nas regiões conservadas, relacionados a Características Reprodutivas; Crescimento; Produção de Carne, Carcaça e Conformação; Habilidade Materna; Eficiência Alimentar; Termorregulação e Resistência a Endo e Ectoparasitas. Os resultados encontrados mostraram-se semelhantes a trabalhos descritos anteriormente e em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, Juan a et al. 2009. “A High Density Linkage Map of the Bovine Genome.” *BMC genetics* 10: 18.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2680908&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Aroeira, Carolina N. et al. 2016. “Freezing, Thawing and Aging Effects on Beef Tenderness from Bos Indicus and Bos Taurus Cattle.” *Meat Science* 116: 118–25.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016300237>.
- Caetano, Alexandre Rodrigues. 2009. “Marcadores SNP: Conceitos Básicos, Aplicações No Manejo E No Melhoramento Animal E Perspectivas Para O Futuro.” *Revista Brasileira de Zootecnia* 38(SUPPL. 1): 64–71.
- Curik, Ino, Maja Ferenčaković, and Johann Sölkner. 2014. “Inbreeding and Runs of Homozygosity: A Possible Solution to an Old Problem.” *Livestock Science* 166(1): 26–34.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060#>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314003060/pdf?md5=1506b3e92c5d45d8a4f82b29e6fe2409&pid=1-s2>.
- Gautier, Mathieu, and Michel Naves. 2011. “Footprints of Selection in the Ancestral Admixture of a New World Creole Cattle Breed.” *Molecular Ecology* 20(15): 3128–43.
- Georges, M., and L. Andersson. 2003. “Positional Identification of Structural and Regulatory Quantitative Trait Nucleotides in Domestic Animal Species.” *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 68: 179–87.
- Goddard, Michael E, Naomi R. Wray, Klara Verbyla, and Peter M. Visscher. 2009. “Estimating Effects and Making Predictions from Genome-Wide Marker Data.” *Statistical Science*

- 24(4): 517–29. <http://arxiv.org/abs/1010.4710>.
- Kim, Eui-Soo et al. 2013. “Effect of Artificial Selection on Runs of Homozygosity in U.S. Holstein Cattle.” *PLoS ONE* 8(11): e80813. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0080813>.
- Liu, Yue et al. 2009. “Bos Taurus Genome Assembly.” *BMC genomics* 10: 180.
- Metzger, Julia et al. 2015. “Runs of Homozygosity Reveal Signatures of Positive Selection for Reproduction Traits in Breed and Non-Breed Horses.” *BMC Genomics* 16(1): 764. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/764>.
- Nascimento, M.L. et al. 2016. “Feed Efficiency Indexes and Their Relationships with Carcass, Non-Carcass and Meat Quality Traits in Nelore Steers.” *Meat Science* 116: 78–85. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016300134>.
- Oliveira, Ronaldo Lopes, and Marco Aurélio A. F. Barbosa. 2007. *Bovinocultura de Corte*. ed. Editora da UFBA. Salvador.
- Pérez O’Brien, Ana M et al. 2014. “Assessing Signatures of Selection through Variation in Linkage Disequilibrium between Taurine and Indicine Cattle.” *Genetics Selection Evolution* 46(1).
- Peripolli, E. et al. 2016. “Runs of Homozygosity: Current Knowledge and Applications in Livestock.” *Animal Genetics* (Wright 1922). <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12526>.
- Porto-Neto, Laercio R et al. 2013. “Genomic Divergence of Zebu and Taurine Cattle Identified through High-Density SNP Genotyping.” *BMC genomics* 14: 876. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4046821&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Ramey, Holly R et al. 2013. “Detection of Selective Sweeps in Cattle Using Genome-Wide SNP Data.” *BMC Genomics* 14(1): 382. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/382>.
- Santos, R. 1998. “O Zebu” *Edição Comemorativa Dos 60 Anos de Registro Genealógico Da ABCZ*. Uberaba: Editora Agropecuária Tropical.
- . 2000. *Nelore: A Vitória Brasileira*. Uberaba: Editora Agropecuária Tropical.
- Da Silva, Joaquim Manoel et al. 2015. “Genomic Variants Revealed by Invariably Missing

- Genotypes in Nelore Cattle.” *PLoS ONE* 10(8): 1–18.
- Somavilla, A L et al. 2014. “A Genome-Wide Scan for Selection Signatures in Nelore Cattle.” *Animal genetics* 45(6): 771–81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25183526>.
- Sorbolini, Silvia et al. 2015. “Detection of Selection Signatures in Piemontese and Marchigiana Cattle, Two Breeds with Similar Production Aptitudes but Different Selection Histories.” *Genetics Selection Evolution* 47(1): 52. <http://www.gsejournal.org/content/47/1/52>.
- Szmatoła, Tomasz et al. 2016. “Characteristics of Runs of Homozygosity in Selected Cattle Breeds Maintained in Poland.” *Livestock Science* 188: 72–80.
- Zavarez, Ludmilla B. et al. 2015. “Assessment of Autozygosity in Nelore Cows (*Bos Indicus*) through High-Density SNP Genotypes.” *Frontiers in Genetics* 6(January): 1–8. <http://journal.frontiersin.org/journal/10.3389/fgene.2015.00005/abstract>.
- Zhang, Qianqian et al. 2015. “Runs of Homozygosity and Distribution of Functional Variants in the Cattle Genome.” *BMC Genomics* 16(1): 542. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/542>.

CAPITULO V
CONCLUSÕES

1. CONCLUSÕES

As 120.707 ROHs identificadas com comprimento mínimo de 200 SNP e 2 heterozigotos permitidos foram utilizadas de forma eficiente para estimar níveis de autozigosidade individuais e identificar Assinaturas de Seleção na população de bovinos da raça nelore estudada. As características das ROHs observadas sugerem presença de eventos de consanguinidade recentes, devido à alta incidência de trechos longos, presentes em grande parte dos animais estudados (84,55%) e eventos antigos, devido à alta proporção de trechos curtos (96,23% de todas as ROHs identificadas abaixo de 10Mb). As estimativas de F_{ROH} indicaram altos níveis de autozigosidade no rebanho, em eventos de consanguinidade recente (até 3 gerações), subindo gradativamente até eventos antigos (acima de 50 gerações), sugerindo elevado nível de parentesco direto na população e efeitos de seleção direcional na raça ou na espécie. A análise da frequência de ROHs comuns por SNPs levou a identificação de Assinaturas de Seleção nos cromossomos BTA4, 7 e 12, além de indícios de Assinatura de Seleção também no cromossomo BTA24. O estudo de sobreposição de QTL identificou QTLs nas regiões conservadas relacionados a Características Reprodutivas; Crescimento; Produção de Carne, Carcaça e Conformação; Habilidade Materna; Eficiência Alimentar; Termorregulação e Resistência a Endo e Ectoparasitas. Os resultados encontrados mostraram-se em conformidade com o esperado, devido às características da população estudada.