

CONSTRUÇÃO DE MAPA GENÉTICO E IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES SNP ASSOCIADOS A DETERMINAÇÃO DO SEXO EM *Megaleporinus macrocephalus* (CHARACIFORMES, ANOSTOMIDAE)*

Carolina H. S. BORGES^{1,4}, Agustín BARRÍA², Raquel B. ARIEDE¹, Natália J. MENDES¹,
Milena V. FREITAS¹, Vito A. M. FILHO¹, José M. YÁÑEZ², Ricardo UTSUNOMIA³, Diogo T.
HASHIMOTO¹

¹Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Campus Jaboticabal

²Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Chile

³Universidade Estadual Paulista, Departamento de Ciências Biológicas, Campus Bauru

⁴Endereço/Adress: Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Campus Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane/n, 14884-900, Jaboticabal-SP/Brasil. e-mail: carolhsborges@gmail.com

*Apoio financeiro: FAPESP (2016/21011-9), CNPq (305916/2015-7, 446779/2014-8) e CAPES.

Palavras-chave: GWAS, piaçu, ddRAD-seq

INTRODUÇÃO

A construção de mapas genéticos é uma etapa essencial em análises de mapeamento de regiões genômicas relacionadas a características de interesse zootécnico e, portanto, fundamental no melhoramento genético assistido por marcadores moleculares. As espécies de peixes nativas brasileiras carecem de pesquisas compreendendo este tipo de informação. O objetivo deste estudo foi a construção de um mapa genético e também sua utilização em análise de associação genômica ampla (GWAS) para determinação do sexo em *Megaleporinus macrocephalus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foi realizada a extração do DNA, a preparação das bibliotecas genômicas, e o sequenciamento na plataforma Illumina NovaSeq, por meio da metodologia double digest restriction-site associated DNA sequencing (ddRAD-seq). Como a espécie não apresenta genoma de referência, foi realizada a construção dos loci *de novo* com o programa STACKS (CATCHEN *et al.*, 2011), bem como a identificação dos SNPs. Os SNPs foram filtrados utilizando-se os parâmetros $geno=0,8$ e $maf=0,05$. O mapa genético foi feito usando um *minimum logarithm of odds* (LOD) de 7 e uma progênie de 67 indivíduos F1 e seus parentais. A análise de GWAS foi feita através do método single-step GBLUP (ssGBLUP),

utilizando-se janelas exclusivas de 20 SNPs adjacentes, que permitem capturar melhor o efeito de um loci de caráter quantitativo (QTL).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas 202.627.568 reads e após a construção dos loci, 10.309 SNPs (sem filtro). Posteriormente aos processos de filtragem de qualidade, foram identificados 3.320 SNPs, dos quais 2.046 foram distribuídos em 27 grupos de ligação (LG), que corresponde ao número cromossômico da espécie. O mapa genético teve tamanho total de 2.652,26 cM e o comprimento dos LGs variou de 4,74 cM (LG22) a 170,61 cM (LG3), com média de 98,23 cM/LG. O número de marcadores assignados a LGs variou de 17 (LG25) a 184 (LG1), com média de 76 (Figura 1).

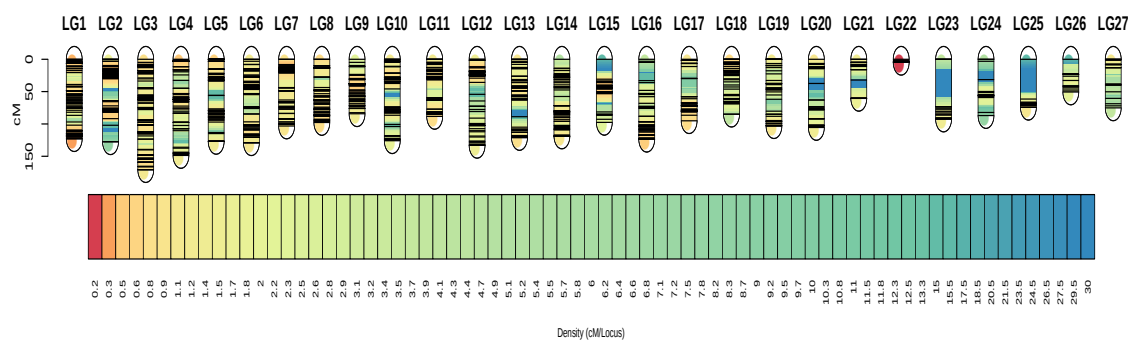


Figura 1. Mapa genético e densidade (cM/Locus).

Na Figura 2 encontra-se a representação gráfica do GWAS para determinação do sexo em piaçu. Foi traçada uma linha no valor de 3% de variância genética aditiva que corresponde ao limite mínimo para considerar uma associação significativa (WANG *et al.*, 2014). No total, 89 janelas de 20 SNPs sucessivos não repetidos e não-sobrepostos foram utilizadas. Somente uma janela, localizada no LG 14, foi responsável por 4,31% da variância genética para a determinação do sexo. Três SNPs desta janela explicaram 4,31%; 4,24% e 3,34% da variância genética para a característica. Tais resultados indicam uma arquitetura monogênica para o sexo nesta população e corroboram com a descrição citogenética da espécie (GALLETI-JR *et al.*, 1981). A mesma apresenta cromossomos sexuais ligados ao sexo e por isto é provável que os SNPs encontrados correspondam a região pseudoautosômica dos cromossomos Z e W, indicando que o loci responsável pela determinação do sexo está localizado próximo a estes marcadores.

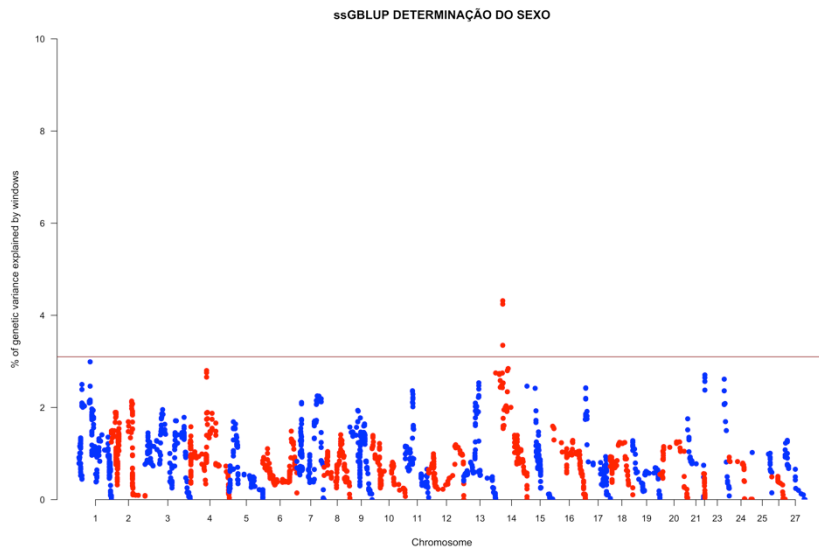


Figura 2. GWAS para determinação do sexo.

CONCLUSÃO

O mapa genético construído é o primeiro da espécie e poderá ser usado na identificação de loci de caráter quantitativo (QTL) e em estudos de associação genômica ampla (GWAS) para outras características de interesse produtivo, como crescimento. O GWAS para determinação do sexo indica arquitetura monogênica para esta característica.

REFERÊNCIA

- CATCHEN, J.; AMORES, A.; HOHENLOHE, P.; CRESKO W.; POSTLETHWAIT J. 2011 Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 1:171-182.
- GALETTI-JR, P. M.; FORESTI, F.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. 1981 Heteromorphic sex chromosomes in three species of the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). *Cytogenet. Cell Genet.*, 29: 138-142.
- WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I. et al. 2014 Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. *Frontiers in Genetics*, 5: 1-10.