

# MAPEAMENTO MIMULUS - Exercício 6 da lista 6

*Felipe Maniero Nazato, Marisangela R. Santos e Diane Simon Rozzetto*

*30/04/2015*

## Contents

<b>Figura com boa definição contendo o novo mapa obtido, para ser incorporada ao manuscrito</b>	<b>1</b>
<b>Página (em inglês) que será incorporada ao novo manuscrito a ser submetido, descrevendo os dados (número de locos, tamanho amostral, etc) e como as análises foram feitas (item Material and Methods)</b>	<b>1</b>
<b>Como as análises foram conduzidas (análises gráficas, resultados preliminares, critérios estatísticos, decisões tomadas em cada etapa, etc.)</b>	<b>2</b>
<b>Referências</b>	<b>3</b>

## **Figura com boa definição contendo o novo mapa obtido, para ser incorporada ao manuscrito**

No artigo publicado por Fishman et al. (2001) foi obtido um mapa genético com 14 grupos de ligação gerados a partir 526 indivíduos de uma população  $F_2$  resultante do cruzamento interespecífico entre *Mimulus guttatus* e *Mimulus nasutus* e 174 marcadores.

Nossa equipe propôs um novo mapa genético, também pela avaliação de uma população  $F_2$  resultante do mesmo cruzamento (*Mimulus guttatus* x *Mimulus nasutus*), utilizando para isso 399 marcadores (alguns usados por Fishman et al.(2001) e acrescentados novos marcadores) e 287 indivíduos.

O novo mapa genético proposto pela nossa equipe está disponível para visualização, nos formatos, segundo os links abaixo:

[Mapa Final - Map Chart](#)

[Mapa Final - R](#)

Também pode ser encontrado no link abaixo as matrizes da frequência de recombinação e LOD Scores (heatmaps) para cada grupo de ligação.

[Matrizes da frequência de recombinação e LOD Scores - Heatmaps](#)

## **Página (em inglês) que será incorporada ao novo manuscrito a ser submetido, descrevendo os dados (número de locos, tamanho amostral, etc) e como as análises foram feitas (item Material and Methods)**

A nossa equipe também gerou uma página contendo material e métodos (“Material and Methods”) para ser incorporada ao novo manuscrito a ser submetido para a revista Genetics.

O link contendo a página é o seguinte:

[Material and Methods](#)

## Como as análises foram conduzidas (análises gráficas, resultados preliminares, critérios estatísticos, decisões tomadas em cada etapa, etc.)

Para esse estudo de mapeamento, foram utilizados 287 indivíduos de uma população  $F_2$  originada de um cruzamento interespecífico. Esses indivíduos foram genotipados para 418 marcadores, sendo 213 marcadores com segregação do tipo 1:2:1 (co-dominantes) e 205 marcadores do tipo 3:1 (dominantes).

Para construção do mapa de ligação, foi utilizado o pacote OneMap versão 2.0-4 (Margarido et al. 2007) disponível para o software R versão 3.2.0 (R Development Core Team, 2015) em conjunto com o software RStudio. Primeiramente foram estimadas as frações de recombinação entre todos os pares de marcadores (para todos os marcadores, dois a dois) utilizando o teste de dois pontos com a função “rf.2pts”. Como critérios para declarar ligação foram utilizados um  $\text{LOD} = 6$  e frequência de recombinação = 0.37, que são valores baseados no artigo de Fishman et al., (2001). Em seguida foi feita a atribuição dos marcadores aos respectivos grupos de ligação, através da utilização da função “group”.

Para construção do mapa final, foi utilizado o algoritmo Rapid Chain Delineation (RCD) em conjunto com o comando “RIPPLE” (algoritmo RIPPLE) para ordenar os marcadores da melhor forma possível (em função da melhor verossimilhança de suas posições). Foi utilizada a função Kosambi com o uso do comando `set.map.fun(type=“kosambi”)` que permitiu somar as distâncias entre os marcadores para confecção do mapa final.

Para obter o mapa genético final com os 14 grupos de ligação, algumas etapas anteriores foram realizadas:

- Houve uma primeira tentativa de construção do mapa. Assumindo os critérios para declarar ligação entre os marcadores como frequência de recombinação de 0,37 e LOD Score de 6. Nessa primeira etapa foram formados 10 grupos de ligação e sete marcadores (AA208, BB327, BB279, CA392, BC135, CC371, MgSTS23) foram descartados pois não se “encaixaram” em nenhum grupo. Os comandos e as saídas completas da primeira tentativa estão disponíveis no seguinte link:

### [Primeira tentativa](#)

- No entanto, de acordo com o trabalho de Fishman et al. (2001), realizado com o mesmo material genético, é de conhecimento que o híbrido resultante do cruzamento *Mimulus guttatus* e *Mimulus nasutus* contém 14 grupos de ligação. Então os critérios de declaração de ligação foram reestabelecidos e dois grupos (Grupo 1 e Grupo 3), dos 10 resultantes da primeira tentativa, foram divididos, cada um, em três grupos com menor número de marcadores. A divisão dos grupos 1 e 3 foi baseada na observação de seus respectivos “heatmaps” e pode ser visualizada nos seguintes links:

O grupo 1 foi dividido nos grupos 1, 11 e 14. [Divisão do Grupo 1](#)

O grupo 3 foi dividido nos grupos 3, 7 e 10. [Divisão do Grupo 3](#)

- Após a divisão desses grupos, foram então gerados 14 grupos de ligação. Os marcadores foram então ordenados novamente, para cada grupo de ligação, utilizando o algoritmo RCD e o comando RIPPLE. Novos mapas de ligação foram obtidos para cada um dos 14 grupos de ligação. Os comandos com a reordenação dos marcadores em 14 grupos de ligação podem ser encontradas no seguinte link:

### [Segunda tentativa](#)

- Por fim, de acordo com os heatmaps gerados para cada grupo de ligação foram excluídos os marcadores que apresentaram evidências de que não pertenciam ao referido grupo de ligação. Desta forma foram mantidos 399 marcadores para construção do mapa final. Também foram renomeados os grupos de ligação obtidos de acordo com o trabalho de Fishman et al. (2001), utilizando os marcadores descritos nesse trabalho para a comparação e direcionamento dessa etapa. Os comandos com a exclusão dos marcadores e reorganização dos 14 grupos de ligação podem ser encontrados no seguinte link

### Terceira tentativa

Como resultado final, foram obtidos 14 grupos de ligação e o mapa final foi construído utilizando o Software MapChart.

### Mapa Final

## Referências

- Fishman, L., A. J. Kelly, E. Morgan and J. H. Willis, 2001 A genetic map in the *Mimulus guttatus* species complex reveals transmission ratio distortion due to heterospecific interactions. *Genetics* 159: 1701-1716.
- Margarido, G. R. A., A. P. Souza and A. A. F. Garcia, 2007 OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species. *Hereditas* 144: 78-79.
- Mollinari, M., G. R. A. Margarido, R. Vencovsky and A. A. F. Garcia, 2009 Evaluation of algorithms used to order markers on genetic maps. *Heredity* 103: 494-502.
- R Development Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, version 3.2.0, Vienna, Austria. URL <http://cran.r-project.org/>
- Voorrips, R.E., 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93 (1): 77-78.