ITEA (2004), Vol. **100A N.° 3**, 206-211

RESULTADOS PRELIMINARES DE UN EXPERIMENTO F2 EN CERDOS PARA DETECTAR QTL CON EFECTOS EN LA PROLIFICIDAD

J.L. Noguera*, G. Muñoz, A. Tomás***, L. Varona*, C. Barragán**, O. Ramírez***, M. Arqué*, C. Rodríguez**, A. Sánchez*****

* Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198

** Dpto. Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Madrid 28040

*** Unitat de Genètica i Millora Animals, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. Bellaterra 08193

Introducción

La prolificidad en el ganado porcino es el carácter más importante para mejorar genéticamente la productividad numérica (número de lechones por cerda y año). Su baja heredabilidad ha hecho difícil su mejora por los métodos clásicos de selección (HALEY *et al.*, 1988). No obstante, en la última década, la aplicación de metodologías de evaluación genética, tal como el BLUP, han posibilitado la obtención de tasas de respuesta significativas y no despreciables (SORENSEN *et al.*, 2000; NOGUERA *et al.*, 2002).

Por otra parte, la tasa de mejora de la prolificidad podría ser incrementada si los genes que controlan los procesos fisiológicos subyacentes se conocieran y se aprovechara la gran variabilidad existente en las poblaciones porcinas. El rápido desarrollo de la genética molecular, en los últimos años, está aportando mucha información sobre el genoma porcino. El mapa genético porcino contiene hoy más de 2900 marcadores localizados, de los cuales cerca de 1000 corresponden a genes funcionales además de más de 6000 secuencias (3.500 de los cuales son genes). Esta información ha facilitado la búsqueda de QTL (*Quantitative Trait Loci*) para caracteres de importancia económica mediante diversas estrategias de cruzamiento de líneas divergentes, entre ellas el diseño F2. Con estas estrategias se han podido localizar regiones del genoma asociadas a caracteres de interés económico. Los resultados publicados hasta ahora por diversos autores (CASSADY *et al.*, 2001; KONING *et al.*, 2001; KING *et al.*, 2003) en relación con la búsqueda de QTL y genes con efectos en la prolificidad en porcino, sugieren la presencia de algunos QTL para tamaño de camada, pero son poco claros y requieren confirmación

El objetivo de este trabajo es la presentación de resultados preliminares sobre la detección de QTL para prolificidad (número de lechones nacidos totales y vivos por parto) en un diseño F2 entre las razas porcinas Meishan e Ibérico (línea Guadyerbas).

Material y metodos

Material Animal

En el diseño experimental F2 se han utilizado como líneas parentales 3 machos de raza ibérica (línea *Guadyerbas*, GU) del CIA *Dehesón del Encinar* (Oropesa, Toledo) y 19 hembras de raza *Meishan* (MS) del Centro experimental de *Le Magneraud* (INRA, Francia). Estas líneas son ampliamente divergentes, de las más extremas existentes respecto de los caracteres reproductivos, p.e.: 14,39 nacidos vivos en MS (DESPRÈS *et al.*, 1992) y 7,02 en GU (SILIÓ *et al.*, 2001). Los animales F1, producto del cruzamiento de las dos líneas parentales, se obtuvieron mediante IA en el centro de *Le Magneraud*. A una edad comprendida entre los 30 y 120 días, los lechones F1 fueron trasladados a la granja experimental del IRTA (*NOVA GENETICA*, Solsona, Lleida) donde los animales fueron criados en condiciones intensivas, las habituales en una explotación de selección en cuanto a sistemas de alimentación, manejo de la reproducción y sanitarias.

La población F1 se constituyó con 8 machos y 108 hembras del total de animales F1 nacidos. A partir de esta generación F1 se obtuvo la generación F2. De las 541 hembras F2 producidas se eligieron al azar para la reproducción 330 hembras, de las cuales 259 realizaron al menos un parto. En el diseño experimental está previsto que las reproductoras F2 realicen 4 partos. Se registraron por cada parto producido el número total de lechones nacidos, nacidos vivos y momificados. En el cuadro 1 se muestran el número de camadas registradas por orden de parto.

Genotipados

La extracción de ADN genómico se realizó según los protocolos habituales, a partir de sangre en el caso de los animales parentales y F1, y a partir de sangre y colas en el caso de las F2.

Los microsatélites se analizaron por PCR mediante marcado fluorescente en un equipo de electroforesis capilar (ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer). En la elección de los microsatélites se tuvo en cuenta la posición de éstos en el genoma y su variabilidad, estimada mediante el índice de informatividad de RON (IR; RON *et al.*, 1995) en los parentales. Se utilizaron como marcadores 5 polimorfismos de genes y 110 microsatélites, repartidos entre los 18 autosomas. El número de marcadores por cromosoma oscila entre 4 (cromosoma 18) y 9 (cromosoma 6), con una media de 6,4 marcadores por cromosoma. El intervalo medio entre marcadores es de 17,4 cM.

Análisis estadísticos

El análisis de ligamiento, con los datos obtenidos del genotipado, se llevó a cabo mediante el programa CRIMAP versión 2.4 (GREEN *et al.*, 1990). Las distancias de ligamiento observadas son semejantes a los publicadas en otros mapas (http://www.genome.iastate.edu/maps/marcmap.html).

El análisis de QTL se realizó mediante un modelo de regresión de acuerdo con HALEY *et al.* (1994), utilizando el programa *QTL Express* implementado en la web (SEATON *et al.*, 2000) en http://qtl.cap.ed.ac.uk, para el cálculo de los coeficientes, y *software* propio. El modelo asume que los QTL posibles son dialélicos con alelos alternativos fijados en cada una de las razas parentales. En este

caso *QQ* para el genotipo *Ibérico* (con efecto *a*) y *qq* para el genotipo *Meishan* (con efecto *–a*). Se utilizaron todos los partos registrados. Se asumió cada parto como variable independiente. El modelo de regresión fue el siguiente:

$$y_{ij} = F_i + c_a a + c_d d + e_{ij}$$

donde y_{ij} es la observación ij, F_i es el efecto fijo asociado a la familia de hermanos completos i (i= 1 a 99 niveles), a es el efecto aditivo, d el efecto de dominancia y e_{ij} es el efecto residual. El coeficiente c_a es la probabilidad *P(QQ)-P(qq)* y c_d es la probabilidad *P(Qq)*, donde *P(QQ)* es la probabilidad de ser homocigoto de origen *Ibérico, P(qq)* es la probabilidad de ser homocigoto de origen *Meishan* y *P(Qq)* es la probabilidad de ser heterocigoto.

Los umbrales de significación cromosómicos se calcularon mediante la técnica de permutación de los datos cromosoma a cromosoma (CHURCHILL y DOERGE, 1994), realizándose 10.000 permutaciones. Los umbrales de significación a nivel genómico al 5% y al 1% se calcularon mediante la misma técnica de permutación de los datos considerando todo el genoma. Los umbrales de significación cromosómicos medios al 5% y al 1% fueron 5,3 y 7,1 respectivamente. Los umbrales de significación genómicos al 5% y 1% fueron 8,5 y 10,3 respectivamente.

Resultados

Los resultados fenotípicos de prolificidad de las hembras F2 se muestran en el cuadro 1. El número de camadas de 3° y 4° parto es bajo debido a que un número importante de cerdas, en torno a 190, aún no han completado los cuatro ciclos previstos en el proyecto.

Los resultados de los análisis de QTL se presentan en los cuadros 2 y 3 para el número de lechones nacidos vivos y totales, respectivamente. Para estos mismos caracteres los perfiles de F se muestran en las figuras 1 y 2, respectivamente. Un QTL altamente

Cuadro 1. Resultados de las hembras F2 en prolificidad

	Orden de parto				
	1	2	3	4	Todas
N° de camadas	259	220	163	38	680
Nacidos Totales					
Media	8,8	8,5	9,4	9,7	8,9
DT*	3,0	3,1	2,9	2,7	3,0
CV**	34,4	36,9	30,6	28,0	34,0
Nacidos Vivos					
Media	7,8	8,2	8,9	9,4	8,3
DT	3,4	3,0	2,9	2,6	3,1
CV	43,3	36,5	32,4	27,4	37,8

*DT: Desviación Típica.

**CV: Coeficiente de variación.

significativo a nivel genómico (p<0,01), para número lechones nacidos vivos, mapea en la posición 19 cM (límites del IC=7 a 26 cM) del cromosoma 12. Es importante señalar que el efecto aditivo va en dirección contraria a lo esperado: el alelo Ibérico incrementa los lechones nacidos vivos (1,18), y presenta un importante efecto de dominancia (1,17), lo cual es esperable en este tipo de caracteres. En el cromosoma 1 se ha detectado un QTL, en la posición 54 cM (límites del IC=34-67), que alcanza el 1% a nivel cromosómico. En este caso es el alelo Meishan el que incrementa el número de nacidos vivos (0,80), de acuerdo con lo esperado.

Para el número total de lechones nacidos se ha detectado un QTL en el cromosoma 4, significativo al 1% a nivel cromosómico, en la posición 67 cM (límites IC=56-73) con un fuerte efecto de dominancia del alelo Ibérico. El QTL detectado en el cromosoma 12 mapea en similar posición al encontrado para la variable nacidos vivos, siendo similares también la dirección y tamaño de los efectos aditivos y de dominancia, lo que sugiere que se trata del mismo QTL.

En la literatura científica no se ha descrito, según nuestro conocimiento, ningún QTL estadísticamente significativo en los cromosomas 1, 4 y 12 con efectos en el tamaño de la camada. Sin embargo, algunos autores han encontrado QTL sugestivos para la prolificidad. Así, CASSADY *et al.* (2000) sugieren la presencia de un QTL para nacidos totales (p<0,05) y para nacidos vivos (p<0,10) en el cromosoma 11, en un cruce F2 entre una línea control y una línea seleccionada para

Cuadro 2. Estimas de los efectos aditivos (a), dominancia (d), posición (IC) en el cromosoma y umbrales de significación a nivel cromosómico y genómico de los QTL significativos para Número de lechones nacidos vivos

Cromosoma	Posición (IC) cM	a (se)	d (se)	F	U. cromosómico	U. genómico	
					p=0,01	p=0,05	p=0,01
SSC1	54 (34-67)	-0,80 (0,21)	0,35 (0,32)	8,01	7,1	8,5	10,3
SSC12	19 (7-26)	1,18 (0,23)	1,17 (0,42)	14,97			

Cuadro 3. Estimas de los efectos aditivos (a), dominancia (d), posición (IC) en el cromosoma y umbrales de significación a nivel cromosómico y genómico de los QTL significativos para Número de lechones nacidos totales

Cromosoma	Posición (IC) cM	a (se)	d (se)	F	U. cromosómico	U. genómico	
					p=0,01	p=0,05	p=0,01
SSC4	67 (56-73)	-0,20 (0,25)	1,28 (0,34)	8,06	7,1	8,5	10,3
SSC12	21 (9-29)	0,96 (0,24)	1,21 (0,45)	10,04			

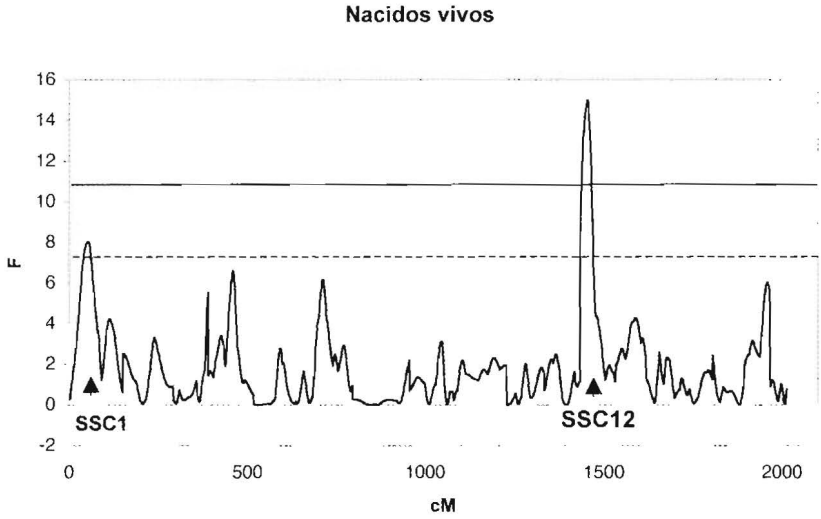


Figura 1. Perfil del valor F a lo largo de todo el genoma (2014 cM) en distintas posiciones y umbrales de significación para número de lechones nacidos vivos. La línea horizontal sólida indica el umbral genómico al 1% y la línea discontinua el umbral cromosómico al 1%. Se indican los cromosomas con QTL significativos.

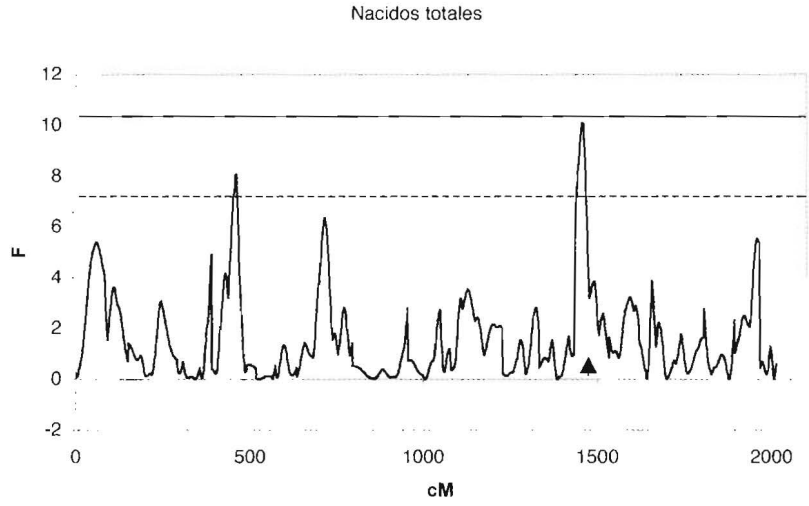


Figura 2. Perfil del valor F a lo largo de todo el genoma (2014 cM) en distintas posiciones y umbrales de significación para nacidos totales. La línea horizontal sólida indica el umbral genómico al 1% y la línea discontinua el cromosómico al 1%.

tasa de ovulación y supervivencia embrionaria. Por otra parte, de KONING *et al.*. (2001) en un cruce F2, entre Meishan y Landrace, detectaron para el tamaño de camada un QTL putativo para el primer parto (p=0,38) en el cromosoma 7 y tres QTL putativos para el segundo parto (p=0,26-0,61) en los cromosomas 12, 14 y 17.

El modelo de análisis de QTL utilizado en este trabajo no ha tenido en cuenta las correlaciones existentes entre los partos, el efecto permanente de la cerda, ni ha considerado el efecto del orden de parto sobre el tamaño de camada, por lo que los resultados presentados pueden verse afectados por las asunciones realizadas. Las próximas investigaciones irán encaminadas a analizar los datos con un modelo más complejo que considere en el modelo estos elementos citados anteriormente e incluya también otros efectos genéticos no contemplados hasta el momento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por MCYT (proyecto AGL2000-1229). A Jean Pierre Bidanel (INRA) y J.C. Caritez (INRA) por su inestimable colaboración. Al personal *Nova Genètica* por su cooperación en el protocolo experimental en particular a E. Ramells, F. Márquez, I. Riart, R. Malé, F. Rovira y M. González. A P. Garcia-Casado (INIA) y R. Sánchez (INIA) por sus contribuciones en la preparación de dosis seminales. Los autores agradecen especialmente las contribuciones del INRA (Francia) y del CIA *El Dehesón del Encinar* (Toledo) por proporcionar las cerdas puras Meishan y los verracos Guadyerbas, respectivamente.

Bibliografía

CASSADY *et al.*, 2001. *Journal of Animal Science* 79: 623-633.

CHURCHILL y DOERGE, 1994. *Genetics* 138. 963-971.

DE KONING *et al.*, 2001. Livestock Production Science 72: 185-198.

GREEN *et al.*, 1990. Documentacion *CRI-MAP. http://biobase.dk.Embnetut/Crimap.*

HALEY *et al.*, 1988. *Animal Breeding Abstract* 56: 317-332.

HALEY *et al.*, 1994. Genetics 136:1195-1207.

KING *et al.*, 2003. Biology of Reproduction.68 (6): 2172-2179.

NOGUERA *et al.*, 2002. *Journal of Animal Science* 80: 2548-2555.

RON *et al.*, 1995. *Animal Genetics* 26: 439-441.

SEATON *et al.*, 2002. *Bioinformatics* 18: 339-340.

SILIÓ *et al.*, 2001. En *Porcino Ibérico: Aspectos claves*, pp: 125-149, Mundiprensa, Madrid.

SORENSEN *et al.*, 2000. Genetics 156: 283-295.