ASOCIACIÓN ENTRE MARCADORES DEL CROMOSOMA 6 OVINO Y PRODUCCIÓN LÁCTEA

Diez-Tascón C., de la Fuente L.F., Bayón Y. y San Primitivo F.
Dpto. Producción Animal I, Universidad de León

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han abordado, en varias especies, diversos estudios relacionados con la detección de loci implicados en la determinación de los caracteres cuantitativos (QTLs). El objetivo primordial de la detección de los QTLs es su manipulación con fines selectivos, especialmente útil en el caso de los caracteres de baja heredabilidad o de aquellos que sólo pueden medirse en un sexo.

En lo que se refiere a la producción láctea, el desarrollo de este tipo de experimentos se ha centrado en el ganado vacuno. En esta especie se dispone de familias muy grandes con un progenitor común, lo que permite obtener una notable potencia estadística en los diseños experimentales. En la actualidad se están realizando estudios que incluyen toda la dotación cromosómica y que ya han permitido localizar varias regiones con influencia sobre este tipo de producción. (GEORGES et al., 1995; ASHWELL et al., 1997; ARRANZ et al., 1998; GOMEZ-RAYA et al., 1998). En el ganado ovino, sin embargo, no se conocen investigaciones paralelas. La estructura poblacional de la mayoría de las razas ovinas dificulta disponer del elevado número de individuos requerido para este tipo de estudios. La gran cantidad de agrupaciones raciales ovinas, aisladas reproductivamente entre sí, constituye un problema adicional. No obstante, hay que considerar que el ganado ovino presenta, como aspecto favorable respecto al vacuno, una mayor variabilidad genética. En general, los programas de selección en las poblaciones ovinas son más recientes por lo que, es de esperar, se encuentre segregando un mayor número de loci, interesantes desde el punto de vista productivo.

El objetivo del presente trabajo es el estudio de la asociación entre once marcadores de tipo microsatélite, localizados en el cromosoma 6 ovino, y la cantidad de leche producida. El modelo experimental utilizado es un "diseño hija", aplicado a una población de raza Churra. La elección del cromosoma 6 para iniciar un estudio de estas características, se fundamentó en varios aspectos. En primer lugar, a este cromosoma se han asignado los loci responsables de los tipos proteicos mayoritarios de la leche, las caseínas, que podrían constituir un factor determinante de los niveles productivos. En segundo lugar, en este cromosoma se han centrado muchas investigaciones, debido a que en él se localiza el locus Booroola, de elevado interés económico. Como consecuencia de ello, es uno de los cromosomas que cuentan con un mapa de ligamiento más completo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los animales utilizados en el presente estudio pertenecen a explotaciones inscritas en la Asociación Nacional de Criadores de Raza Churra (ANCHE), estando incluidos en el núcleo de selección y sometidos a controles productivos periódicos. Se analizaron 8 familias, constituidas por un semental y su descendencia de medio-hermanas.

Las once secuencias de tipo microsatélite, elegidas a partir del mapa de ligamiento del cromosoma 6 ovino (MADDOX et al., 1996), se indican en la Tabla 1. El análisis de cada marcador se llevó a cabo, únicamente, en aquellas familias en las

que el padre resultó heterocigótico. Las reacciones de amplificación de los microsatélites se desarrollaron en un volumen de 10 µl, empleando una mezcla de reacción estándar. El producto de la PCR fue marcado, bien radiactivamente, incorporando [^{35}S]dATPαS, bien introduciendo un oligonucleótido marcado con un fluorocromo (Cy5). Una vez realizada la electroforesis, y dependiendo de la técnica utilizada en cada caso particular, los genotipos individuales fueron identificados mediante visualización directa de una película de autorradiografía o mediante un equipo de secuenciación automática (ALFexpress®DNA Sequencer, Pharmacia Biotech).

Para el estudio de la asociación entre cada marcador y la producción de leche, fueron descartadas aquellas hembras de genotipo idéntico al paterno (hijas no informativas). El parámetro considerado fue el valor genético de cada oveja para la leche ordeñada en el periodo post-destete, estandarizada a 120 días (VGL), estimado según un Modelo Animal.

Se realizó un análisis de varianza mediante la aplicación MIXED del paquete informático SAS. El modelo utilizado viene dado por la expresión siguiente:

$$Y = \mu + S_i + M_{j(i)} + \varepsilon_{ijk}$$

donde Y es el valor genético del individuo para el carácter, μ es la media poblacional, S_i es el efecto del semental i, $M_{j(i)}$ es el efecto del marcador j subordinado al semental i, siendo S un efecto aleatorio y M_j un efecto fijo, y ε_{ijk} es el error asociado a cada observación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra el número de hijas analizado, así como el número de ellas que resultaron informativas para cada marcador. Se incluyen, además, los valores de probabilidad (P) obtenidos mediante el análisis de varianza, para el parámetro VGL. Aparecen destacados los valores de P que mostraron asociaciones estadísticamente significativas (P<0,05) en alguna de las familias.

Los resultados más relevantes corresponden a los marcadores BM4311, CSRD293 y OarJMP8. Nuestras estimaciones indican que estas secuencias se encuentran muy próximas entre sí, siendo la distancia entre BM4311 y CSRD293 de 9,7 cM, y entre esta última y OarJMP8 de 2,8 cM (DIEZ-TASCÓN, 1998). El análisis de varianza mostró una asociación entre estos tres microsatélites y la variable estudiada, en el caso de una de las familias, designada como Familia 6. El nivel de significación obtenido fue del 5% (P<0,05) para BM4311 y CSRD293, llegando a alcanzar el 1% (P<0,01) para OarJMP8. Estos datos podrían ser indicativos de la presencia de un QTL con influencia sobre la cantidad de leche producida, en la región donde se ubican estos tres marcadores.

Asimismo, en otras dos familias se detectaron valores significativos (P<0,05) asociados, respectivamente, a los marcadores CSRD293 (Familia 1) y OarJMP8 (Familia 2). Estos resultados no presentan una elevada consistencia, dado que las asociaciones significativas no se reflejan en marcadores adyacentes. No obstante, es de resaltar que en el caso de la Familia 2 los valores de P obtenidos para las secuencias adyacentes (BM4311 y OarJMP8) fueron relativamente bajos (0,15 y 0,14, respectivamente). Por otro lado, ambas familias tienen un tamaño reducido (tan sólo 38 individuos en cada una de ellas), lo que constituye en sí un factor limitante de la potencia del análisis.

Resulta interesante el hecho de que la ubicación de los loci codificadores de las caseínas, en el mapa de ligamiento del cromosoma 6 ovino, sea muy próxima a la de los marcadores citados (MADDOX et al., 1996). Distintos experimentos, realizados en el ganado vacuno, muestran la asociación de la región de las caseínas con parámetros de producción láctea. Este es el caso de los estudios llevados a cabo por BOVENHUIS y WELLER (1994) (concentración de grasa de la leche), VELMALA et al. (1995) (cantidad de leche y porcentaje de grasa) y MOSIG et al. (1998) (porcentaje de proteína). Teniendo en cuenta las homologías observadas en el mapa genético del cromosoma 6, entre las especies bovina y ovina (LORD et al., 1996), los resultados obtenidos en nuestro estudio permiten sospechar la existencia de regiones responsables de efectos semejantes en el ganado ovino. Su confirmación requeriría ampliar el número de hijas de cada familia y aplicar una metodología estadística más específica.

Tabla 1. Individuos analizados y valores de P obtenidos para la variable *VGL*.

Familia	1	2	3	4	5	6	7	8	
N° hijas analizado	38	38	73	84	34	73	86	41	467
Marcador	**P**								**N° hijas inform.**
OarCP125	-	0,5652	0,5178	-	0,7242	0,3933	0,3749	0,7804	***292***
McM53	0,2518	0,7088	0,9625	-	0,2270	0,1374	0,3634	0,2168	***300***
OarAE101	-	0,5025	0,6282	-	0,5340	-	0,6534	0,9492	***233***
BM143	-	0,5904	0,3816	0,3743	0,4740	0,5911	0,7932	0,3200	***347***
BMS360	0,8799	-	0,6925	0,9005	0,5000	-	0,8365	0,8704	***304***
BM4621	0,9311	0,7483	0,6060	0,8013	0,0915	0,4847	0,1856	0,2453	***412***
BM4311	0,9871	0,1506	-	0,8015	-	**0,0145***	-	0,8500	***238***
CSRD293	0,8531	**0,0353***	0,1117	-	-	**0,0314***	0,9300	0,8220	***299***
OarJMP8	**0,0439***	0,1402	-	0,5316	-	**0,0077****	-	-	***193***
McM214	0,7896	0,2245	0,6812	0,4979	-	-	0,6007	0,7008	***312***
OarJMP12	0,6243	-	0,5443	0,6317	-	-	-	0,5054	***200***

* $P < 0,05$ ** $P < 0,01$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRANZ, J.-J., COPPIETERS, W., BERZI, P. et al. (1998). *Anim. Genet* **29:** 107-115.
ASHWELL, M.S., REXROAD, C.E. JR, MILLER R.H. et al. (1997). *Anim. Genet.* **28:** 216-222.
BOVENHUIS, H. & WELLER, J. I. (1994). *Genetics* **137:** 267-280.
DIEZ-TASCÓN, C. (1998). *Tesis Doctoral. Universidad de León.*
GEORGES, M., NIELSEN D., MACKINNON, M. (1995) *Genetics* **139:** 907-920.
GÓMEZ-RAYA, L., KLUNGLAND, H., VÅGE, D.I., (1998). *Proceedings of the 6th world congress on genetics applied to livestock production.* Armidale. **26:** 429-432.
LORD, E.A., LUMSDEN, J.M., DODDS, K.G. (1996). *Mamm. Genome* **7:** 373-376.
MADDOX, J.F., DAVIES, K.P., CUTHBERTSON, R. (1996). *Anim. Genet.* **27 (Supl. 2):** 85-86.
MOSIG, M.O., LIPKIN, E., DARVASI, A. (1998). *Proceedings of the 6th world congress on genetics applied to livestock production.* Armidale. **26:** 253-256.
VELMALA, R., VILKKI, J., ELO, K. & MÄKI-TANILA, A. (1995). *Anim. Genet.* **26:** 419-425.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGF96-0819-CP.