ASIGNACIÓN DE LA VARIANZA GENÉTICA EXPLICADA POR MARCADORES PARA CARACTERES DE LANA EN OVEJAS MEDIANTE MAPEO POR SEGMENTOS

Ricardo Ponz Mir[1,2], Carole Moreno[1], Daniel Allain[1], Jean M. Elsen[1], Fréderic Lantier[3], Isabelle Lantier[3], Jean C. Brunel[4], Miguel Pérez-Enciso[1]

[1] Station d'Amélioration Génétique des Animaux, INRA, BP27, 31326 Castanet-Tolosan, Francia.

[2] Dirección permanente: Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular, Facultad de Veterinaria, C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España (e-mail: 406859@docto.unizar.es)

[3] Unité de Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA , 37380 Nouzilly, Francia.

[4] Domaine expérimental Bourges-La Sapinière, 18390 Osmoy, Francia.

INTRODUCCIÓN

Un primer paso a la hora de identificar los genes con efecto cuantitativo (QTL´s) en el genoma es realizar un barrido con microsatélites que cubran todo el genoma. Ésta es, sin embargo, una estrategia lenta y onerosa. Un método alternativo consiste en tipificar un número más limitado de marcadores y estimar la fracción de la varianza genética total explicada por el conjunto de ellos. Esto nos permite identificar los cromosomas más relevantes para continuar con un genotipado más fino. El mapeo por segmentos (Pérez-Enciso y Varona, 2000) se adapta bien a este fin ya que, dividiendo el genoma en una serie de segmentos, nos permite analizar la parte de la varianza genética total explicada por cada uno de de los segmentos, así como la del resto del genoma. Hemos utilizado esta estrategia en un diseño experimental de búsqueda de QTL´s para características de la lana en ovino (Allain et al., 1998).

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 1829 animales de la raza sintética INRA401 (Romanov x Berichon du Cher) (Ricordeau et al. 1992) La población se componía de 30 machos y 690 hembras, que produjeron 1109 corderos (694 machos y 415 hembras). Se extrajo ADN de muestras sanguíneas y se genotiparon los marcadores por PCR, analizándose 40 microsatélites repartidos en 20 cromosomas. Los microsatélites estudiados y la distancia en cM entre ellos (estimada mediante CRIMAP) fue: **chr 1**, INRA049; **chr 2**, OARFCB20 -15- ISLTS30 -74- ARO28 -6- TG13 -6- TG23; **chr 3**, BMC1009 -32- OARVH34; **chr 4**, McM218 -46- MAF050 -39- OARHH35 -30- McM73 -17- OARHH64; **chr 5**, OARAE129; **chr 6**, OARAE101; **chr 7**, ILST005; **chr 8**, BM2504; **chr 9**, ILSTS0011 -28- ILSTS008 -15- McM042; **chr 11**, OARFBC193 -11- MAP2C; **chr 12**, HUJ625; **chr 13**, IL2RA -40- ILSTS059; **chr 15**, BM0848 -21- TGLA75 -49- MAF065; **chr 16**, BM1225 -58- MAF214; **chr 17**, BM8125 -38- OARFCB048; **chr 18**, ILSTS052; **chr 20**, OLADRB -18- BM1258 -56- OARHH56; **chr 21**, BMC1206; **chr 25**, IDVGA8 -15- IDVGA088; **chr 26**, CSSM43. Se tomaron las muestras de lana a los corderos a peso fijo de 32 Kg para las hembras y 38 Kg para los machos (alrededor de 3 meses de edad). Se midió la longitud de la mecha (**SL**) y, con un analizador óptico de fibras, se determinaron la media (**MFD**) y el coeficiente de variación (**CVFD**) del diámetro de la fibra.

El modelo linear utilizado para el análisis fue:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\bullet\ \beta + \mathbf{a}_0 + \sum_{s=1}^{nseg} \mathbf{a}_s + \mathbf{e} = \mathbf{X}\,\beta + \sum_{s=0}^{nseg} \mathbf{a}_s + \mathbf{e}\,, \qquad [1]$$

donde **y** es el vector que contiene los fenotipos, **X** es la matriz de incidencia de los efectos fijos β en las observaciones, $\mathbf{a}_s$ contiene los efectos genéticos asociados con el segmento s, y **e** es el vector de los residuos. Para cada cromosoma, los marcadores más extremos delimitaron el segmento, si sólo había un marcador por cromosoma, definimos una región de 20 cM alrededor del marcador. Por convención utilizamos $s = 0$ para denotar el valor genético infinitesimal. Los efectos fijos incluidos en β varían de acuerdo con el carácter, y son aquellos que se encontraron significativos en análisis previos (Moreno, 1999). Los efectos fueron sexo, serie (3 niveles) y edad (4 niveles) para la longitud de mecha; sexo, serie y modo de nacimiento-lactancia (5 niveles) para diámetro de fibra medio y serie para el coeficiente de variación del diámetro medio.

Definimos la heredabilidad del segmento como $h_s^2 = \sigma_s^2 / (\sum_{s=0}^{nseg} \sigma_s^2 + \sigma_e^2) = \sigma_s^2 / \sigma_y^2$. La heredabilidad clásica se estima incluyendo solo $\mathbf{a}_0$ en el modelo, y entonces $h_0^2 = \sigma_0^2 / (\sigma_0^2 + \sigma_e^2)$. Utilizaremos la notación Modelo(*s*, *s'*) para especificar un modelo de la ecuación [1] que incluye los segmentos *s*, *s'*, ej. Modelo(0, 3) significa que se fijó el efecto genético infinitesimal más el efecto del segmento del cromosoma 3. Los parámetros σ_0^2 y σ_s^2, la varianza del segmento del cromosoma *s*, fueron estimados por máxima verosimilitud como se describe en Pérez-Enciso y Varona (2000).

El cociente de verosimilitudes (LRT) del Modelo(0, *s*) versus el Modelo(0) es una evidencia de cuándo el cromosoma *s* explica una parte significativa de la variación genética.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura muestra que sólo 5 de los 20 cromosomas tipados (chrs 3, 4, 6, 7 y 25) influyen significativamente ($P < 0.05$) en alguno de los caracteres estudiados, El carácter SL está afectado por 3 cromosomas (3,7 y 25), MFD por 2 cromosomas (6 y 25) y CVFD por 3 cromosomas (4,7 y 25). La Tabla muestra los resultados de los cromosomas que resultaron significativos.

Asimismo, también realizamos un análisis conjunto de todos los segmentos significativos más a_0 para cada uno de los caracteres (Ponz et al., sin publicar). En este análisis se vio que toda la variación genética para SL está explicada por los crs. 3, 7 y 25 , esto es, el Modelo(0, 3, 7, 25) no fue significativamente mejor que el (3, 7, 25) para SL. Es interesante constatar que uno de los grupos de genes de la queratina (KRT2.10 and KRT2.13) está situado en el cr. 3, en la zona de máxima significación.

Los dos cromosomas significativos, 6 y 25, explicaron sólo el 40% del total de la varianza genética de MFD, el resto se debe a genes en grupos de ligamiento sin tipar o que se encuentran alejados de los marcadores tipados. Para el coeficiente de variación del diámetro medio, el resultado es intermedio entre los otros dos caracteres; los tres segmentos 4, 7 y 25, explican el 50% de la varianza genética.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subencionado por AIM INRA GRAM y "Génome et fonctions". R. Ponz agradece el apoyo económico de la Diputación General de Aragón (proyecto P66/97) y de la Caja de Ahorros de la Inmaculada (CONSI+D y CAI, "Programa Europeo de Estancias de Investigación"

REFERENCIAS

Allain D. (1998). Proc 6th World Cong Genet Appl Livest Prod. Vol 24: 51-54.

Pérez-Enciso M, Varona L (2000) Genetics 155, 391- 405.

Ricordeau G. (1992). INRA Prod Anim, no 'hors série' "Elements de Génétique Quantitative et application aux populations animales" 255-262.

Moreno C (1999) Recherche de gènes à effet quantitatif liés à des marqueurs moléculaires dans la souche ovine INRA401. Diplôme d´Études Approfondies.

Tabla. *Resultados de cromosomas individuales. Cr, cromosoma; Cr = i, indica que en el modelo se incluyó a_0 más el cromosoma i; Cr = 0, resultado incluyendo sólo a_0.*

Carácter	Cr	LRT (<P)	h^2_0	h^2_s
SL	0	-	0.36 ± 0.06	-
	3	10.4 ($<5\cdot10^{-4}$)	0.16 ± 0.09	0.20 ± 0.06
	7	3.9 (<0.03)	0.21 ± 0.10	0.15 ± 0.07
	25	8.2 ($<10^{-3}$)	0.23 ± 0.08	0.13 ± 0.05
MFD	0	-	0.55 ± 0.08	-
	6	3.3 (<0.03)	0.47 ± 0.10	0.11 ± 0.06
	25	4.6 (<0.02)	0.44 ± 0.10	0.11 ± 0.05
CVFD	0	-	0.75 ± 0.07	-
	4	2.9 (<0.05)	0.64 ± 0.10	0.12 ± 0.06
	7	4.0 (<0.02)	0.59 ± 0.10	0.16 ± 0.08
	25	4.9 (<0.02)	0.66 ± 0.09	0.09 ± 0.04

Figura: *Cociente de verosimilitudes entre el Model(0) y el Modelo(0,cr). La línea corresponde al nivel aproximado de significación del 5%.*

