RESULTADOS PRELIMINARES DE UN ESTUDIO DE QTL EN EL CROMOSOMA 6 BOVINO PARA CARACTERES DE PRODUCCIÓN LECHERA EN UNA POBLACIÓN FRISONA ASTURIANA

Isabel Álvarez[1], Juan José Arranz[2], Iván Fernández[1], Luis José Royo[1] y Félix Goyache[1*]

[1]SERIDA-CENSYRA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias); [2]Departamento de Producción Animal I. Facultad de Veterinaria, Universidad de León *e-mail: fgoyache@serida.org

INTRODUCCIÓN

En el ganado vacuno lechero se han identificado diferentes regiones genómicas con influencia sobre los fenotipos relacionados con caracteres productivos (QTL). El mayor número de asociaciones significativas entre marcadores moleculares y caracteres de producción de leche se han detectado en el cromosoma 6 (ÁLVAREZ et al., 2001), tanto en la raza frisona como en otras poblaciones de carácter lechero. Es posible que en este cromosoma exista más de una región con influencia sobre los caracteres productivos lecheros, ya que se han observado fuertes evidencias en la región centromérica (GEORGES et al., 1995; SPELMAN et al., 1996; ZHANG et al., 1998) y en una zona cercana al *cluster* de las caseínas (KHÜN et al., 1999; VELMALA et al., 1999; WIENER et al., 2000). Este trabajo plantea comprobar si los QTLs con influencia sobre caracteres de producción de leche detectados en el cromosoma 6, segregan en la población de ganado Frisón ubicada en Asturias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado un pedigrí de medio hermanas de padre, de ganado Frisón Español, controlado por la cooperativa Asturiana de Control Lechero (ASCOL) en colaboración con el SERIDA (MÉNDEZ, 2002). El pedigrí lo integran familias de hijas de 5 sementales frisones, con 164-189 hijas por semental. El pedigrí se ha genotipado con 10 marcadores microsatélites localizados en el cromosoma 6, amplificados en 3 reacciones diferentes (ÁLVAREZ et al., 2001): multiplex FAM (BM4311, BM 415, BM4528); multiplex TET (BM143, BM1329, ILSTS93, CSN3) y multiplex HEX (TGLA37, BM4621, ILSTS97). En la multiplex TET se incluyó un cuarto marcador que se localiza dentro del cluster de las caseínas, el CSN3. La amplificación por PCR se realizó en un volumen final de 10 µl y 50 ng de ADN extraído a partir de semen y sangre. La separación electroforética se efectuó en geles de poliacrilamida 4,25% (19:1) utilizando un secuenciador automático ABI Prism 377. El análisis de los geles y la identificación alélica se realizó con los programas GeneScan y Genotyper de Applied Biosystem®. Como valores fenotípicos se han empleado los méritos genéticos de los animales para cantidad de leche, cantidad y porcentaje de grasa y, cantidad y porcentaje de proteína obtenidos mediante las evaluaciones genéticas oficiales de CONAFE. Sobre la información aportada por los 10 microsatélites considerados, se elabora un mapa de ligamiento adaptado a la población estudiada utilizando el programa CRIMAP (LANDER y GREEN, 1987), que aplica la función de Kosambi para calcular, a partir de las frecuencias de recombinación, la distancia en cM existente entre los marcadores. Al mismo tiempo, se reconstruyeron los haplotipos más probables de los padres,

correspondientes a las 5 familias en estudio. Para ello, el programa CRIMAP utiliza una función de máxima verosimilitud asumiendo, como más probables, aquellas fases en las que el número de recombinaciones es más pequeño. Los análisis estadísticos se realizan por posiciones fijas "**s**" (1 cM) del mapa de ligamiento obtenido y se llevan a cabo empleando el Método de regresión para marcadores múltiples, basado en un análisis de mínimos cuadrados (Knott et al., 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para los marcadores BM4528 y ILSTS097, reflejaban la existencia un número mucho más elevado de recombinantes que el que se esperaría por su posición en el mapa de ligamiento, por lo que asumimos que existía algún factor que influía en la correcta identificación genotípica, fundamentalmente artefactos durante la reacción de PCR, y fueron eliminados del análisis. El mapa de ligamiento obtenido incluye 8 marcadores que cubren 155 cM (Haldane), desde el ILSTS093 al BM4311, y muestra una elevada correspondencia con los mapas bovinos obtenidos por otros autores (Kappes et al. 1997; Barendse et al., 1997), tanto en el orden de los ocho marcadores, como en las distancias estimadas entre ellos. El contenido informativo del mapa obtenido se puede observar en la Figura 1. En la región comprendida entre los 15 y 72 cM. y flanqueada por los marcadores ILST093 y BM1329, encontramos una zona donde el contenido informativo es bajo (menor del 50%), debido a la ausencia de marcadores. Sin embargo, en la zona delimitada por los marcadores BM143 y BM4311 encontramos niveles de información por encima del 60%.

En la Figura 2 queda reflejado el resultado (Log10 de los valores P) de los análisis de asociación entre las regiones genómicas cromosoma 6 en la población de ganado Frisón analizada y los valores fenotípicos de los caracteres de producción de leche. Se puede observar que en la región comprendida entre los 125 y 153 cM, delimitada por los marcadores BM415 y CSN3, el carácter porcentaje de proteína obtiene los resultados más destacables presentando una significación cercana al 1%. Cuando se observa el comportamiento dentro de las diferentes familias, se observan que existe una clara evidencia a favor de la segregación en esta región en las familias 2 y 5. En el resto de las variables, los niveles de significación que se alcanzan no hace suponer la presencia de ningún QTL segregando (Figura 2). Sin embargo, en la región centromérica, aunque no se observa una significación estadística, los resultados obtenidos en una de las familias, nos podrían hacer pensar en que aumentando el número de familias analizadas quizás se podría observar la existencia de un QTL con influencia sobre el carácter porcentaje de grasa como han puesto de manifiesto alguno de los autores antes referenciados.

Nuestros resultados son concordantes con los obtenidos en otras poblaciones de la misma raza en lo que se refiere a la región cercana del clúster de las caseínas, mientras que no se han observado evidencias estadísticas de segregación del QTL localizado en la región centromérica del cromosoma 6 en la población analizada. En el caso de la región verificada, un análisis con mayor densidad de marcadores y que contemplase el análisis conjunto con otras poblaciones de la misma raza, segregantes en esta región, podría detectar un fragmento IBD portador del QTL responsable del efecto (RIQUETT et al., 1999).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ, L., et al.. (2001). ITEA, Vol. Extra, nº 21.
BARENDESE, W. et al., (1997). Mammalian Genome, 8: 21-28
GEORGES, M., et al., (1995). Genetics, 139: 907-920.
KAPPES, S.M. et al., (1997). Genome Research, 7: 235-249.
KHÜN, C.H., et al., (1999). Animal Genetics, 30: 333-340
KNOTT S.A., et al. (1996). Theor. Appl. Genet, 93: 71-80.
LANDER E, GREEN P (1987). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 2363-2367.
MÉNDEZ, C. 2002. Frisona Española, 131: 100-101.
RIQUET, J., et al.. (1999). Proc. Natl. Acad. Sci. USA , 96: 9252-9257
SPELMAN, R, et al., (1996). Genetics, 144: 1799-1808.
VELMALA, R.J., et al., (1999). Animal Genetics, 30: 136-143
WIENER, P., et al. (2000) Animal Genetics, 31: 389-395.
ZHANG, Q., et al., (1998). Genetics, 149: 1959-1973.

Figura 1: Contenido de información de los marcadores analizados en el cromosoma 6 bovino. La posición de los marcadores se indica en el eje de abscisas.

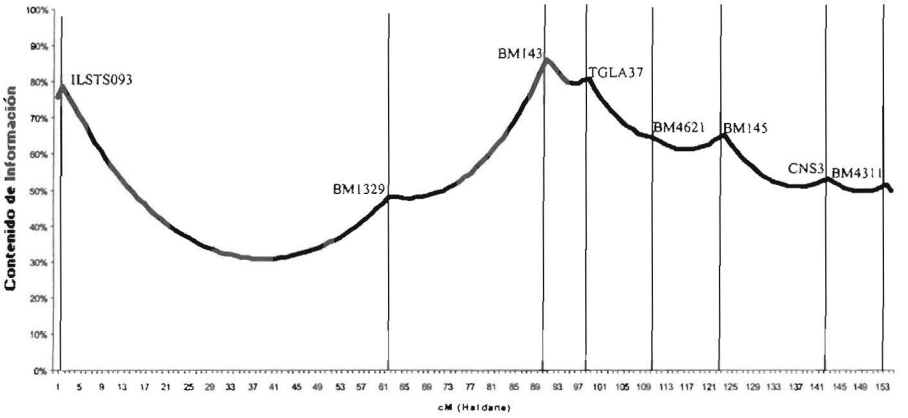


Figura 2: Test estadísticos de los análisis entre familias para producción de grasa (Grasa_K), porcentaje de proteína (Prot_%) y porcentaje de grasa (Grasa_%)

