CONFIRMACIÓN DE UN QTL CON EFECTO SOBRE CARACTERES DE PRODUCCION DE LECHE EN LA RAZA OVINA CHURRA

García-Gámez, E., Gutiérrez-Gil, B., García Fernandez, M., Sánchez, J.P., de la Fuente, L.F. San Primitivo, F. y Arranz J.J.
Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. E-mail: egarg@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, la producción de leche de ganado ovino se concentra en los países mediterráneos y va unida a la explotación de razas locales para la producción de queso de alta calidad. La mejora y el mantenimiento de estos sistemas de explotación son importantes, además de por una significación histórica y cultural, para el mantenimiento de estas poblaciones en áreas más desfavorecidas y la conservación de los ecosistemas. El principal factor que contribuye a este mantenimiento es la explotación de esas razas locales rentables. Para ello y desde hace años se han establecido programas de selección con objeto de mejorar sus producciones. Además, como complemento de los anteriores, se han realizado estudio con herramientas moleculares que intentan detectar genes con influencia sobre diferentes caracteres productivos.

Los primeras investigaciones de QTL en la raza Churra fueron hechos por nuestro grupo de investigación analizando cromosomas candidatos (Díez-Tascón et al., 2001).

Posteriormente se llevó a cabo un barrido genómico en busca de regiones que portaran QTL para diferentes caracteres: morfología mamaria y recuento de células somáticas como parámetro relacionado con la resistencia a la mamitis (Gutiérrez-Gil et al., 2007; Gutiérrez-Gil et al., 2008) y con caracteres de producción de leche (Gutiérrez-Gil et al., 2009). Con objeto de detectar la verdadera naturaleza de estos QTL, es necesaria la confirmación de estos efectos. Una de las formas de confirmar estos QTL es mediante el análisis de una muestra independiente de hijas de las familias que han mostrado evidencia de segregación, así como el análisis de nuevas familias. En el presente artículo presentamos el análisis de uno de los QTL detectado y la confirmación en una muestra independiente de familias analizadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se han utilizado dos conjuntos de datos, por un lado los producidos en el *genome scan* por Gutiérrez-Gil et al. (2007) y por otro las nuevas familias muestreadas para la confirmación. Los nuevos animales son un total de 841 medio hermanas distribuidas en 15 familias, pertenecientes a 16 rebaños del núcleo de selección de ANCHE. El tamaño medio de las familias es de 83 ovejas, variando entre 27 y 260 animales.

Para el estudio del cromosoma 20 se eligieron marcadores microsatélites utilizados en la construcción de un mapa de ligamiento en la población de raza Churra (Gutiérrez-Gil et al., 2008): BM1248, BM1905, BP34, DYA, INRA132, MCMA23 y OLADRB. Tras la obtención del ADN, se amplificaron los marcadores mediante PCR y se obtuvieron las variantes alélicas a partir de la electroforesis en un secuenciador *ABI3130 Genetic Analyzer*. La identificación alélica se llevó a cabo utilizando el software GeneMapper 4.0.

La elaboración del mapa de ligamiento se realizó mediante programa CRIMAP (Green et al., 1990) empleando las rutinas *build* y *chrompic* para la construcción del mapa y el control de múltiples recombinantes, respectivamente. Los caracteres utilizados en la detección de QTL han sido: cantidad de leche (MY), porcentaje de proteína (PP) y porcentaje de grasa (FP). Los caracteres empleados ha sido las "*yield deviations*" obtenidas al corregir los valores brutos para los factores fijos que mostraron significación. Posteriormente, el análisis para la confirmación del QTL se llevó a cabo con el programa *GridQTL* (Seaton et al., 2006) que utiliza un método de regresión con múltiples marcadores desarrollado por Knott et al. (1996). Los valores con significación *chromosome-wise* fueron determinados mediante 10.000 permutaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra el mapa obtenido tras el análisis de ligamiento en cada cM del cromosoma 20 ovino, en concordancia con el mapa previamente publicado (Maddox et al., 2001; Gutiérrez-Gil et al., 2008). Asimismo, se representan los valores del parámetro contenido de información (CI) a lo largo del mapa. La longitud del mapa fue de 89 cM (Kosambi). El contenido de información promedio fue del 70%, con un valor máximo de 88,52% en la posición del marcador DYA, y un mínimo de 49,49% en el intervalo [BM1905-MCMA23].

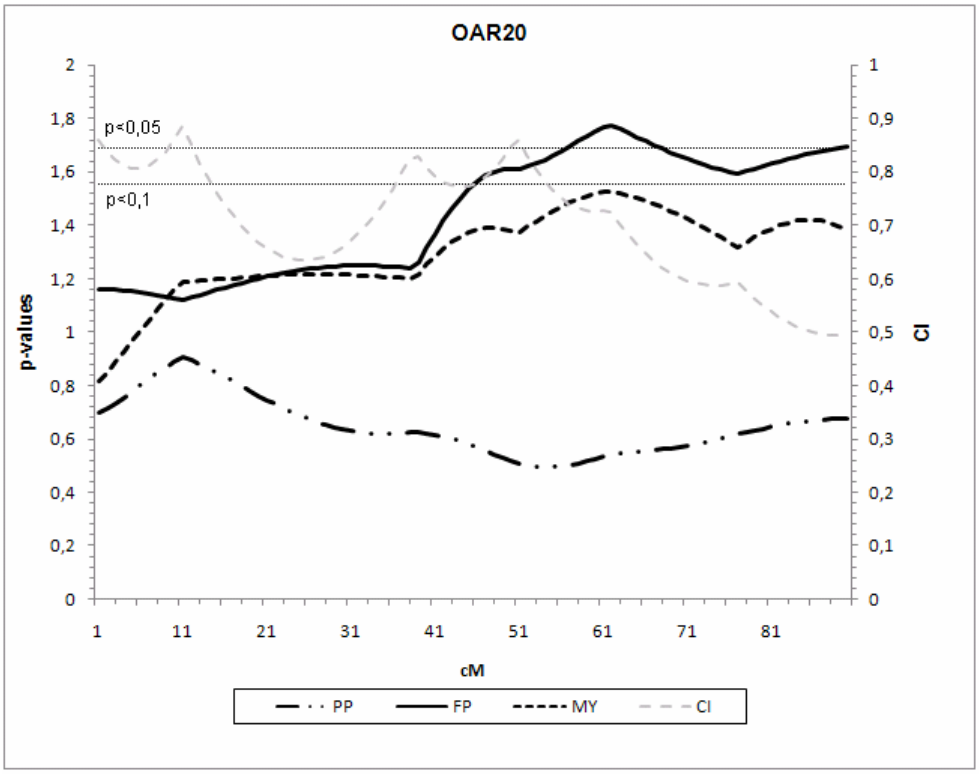


***Figura 1**. Distribución de los valores de contenido de información (IC) y de significación del test estadístico expresado como log_{10} (1/P) para los caracteres de producción de leche (MY) Porcentaje de Proteína (PP) y porcentaje de grasa (FP) a lo largo del cromosoma OAR20 (análisis across-families)*

Además, se muestran en esta figura los perfiles para el test estadístico obtenidos en el análisis global de la población, para cada uno de los caracteres considerados en este trabajo. Se indican en ella los niveles de significación 5% y 10% *chromosome-wise* para el carácter porcentaje de grasa.

De acuerdo con este análisis aparece un QTL en este cromosoma para el carácter porcentaje de grasa, con valor máximo del estadístico en la posición 61 cM, con *p-value* asociado de 0,0309 (*chromosome-wise*). Tras el análisis intrafamiliar (*within-family*), se obtuvieron un total de seis familias segregantes. De este modo, las nuevas familias añadidas confirmaron los resultados obtenidos a cerca de la presencia de un QTL para el parámetro porcentaje de grasa (FP).

En un estudio previo, Barillet et al. (2006) identificaron, en una población Sarda X Lacaune, este mismo QTL en la región del sistema mayor de histocompatibilidad (MHC), coincidente con la posición de nuestro QTL en el análisis "*across-family*". Además, un posible gen

candidato, tanto posicional como funcional, como es la prolactina (PRL) se encuentra entre los marcadores OLADRB y BP34, así como otras proteínas relacionadas con la prolactina (PRLP1, PRLP3, PRLP4).
El siguiente paso sería un estudio de mapeo fino para comprender la arquitectura genética de esa región, con el fin de poner de manifiesto la mutación causante del efecto detectado. De todas formas, la localización cercana al efecto detectado del gen de la prolactina, señala a éste como un candidato idóneo, y posible responsable del efecto detectado. La detección de SNPs en este gen y la posible asociación mediante técnicas de desequilibrio de ligamiento, pueden ayudar a clarificar de forma más precisa la naturaleza de esta asociación y el papel de dicho gen en la misma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Díez-Tascón, C., Bayón, Y., Arranz, J. J., De La Fuente, L. F., & San Primitivo F. 2001. J Dairy Res 68, 389-397. • Green, P., Falls, K., & Crooks, S., 1990. Doc. for CRIMAP. • Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J. J., El-Zarei, M.F., Álvarez, L., Pedrosa, S., San Primitivo, F. & Bayón Y. 2008. J Anim Breed Genet 125, 201-204. • Gutiérrez-Gil, B., El-Zarei, M.F., Alvarez, L., Bayón, Y., de la Fuente, L.F., San Primitivo, F. & Arranz, J.J., 2008. J Dairy Sci. 91(9):3672-81. • Gutiérrez-Gil, B., El-Zarei, M.F., Alvarez, L., Bayón, Y., de la Fuente, L.F., San Primitivo, F. & Arranz J.J., 2009. Anim Genet. In press. • Gutiérrez-Gil, B., El-Zarei, M. F., Bayón, Y., de la Fuente, L. F., San Primitivo, F. & Arranz J. J. 2007. J Dairy Sci 90, 422-426. • Knott, S. A., J. M. Essen, & C. S. Haley, 1996. Theoret Appl Genet. 93: 71-80. • Seaton, G., Hernandez, J., Grunchec, J.A., White, I., Allen, J., De Koning, D.J., Wei, W., Berry, D., Haley, C. & Knott, S. (2006) Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13-18, 2006. Belo Horizonte, Brazil.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por el proyecto AGL2005-04321 del Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) y del Proyecto GR43 de la Junta de Castilla y León para grupos de excelencia. Elsa García Gámez disfruta de un contrato para Investigadores jóvenes de la Junta de Castilla y León cofinanciado por el Fondo Social Europeo. Marta García Fernández es becaria FPI (MICINN). Beatriz Gutiérrez Gil disfruta de un Contrato del Programa Juan de la Cierva (MICINN).

CONFIRMATION OF QTL UNDERLYING DAIRY PRODUCTION TRAITS IN SPANISH CHURRA SHEEP

ABSTRACT: After a preliminary genome scan carried out in Churra sheep to detect QTL influencing milk production traits, additional families are now been analyzed to confirm some of the identified effects. We present here the confirmation of the QTL located in chromosome 20 for fat percentage. This meta-analysis was performed adding 15 new families to the ones previously analyzed. The total number of animals was 2.054, distributed in 25 families, one of them common in both studies. Phenotypic measurements studied included milk yield, protein percentage and fat percentage (FP). All the population was genotyped for seven microsatellite markers evenly distributed across the studied chromosome. Response variables used in the QTL analysis were yield deviations, estimated from the phenotypic data corrected for fixed environmental effects. For the QTL analysis, a multimarker regression method was implemented through the GridQTL software. Chromosome-wise critical values were calculated through 10.000 permutations. The average information content across the chromosome was 0.70. An across-family association analysis confirmed a region on this chromosome carrying the QTL for FP at the 5% chromosome-wise level (p-value = 0.0309). The within-family analysis revealed 6 families segregating for the QTL. This confirmation is the previous stage of a fine-mapping approach of this QTL.
Keywords: *sheep, milk, QTL, fat percentage.*