ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ARQUITECTURA GENÉTICA DEL CARÁCTER "ESTATURA" EN EL GANADO OVINO MEDIANTE UN ANÁLISIS DE LIGAMIENTO

Suarez-Vega. A., Gutiérrez-Gil, B., García-Gámez, E. y Arranz, J.J.
Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. E-mail: asuav@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Desde 2003 el programa de mejora lechera de la raza Churra incluye en el cálculo del índice de selección la valoración para caracteres de morfología mamaria y de conformación corporal. Estos últimos incluyen los caracteres de anchura de la grupa, estatura, aplomos traseros, inclinación de los talones, y un carácter general que valora la apariencia general del animal. Un barrido genómico previo, basado en el análisis de 181 marcadores microsatélites, realizado en una población comercial del núcleo de selección de la asociación de criadores de ganado ovino selecto de raza Churra (ANCHE) identificó un total de siete QTL significativos a nivel cromosómico para caracteres de conformación corporal, dos de ellos, con efectos sobre el carácter "estatura", localizados en los cromosomas ovinos OAR4 y OAR26 (Gutiérrez-Gil et al., 2011). En la actualidad, el *Illumina Ovine SNP50BeadChip* permite analizar el genoma ovino con un incremento sustancial de la densidad de marcadores ofreciendo un mayor poder de detección de regiones genómicas relacionadas con caracteres de interés productivo. En este estudio preliminar presentamos un análisis de ligamiento basado en esta herramienta genómica con el objetivo de detectar QTL con influencia sobre el carácter estatura medido en una población comercial de ganado ovino de raza Churra. El carácter estatura, o caracteres relacionados con el tamaño corporal, han sido ampliamente estudiados tanto en humanos como en animales (revisado por Kemper et al., 2012). Los estudios de asociación a nivel genómico (GWAS) realizados en humanos ponen de manifiesto que un número elevado de variantes genéticas controlan la arquitectura genética de este carácter complejo; de forma similar en el ganado vacuno se han descrito múltiples QTL que afectan al tamaño corporal de esta especie. En este estudio se presentan los resultados preliminares del análisis realizado con un chip de media densidad en ganado ovino. Pretendemos conocer la arquitectura genética de este carácter en la oveja y compararla con la descrita en otras especies más estudiadas como el ganado bovino, el ratón o la especie humana.

MATERIAL Y MÉTODOS

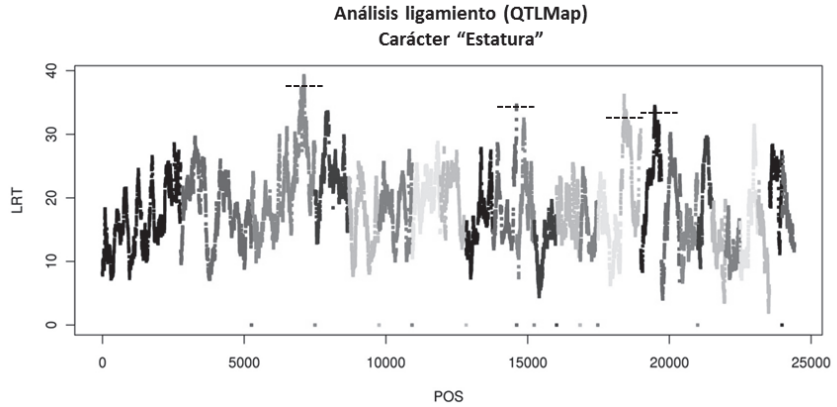
La población objeto de estudio incluyó un total de 1 696 ovejas de raza Churra distribuidas en 16 familias de medio-hermanas del núcleo de selección de ANCHE. El tamaño medio por familia fue de 105 hijas por macho (rango: 29-277). El carácter analizado fue la estatura a la alzada del animal, valorada en base a una escala línea del 0 al 9 (De la Fuente et al., 2003). Como variable dependiente del análisis de QTL se utilizaron las *Yield Deviations (YDs)* estimadas, para el carácter en estudio, como la desviación de la media poblacional del dato fenotípico bruto corregido para los factores fijos que influyen sobre el carácter y el efecto permanente del animal. También se tuvo en cuenta la precisión de la estimación en función del número de medidas repetidas disponibles para cada animal. Toda la población, incluyendo los machos cabeza de pedigrí, fue genotipada con el *Illumina OvineSNP50 BeadChip*. Tras un control de calidad de los genotipos por animal y posteriormente por SNP descrito en detalle por García-Gámez et al. (2012), se realizaron los análisis de detección de QTL para un total de 1 681 animales y 43 784 marcadores. El mapa genético utilizado en este análisis es el descrito también en ese trabajo previo (García-Gámez et al., 2012) con una equivalencia de 1 Mb ~ 1 cM. Para el análisis de ligamiento realizado en los 26 autosomas ovinos se utilizó el programa *QTLMap* (Filangi et al., 2010), que lleva a cabo un mapeo por intervalos basado en máxima verosimilitud. El análisis detección de QTL se realizó cada 0,1 cM usando la opción de cálculo para un solo carácter. Los umbrales de significación a nivel *chromosome-wise* (p_c-value) se obtuvieron mediante un test de permutaciones a intervalos de 5 cM. En base a estos umbrales, y teniendo en cuenta el número de cromosomas analizados, se obtuvo el umbral de significación del 5% *genome-wise* (p_g-value). Para los QTL significativos identificados se calculó el intervalo de confianza (IC) mediante el método LOD drop-off (Lander & Botstein 1989), convirtiendo los

estadísticos LRT en valores "LOD-score" mediante la fórmula LOD = LRT/2 ln(10) (Ziegler & König, 2010). Se identificaron las familias segregantes para los QTL identificados (machos de genotipo *Qq* para el QTL) en base a los análisis intrafamiliares realizados y los correspondientes test de permutaciones (p_c-chromosome-wise < 0.05). Ante la ausencia de resultados sobre este carácter en el ganado ovino, para los IC de los QTL detectados se determinó la región ortóloga bovina, buscando la posible correspondencia de esas regiones con QTL identificados en ganado vacuno para estatura, utilizando la base de datos cattleQTLdb (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index). Con el fin de identificar genes candidatos funcionales incluidos en los IC de los QTL identificados, se utilizó la herramienta *Biomart* (Smedley et al., 2009) para extraer los genes anotados dentro de esas regiones a partir de la versión UMD3.1 del genoma bovino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de ligamiento realizado para el carácter estatura a lo largo del genoma autosómico ovino identificó cuatro QTL a nivel de significación del 5% *chromosome-wise* en OAR3, 10, 16 y 17 (Figura 1). La caracterización de los QTL detectados en el análisis de toda la población (*across-family*) se muestra en la Tabla 1 donde también se indican los resultados del análisis intrafamiliar para las familias que mostraron evidencias significativas de segregación de los QTL identificados a nivel poblacional.

Figura 1. Resultados del análisis de ligamiento para el carácter estatura realizado en la población comercial de ovejas Churra analizada en este estudio



Para los QTL identificados en OAR3 y OAR16 se identificaron dos familias segregantes mientras que fueron tres las familias que mostraron evidencias de segregación para los QTL identificados en OAR10 y OAR17. En general las posiciones del máximo LRT en los análisis intrafamiliares fueron cercanas a las posiciones del pico del QTL en el análisis *across-family,* aunque en algunas ocasiones el máximo LRT para alguna de las familias significativas se localizó en otra región del cromosoma (ej, fam05 para OAR10, fam03 para OAR16).

La búsqueda de correspondencia con QTL identificados en ganado bovino para el carácter estatura puso de manifiesto una interesante coincidencia para el QTL localizado en OAR3, ortólogo del cromosoma bovino BTA5, donde se han descrito QTL para el carácter estatura, tanto en vacas lecheras (Schrooten et al., 2000) como en la raza cárnica Angus (McClure et al., 2010). En esta misma región de BTA5 también se localizan QTL para el peso de la canal y el peso al nacimiento. En el caso de los QTL detectados en OAR10, OAR16 y OAR17 se han descrito QTL en las regiones ortólogas correspondientes de la vaca en relación al peso corporal de la raza Angus en distintas etapas del crecimiento (McClure et al., 2010).

La lista de genes candidatos posicionales, obtenidos al analizar las regiones ortólogas bovinas de los IC de los QTL detectados, incluye un total de 228 genes para las cuatro regiones identificadas. Al contrastar estos genes con una lista de 82 genes asociados al carácter estatura en mamíferos (Guo et al., 2012, Kemper et al., 2012;

http://www.gghjournal.com/volume24/2/ab01.cfm) no se identificó ninguna coincidencia. Es necesario, sin embargo, realizar un estudio más exhaustivo de las funciones biológicas de los candidatos posicionales identificados y su posible relación con caracteres de crecimiento

Tabla 1. Caracterización de los QTL con influencia sobre el carácter estatura identificados a nivel poblacional (across-family) en este estudio. Se muestran también los resultados del análisis intrafamiliar para las familias que mostraron evidencia estadística de segregación para alguno de los QTL detectados (p_c-value < 0.05).

	Análisis *across-family*				Análisis intrafamiliar		
OAR	**LRT max.**	**Pos. (cM) LRT max.**	**Marcadores flanqueantes LRT max.**	**IC (cM)**	**Familias *segreg.***	**LRT max.**	**Pos. (cM) LRT max**
3	39.21	185.00	[OAR3_199419936 - OAR3_199445550]	180.4 - 187.1	fam. 13 fam. 15	9.21 13.14	191.84 158.24
10	34.57	83.44	[s75340 - s69331]	83.0 - 83.6	fam. 02 fam. 04 fam. 05	17.00 13.15 8.18	83.54 73.64 15.34
16	36.13	12.56	[s72528 - OAR16_13527056]	11.8 - 20.5	fam. 03 fam. 15	7.82 8.55	67.96 12.56
17	34.40	49.35	[OAR17_53440227 - OAR17_53499592_X]	46.0 - 54.0	fam. 01 fam. 03 fam. 15	6.74 6.71 6.78	54.45 66.95 49.75

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• De la Fuente L.F., Rodríguez R., Romo E.J. 2003. Feagas, 23: 73-77. • Filangi O., Moreno C., Gilbert H., Legarra A., Le Roy P., Elsen J.M. 2010. Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: 1-6 August; Leipzig. • Guo J., Jorjani H., Carlborg O. 2012. BMC Genet.13:82. • García-Gámez E., Sahana G., Gutiérrez-Gil B., Arranz JJ.2012. BMC Genet.13:43. • Gutiérrez-Gil B., Alvarez L., de la Fuente L.F., Sanchez J.P., San Primitivo F., Arranz J.J. 2011. J Dairy Sci. 94: 4119-28. • Kemper K.E., Visscher P.M., Goddard M.E. 2012. Genome Biol. 13: 244. • Lander E.S., Botstein D. 1989. Genetics 121: 185–99. • McClure M.C., Morsci N.S., Schnabel R.D., Kim J.W., Yao P., Rolf M.M., McKay S.D., Gregg S.J., Chapple R.H., Northcutt S.L., Taylor J.F. 2010. Anim Genet. 41: 597-607. • Schrooten C., Bovenhuis H., Coppieters W., Van Arendonk J A. 2000. J Dairy Sc 83: 795-806. • Smedley D., Haider S., Ballester B., Holland R., London D., Thorisson G., Kasprzyk A. 2009. BioMart--biological queries made easy. BMC Genomics.10:22. • Ziegler, I.R., König F.P. 2010. A Statistical Approach to Genetic Epidemiology: Concepts and Applications. 2nd Ed. Wiley-Blackwell.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto sheepGEchip (AGL2009-07000) del Ministerio de Ciencia e innovación y el proyecto 3SR de la Comisión Europea. (ASV y EGG son becarias FPU, Ministerio de Educación).

PRELIMINARY STUDY OF THE GENETIC ARCHITECTURE OF STATURE IN SHEEP THROUGH A LINKAGE ANALYSIS.

ABSTRACT: Stature is one of the body conformation traits included in the selection index currently applied in the dairy breeding program of Spanish Churra sheep. This study presents a preliminary linkage analysis based on the *Illumina Ovine SNP50BeadChip* for detection of QTL influencing stature. In humans the genetic architecture of this trait appears to be controlled by a large number of loci, similarly than in cattle, where many QTL affecting different components of bovine stature have been reported. The linkage analysis reported herein identified four QTL significant at the 5% chromosome-wise level on sheep chromosomes 3, 10, 16 and 17. Interestingly, QTL for stature in both dairy and beef cattle breeds have been identified in the bovine orthologous region of the chromosome 3 QTL. Based on a literature review, no obvious functional candidate genes were identified within the confidence intervals of the QTL identified. This study, as a first analysis based on a medium density ovine SNP-chip, provides a first opportunity to compare the genetic architecture of the ovine stature with that described in other species such as humans and cattle.

Keywords: sheep, stature, QTL, linkage