DETECCIÓN DE HUELLAS DE SELECCIÓN EN SEIS LOCI RELACIONADOS CON LA PIGMENTACIÓN EN CABRA

Badaoui, B., Manunza, A., D'Andrea, M., Pilla, F., Capote, J., Jordana, J., Ferrando, A., Martínez, A., Delgado, J.V., Landi, V., Gómez, M., Pons, A., El Ouni, M., Amills, M., Vidal. O.[1].
[1]Departament de Biologia, Facultat de Ciències, Universitat de Girona. Campus Montilivi, Girona. E-mail: oriol.vidal@udg.cat.

INTRODUCCIÓN

La pigmentación es carácter fenotípico fácilmente observable que puede tener efectos relevantes sobre la viabilidad de un organismo, y en algunas especies los genes que la determinan pueden encontrarse bajo selección. Por ejemplo, en humano se relaciona la ventaja selectiva de la pigmentación con el efecto protector de la radiación UV y su papel en la síntesis de la vitamina D_3 (Jablonski y Chaplin, 2010), mientras que en el ratón *Peromyscus polionotus* se debe al camuflaje (Hoekstra et al., 2006). En animales domésticos probablemente el color de la capa ha sido seleccionado desde la domesticación (Fang et al., 2009) y los genes implicados son un bueno modelo para estudiar la selección artificial.

En este trabajo hemos analizado la diversidad de 6 genes que afectan la pigmentación en mamíferos (*MC1R*, *ASIP*, *TYR*, *TYRP1*, *TYRP2* y *KIT*) en un panel de 18 razas caprinas, con el objetivo de detectar posibles huellas genéticas causadas por selección artificial. Además, para delimitar posibles efectos de distribución o de deriva, hemos reconstruido la estructura filogeográfica de las poblaciones incluidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para caracterizar polimorfismos se han secuenciado individuos de 10 razas distintas. Los fragmentos analizados son de 0.8 kb, 3.5 kb, 0.7 kb y 1.3 kb en los genes *MC1R*, *KIT*, *TYRP2* y *TYR* caprinos, respectivamente. Para los genes *ASIP* y *TYRP1* se han utilizado polimorfismos descritos previamente (Badaoui et al., 2011).

El genotipado de los polimorfismos encontrados se ha llevado a cabo en 516 individuos de 18 razas distintas mediante Sequenom MassARRAY iPLEX, en el Centro Nacional de Genotipado (CeGen, Santiago de Compostela). Estas poblaciones cubren 5 áreas geográficas distintas: Italia, Península Ibérica y Baleares, Islas Canarias, Norte de África y Suiza.

La heterocigosidad observada ha sido calculada mediante el paquete R Genetics (http://cran.r-project.org/web/packages/genetics/index.html), opción *genotype*, y el déficit o exceso de heterocigotos con Genepop (Rousset, 2008). La herramienta cSNP de Panther se ha utilizado para las predicciones de efectos fenotípicos in silico (Thomas et al., 2003), y la huella de selección se ha identificado mediante la aproximación FST-outlier implementada en los programas BayeScan y Lositan (Fdist) (Foll y Gaggiotti, 2008). Para el análisis de estructura poblacional se ha utilizado un análisis de coordenadas principales (PCA), un PCA discriminante (DPCA) y el programa Structure v. 2.3.3 (Pritchard et al., 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La resecuenciación permitió la identificación de 10 SNPs nuevos, que incluyen 5 mutaciones que causan cambio de aminoácido y una mutación sin sentido (Tabla 1). En conjunto, el gen que muestra más niveles de variabilidad (especialmente, mutaciones no sinónimas) es *MC1R*.

Los resultados de genotipado en el panel de razas han sido analizados para detectar huellas de selección, y en los dos métodos utilizados los resultados indican que hay selección direccional en los genes *MC1R* y *KIT*, mientras que *TYR* y *TYRP2* estarían bajo selección balanceada/purificadora (Tabla 2).

El papel fundamental de *TYR* y *TYRP2* en la síntesis de pigmentos justificaría la selección purificadora. Sin embargo, no se puede descartar una posible selección balanceada, tal y como se ha demostrado en la oveja Soay, en la cual se seleccionan genotipos heterocigotos (Gratten et al. 2012).

Los SNP del gen *MC1R* con evidencias fuertes de selección direccional son c.673C>T, c.748G>T y c.764G>A, que en el análisis funcional in silico de cSNP involucran cambios funcionales en la proteína (Tabla 1). Es importante destacar que el SNP c.673C>T presenta una asociación con pigmentación de manchas rojas en la raza Girgentana, y un SNP en este gen, no genotipado en este estudio, es probablemente la causa de las variaciones entre negro y caoba de la raza Murciano-Granadina (Fontanesi et al., 2009). Todo esto sugiere un papel determinante del gen MC1R en la determinación del color en la especie caprina.

Un objetivo esencial de este trabajo es investigar el impacto de la selección sobre el color de la capa en las relaciones genéticas entre las 18 razas analizadas. ¿Es posible que la inclusión de SNP seleccionados en los análisis filogeográficos altere la agrupación de razas en función de su color?

Los patrones geográficos producidos por sucesos demográficos y deriva genética pueden ser substancialmente modificados (e incluso borrados) por la selección. Este podría ser el caso en animales domésticos como la cabra, en los cuales razas de localidades distantes pueden ser seleccionadas por el mismo color (produciendo una "fijación convergente" del mismo juego de alelos) y, alternativamente, razas cercanas ser seleccionadas por colores distintos.

Los resultados de los análisis filogeográficos muestran que las razas utilizadas en este análisis se agrupan en función de su origen y no de su color, y se observa una diferenciación clara entre las razas canarias y del norte de África versus las razas europeas. Nuestros datos, en concordancia con un análisis previo de 29 SNP en genes de la pigmentación (Nicoloso et al., 2012) muestran que marcadores no neutrales pueden reflejar correctamente la historia de una población, dependiendo del impacto relativo de la selección y la deriva en las frecuencias alélicas.

En general, los criterios de selección por color en las especies domésticas están completamente desligados de la geografía, y por tanto, la cabra es una excepción. Esto puede ser debido a distintas causas. Primero, una selección poco intensa (que parece posible, dado que individuos de una misma raza pueden tener pigmentaciones diversas) podría disminuir su influencia en la estructura de las poblaciones. Segundo, probablemente hay un cierto nivel de heterogeneidad genética en los fenotipos de color, y distintos alelos pueden ser responsables de patrones similares de razas de razas diferentes. Esta heterogeneidad podría incrementar la estructura filogeográfica. Y tercero, la pigmentación en caprino tiene una herencia poligénica, con interacciones entre loci, y un grado de complejidad que puede limitar la eficacia de la selección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Badaoui, B., D'Andrea, M., Pilla, F., Capote, J., Zidi, A., Jordana, J. et al. 2011. Biochem Genet 49: 523-532. ● Fang, M., Larson, G., Ribeiro, H.S., Li, N. & Andersson, L. 2009. PLoS Genet 5: e1000341. ● Foll, M. & Gaggiotti, O. 2008. Genetics 180: 977-993. ● Fontanesi, L., Beretti, F., Riggio, V., Dall'Olio, S., González, E.G., Finocchiaro, R. et al. 2009. BMC Genet 10: 47. ● Gratten, J., Pilkington, J.G., Brown, E.A., Clutton-Brock, T.H., Pemberton, J.M. & Slate, J. 2012. Mol Ecol 21: 2977-2990. ● Hoekstra, H.E., Hirschmann, R.J., Bundey, R.A., Insel, P.A. & Crossland, J.P. 2006. Science 313: 101-104. ● Jablonski, N.G. & Chaplin, G. 2010. Proc Natl Acad Sci USA 107 (Suppl 2): 8962-8968. ● Nicoloso, L., Negrini, R., Ajmone-Marsan, P. & Crepaldi, P. 2012. Animal 6: 41-49. ● Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. 2000. Genetics 155: 945-959. ● Rousset, F. 2008. Mol Ecol Resources 8: 103-106. ● Thomas, P.D., Campbell, M.J., Kejariwal, A., Mi, H., Karlak, B., Daverman, R., Diemer, K., Muruganujan, A. & Narechania, A. 2003. Genome Res 13: 2129-41.

Agradecimientos: trabajo financiado por el INIA, proyecto RZ2007-00005-C02-01

Tabla 1. Polimorfismo de cuatro genes caprinos involucrados en la pigmentación y valores predictivos de la aplicación cSNP (Panther database).

Gen	Polimorfismo	Cambio AA	subPSEC[1]	Pdel[2]
KIT	c.1284T>G	K428Q	-3.85	0.70
	c.1887T>C	-	-	-
MC1R	c.673C>T	Q225X	-	-
	c.676A>G	K226E	-2.99	0.49
	c.748G>T	V249F	-6.12	**0.95**
	c.764G>A	G255D	-6.78	**0.97**
TYR	c.769C>A	P257T	-2.20	0.31
	c.1455A>G	-	-	-
TYRP2	c.900T>C	-	-	-
	c.996C>T	-	-	-

[1]Valor subPSEC (logaritmo negativo de la ratio de probabilidad entre el alelo salvaje y el mutante en una posición), indica importancia funcional si es inferior a -3.
[2] Pdel, probabilidad que una mutación tenga efecto deletéreos.

Tabla 2. Detección de huellas de detección en genes caprinos que afectan la pigmentación mediante Lositan y BayeScan.

Gene		LOSITAN [1]	BAYESCAN ANALYSIS[2]					
		P (simul)	Prior odds of the neutral model = 1			Prior odds of the neutral model = 10		
			Prob	q_{val}	α	Prob	q_{val}	α
KIT	c.1284T>G	**0.999**	**0.934**	**0.023**	0.692	0.306	0.234	0.221
	c.1887T>C	**0.951**	0.540	0.071	0.259	0.068	0.372	0.027
MC1R	c.673C>T	**0.999**	**1.000**	**0.000**	1.647	**0.999**	**0.000**	1.564
	c.676A>G	**0.002**	0.433	0.121	-0.187	0.083	0.310	-0.042
	c.748G>T	**0.987**	**0.982**	**0.007**	0.811	0.636	0.088	0.499
	c.764G>A	**1.000**	**0.938**	**0.017**	1.261	0.350	0.168	0.461
TYR	c.769C>A	**3e-06**	**1.000**	**0.000**	-1.825	**0.999**	**0.000**	-1.942
	c.1455A>G	**0.000**	**1.000**	**0.000**	-1.794	**1.000**	**0.000**	-1.907
TYRP1	c.483C>T	0.118	0.291	0.218	-0.028	0.046	0.425	-0.009
TYRP2	c.900T>C	**0.000**	**0.982**	**0.004**	-1.143	**0.918**	**0.032**	-1.185
	c.996C>T	**0.000**	**0.982**	**0.009**	-0.953	**0.921**	**0.020**	-1.031
ASIP	c.376T>G	0.107	0.301	0.174	-0.028	0.043	0.469	-0.008

[1]Lositan evalúa la relación entre FST y la heterocigosidad esperada para identificar loci outliers. P(simul) ≤ 0.05 indica evidencias de selección balanceada/purificadora, y P(simul) ≥ 0.95 es indicativa de selección direccional. Los SNP con valores 0.05 < P(simul) < 0.95 són neutros.
[2]Prob = probabilidad posterior del modelo incluyendo selección; qval = tasa mínima de falsos descubrimientos en que un locus puede ser significativo; α = coeficiente α estimado, indica la fuerza y dirección de la selección (valores positivos = selección direccional, valor negativo = selección purificadora o balanceada).

SIGNATURES OF SELECTION IN SIX COLOR GENES OF GOAT

ABSTRACT: Our goal was to investigate if selection for this phenotype has left a detectable genetic signature in goats. Ten mutations, plus 2 other ones detected in previous studies were genotyped in 560 goats representing 18 breeds from Italy, Spain, Canary Islands and North Africa. We detected significant evidences of directional selection at the *MC1R* and *KIT* genes, and of balancing/purifying selection at *TYR* and *TYRP2* loci. However, population structure and phylogeographic analyses, considering both neutral and non-neutral SNP, demonstrated that breeds cluster according to their geographic origin (and not to their coat color).

Keywords: goat, pigmentation, selection, drift