EVALUACIÓN GENÉTICA CON PATERNIDAD INCIERTA EN ACUICULTURA

De Paz[1], R., Villanueva[1], B., Herlin[2], M., Millán[3], A., Martínez[4], P., Toro[5], M.A. y Fernández[1], J.

[1] Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Madrid. [2] ABSA-Culmarex. Es Coll D'en Rabassa, Mallorca. [3] Geneaqua SL. Lugo. [4] Dpto. Xenética, Fac. Veterinaria, USC. Lugo. [4] Dpto. de Producción Agraria, ETSIA, UPM, Madrid, España. jmj@inia.es

INTRODUCCIÓN

El uso de marcadores moleculares para asignar paternidad y reconstruir las genealogías es un procedimiento habitual en programas de acuicultura que utilizan puesta masal o que incluyen la cría de varias familias en el mismo tanque. La genealogía reconstruida es necesaria para obtener las estimas de los valores mejorantes por metodología BLUP y para controlar el incremento en consanguinidad. Cuando se usan pocos marcadores una proporción de individuos serán compatibles con varios parentales. En esta situación hay tres posibilidades: i) usar la descendencia asignada a una sola madre y un solo padre (pero así descartamos candidatos a la selección); ii) genotipar los individuos dudosos y los posibles parentales para más marcadores (lo que conlleva un coste extra); y iii) calcular una matriz de relaciones aditivas que incluya esa incertidumbre. Sin embargo, la ventaja de incluir más individuos en la evaluación a través de paternidades inciertas en la precisión de la evaluación y en la presión de selección no está clara. En este trabajo simulamos un programa de selección en dorada comparando, en términos de precisión de las estimas de valores mejorantes y de la selección de intensidad, tres estrategias de evaluación que incluyen o no individuos con paternidad incierta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estructura poblacional: Se simuló una estructura poblacional similar a la de un programa de selección en dorada donde 1500 candidatos se generan a partir de 50 machos y 50 hembras. Se consideraron apareamientos aleatorios de los parentales (puesta masal) o apareamientos dirigidos (un macho aparea con una sola hembra y viceversa).

Asignación de paternidad: En ambos escenarios la asignación de parentales para cada candidato se hizo en base a 4 u 8 marcadores microsatélites con frecuencias alélicas iguales a las que se encuentran en el stock de reproductores de la empresa ABSA. Alternativamente se corrieron simulaciones con 25, 50 o 100 SNPs a frecuencias intermedias. Las probabilidades de un candidato de ser hijo de un determinado reproductor se calcularon usando un programa propio escrito en FORTRAN. Las correspondientes matrices de parentesco se generaron usando una modificación del método tabular, como se propone en Pérez-Enciso y Fernando (1992) usando el software U_P_C (J. Fernández).

Evaluación y selección: El objetivo de selección fue un carácter infinitesimal que se podía medir en los propios candidatos a la selección. Se consideraron dos heredabilidades, h^2 = 0,1 y 0,5. Las estimas de los valores mejorantes (EBVs) se obtuvieron por metodología BLUP usando el software REML.f90 (I. Misztal). Se consideraron tres escenarios: i) sólo se usaban los candidatos asignados a una sola madre y un solo padre (BLUP_U); ii) se usaban también los que tuvieran uno de los parentales determinado correctamente y varios posibles parentales del otro sexo (BLUP_P); iii) se añadían los individuos con varios padres y madres posibles (BLUP_M). En todos los casos se seleccionó por truncamiento los 50 individuos con los mejores EBVs. Como casos de control se simuló selección sobre los valores fenotípicos y selección sobre los EBVs calculados por BLUP usando las verdaderas relaciones genealógicas (BLUP_G).

Criterios de comparación: Los distintos escenarios se compararon en términos del porcentaje de paternidades asignadas correctamente, la correlación entre los verdaderos valores mejorantes y los EBVs, el valor mejorante promedio de los seleccionados, el número de seleccionados que coincidían entre criterios y el parentesco promedio de los seleccionados. Todos los resultados corresponden al promedio de 100 réplicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La precisión en la asignación de paternidades fue muy alta excepto cuando se usaban 25 SNP con puesta masal (Tabla 1). Así la ganancia en número de candidatos disponibles por usar paternidades múltiples es, en general, muy baja. Cuando se parte de parejas conocidas

los porcentajes son prácticamente el 100% incluso en el caso de 25 SNP. Es, por tanto, muy recomendable que en las especies que sea técnicamente factible se realicen apareamientos dirigidos aunque luego se críen todas las progenies juntas.

***Tabla 1**. Porcentaje de individuos asignados correctamente (U) y porcentaje de individuos nuevos que se añaden a la evaluación al aceptar incertidumbres (P y M).*

	Apareamientos aleatorios					Apareamientos dirigidos				
	4 mic	8 mic	25 SNP	50 SNP	100 SNP	4 mic	8 mic	25 SNP	50 SNP	100 SNP
U	94,42	99,98	48,97	99,70	100,00	99,98	100,00	98,72	100,00	100,00
P	5,02	0,02	20,52	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M	0,56	0,00	30,51	0,01	0,00	0,02	0,00	1,28	0,00	0,00

El caso con peor porcentaje de asignación (25 SNP con apareamiento masal) sería a priori el que más se podría beneficiar de la inclusión de candidatos con paternidades múltiples. Así en la Tabla 2 se observa como el verdadero valor mejorante de los seleccionados sube de 108,62 a 109,73 cuando usamos individuos con un solo padre bien asignado y a 110,31 cuando se añaden los de padres y madres múltiples. Esta mejora se debe a un aumento en el número de candidatos (mayor presión de selección) más que a un aumento en la precisión de las estimas (0,76, 0,78 y 0,75 para BLUP_U, BLUP_P y BLUP_M, respectivamente). Para el resto de escenarios la precisión y la respuesta es la misma (Tabla 2) e igual a la que se obtiene cuando se usa la verdadera genealogía (BLUP_G, datos no mostrados).

***Tabla 2**. Valor mejorante promedio de los individuos seleccionados y correlación entre los valores mejorantes estimados y verdaderos (ρ). Apareamiento al azar y h^2 = 0,5*

	TBV seleccionados			ρ		
	BLUP_U	BLUP_P	BLUP_M	BLUP_U	BLUP_P	BLUP_M
25 SNP	108,62	109,73	110,31	0,76	0,78	0,75
50 SNP	110,75	110,75	110,75	0,79	0,79	0,79
100 SNP	110,64	110,64	110,64	0,79	0,79	0,79
4 mic	110,67	110,77	110,76	0,79	0,79	0,79
8 mic	110,72	110,72	110,72	0,79	0,79	0,79

BLUP_U: individuos con padres únicos; BLUP_P: más individuos con un padre (madre) único y varios del otro sexo; BLUP_M: más individuos con varios padres y madres posibles.

Con h^2 = 0,1 los resultados siguen el mismo patrón aunque, obviamente, las respuestas (TBV de seleccionados) son menores (datos no mostrados). Bajo selección fenotípica la precisión de la evaluación y los TBV de los seleccionados fueron menores (0,71, 109,70 y 0,32, 101,90 para h^2 = 0,5 y h^2 = 0,1, respectivamente) excepto en el escenario BLUP_U con 25 SNP y h^2 = 0,5.

El efecto de cada una de las estrategias en el número de individuos evaluados y la precisión de la evaluación van a tener como consecuencia una distribución diferente de las contribuciones de cada posible parental. En la Tabla 3 puede verse que la varianza de las contribuciones puede ser bastante más alta de la que se obtiene solamente por el hecho de que el apareamiento es al azar, con la posible reducción de la variabilidad genética transmitida a la siguiente generación. De cualquier manera, en nuestras simulaciones esto no se traduce en diferencias en el parentesco promedio de los seleccionados (en el rango de 0,3 a 0,5 con apareamiento al azar) porque todos los reproductores eran no emparentados y los hermanos de cualquier familia van a tener el mismo parentesco entre ellos. Hay que destacar que cuando los apareamientos eran dirigidos el parentesco promedio de los seleccionados fue mayor (0,07 y 0,11 para h^2 = 0,5 y h^2 = 0,1, respectivamente). Bajo selección fenotípica el parentesco promedio de los seleccionados

fue siempre menor que en el resto de escenarios (0,03 y 0,02 para h^2 = 0,5 y h^2 = 0,1, respectivamente)

***Tabla 3**. Varianza de las contribuciones de los parentales. Apareamiento al azar y h^2 = 0.5*

		4 micr	8 micr	25 SNP	50 SNP	100 SNP
BLUP_G	28,87					
BLUP_U		56,48	42,66	34,06	81,58	28,87
BLUP_P		77,96	28,89	44,07	37,88	28,87
BLUP_M		28,87	28,87	28,87	28,87	28,87

BLUP_G: relaciones genealógicas reales; BLUP_U: individuos con padres únicos; BLUP_P: más individuos con un padre (madre) único y varios del otro sexo; BLUP_M: más individuos con varios padres y madres posibles.

A la vista de los resultados anteriores se podría concluir que en programas de acuicultura, donde el número de individuos evaluados es alto, no se obtienen ventajas sustanciales por incluir aquellos con paternidades múltiples (excepto en casos muy extremos). Además, el uso de relaciones de parentesco inciertas puede dificultar el control del aumento de la consanguinidad. Es más recomendable mejorar las asignaciones de paternidad usando paneles de marcadores más informativos y/o haciendo apareamientos dirigidos.

Hay que tener en cuenta que hay otros factores que afectan a la precisión de la asignación por marcadores, como es la existencia de errores de genotipado y el hecho de que los reproductores pueden estar emparentados o ser consanguíneos. Puede que en generaciones posteriores del programa de selección, sea más ventajoso incluir paternidades inciertas ya que las familias seleccionadas tendrán cada vez más consanguinidad. La situación también cambiará si el stock de reproductores incluye individuos ya seleccionados y parentales originales no mejorados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pérez-Enciso, M. & Fernando, R. 1992. TAG 84: 173-179.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la empresa ABSA los datos sobre las frecuencias alélicas de los marcadores usados para la asignación de paternidad.

GENETIC EVALUATION WITH UNCERTAIN PARENTAGE IN AQUACULTURE

ABSTRACT: The use of molecular markers for assigning paternity is a standard approach in aquaculture breeding programs when mass spawning is applied or when families are reared together. The reconstructed genealogy is needed for obtaining BLUP estimates of breeding values, and for controlling the increase in inbreeding. When few microsatellite markers are used, there will be a proportion of individuals assigned to multiple parents. In this situation there are three possibilities: i) using exclusively the offspring assigned to a single mother and a single father (discarding thus selection candidates); ii) genotyping the dubious individuals (and the potential parents) for more markers (extra cost); and iii) calculating an additive relationship matrix that accounts for such uncertainty. In this study we simulated a breeding program for comparing three different strategies: a) use only those individuals assigned unambiguously to both parents; b) use only those individuals assigned to at least one single parent; c) include also individuals with both multiple paternity and maternity. Two different numbers of microsatellites and three different numbers of SNPs were considered in the paternity analysis. Results show that the inclusion of uncertain paternities gives no consistent advantages. Selection intensity when using only perfectly assigned offspring was already high enough and thus there was little margin for improvement.

Keywords*:* Aquaculture, uncertain paternity, genetic evaluation, breeding program.