

Aplicación de herramientas genómicas y del modelado de la interacción GxE a los esquemas de selección del ganado ovino de raza Churra

Objetivo del proyecto

Objetivo 1 del proyecto: Estudio de la arquitectura del genoma de la raza Churra mediante la utilización de un chip de SNPs de alta densidad y localización de QTL y/o QTN relacionados con caracteres.

En este objetivo se pretende realizar un análisis en profundidad del genoma de la raza Churra, mediante la utilización del nuevo array ovino Illumina Ovine SNP50 BeadChip de 54.000 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism), desarrollado por el International Sheep Genome Consortium (ISGC), www.sheepmap.org, y la empresa Illumina. Este chip presenta 54.241 SNPs distribuidos a lo largo del genoma ovino con una media de espacio entre ellos de 46 kb, de los que uno es específico del cromosoma Y, 1500 del cromosoma X y 8 SNPs del DNA mitocondrial.

Con el análisis de esta herramienta molecular, se pretende obtener tres tipos de resultados:

- Conocer la organización del genoma en esta raza autóctona, caracterizando la estructura genética de la misma y su historia poblacional (detección de huellas de selección, etc.).
- Cuantificar la extensión del desequilibrio de ligamiento (LD) existente en la población de raza Churra.
- Realizar un estudio de asociación, a nivel genómico, mediante la estrategia combinada LALD (análisis de ligamiento y análisis de desequilibrio de ligamiento) entre los SNPs y los caracteres incluidos en el programa de selección.

En el diseño experimental se ha analizado la siguiente población de estudio:

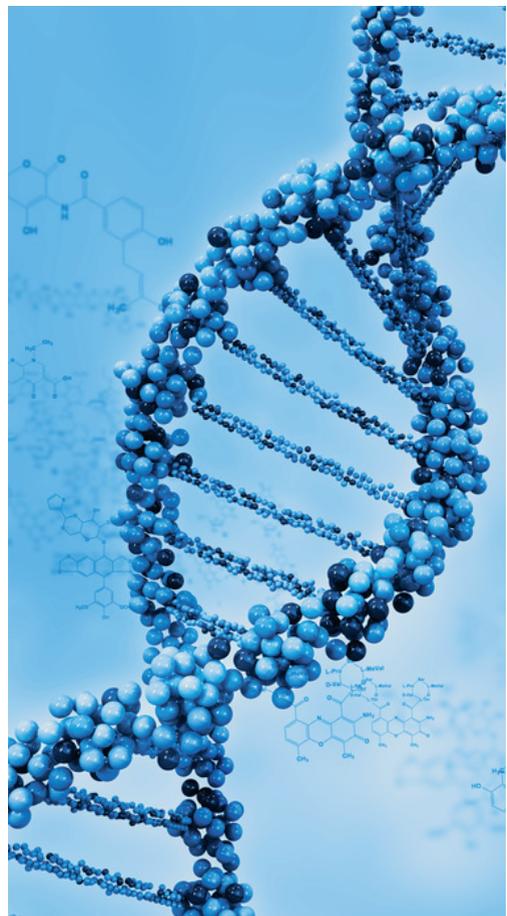


Imagen tridimensional de la estructura del ADN.

- 80 machos (50 machos del esquema de producción de leche y 30 del esquema de carne). En estos animales se analizará su pedigrí para intentar, en la medida de lo posible, que

presenten el menor grado de parentesco.

- 1600 hembras de los rebaños de selección de la raza Churra. Se han muestreado los rebaños que más contribuyen a la población general por su impacto en la misma. Dada la estructura de los rebaños del núcleo de selección, estas ovejas pertenecen a 11 grandes familias de medio hermanas. Cada familia está encabezada por un macho de inseminación artificial y las hijas producen leche en diferentes rebaños de la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Churra (ANCHE).

Estos animales se están utilizando para la caracterización poblacional y la estimación del mapa de desequilibrio de ligamiento en la raza Churra. Las 1600 hembras serán empleadas, fundamentalmente, en el análisis de asociación entre los marcadores moleculares y los fenotipos de interés. También utilizaremos sus datos genotípicos para el establecimiento del mapa de desequilibrio de ligamiento en la raza Churra, complementando los datos obtenidos en los machos.

Análisis realizados en Caléndula: una vez analizados los genotipos, se pasa a la edición de los mismos, aplicándose los parámetros clásicos del control de calidad recomendados por el proyecto HapMap humano, www.hapmap.org.

- “Call Rate” >0,95.
- Uso de la información genealógica disponible para detectar incompatibilidades de herencia mendeliana.
- Inconsistencias en genotipado por duplicado en un animal.
- Polimorfismo demostrable, es decir, frecuencia alélica del alelo raro (MAF) >0,05 en nuestras poblaciones, que no presente una evidencia clara de no estar en equilibrio Hardy-Weinberg ($P > 0,00001$).

Los SNPs que no cumplen estos criterios de calidad son eliminados del análisis para mapas de LD o los análisis de asociación. Sin embargo serán utilizados en posteriores análisis ya que suelen ser éstos SNPs los que pueden indicar la existencia de marcadores del tipo CNV en el genoma. Hay que indicar que esos SNPs descartados serán sometidos a un estudio más exhaustivo, con el fin de identificar aquellos en los cuales su desviación del equilibrio H-W pueda ser debida a la existencia de una variación

en el número de copias (CNV) y, por tanto, puedan ser de interés para estudios posteriores. La edición de datos se realiza con el programa PLINK.

Para la reconstrucción de haplotipos se usarán los métodos bayesianos implementados en el programa PHASEBOOK. Recientes estudios parecen indicar que los procedimientos Bayesianos de inferencia del LD son más robustos a frecuencias génicas extremas y tamaños de muestra pequeños que los métodos tradicionales de máxima verosimilitud. Los criterios para la definición del LD propuestos son r^2 y D' que son estimados mediante PLINK.

En el caso del análisis de asociación, la estructura poblacional permitirá realizar una aproximación mixta LALD, que será muy útil porque permite utilizar toda la información disponible en el pedigrí, aprovechando además del desequilibrio de ligamiento en segmentos cromosómicos cortos, el ligamiento existente dentro de cada familia, lo que permite una detección de QTLs (Quantitative Trait Locuscon) mayor precisión y potencia estadística. Este método ha demostrado ser de gran utilidad para el mapeo fino de regiones previamente detectadas con métodos más sencillos. En la actualidad se está utilizando el programa PHASEBOOK. Para futuros análisis se proyecta el usar el software GLASCOW. También se planea el uso de otros softwares de análisis alternativos, como DMU y GenABEL. Con los resultados obtenidos se pretende identificar SNPs en desequilibrio de ligamiento con las mutaciones causales de los QTLs de caracteres de producción de leche en la Raza Churra.



Ejemplar hembra de Raza Churra. Feria de ANCHE, Palencia 2011. Fotografía cortesía de Juan José Arranz Santos.

Objetivo 2 del proyecto: Evaluación del uso de la información molecular en los esquemas de selección de la raza Churra.

Mediante análisis de la base de datos de genotipos se intenta estudiar las posibilidades del uso de la información de los marcadores analizados para poder realizar una evaluación de animales genotipados y de los que no se dispone de la medición fenotípica. Este objetivo se abordará en continua comunicación con ANCHE. Antes de aplicar ninguna de las medidas se pretende evaluar sus consecuencias utilizando información disponible en la bibliografía existente; mediante la aplicación de resultados teóricos de genética cuantitativa y de poblaciones; o mediante simulación de las condiciones reales de explotación de la raza Churra, asumiendo los distintos modelos genéticos que, en base a los resultados obtenidos en los otros objetivos, pudieran ser relevantes en las poblaciones de estudio.

Curriculum vitae del investigador

Juan José Arranz Santos es Licenciado y Doctor en Veterinaria por la Universidad de León. Profesor Titular de Universidad en el área de Producción Animal e investigador del grupo de Mejora Genética Animal de la Universidad de León.

El campo de trabajo es el del uso de herramientas genómicas en la mejora genética animal, fundamentalmente en el ganado ovino. Ha trabajado en diversos proyectos nacionales, europeos y regionales relacionados con la mejora genética ovina. Es autor de más de 40 artículos científicos y numerosas comunicaciones a congreso.

El objetivo fundamental de sus trabajos en la actualidad es el uso de herramientas genómicas en el ganado ovino, y el de las investigaciones es conocer la base genética de determinadas enfermedades heredables y, principalmente, de determinados caracteres complejos como los relacionados con la producción de leche o la resistencia a enfermedades.

Plan de trabajo y Metodología

Con respecto a la consideración de los marcadores moleculares asociados a QTL (detectados en el objetivo 1) en los programas de selección de ganado Churro, se compararán los ranking de candidatos a la selección que se obtendrían bajo el sistema de evaluación actual, frente a aquellos que se obtendrían considerando los genotipos de los marcadores moleculares durante una evaluación (MA-BLUP). Para ello, se emplearán las bases de datos de ANCHE, así como la información molecular obtenida en el objetivo 1. En este sentido y, si como es el caso, se dispone de animales genotipados de al menos dos generaciones distintas se podrían estimar los cambios en las frecuencias génicas en estos marcadores, consecuencia del sistema de selección actual. De esta manera, se puede evaluar en qué grado el sistema actual de selección modifica estos genes implicados en los caracteres. Además, a partir de la base de datos de genotipos de SNPs se trataría de determinar un subconjunto que permitiese de manera precisa reconstruir la información genealógica.

Finalmente, la información relacionada con la caracterización del genoma ovino que se obtendrá del objetivo 1 permitirá llevar a cabo una evaluación de las posibilidades de éxito de un programa de selección genómica en nuestras poblaciones. En este sentido, la información disponible en la bibliografía puede ser de gran interés, ya que son numerosos los estudios con distintas poblaciones animales y vegetales, tanto simuladas como reales, que pretenden determinar el grado de precisión con el que se podría obtener el valor genómico de los candidatos a la selección, en distintos escenarios paramétricos: valores de desequilibrio de ligamiento, heredabilidades, densidades del mapa genómico, frecuencias de los SNPs, etc; y empleando distintos métodos estadísticos para el cálculo de los efectos de sustitución alélica en cada marcador. En general, si dados nuestros parámetros se pudieran obtener precisiones del valor genómico de al menos el 80%, la consideración de estos esquemas pudiera ser recomendable. Para esta evaluación se usará básicamente información bibliográfica, aunque no se descarta realizar evaluaciones propias del grupo de investigación (mediante simulación) para contemplar ciertos aspectos que hasta ahora no han sido considerados en estos estudios.

Participación de SCAYLE

Con Caléndula se proporciona el acceso a los recursos de cómputo y aplicaciones, ya que SCAYLEL va a asumir funciones de supercomputación dentro del proyecto, aportando así la potencia de cálculo necesaria participando en las tareas de:

- Estudio de la arquitectura del genoma de la raza Churra mediante la utilización de un chip de SNPs de alta densidad y localización de QTL y/o QTN relacionados con los caracteres de estudio.
- Evaluación del uso de la información molecular en los esquemas de selección de la raza Churra.

Financiación

El proyecto ha sido financiado por la convocatoria del VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 2008-2011, del Ministerio de Economía y Competitividad.



Animales pastando pertenecientes a uno de los rebaños objeto de estudio.
Fotografía cortesía de Juan José Arranz Santos.