

# ANÁLISIS DEL CROMOSOMA 6 PARA REGIONES GENÓMICAS CON INFLUENCIA SOBRE CARACTERES DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA DE FRISONA \*

Álvarez<sup>1</sup> L, Arranz<sup>1</sup> J.J., Hernández<sup>2</sup> D., Dávila<sup>2</sup>, B. y San Primitivo<sup>1</sup>, F.  
<sup>1</sup>Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León  
<sup>2</sup>Dpto. Mejora Genética y Biotecnología. INIA. Madrid.

## INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de los microsatélites como marcadores con alto grado de polimorfismo y distribuidos a lo largo del genoma supuso, un importante paso en la elaboración de los mapas de ligamiento en las especies domésticas. La existencia de estos mapas de ligamiento ha permitido una exploración de los genomas de los animales con el fin de dilucidar la base molecular de los caracteres con importancia económica en producción animal. Estos estudios han permitido la identificación de genes responsables de algunos de estos caracteres, los denominados genes de efecto mayor (Grobet et al., 1997; Milan et al., 2000). No obstante, la mayoría de los caracteres de importancia económica, son el resultado de la acción de múltiples genes (denominados QTLs), con un efecto fenotípico más pequeño y, en consecuencia, más difíciles de detectar. En el ganado vacuno se han identificado diferentes regiones genómicas con influencia sobre los fenotipos relacionados con la producción de leche. El cromosoma 6 es en el que mayor número de asociaciones positivas se han detectado. La existencia de resultados convergentes en una región cromosómica, confirma la influencia de dicha zona sobre los caracteres estudiados y además, puede ayudar a la localización del gen o genes responsables mediante los estudios de identidad por descendencia (Riquet et al., 1999). El objetivo del presente trabajo es la búsqueda de relaciones entre regiones genómicas del cromosoma 6 y caracteres de producción de leche en familias de ganado vacuno de raza Frisona explotadas en España.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado 4 familias compuestas por 42, 22, 35 y 31 hijos, siguiendo un diseño nietas (Weller et al., 1990).

### Genotipos

Los 9 microsatélites localizados en el cromosoma 6, se amplificaron en 3 diferentes reacciones: multiplex 6-FAM (BM4311, BM 415, BM4528); multiplex NED (BM143, BM1329, ILSTS93) y multiplex HEX (TGLA37, BM4621, ILSTS97). La PCR se realizó en un volumen final de 10 µl y 50 ng de ADN extraído a partir de semen. La amplificación de los 9 marcadores se llevó a cabo en tres reacciones distintas de PCR. La separación electroforética se efectuó en geles de poliacrilamida 4,25% (19:1) utilizando un secuenciador automático ABI Prism 377. El análisis de los geles y la identificación alélica se realizó con los programas GeneScan y Genotyper de Applied Biosystem.

### Fenotipos

Se han empleado los valores genéticos de los toros analizados, para los caracteres producción de leche (MY), producción de proteína (PY), producción de grasa (FY), porcentaje de proteína (PP) y porcentaje de grasa (FP), estimados a partir de las lactaciones de sus hijas. Los valores genéticos han sido suministrados por CONAFE y han sido estimados mediante el BLUP modelo animal con medidas repetidas (CONAFE, 2000).

---

\* Trabajo financiado por los proyectos 1FD97-0225 y SC00-039

### **Análisis estadísticos**

Para detectar la posible existencia de QTLs se ha seguido el método de Knott et al. (1996), que realiza una regresión de los fenotipos sobre los genotipos en cada región cromosómica. Para la localización de los marcadores en el mapa se ha utilizado la distancia estimada en los mapas bovinos publicados (Kappes et al., 1997; Barendse et al., 1997). No se elaboró un mapa específico para la población analizada debido a la baja información exhibida por alguno de los marcadores en las familias analizadas. Esta escasez de datos en alguno de los marcadores produciría una diferente estimación de la distancia entre microsatélites o en el orden de los mismos. No obstante, se ha utilizado el programa CRIMAP (Green et al., 1990) con objeto de detectar posibles errores en el genotipado.

Los niveles de significación se han calculado por permutaciones para cada carácter (nivel cromosómico) y realizando una corrección de Bonferroni suponiendo la existencia de 3 caracteres independiente (Spelman et al., 1996)

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la figura 1 se presenta el nivel de información obtenido en el mapa de ligamiento, así como los perfiles de significación para los cinco caracteres a lo largo del cromosoma (114 cM, Haldane). La información extraída en el cromosoma ha sido muy diferente en función de la informatividad de los marcadores. Así, en la región entre los cM 12 y 45 se observa una zona con información muy baja (<50%) debido a la gran distancia entre los marcadores ILSTS93 y BM1329 y a la escasa información exhibida por este último que sólo ha sido informativo en una de las familias (FAM3) constituida por 35 individuos.

Por lo que se refiere a la asociación con los caracteres de producción de leche, en la figura se puede observar como, en la región centromérica del cromosoma, el carácter producción de leche alcanza unos niveles de significación que superan el 5% corregido por permutaciones y por el método de Bonferroni para 3 caracteres independientes. En el resto de las variables, sólo la producción de proteína alcanza niveles que superan el 10% de significación.

En cuanto al efecto detectado, afecta a los caracteres de forma diferente. Así, parece ser mayor en la producción de leche, próximo a la significación estadística en la producción de proteína y mucho menor en la producción de grasa. En la tabla 1 se detallan los efectos detectados en las 4 familias analizadas.

En este cromosoma otros autores han obtenido resultados positivos, tanto en la raza Frisona como en otras de aptitud lechera. Estos estudios pueden dividirse en aquellos que localizan el efecto en la región centromérica (Georges et al., 1995; Spelman et al., 1996; Zhang et al., 1998) y los que detectan el efecto en la parte más cercana al clúster de las caseínas (Khün et al., 1999; Velmala et al., 1999; Wiener et al., 2000). La detección de varios tipos de efectos podría deberse a la posible existencia de varias regiones, dentro del mismo cromosoma, con influencia sobre la producción lechera. En la población analizada en nuestro estudio el fragmento que segrega parece estar situado únicamente en la zona centrométrica, no habiéndose observado ningún tipo de efecto en la segunda región. Lamentablemente, ésta es la región con un menor nivel de información extraída por el mapa utilizado, debido a la ausencia de microsatélites en dicha zona. En cualquier caso, nuestros resultados son concordantes con los obtenidos en otras relaciones de la misma raza y permiten

concluir que un análisis con mayor densidad de marcadores en esta región podría detectar un fragmento IBD portador del QTL responsable del efecto.

Figura 1. Perfil de los valores del  $\log(1/P)$  para el análisis de todas las familias para los cinco caracteres analizados: producción de leche (MY), producción de proteína (PY), producción de grasa (FY), porcentaje de proteína (PP) y porcentaje de grasa (FP). En línea negra se representa el contenido de información del mapa de ligamiento.

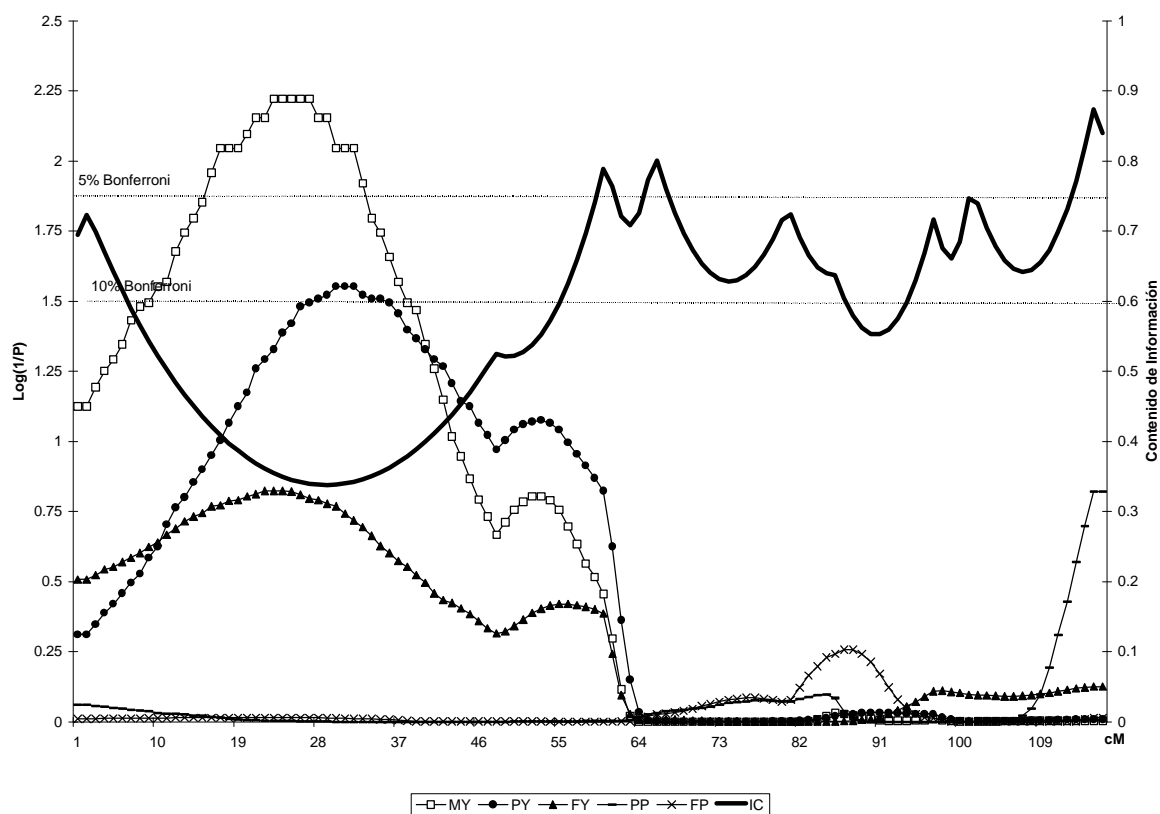


Tabla1. Magnitud del efecto del detectado en el cromosoma 6 (cM 24)

	MY	PY	FY	PP	FP
<b>Fam1</b>	283,1	7,3	13,7	-0,014	-0,041
<b>Fam2</b>	762,3	24,1	19,7	-0,005	-0,096
<b>Fam3</b>	357,108	7,4	6,7	-0,052	0,076
<b>Fam4</b>	120,919	3,7	0,749	0,000	0,042

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barendse, W. et al., (1997). *Mammalian Genome*, **8**: 21-28
- CONAFE, (2000). Valoración genética de vacas.
- Georges, M., et al., (1995). *Genetics*, **139**: 907-920.
- Green, P., Falls, K. (1990). Washintong Unersivisity School of Medicine. St. Louis. M.O.
- Grobet, L., Royo Martin, L.J., Poncelet, et al. (1997). *Nature Genetics*, **17**: 71-74.
- Kappes, S.M. et al., (1997). *Genome Research*, **7**: 235-249.
- Khun, C.H., Freyer, G., Weikard, R. et al., (1999). *Animal Genetics*, **30**: 333-340
- Knott S.A., Elsen J.M., Haley C.S. (1996). *Theor. Appl. Genet*, **93**: 71-80.
- Milan D., Jeon J.T., Looft C., et al. (2000). *Science*, **288**: 1248-1251.
- Riquet, J., Coppieters, W., Cambisano, N. (1999). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 9252-9257
- Spelman, R., Coppieters, W., Karim, L., et al., (1996). *Genetics*, **144**: 1799-1808.
- Velmala, R.J., Vilkki, H.J., Elo, H.T. et al., (1999). *Animal Genetics*, **30**: 136-143
- Weller J.I., Kashi Y., Soller M., (1990). *J. Dairy Sci.*, **73**: 2525-25
- Wiener, P., Maclean, J., Williams, J.L. Woolliams, J.A. (2000) *Animal Genetics*, **31**: 389-395.
- Zhang, Q., Boichard, D., Hoeschele, I. et al., (1998). *Genetics*, **149**: 1959-1973.