

## ANÁLISIS PRELIMINAR DE LAS HUELLAS DE SELECCIÓN EN EL GENOMA DE LA RAZA OVINA CHURRA

B. Gutiérrez-Gil<sup>1</sup>, E. García-Gámez<sup>1</sup>, J.W. Kijas<sup>2</sup>, F. San Primitivo<sup>1</sup>, L.F. de la Fuente<sup>1</sup>, Y. Bayón<sup>1</sup>, *International Sheep Genomics Consortium (ISGC)*, J.J. Arranz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. <sup>2</sup>CSIRO Livestock Industries (Australia). E-mail: [jjarrs@unileon.es](mailto:jjarrs@unileon.es)

### INTRODUCCIÓN

El proceso de domesticación en la especie ovina comenzó en Oriente Próximo entre 9000 y 5000 años a.C. Durante este periodo, se ha producido una especialización de las diferentes razas dentro de esta especie, en función de la adaptación al medio y la aptitud productiva para la que han sido seleccionadas: producción de leche, lana o carne (Kijas et al., 2012). La formación de razas se ha producido mediante “cuellos de botella” poblacionales y posteriores aumento de su tamaño efectivo, cruzamientos, cría selectiva, etc. Como consecuencia de estos sucesos demográficos el genoma de la oveja ha sufrido cambios desde la domesticación. La selección de los alelos favorables en cada raza provoca una reducción de la diversidad nucleotídica en el locus responsable y en las regiones genómicas vecinas. Este efecto se conoce como huellas de selección (*selective sweeps*). Los primeros estudios de las diferencias entre poblaciones ovinas y la evolución de las mismas desde su domesticación se han realizado mediante el estudio del ADN mitocondrial (Pedrosa et al., 2005), el genotipado de marcadores microsatélite (Peter et al., 2007), el estudio de marcadores del cromosoma Y (Meadows et al., 2006) o SNPs (Kijas et al., 2009).

Recientemente, se ha publicado un trabajo, dentro del proyecto *SheepHapMap*, basado en el estudio de las diferencias genéticas y la estructura poblacional de 74 razas ovinas distribuidas alrededor del mundo (Kijas et al., 2012). Los resultados obtenidos, han puesto de manifiesto regiones del genoma en las que existen diferencias entre razas debido a la presión de selección. El resultado más significativo en dicho análisis, fue la detección de una región en el cromosoma 10 (OAR10) que ha sido previamente descrita como portadora del *polled* locus, que controla la presencia de cuernos (Johnston et al., 2011). Además, se detectaron regiones relacionadas con el color de la capa (OAR6, OAR13 y OAR19), la conformación corporal (OAR1, OAR5 y OAR18) y caracteres reproductivos (OAR6 y OAR7). El objetivo de este trabajo es la búsqueda de huellas de selección entre dos razas ovinas. Para ello se han elegido dos razas con diferente aptitud productiva: la raza Churra, seleccionada para producción de leche, y la raza Merina Australiana, altamente especializada en la producción de lana. Para ello, se estudian la divergencia genética entre ambas razas ( $F_{ST}$ ) y las diferencias en el grado de heterocigosis a lo largo del genoma utilizando el *Illumina Ovine SNP50BeadChip*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales utilizados en este estudio, a través de la participación de nuestro grupo de investigación en el proyecto *SheepHapMap*, fueron: 100 animales de raza Churra y 88 Merinos Australianos. Ambas razas se genotiparon para el chip de SNPs de *Illumina Ovine SNP50BeadChip*. Se llevó a cabo un primer control de calidad utilizando las 74 razas ovinas incluidas dentro del proyecto que pasaron 49.034 SNPs (Kijas et al., 2012). Estos SNPs en las razas objeto de estudio, se sometieron a un segundo control de calidad, ya que aunque cumplan los criterios utilizados entre las 74 razas, pueden no cumplirlos en el conjunto de 188 animales utilizados en este trabajo. Los criterios de calidad, implementados con el programa PLINK v1.06 (Purcell et al., 2007), fueron: (a) porcentaje de genotipos superior al 95 %; (b) frecuencia del alelo menos frecuente (MAF) mayor de 0,05; (c) probabilidad de ausencia de equilibrio Hardy-Weinberg menor de 0,00001. Para la localización en el genoma de estos SNPs, se utilizó el último mapa físico basado en la versión 2 del genoma ovino

(disponible online: <http://rubens.its.unimelb.edu.au/~jillm/jill.htm>). Únicamente se utilizaron los marcadores con localización en los autosomas.

Para los marcadores que superaron el control de calidad se estimó la heterocigosis o diversidad génica (Nei, 1986) en cada una de las razas objeto de estudio. Asimismo, se estimó el grado de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) por SNP entre las dos razas (Nicholson et al., 2002). Para una mejor interpretación de los resultados obtenidos, tanto los valores de heterocigosis como de  $F_{ST}$  para cada marcador, se re-estimaron como la media de los valores obtenidos en ventanas de 500 SNPs adyacentes mediante un programa en R (Flori et al., 2009). Estos cálculos se utilizaron para la representación gráfica de ambos parámetros.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 6.162 SNPs fueron eliminados durante el control de calidad: 3.277 SNPs no superaron los umbrales descritos en la sección anterior y de los 2.885 marcadores restantes se desconoce su localización en el genoma o se localizan en cromosomas sexuales. Así, se estimó la heterocigosis y se calculó el valor de  $F_{ST}$  para un total de 42.871 SNPs autosómicos.

El valor medio de heterocigosis a lo largo del genoma fue muy similar para las dos razas: 0,375 en Churra y 0,381 en Merino. No se han detectado diferencias en los valores medios de heterocigosis calculada para cada cromosoma. En la Figura 1A se representa la heterocigosis media a lo largo del genoma para cada una de las dos razas. Observamos regiones en las que la diferencia entre ambas razas es mayor, alcanzándose valores máximos en los cromosomas OAR2, OAR3, OAR4, OAR12 y OAR15. Los valores mínimos de heterocigosis en la raza Churra se obtuvieron en OAR3 y, para la raza Merina en el OAR11.

La diferenciación genética entre las dos razas, estimada a través del valor de  $F_{ST}$  medio, fue de 0,023 a lo largo del genoma. Existen diferencias puntuales, que, al igual que ocurre con los valores de heterocigosis, no afectan a los valores medios calculados por cromosoma. En la Figura 1B se representan los valores de  $F_{ST}$  estimada a lo largo del genoma. Existen regiones en las que se observan valores superiores a la media en prácticamente todos los cromosomas, pero una región del OAR3 destaca por encima del resto con valores de  $F_{ST}$  que superan el valor 0,029. Otras dos regiones muestran picos de  $F_{ST}$  superiores al resto del genoma: OAR5 y OAR10.

La región común en ambos análisis, en la que los valores de  $F_{ST}$  entre las razas son mayores y la heterocigosis en ambos grupos es más difiere en mayor medida, se localiza en el OAR3. En la raza ovina Churra se ha detectado un QTL en dicha región con influencia sobre el porcentaje de proteína en leche (Gutiérrez-Gil et al., 2009), replicado posteriormente en otra población de Churra (García-Gámez et al., 2011). Los resultados descritos previamente son preliminares, ya que la disposición de un mayor número de animales de la raza Churra, el análisis de más razas, con aptitudes y orígenes diferentes, pueden ayudar a descifrar las huellas que la selección ha ido dejando a lo largo del genoma en la raza Churra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

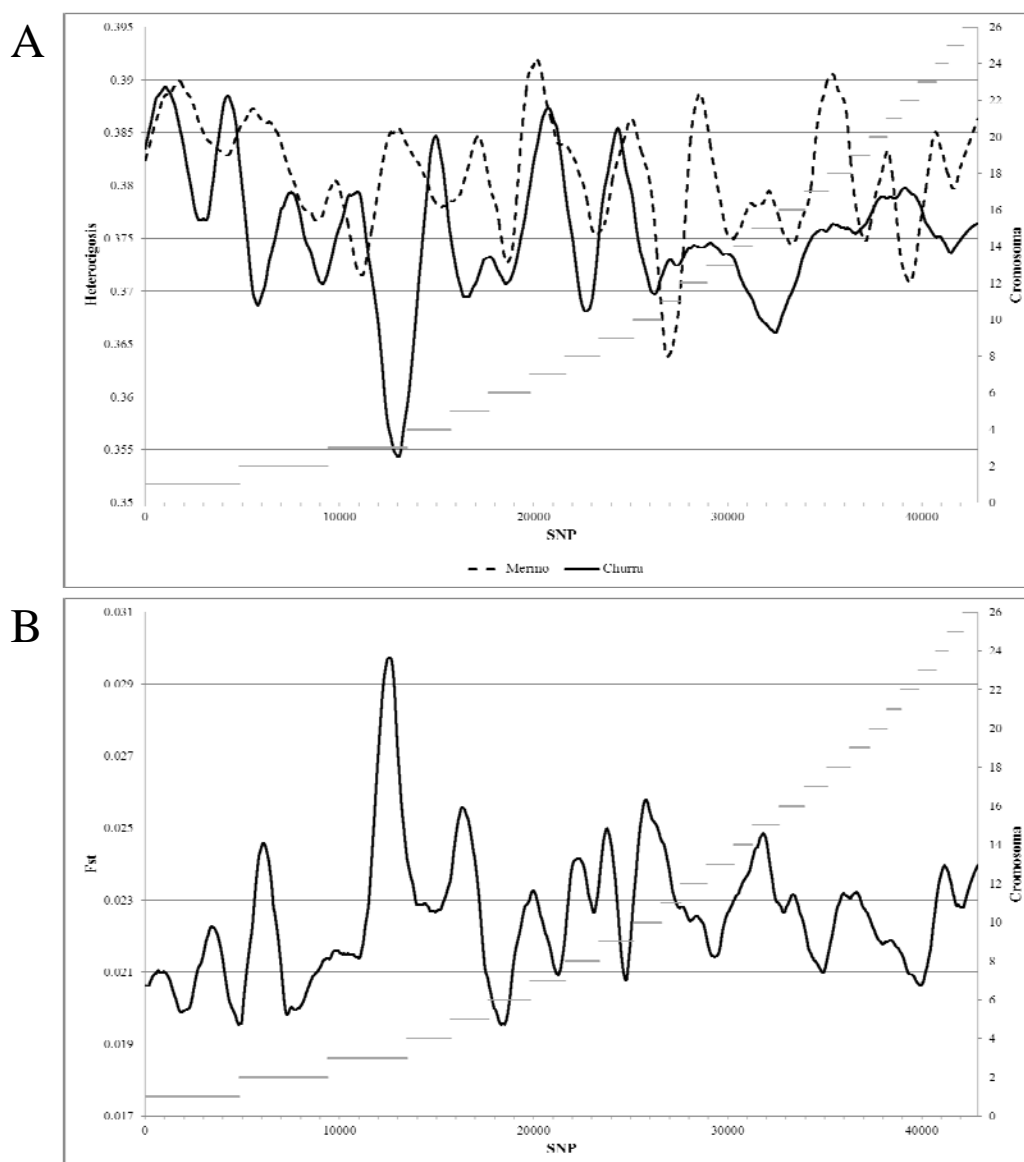
- Flori L, Fritz S, Jaffrézic F, et al. 2009. PLoS One 4: e6595. ▪ García-Gámez E, Gutiérrez-Gil B, Sánchez JP, et al. 2011. Anim. Genet. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02294.x. ▪ Gutiérrez-Gil B, El-Zarei MF, Álvarez L, et al. 2009. Anim. Genet. 40: 423-34. ▪ Johnston SE, McEwan JC, Pickering NK, et al. 2011. Mol. Ecol. 20:2555-66. ▪ Kijas JW, Lenstra JA, Hayes B, et al. 2012. PLoS Biol. 10: e1001258. ▪ Kijas JW, Townley D, Dalrymple BP, et al. 2009. PLoS ONE 4: e4668. ▪ Meadows JR, Hanotte O, Drögemüller C, et al. 2006. Anim.

Genet. 37: 444-453. ▪ Nicholson G, Smith AV, Jonsson F, *et al.* 2002 J. Roy. Statistical Soc. B 64: 695-715. ▪ Pedrosa S, Uzun M, Arranz JJ, *et al.* 2005. Proc. R. Soc. B 272: 2211-7. ▪ Peter C, Bruford M, Perez T, *et al.* 2007. Anim. Genet. 38:37-44. ▪ Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, *et al.* 2007. Am. J. Hum. Genet. 81. ▪

### Agradecimientos:

Este trabajo se ha realizado con financiación del proyecto AGL2009-07000 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y "3SR" *Sustainable Solutions for Small Breeding* (Comisión Europea). EGG es becaria FPU (Ministerio de Educación).

**Figura 1.:** Heterocigosis y diversidad genética ( $F_{ST}$ ) medias a lo largo del genoma, calculadas en ventanas de 500 marcadores, para los 42.871 SNPs que pasan el control de calidad. Las líneas grises horizontales representan cada uno de los cromosomas a los que corresponden los valores de  $F_{ST}$  y heterocigosis representados. (A) Se representan los valores de heterocigosis para las dos razas objeto de estudio: Churra (línea sólida) y Merino Australiano (línea discontinua). (B) Valores de  $F_{ST}$  obtenidos mediante la comparación de las razas Churra y Merina, de aptitudes leche y lana, respectivamente.



### PRELIMINARY ANALYSIS OF SELECTIVE SWEEPS IN THE SPANISH CHURRA SHEEP

**ABSTRACT:** During the domestication and specialization processes in sheep there has been a differentiation in breeds with three main production aims: milk, meat and wool. Using the available genomic tools in the last decades, some research groups have studied differences between populations and evolution in sheep. The aim of this work is to perform a primary search of selective sweeps in the Spanish Churra sheep genome. For that purpose, we compared this breed, specialized in milk production, with Australian Merino sheep, selected for wool production. We estimated genetic diversity based on  $F_{ST}$  and heterozygosity across the genome using genotypes from the *Illumina Ovine SNP50BeadChip*. Average heterozygosity did not show differences between breeds (Merino = 0.381; Churra = 0.375) or average values between chromosomes.  $F_{ST}$  averaged for all SNPs comparing both breeds is 0.023. These initial results have highlighted several genomic regions differentially selected in the breeds under study. This work is a preliminary study towards the description of selective sweeps in Spanish Churra sheep, a milk production specialized breed. The comparison of this breed with others which have been selected for different traits can help us to decipher the influence of selection process in the genome of these animals since domestication began.