

Estudio de regiones genómicas asociadas a la varianza ambiental en el tamaño de camada en conejos

Cristina Casto-Rebollo¹, María-José Argente², María-Luz García², Romi Pena³, Luca Fontanesi⁴, Agustín Blasco¹ & Noelia Ibáñez-Escriche*¹

¹ *Institute for Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, València, Spain.*

² *Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández de Elche, Orihuela, Spain.*

³ *Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida, Lleida, Catalonia, Spain.*

⁴ *Department of Agricultural and Food Sciences, Division of Animal Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy.*

*Correspondence to: noeibes@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha habido un creciente interés por estudiar el control genético de la varianza ambiental (Ve) en el campo de la mejora genética animal. Numerosos estudios han mostrado evidencias estadísticas de la existencia de un efecto aditivo genético influenciando a la Ve (Hill and Mulder, 2010), observándose además una relación con la resiliencia y el fitness del animal, es decir, con su capacidad de adaptación a nuevas condiciones ambientales (Mulder *et al.*, 2013; Argente *et al.*, 2014, 2017). Una mayor resiliencia permite al animal mantener su rendimiento a pesar de los factores de estrés externos, suponiendo un beneficio a nivel productivo (Blasco *et al.*, 2017; Mulder and Rashidi, 2017).

La Universidad Miguel Hernández de Elche llevó a cabo un experimento de selección divergente en conejos para Ve en el tamaño de camada (TC) durante diez generaciones. Los resultados de este experimento mostraron una respuesta a la selección del 4.5% de la media del carácter por generación, lo que evidencia la existencia de factores genéticos regulando la Ve. Además, se observó una correlación de Ve con la respuesta inmunológica siendo la línea para baja Ve la que tuvo una mejor respuesta inmunológica con respecto a la línea alta (Argente *et al.*, 2014; Blasco *et al.*, 2017). El objetivo de este estudio es identificar regiones genómicas asociadas a Ve en estas líneas y determinar su posible relación con la resiliencia y el fitness del animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos usados en este estudio pertenecen a un experimento de la Universidad Miguel Hernández de Elche de selección divergente por Ve del TC durante 12 generaciones. Para este estudio 288 conejas de las generaciones 11 y 12 de las líneas alta (H) y baja (L) Ve fueron genotipadas con el chip de Affymetrix Axiom OrcunSNP (199692 SNPs). Los controles de calidad de los genotipados fueron realizados con la plataforma Axiom Analysis Suite 3.1 de ThermoFisher Scientific y el software libre PLINK v1.9 (Chang *et al.*, 2015). En el análisis de asociación fueron incluidos solo los SNPs (94248) que cumplieron los siguientes criterios: Detección en > 96% de los animales, posición en el mapa genómico o físico conocido, frecuencia del alelo minoritario >5%, genotipos faltantes por SNP <5% y genotipos faltantes por individuos <3%. La imputación de los genotipos faltantes se realizó con el software Beagle v4.1 (Browning and Browning, 2016). La estructura poblacional se analizó mediante un análisis de componentes principales, con el paquete "SNPRelate" del software R (R Core Team, 2017). Finalmente, 269 hembras fueron incluidas en los análisis, 130 de la línea L y 139 de la línea H. El carácter estudiado, Ve, fue calculado como la varianza del TC dentro de hembra, previa corrección del TC por los efectos año-estación y tres niveles de parto-lactación. Los estudios de asociación del genoma completo se llevaron a cabo mediante dos aproximaciones: (a) Asociación marcador por marcador mediante el software GCTA v1.91.2 (Yang *et al.*, 2011) e incluyendo en el modelo la matriz de relaciones genómicas (GRM) construida excluyendo el cromosoma donde se encuentra el SNP a testar; y (b) Método de regresión con múltiples marcadores mediante el modelo Bayes B e implementado con el software GenSel (Garrick and Fernando, 2013). En este modelo se consideró como efecto sistemático la línea y se fijó el parámetro π en 0.9997. La relevancia estadística de la

asociación entre el marcador individual y el carácter fue evaluada calculando un Factor de Bayes (BF) para cada locus (Wakefield, 2012). Posteriormente, se realizó un análisis de asociación dentro de línea usando los dos métodos descritos previamente. La búsqueda de genes candidatos de las regiones genómicas asociadas se realizó utilizando la base de datos Ensembl (Zerbino *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de componentes principales con los genotipos mostró una clara diferenciación de las dos líneas excepto para 8 individuos (3 de la línea H y 5 de la L) a los que se le había asignado erróneamente la línea. Ambos métodos de asociación identificaron dos regiones asociadas en el cromosoma 3. En el estudio de regresión de un único marcador, esta asociación detectó 54 SNPs en una zona de 1.3Mb con un p-valor menor a 6.24×10^{-4} . El estudio de múltiples marcadores identificó dos ventanas consecutivas en 3:50019899-50991122 (Mb) y 3:51013933-51891704 (Mb), regiones detectadas también con el anterior método. Estas ventanas explican un 10.50% (7.76% y un 2.74%, respectivamente) de la varianza genética total del carácter V_e . En el cromosoma 14 y 1 también se identificaron regiones que podrían ser relevantes, ya que explican un 2.76% y un 1.23% de la varianza genética total, respectivamente. En la figura 1 se muestra la relevancia estadística de la asociación entre cada marcador y V_e . Los resultados muestran una evidencia de asociación fuerte (BF entre 10 y 100) para los SNPs del cromosoma 3, así como para algunos caracterizados en los cromosomas 1 y 14. Los resultados del efecto de sustitución alélica de los SNPs relevantes para el análisis de asociación dentro de línea mostraron concordancia con los resultados del análisis con las dos líneas. En el análisis de las regiones identificadas como asociadas al carácter V_e , se observó la presencia de genes (*SLIT3*, *DOCK2*, *LCP2*, *CD59*, *LMO2* y *GPR15*) relacionados con procesos inmunológicos; respuesta al cortisol, formación de la sinapsis inmunológica, selección, proliferación y activación de las células T, macropinocitosis, activación de mastocitos, regulación de la hematopoyesis, regulación de entrada viral en las células, entre otras. Estos resultados respaldarían la relación del carácter V_e con el fitness del animal y su adaptación a factores de estrés ambientales (Blasco *et al.*, 2017). Sin embargo, son necesarios posteriores análisis para validar estos resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- Argente, M. *et al.* (2014) 'Effect of Selection for Residual Variance of Litter Size on Hematology Parameters as Immunology indicators in Rabbits', *Proceedings*, (10).
- Argente, M. J. *et al.* (2017) 'Correlated response in litter size components in rabbits selected for litter size variability', *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 134(6), pp. 505–511. doi: 10.1111/jbg.12283.
- Blasco, A. *et al.* (2017) 'Selection for environmental variance of litter size in rabbits', *Genetics Selection Evolution*. BioMed Central, 49(1), pp. 1–8. doi: 10.1186/s12711-017-0323-4.
- Browning, B. L. and Browning, S. R. (2016) 'Genotype Imputation with Millions of Reference Samples', *American Journal of Human Genetics*. The American Society of Human Genetics, 98(1), pp. 116–126. doi: 10.1016/j.ajhg.2015.11.020.
- Chang, C. C. *et al.* (2015) 'Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets', *GigaScience*, 4(1), pp. 1–16. doi: 10.1186/s13742-015-0047-8.
- Garrick, D. J. and Fernando, R. L. (2013) 'Genome-Wide Association Studies and Genomic Prediction', 1019. doi: 10.1007/978-1-62703-447-0.
- Hill, W. G. and Mulder, H. A. (2010) 'Genetic analysis of environmental variation', *Genetics Research*, 92(5–6), pp. 381–395. doi: 10.1017/S0016672310000546.
- Mulder, H. A. *et al.* (2013) 'Unraveling the genetic architecture of environmental variance of somatic cell score using high-density single nucleotide polymorphism and cow data from experimental farms', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 96(11), pp. 7306–7317. doi: 10.3168/jds.2013-6818.
- Mulder, H. A. and Rashidi, H. (2017) 'Selection on resilience improves disease resistance and tolerance to infections', *Journal of Animal Science*, 95(8), pp. 3346–3358. doi: 10.2527/jas.2017.1479.
- R Core Team (2017) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, R Foundation

for *Statistical Computing*. doi: 10.1007/978-3-540-74686-7.
 Wakefield, J. (2012) 'Commentary: Genome-wide significance thresholds via Bayes factors', *International Journal of Epidemiology*, 41(1), pp. 286–291. doi: 10.1093/ije/dyr241.
 Yang, J. et al. (2011) 'GCTA: A tool for genome-wide complex trait analysis', *American Journal of Human Genetics*. The American Society of Human Genetics, 88(1), pp. 76–82. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.11.011.
 Zerbino, D. R. et al. (2018) 'Ensembl 2018', *Nucleic Acids Research*, 46(D1), pp. D754–D761. doi: 10.1093/nar/gkx1098.

Agradecimientos: Esta investigación está financiada con cargo a los proyectos AGL2014-55921 y AGL2017-86083 del Plan Nacional de Investigación.

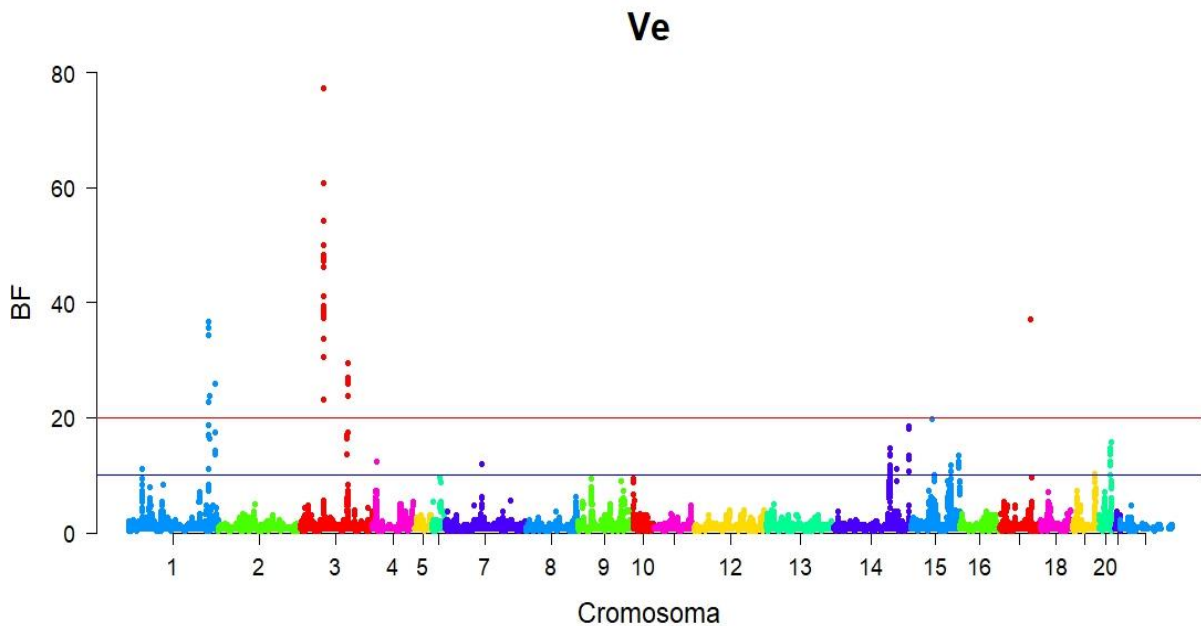


Figura 1. Manhattan plot. Representación gráfica del Bayes Factor (BF) obtenido para cada SNP analizado en función de su posición en el cromosoma. La línea horizontal de color azul indica una evidencia fuerte para los SNPs superiores a él. La línea horizontal de color rojo indica el umbral para BF mayor de 20.

Unraveling genomic regions associated to environmental variance of litter size in rabbits

ABSTRACT: Genetic determination of environmental variance (V_e) of quantitative traits are increasingly interesting in animal breeding. A twelve-generation divergent selection experiment for V_e of litter size (LS) showed that the low V_e line tolerated external stressors more effectively than the high V_e line. The aim of this work was to identify genomic regions associated with V_e of LS in these lines. Samples from 288 rabbits does of both lines at generations 11th and 12th were genotyped with Affymetrix Axiom OrcunSNP. V_e was calculated as the within-doe variance of LS after pre-correcting LS by year-season and parity-lactation. Two approaches were used: (a) a single marker regression corrected by GRM built excluding the chromosome of the SNP tested and (b) multimarker regression analysis by Bayes B. Two regions were identified on chromosome 3 (10.5% of genetic variance) with three genes highlighted as candidate genes (*DOCK2*, *LCP2* and *SLIT3*). Functions of these genes are involved in immunological process such as macropinocytosis, thymic T cell selection and response to cortisol.

Keywords: environmental variance, immunological process, genomic, rabbits.