

# IDENTIFICACIÓN DE REGIONES COMUNES DE HOMOCIGOSIDAD EN CABRAS Y OVEJAS

M.G. Luigi<sup>1</sup>, T.F. Cardoso<sup>1,2</sup>, A. Martínez<sup>3</sup>, A. Pons<sup>4</sup>, L.A. Bermejo<sup>5</sup>, J. Jordana<sup>6</sup>, J.V. Delgado<sup>3</sup>, S. Adán<sup>7</sup>, E. Ugarte<sup>8</sup>, J. J. Arranz<sup>9</sup>, J. H. Calvo<sup>10</sup>, J. Casellas<sup>6</sup> and M. Amills<sup>1,6\*</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recerca Agrigenòmica (CRAG), Bellaterra 08193; <sup>2</sup>CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasília D. F., Zip Code 70.040-020, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Córdoba 14071; <sup>4</sup>Unitat de Races Autòctones, Servei de Millora Agrària i Pesquera (SEMILLA), Son Ferriol 07198; <sup>5</sup>Universidad de La Laguna, 38071 La Laguna, Tenerife; <sup>6</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193; <sup>7</sup>Federación de Razas Autóctonas de Galicia (BOAGA), Pazo de Fontefiz, 32152 Coles; <sup>8</sup>Neiker-Tecnalia, Campus Agroalimentario de Arkaute, apdo 46 E-01080 Vitoria-Gazteiz; <sup>9</sup>Departamento de Producción Animal, Universidad de León, León 24071; <sup>10</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Unidad de Tecnología en Producción Animal, 50059 Zaragoza.

## INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de chips de genotipado de alta densidad permite estudiar los patrones de homocigosidad de las especies domésticas por medio de la identificación de regiones de homocigosidad (ROH) y la estimación del coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) (McQuillan et al. 2008). Además, a partir de la identificación de ROH se puede realizar inferencias sobre la historia de las poblaciones bajo estudio y los fenómenos demográficos a los que han estado sometidas (Purfield et al. 2012; Bosse et al. 2012; Herrero-Medrano et al. 2013), así como identificar señales de selección en el genoma (Bosse et al. 2012; Purfield et al. 2017). Por otra parte, se sabe que la magnitud de la frecuencia de recombinación tiene un efecto importante sobre la aparición de ROH (Bosse et al. 2012), y que especies filogenéticamente relacionadas pueden presentar una cierta conservación en la tasa de recombinación local.

En el presente trabajo, nos hemos propuesto caracterizar los patrones de homocigosidad de once razas ovinas españolas y determinar si las regiones con una elevada incidencia de ROH (ROH *hotspots*) se hallan conservadas en ovino y caprino.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron datos genotípicos obtenidos mediante el *Ovine SNP50 BeadChip* de 387 ovejas de las razas Castellana (N= 23), Churra (N= 120), Latxa (N= 58), Rasa Aragonesa (N= 22), Segureña (N= 12), Canaria de Pelo (N= 27), Gallega (N= 25), Ojalada (N= 24), Ripollés (N= 23), Roja Mallorquina (N= 29) y Xisqueta (N= 24) (Manunza et al. 2016) así como diversas poblaciones de referencia (N= 134) procedentes de Italia, Suiza, Argelia y Egipto (SheepHapmap, <http://www.sheephapmap.org>, Gaouar et al. 2017). También se seleccionaron 19 razas caprinas (N= 468) genotipadas con el *Goat SNP50 BeadChip*. Se realizó un filtrado de los SNPs genotipados mediante la eliminación de aquellos que mapean en los cromosomas sexuales, que presentan una frecuencia del alelo minoritario igual o inferior al 1% o una de tasa de genotipos válidos menor al 95%, o que se desvían muy significativamente ( $P < 1.10^{-6}$ ) del equilibrio de Hardy Weinberg. También se descartaron los animales con más del 10% de genotipados no válidos.

Para la detección de ROH se utilizó el software PLINK (Purcell et al., 2007), tomando en consideración una ventana de detección de 50 SNP. Para que una región del genoma fuera calificada como ROH, debía tener como máximo 1 SNP heterocigoto y/o dos SNPs sin genotipos válidos en toda su longitud, que no podía ser menor a 1000 Kb y tampoco podía abarcar menos de 50 SNPs. La frecuencia mínima de los

SNPs englobados dentro de una ROH debía ser de 0.001. Asimismo, la máxima distancia permitida entre dos SNPs consecutivos fue de 250 Kb. Las ROH fueron catalogadas en función de su longitud. Se estimó el  $F_{ROH}$ , definido como la proporción del genoma autosómico cubierto por SNPs que se encuentran situados dentro de las ROH.

Las regiones del genoma más comúnmente asociadas con ROH (ROH *hotspots*) fueron identificadas estimando la frecuencia de aparición de cada SNP dentro de una ROH y seleccionando el percentil del 1% de SNPs más frecuentemente hallados dentro de una ROH. Se utilizó la herramienta Biomart de Ensembl (Kinsella et al. 2011), para identificar los genes presentes dentro de estas regiones basándose en las anotaciones de los genomas de referencia ovino (Oars\_v3.1) y caprino (ARS1). Se identificaron los genes contenidos dentro de ROH en cabras y ovejas y se identificaron aquellos que son compartidos por ambas especies, analizando su función mediante la herramienta DAVID 6.8 (Huang et al. 2009a, 2009b).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

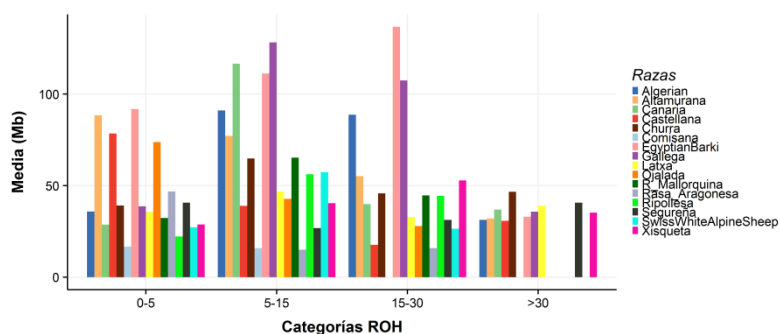
En el caso del ovino, se identificaron 8.179 ROH de diversas longitudes (Figura 1). La mayor parte de ROH (93.65%) presentaron tamaños reducidos o moderados (< 15Mb), indicando que dichas razas no han estado sometidas a cruzamientos consanguíneos de forma reciente. Además, los coeficientes  $F_{ROH}$  de las razas ovinas estudiadas fueron muy bajos con una media (en todas las razas) de 0,043, con la única excepción de la raza Canaria de Pelo donde alcanzó un valor de 0,086. En bovino de leche, Marras et al. (2014) reportaron valores  $F_{ROH}$  de aproximadamente 0,1; mientras que en ovino Purfield et al. (2017) y Mastrangelo et al. (2018) describieron valores entre 0,025-0,319; y 0,099-0,016; respectivamente. Puede concluirse que los niveles de homocigosidad de las razas ovinas españolas son bajos, probablemente debido a que la selección ha sido poco intensa y a que tampoco han sufrido una reducción demográfica muy acentuada que haya incrementado los niveles de consanguinidad.

Un análisis comparativo en ovino y caprino permitió identificar 9 (cromosomas 3, 6 y 8) (Figura 2) y 15 (cromosomas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12, 13, 16 y 19) (Figura 3) ROH *hotspots*, respectivamente. Dichas regiones contienen 122 y 279 genes en ovejas y cabras, respectivamente, de los cuales 47 son compartidos. Dichos loci están asociados a caracteres productivos como, desarrollo corporal del animal (como *PLEKHA5*, *PTPRO*, *CAPZA3*, *SLIT2*, *LRP6* and *CDKN1B*), caracteres reproductivos (*CAPZA3*, *SLIT2*, *PLCZ1* y *CDKN1B*), y respuesta a diferentes estímulos (como *EPS8*, *SLIT2*, *GRIN2B*, *RERG*, *LRP6*, *ADGRL3*, *GUCY2C*, *MGST1* y *CDKN1B*). En principio, estos resultados indicarían la posible existencia de ROH *hotspots* conservadas en ovino y caprino, lo cual podría deberse tanto a una cierta conservación de la tasa de recombinación local como a la existencia de factores selectivos comunes a ambas especies.

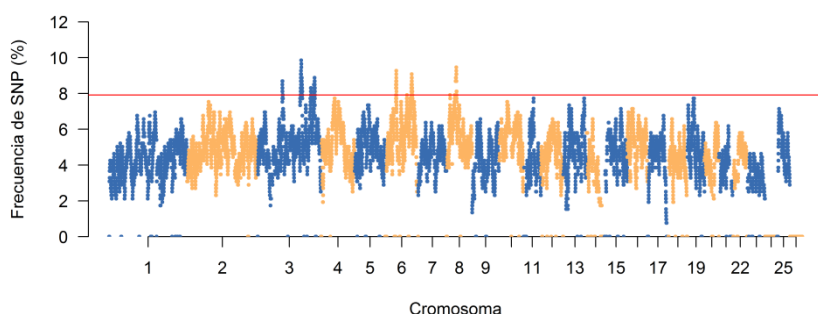
**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado con el proyecto AGL2016-76108-R concedido por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

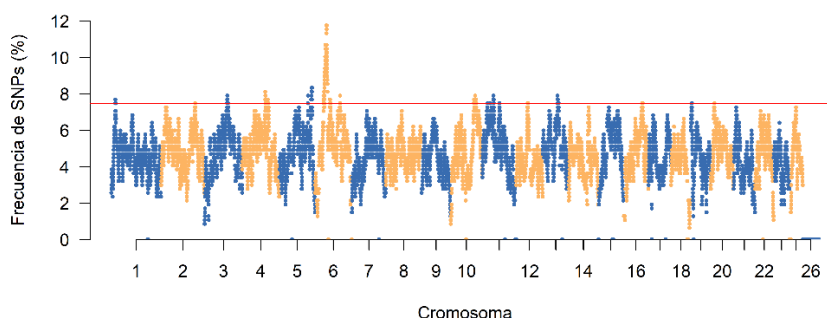
● Bosse et al. 2012. ● Marras et al. 2014. ● Herrero-Medrano et al. 2013. ● Huang et al. 2009a. ● Huang et al. 2009b. ● Kinsella et al. 2011. ● Manunza et al. 2016. ● Mastrangelo et al. 2018. ● McQuillan et al. 2008. ● Purfield et al. 2012. ● Purfield et al. 2017.



**Figura 1.** Clasificación de las regiones de homocigosidad (ROH) en cuatro categorías en función de su longitud expresada en Mb (eje x) y la suma media de la longitud de los ROH dentro de cada categoría.



**Figura 2.** Frecuencia de SNPs dentro de ROH en los cromosomas ovinos.



**Figura 3.** Frecuencia de SNPs dentro de ROH en los cromosomas caprinos.

### IDENTIFICATION OF COMMON ROH HOTSPOTS IN GOATS AND SHEEP

The aim of the present study was to characterize the homozygosity patterns of Spanish domestic sheep breeds and to determine if regions with a high ROH incidence (ROH hotspots) are conserved in sheep and goats. Data from 50k SNP chips from 518 sheep and 468 goats were used. A total of 8,179 ROH were identified in sheep, from which 93.65% measured less than 15 Mb. Moreover, the inbreeding coefficient based on ROH ( $F_{ROH}$ ) displayed an average value of 0.043 among all ovine breeds. The scarcity of very long ROH and the low inbreeding coefficients indicate lack of recent inbreeding in the sheep populations under study. Thereafter a total of 9 and 15 ROH hotspots were found in sheep and goats respectively. Within these regions, 47 genes were shared by both species, and they were mostly related with immunity, reproduction and development. These findings could be due to the conservation of the local recombination rate as well as to the existence of selective factors common to both species.

**Keywords:** sheep, goat, runs of homozygosity, autozygosity, inbreeding.