

HUELLAS DE SELECCION EN UN EXPERIMENTO DE SELECCION DIVERGENTE PARA CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO.

Sosa-Madrid¹, B.S., Ibañez-Escriche², N., Santacreu¹, M.A., Varona³, L. y Blasco¹, A.

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, 46022 Valencia, España.

²The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Midlothian EH25 9RG, Reino Unido.

³Grupo de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza, España.
bosomad@posgrado.upv.es

INTRODUCCIÓN

La divergencia entre subpoblaciones se puede medir a partir de estadísticos como el índice de diferenciación genética (F_{st}). No obstante, el grado de diferenciación no es homogéneo cuando ocurren procesos de selección natural o artificial. En este sentido, la selección artificial genera un grado de diferenciación más elevado en aquellas regiones del genoma que albergan genes relevantes en la variabilidad de los caracteres incluidos en el criterio de selección. Estas regiones se identifican como huellas de selección y pueden ser utilizadas para detectar genes asociados al carácter criterio de selección, y además, confirmar la relevancia de los genes encontrados en estudios de asociación (GWAS) con información fenotípica (Qanbari y Simianer, 2014). La potencia de detección para encontrar estas huellas aumenta con la utilización de poblaciones seleccionadas divergentemente para un carácter (Johansson et al., 2010). El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de la selección en el genoma de dos líneas seleccionadas divergentemente por capacidad uterina e identificar regiones cromosómicas asociadas a los caracteres capacidad uterina y tamaño de camada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: En este experimento se utilizaron animales de tres líneas de conejo: 88 de alta capacidad uterina (HUC), 68 de baja capacidad uterina (LUC) y 30 de una línea sintética (V) seleccionada por tamaño de camada al destete. La población base de las líneas divergentes de capacidad uterina provienen de la generación 12 de la línea V. La selección divergente se llevó a cabo durante 10 generaciones (ver Blasco et al., 2005). En este estudio, las hembras de HUC y LUC provienen de dos generaciones posteriores a la finalización del proceso de selección. Los animales de la línea V provienen de los descendientes de dos poblaciones de las generaciones 13 y 15 de esta línea (Santacreu et al., 2005).

Datos genómicos: Los animales fueron genotipados utilizando 200k Affymetrix Axiom OrcunSNP Array (Affymetrix, Inc. Santa Clara, CA, USA). El control de calidad fue realizado utilizando el programa ZANARDI (Marras et al., 2016). Los SNPs con una menor frecuencia alélica (MAF) superior al 3%, tasa de genotipado mayor de 95% y con una posición conocida en el genoma de referencia del conejo fueron utilizados en el estudio.

Análisis estadístico: Las huellas de selección se determinaron computando índices de diferenciación genética entre las líneas analizadas. El cálculo de los F_{st} se realizó con el procedimiento de Weir y Cockerham (1984), en el cual se calcula para cada SNP:

$$F_{st} = \frac{\sigma_p^2}{\bar{p}(1 - \bar{p})}$$

donde $\bar{p}$ es el promedio de la frecuencia alélica para las dos líneas evaluadas y σ_p^2 es la varianza de la frecuencia alélica entre las dos líneas. El umbral de relevancia de un SNP se calculó como cinco desviaciones estándar desde la media del F_{st} de todos los SNPs ($F_{st-umbral} = 0,35$). La media de F_{st} utilizando todos los datos de las tres comparaciones de las líneas fue $4,95E^{-2}$ y la desviación estándar fue $6,04E^{-2}$. Se consideró como una huella de selección putativa a aquella región genómica que contenía por lo menos 4 SNPs relevantes, una longitud mínima de 1 Mb y una distancia máxima de 2 Mb entre cada SNP relevante. Este criterio se escogió teniendo en cuenta las pocas generaciones de selección divergente entre las líneas, la baja heredabilidad del criterio de selección y la elevada densidad de SNPs (117.806) en el análisis. Así pues, se asumió que un grupo de 4 SNPs relevantes aportaría más evidencia de una huella de la selección debido a la baja probabilidad de que la deriva

génica cause elevadas modificaciones en las frecuencias alélicas de grupos consecutivos de SNPs y de grandes longitudes en el genoma (Johansson et al., 2010; Carneiro et al., 2014b; Grams et al., 2015). La búsqueda y descripción funcional de los genes en las regiones genómicas se realizó con “Biomart Software” a través de “Ensembl Genome Browser 87” (Aken et al., 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de huellas de selección putativas y la descripción de estas regiones genómicas se muestran en la Tabla 1. Las regiones encontradas son diferentes para las tres comparaciones, a excepción de una región solapada entre HUC-LUC y LUC-V (1,54 Mb en el cromosoma 9). En cuanto a la comparación de las líneas divergentes, las regiones genómicas asociadas a huellas de selección mostraron los siguientes genes involucrados en procesos reproductivos: *SPA17*, *BMP4*, *PTGDR* y *STYX*. El gen *SPA17* se encuentra en el cromosoma 1 y sintetiza una parte principal del flagelo de los espermatozoides. Los genes *BMP4*, *PTGDR* y *STYX* se encuentran en el cromosoma 17 y coinciden con los resultados de un GWAS con caracteres reproductivos de estas líneas (Sosa-Madrid, 2016). Los genes encontrados en las regiones que mostraron diferencias en F_{st} para HUC-V parecen no estar relacionados directamente a procesos reproductivos. En cuanto a la comparación de huellas de selección entre LUC-V, las regiones del autosoma 13 y el cromosoma sexual “X” son las únicas que presentan genes involucrados con procesos reproductivos como la espermatogénesis, la fecundación, el desarrollo embrionario y placentario, el desarrollo ovárico y el sistema endocrino de las hembras. Estos genes son: *TDRKH*, *OAZ3*, *TNRC4*, *ARNT* y *DACH2*.

Los resultados encontrados podrían explicarse en base a que el tamaño de camada ha sido un carácter modificado durante muchos años por selección natural, así como por la domesticación del conejo (Carneiro et al., 2014a). Por lo tanto, aquellos alelos de genes de efecto grande relacionados con el tamaño de camada se habrían fijado y actualmente solo estarían segregando genes de efecto muy pequeño. Además, las líneas divergentes de capacidad uterina provienen de una población seleccionada durante 12 generaciones por el tamaño de camada al destete, un carácter altamente correlacionado a la capacidad uterina. Esto pudo causar cambios en el diferencial de selección por las frecuencias genéticas iniciales extremas a favor del carácter capacidad uterina (Falconer y Mackay, 1996). En efecto, la evaluación de la respuesta a la selección divergente por capacidad uterina utilizando una población control, sugiere una mayor respuesta de selección en la línea LUC (Santacreu et al., 2005), lo que puede estar vinculado con las funciones de los genes encontrados para la comparación de LUC-V. No obstante, la inexistencia de grandes regiones cromosómicas solapadas entre las comparaciones de F_{st} entre las líneas indicaría que la selección estuvo modificando áreas distintas de acuerdo al criterio de selección. Las regiones genómicas encontradas para HUC-LUC serían huellas de selección por capacidad uterina, mientras que algunas de las regiones para HUC-V y LUC-V podrían corresponder a huellas de la selección por tamaño de camada al destete. Los resultados sugieren que la selección divergente no produjo los mismos efectos en el genoma de los animales de las dos líneas seleccionadas por capacidad uterina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aken, B. L., S. Ayling, D. Barrell, et al. 2016. Database 2016.
- Blasco, A., J. A. Ortega, Climent, A., & M. A. Santacreu. 2005. J. Anim. Sci. 83:2297-2302.
- Carneiro, M., F. W. Albert, S. Afonso, et al. 2014a. PLoS Genet. 10:e1003519
- Carneiro, M., C. Rubin, F. Di Palma, et al. 2014b. Science 345:1074-1079.
- Falconer, D. S. & Mackay, T. F. C. 1996. 4th Ed. Longman. Essex. United Kingdom.
- Grams, V., R. Wellmann, S. Preuß, et al. 2015. GSE 47:77.
- Johansson, A. M., M. E. Pettersson, Siegel, P. B. & Carlborg, Ö.. 2010. PLoS Genet. 6:e1001188.
- Marras, G., A. Rossoni, H. Schwarzenbacher, et al. 2016. Anim. Genet. 48:121-121.
- Qanbari, S. & Simianer, H.. 2014. Lives. Sci. 166:133-143.
- Santacreu, M. A., M. L. Mocé, Climent, A., & Blasco, A. 2005. J. Anim. Sci. 83:2303-2307.
- Sosa-Madrid, B. S. 2016. Tesis de Máster. UPV, Valencia.
- Weir, B. S. & Cockerham, C. C. 1984. Evol. 38:1358.

Agradecimientos: El trabajo ha sido financiado por la Secretaría de Estado I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España (AGL2014-55921-C2-1-P) y B. Samuel Sosa-Madrid por la Secretaría Nacional de Ciencia, Innovación y Tecnología (SENACYT) de la República de Panamá.

Tabla 1. Número y descripción de las regiones genómicas obtenidos a partir de los índices de diferenciación genética (F_{st}) entre las poblaciones estudiadas HUC, LUC y V.

Líneas	Cr ¹	Inicio-Final de Posición en bp ²	Longitud en Mb	Máximo Valor de F_{st}	Número de SNPs relevantes
HUC - LUC	1	92.288.434-95.400.313	3,11	0,41	11
	3	80.024-3.587.780	3,51	0,39	12
	9	99.716.065-102.701.415	2,98	0,40	13
	12	54.772.880-56.810.168	2,04	0,40	6
	17	72.129.761-73.134.567	1,00	0,39	15
HUC - V	2	85.866.289-87.527.262	1,66	0,39	11
	9	72.724.962-74.569.999	1,84	0,36	27
	9	102.310.626-103.389.151	1,08	0,40	51
LUC - V	2	141.187.070-145.531.512	4,34	0,39	38
	9	100.656.849-102.198.102	1,54	0,40	9
	11	27.359.163-32.122.555	1,93	0,50	85
	13	12.979.734-14.806.696	1,83	0,37	6
	13	33.527.441-34.971.856	1,44	0,36	4
	13	38.821.395-43.222.202	4,40	0,43	38
	18	10.316.501-11.394.892	1,08	0,43	6
	X	77.441.343-79.396.716	1,96	0,42	6

¹cromosoma; ²pares de bases.

SIGNATURES OF SELECTION IN AN EXPERIMENT OF DIVERGENCE SELECTION FOR UTERINE CAPACITY IN RABBITS

ABSTRACT: The purpose of our research was to find out whether the selection generated the same effects on the genome of two divergent lines selected for uterine capacity and to identify chromosomal regions that contain underlying genes for the genetic variation of uterine capacity and litter size. Wright's fixation index (F_{st}) were computed to discover the signatures owing to selection. For this, clusters at least with four relevant SNPs with $F_{st} \geq 0.35$, one megabase and maximum distance of 2 Mb between every relevant SNP were considered as putative signatures of selection. In the HUC and LUC line were found the genes: SPA17, BMP4, PTGDR y STYX on autosome 1 and 17. For the F_{st} of LUC-V were found genes on autosome 13 and the sex chromosome "X", directly involved with reproductive processes. These are TDRKH, OAZ3, TNRC4, ARNT and DACH2. Thus, the findings suggest that the effects of selection on the genome of two lines of divergent selection for uterine capacity were different.

Keywords: signature of selection, uterine capacity, fixation index, rabbits.